Priprava kinon-metida i ispitivanje njihova biološkog učinka

Sambol, Matija

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:228495

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Matija Sambol

PREPARATION OF QUINONE METHIDES AND INVESTIGATION OF THEIR BIOLOGICAL EFFECTS

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2018

Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Matija Sambol

PRIPRAVA KINON-METIDA I ISPITIVANJE NJIHOVA BIOLOŠKOGA UČINKA

DOKTORSKI RAD

Mentor: Dr. sc. Nikola Basarić

Zagreb, 2018.

University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Matija Sambol

PREPARATION OF QUINONE METHIDES AND INVESTIGATION OF THEIR BIOLOGICAL EFFECTS

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Dr. Nikola Basarić

Zagreb, 2018

Zahvale

Želio bih zahvaliti svima koji su neposredno i posredno svojim zalaganjem i nesebičnošću pripomogli u izradi ove disertacije.

Na prvome mjestu, veliko hvala mentoru dr. sc. Nikoli Basariću na stručnim savjetima, idejama, vodstvu i konstruktivnim raspravama kod pisanja disertacije. Hvala i prof. dr. sc. Kati Majerski koja je u mom radu uvidjela potencijal i na čiji poticaj sam upisao Poslijediplomski studij. Također, iskrenu zahvalu dugujem i svim ostalim članovima Laboratorija za sintetsku organsku kemiju Instituta Ruđer Bošković, a posebno dr. sc. Tatjani Šumanovac i dr. sc. Marini Šekutor. Hvala vam na pomoći, srdačnosti i korisnim savjetima pri konačnoj obradi disertacije. Hvala Antoniji Husak, dr. sc. Mariji Matković i dr. sc. Tamari Šmidlehner na pomoći kod provođenja titracija. Hvala Enidiji Lukša na trudu i strpljenju kod određivanja tališta, a također najtoplije zahvaljujem i dr. sc. Vjekoslavu Štrukilu na pomoći kod snimanja IR spektara. Najljepše zahvaljujem dr. sc. Marijeti Kralj, dr. sc. Katji Ester, dr. sc. Lidiji Uzelac i Patriciji Benčić na ispitivanju biološke aktivnosti pripravljenih spojeva.

Veliku zahvalnost dugujem dr. sc. Marini Modrić na nesebičnoj podršci, vjeri i razumijevanju od prvog dana dolaska u Fideltu. Toplo hvala i dr. sc. Ani Čikoš na trudu i pomoći kod snimanja i interpretacije NMR spektara. Posebnu zahvalnost dugujem dr. sc. Gordonu Saxtyu na pruženoj prilici i podršci - Gordon, I'm grateful to you for providing me an opportunity to finish the experimental part of Dissertation at Fidelta. Hvala i kolegama iz laboratorija 0.206C (Anamarija, Ines, Marko i Mislav) na podršci i nadasve lijepoj i ugodnoj atmosferi.

Na kraju, hvala mojoj obitelji na bezgraničnoj podršci i razumijevanju. Hvala vam što ste uvijek tu uz mene…

Matija

Sadržaj

SAŽETAK ..... **XIX**

ABSTRACT ..... **XXI**

§ 1. UVOD **1**

§ 2. LITERATURNI PREGLED **5**

2.1. Kinon-metidi **5**

2.1.1. Struktura kinon-metida 5

2.1.2. Svojstva i kemijska reaktivnost kinon-metida 5

2.1.3. Sintetske metode generiranja kinon-metida 8

2.1.4. Fotokemijske metode generiranja kinon-metida 14

2.1.5. Nastajanje kinon-metida u biološkim uvjetima 20

2.2. Biološka aktivnost kinon-metida **23**

2.2.1. Reakcija kinon-metida s aminokiselinama i proteinima 24

2.2.2. Deaktivacija enzima kinon-metidima 29

2.2.3. Reakcija kinon-metida s nukleozidima i DNA 35

2.3. Lijekovi s kinon-metidnom prekursorskom podjedinicom **49**

2.4. DNA interkalatori **57**

2.4.1. 1,8-Naftalimid i njegovi analozi kao DNA interkalatori 61

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO **67**

3.1. Materijali i metode **67**

3.2. Opis korištenih HPLC, UPLC-MS/UV i prep-HPLC-MS/UV metoda **68**

3.2.1. HPLC metodologija 68

3.2.2. UPLC-MS/UV metodologija 69

3.2.2.1. Opis UPLC-MS/UV metoda *69*

3.2.3. Preparativna HPLC-MS/UV metodologija 70

3.3. Priprava 3-hidroksinaftalen-2-karbaldehida (4) **71**

3.3.1. Priprava 2-(metoksimetoksi)naftalena (**1**)[291] 71

3.3.2. Priprava 3-brom-2-(metoksimetoksi)naftalena (**2**) 72

3.3.3. Priprava 3-brom-2-hidroksinaftalena (**3**) 72

3.3.4. Priprava 3-hidroksinaftalen-2-karbaldehida (**4**) 73

3.3.5. Priprava 3-hidroksinaftalen-2-karbaldehida (**4**) (u jednom koraku)[295] 74

3.4. Priprava 3-hidroksiantracen-2-karbaldehida (9) 75

3.4.1. Priprava 2-hidroksiantrakinona (**5**)[296] 75

3.4.2. Priprava 3-brom-2-hidroksiantrakinona (**6**) i 1,3-dibrom-2-hidroksiantrakinona (**7**) 75

3.4.3. Priprava 3-brom-2-hidroksiantracena (**8**) 76

3.4.4. Priprava 3-hidroksiantracen-2-karbaldehida (**9**) 77

3.5. Priprava *O*-zaštićenih karbaldehida benzena, naftalena i antracena 78

3.5.1. Opći postupak za uvođenje *tert*-butildimetilsililne zaštitne skupine 78

*3.5.1.1. Priprava 2-(*tert-*butildimetilsililoksi)benzaldehida (**10**)[300] 78*

*3.5.1.2. Priprava 3-(*tert-*butildimetilsililoksi)naftalen-2-karbaldehida (**11**) 79*

*3.5.1.3. Priprava 3-(*tert-*butildimetilsililoksi)antracen-2-karbaldehida (**12**) 79*

3.6. Priprava homobifunkcionalnih derivata Grignardovom reakcijom 80

3.6.1. Priprava modelnog spoja – 1-[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]propil-acetata (**14**) 80

*3.6.1.1. Priprava 1-[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]propan-1-ola (**13**) 80*

*3.6.1.2. Priprava 1-[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]propil-acetata (**14**) 81*

3.6.2. Opći postupak Grignardove reakcije dobivanja homobifunkcionalnih spojeva 81

3.6.3. Opći postupak esterifikacije 82

3.6.4. Opći postupak za pripravu estera – „*one-pot*“ acetiliranje 82

3.6.5. Priprava fenolnih homobifunkcionalnih spojeva 83

*3.6.5.1. Priprava 1,6-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]heksan-1,6-diola (**15**) 83*

*3.6.5.2. Priprava 1,6-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]heksan-1,6-diil-diacetata (**16**) 83*

*3.6.5.3. Priprava 1,7-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]heptan-1,7-diola (**17**) 84*

*3.6.5.4. Priprava 1,7-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]heptan-1,7-diil-diacetata (**18**) 85*

*3.6.5.5. Priprava 1,8-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diola (**19**) 85*

*3.6.5.6. Priprava 1,8-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diil-diacetata (**20**) 86*

*3.6.5.7. Priprava 1,9-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]nonan-1,9-diil-diacetata (**21**) 87*

*3.6.5.8. Priprava 1,10-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]dekan-1,10-diil-diacetata (**22**) 87*

3.6.6. Fluoridom inducirano generiranje QM 88

*3.6.6.1. Priprava 2-(1-azidoprop-1-il)fenola(**23**) 88*

*3.6.6.2. Metanoliza 1,8-bis[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diil-diacetata (**20**) 89*

3.6.7. Priprava naftolnih derivata 90

*3.6.7.1. Priprava 1,6-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]heksan-1,6-diola (**26**).....90*

*3.6.7.2. Priprava 1,7-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]heptan-1,7-diola (**27**).....90*

*3.6.7.3. Priprava 1,8-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]oktan-1,8-diola (**28**).....91*

*3.6.7.4. Priprava 1,9-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]nonan-1,9-diola (**29**).....92*

*3.6.7.5. Priprava 1,10-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]dekan-1,10-diola (**30**).....92*

3.6.8. Priprava antrolnih derivata 93

*3.6.8.1. Priprava 1,6-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)antracen-2-il]heksan-1,6-diola (**31**).....93*

*3.6.8.2. Priprava 1,10-bis[3-(*tert-*butildimetilsililoksi)antracen-2-il]dekan-1,10-diola (**32**) 94*

3.7. Uklanjanje zaštitnih skupina - priprava homobifunkcionalnih spojeva 94

3.7.1. Opći postupak uklanjanja *tert*-butildimetilsililne zaštitne skupine 94

3.7.2. Priprava naftolnih homobifunkcionalnih spojeva 95

*3.7.2.1. Priprava 1,6-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heksan-1,6-diola (**33**) 95*

*3.7.2.2. Priprava 1,7-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heptan-1,7-diola (**34**) 95*

*3.7.2.3. Priprava 1,8-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)oktan-1,8-diola (**35**) 96*

*3.7.2.4. Priprava 1,9-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)nonan-1,9-diola (**36**) 97*

*3.7.2.5. Priprava 1,10-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)dekan-1,10-diola (**37**).....97*

3.7.3. Priprava antrolnih homobifunkcionalnih spojeva 98

*3.7.3.1. Priprava 1,6-bis[3-hidroksiantracen-2-il]heksan-1,6-diola (**38**).....98*

*3.7.3.2. Priprava 1,10-bis[3-hidroksiantracen-2-il]dekan-1,10-diola (**39**) 98*

3.7.4. Opći postupak provođenja preparativne fotometanolize 99

*3.7.4.1. Priprava 3,3'-(1,6-dimetoksiheks-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**40**) i 3,3'-(1-hidroksi-6-metoksiheks-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**41**) 99*

*3.7.4.2. Priprava 3,3'-(1,7-dimetoksihept-1,7-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**42**) i 3,3'-(1-hidroksi-7-metoksihept-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**43**) 100*

*3.7.4.3. Priprava 3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**44**) i 3,3'-(1-hidroksi-10-metoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**45**) 102*

3.7.5. Priprava 3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksiantracena) (**46**) 103

3.7.6. Opći postupak provođenja fotometanolize 103

*3.7.6.1. Fotometanoliza 1,6-bis[3-hidroksiantracen-2-il]heksan-1,6-diola (**38**) 104*

*3.7.6.2. Fotometanoliza 1,10-bis[3-hidroksiantracen-2-il]dekan-1,10-diola (**39**) 104*

3.8. Priprava *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida 105

3.8.1. Opći postupak priprave *N*-(ω-bromalkil)-1,8-naftalimida (*N*-alkiliranje 1,8-naftalimida)[302] 105

3.8.1.1. Priprava N-*(4-brombut-1-il)-1,8-naftalimida (**50**) 105*

3.8.1.2. Priprava N-*(5-brompent-1-il)-1,8-naftalimida (**51**) 106*

3.8.1.3. Priprava N-*(6-bromheks-1-il)-1,8-naftalimida (**52**) 106*

3.8.1.4. Priprava N-*(7-bromhept-1-il)-1,8-naftalimida (**53**) 107*

3.8.1.5. Priprava N-*(8-bromokt-1-il)-1,8-naftalimida (**54**) 107*

3.8.2. Opći postupak priprave *N*-(ω-hidroksialkil)-1,8-naftalimida 108

3.8.2.1. Priprava N-*(4-hidroksibut-1-il)-1,8-naftalimida (**55**) 108*

3.8.2.2. Priprava N-*(5-hidroksipent-1-il)-1,8-naftalimida (**56**) 109*

3.8.2.3. Priprava N-*(6-hidroksiheks-1-il)-1,8-naftalimida (**57**) 110*

3.8.2.4. Priprava N-*(7-hidroksihept-1-il)-1,8-naftalimida (**58**) 110*

3.8.2.5. Priprava N-*(8-hidroksiokt-1-il)-1,8-naftalimida (**59**) 111*

3.8.3. Opći postupak priprave *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida – Swernova oksidacija 111

3.8.4. Opći postupak priprave *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida – Dess-Martinova oksidacija[305] 112

3.8.4.1. Priprava N-*(3-formilprop-1-il)-1,8-naftalimida (**60**) 112*

3.8.4.2. Priprava N-*(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimida (**61**) 113*

3.8.4.3. Priprava N-*(5-formilpent-1-il)-1,8-naftalimida (**62**) 113*

3.8.4.4. Priprava N-*(6-formilheks-1-il)-1,8-naftalimida (**63**) 114*

3.8.4.5. Priprava N-*(7-formilhept-1-il)-1,8-naftalimida (**64**) 114*

3.9. Priprava 4-dietilamin-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida 115

3.9.1. Priprava 4-brom-1,8-naftalimida (**65**)[307] 115

3.9.2. Priprava 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**) 116

3.9.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-(ω-bromalkil)-1,8-naftalimida 116

*3.9.3.1. Priprava 4-dietilamin-*N-*(4-brombut-1-il)-1,8-naftalimida (**67**) 116*

*3.9.3.2. Priprava 4-dietilamin-*N-*(5-brompent-1-il)-1,8-naftalimida (**68**) 117*

*3.9.3.3. Priprava 4-dietilamin-*N-*(6-bromheks-1-il)-1,8-naftalimida (**69**) 118*

*3.9.3.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-(7-bromhept-1-il)-1,8-naftalimida (**70**)* *118*

*3.9.3.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-(8-bromokt-1-il)-1,8-naftalimida (**71**)* *119*

3.9.4. Opći postupak priprave 4-dietilamin-*N*-(ω-hidroksialkil)-1,8-naftalimida 120

*3.9.4.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-(4-hidroksibut-1-il)-1,8-naftalimida (**72**)* *120*

*3.9.4.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-(5-hidroksipent-1-il)-1,8-naftalimida (**73**)* *121*

*3.9.4.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-(6-hidroksiheks-1-il)-1,8-naftalimida (**74**)* *121*

*3.9.4.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-(7-hidroksihept-1-il)-1,8-naftalimida (**75**)* *122*

*3.9.4.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-(8-hidroksiokt-1-il)-1,8-naftalimida (**76**)* *122*

3.9.5. Priprava 4-dietilamino-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida 123

*3.9.5.1. Priprava 4-dietilamino-*N*-(3-formilprop-1-il)-1,8-naftalimida (**77**)* *123*

*3.9.5.2. Priprava 4-dietilamino-*N*-(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimida (**78**)* *124*

*3.9.5.3. Priprava 4-dietilamino-*N*-(5-formilpent-1-il)-1,8-naftalimida (**79**)* *124*

*3.9.5.4. Priprava 4-dietilamino-*N*-(6-formilheks-1-il)-1,8-naftalimida (**80**)* *125*

*3.9.5.5. Priprava 4-dietilamino-*N*-(7-formilhept-1-il)-1,8-naftalimida (**81**)* *125*

3.10. Priprava heterobifunkcionalnih derivata Grignardovom reakcijom 126

3.10.1. Priprava 2-benziloksi-3-bromnaftalena (**82**)[22] 126

3.10.2. Priprava Grignardovog reagensa - [3-(benziloksi)naft-2-il] magnezijevog bromida (**83**) ... 127

3.10.3. Opći postupak reakcije Grignardovog reagensa **83** i *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida 127

3.10.4. Priprava 1,8-naftalimid-naftalen heterobifunkcionalnih spojeva 128

3.10.4.1. Priprava N*-{4-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (**84**) ... 128*

3.10.4.2. Priprava N*-{5-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**85**) . 128*

3.10.4.3. Priprava N*-{6-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**86**) . 129*

3.10.4.4. Priprava N*-{7-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (**87**) . 130*

3.10.4.5. Priprava N*-{8-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**88**) ... 131*

3.10.5. Priprava 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftol heterobifunkcionalnih spojeva 131

*3.10.5.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-{4-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (**89**) 131*

*3.10.5.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-{5-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**90**) 132*

*3.10.5.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-{6-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**91**) 133*

*3.10.5.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-{7-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (**92**)* *134*

*3.10.5.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-{8-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**93**)* *135*

3.11. Uklanjanje zaštitne skupine - priprava heterobifunkcionalnih spojeva 136

3.11.1. Opći postupak uklanjanje benzilne zaštitne skupine transfer hidrogenolizom 136

3.11.2. Priprava 1,8-naftalimid-naftol heterobifunkcionalnih spojeva 136

3.11.2.1. Priprava N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (**94**) 136*

3.11.2.2. Priprava N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**95**) 137*

3.11.2.3. Priprava N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**96**) 137*

3.11.2.4. Priprava N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (**97**) 138*

3.11.2.5. Priprava N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**98**) 139*

3.11.3. Priprava 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftol heterobifunkcionalnih spojeva 140

*3.11.3.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8 naftalimida (**99**) 140*

*3.11.3.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**100**) 140*

*3.11.3.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**101**) 141*

*3.11.3.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (**102**) 142*

*3.11.3.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**103**) 143*

3.11.4. Opći postupak priprave metoksi derivata heterobifunkcionalnih spojeva 144

3.11.5. Priprava metoksi derivata 1,8-naftalimid-naftolne podserije 144

3.11.5.1. Priprava N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-metoksibut-1-il}-1,8-naftalimida (**104**) 144*

3.11.5.2. Priprava N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-metoksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**105**) 145*

3.11.5.3. Priprava N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-metoksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**106**) 145*

3.11.5.4. Priprava N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-metoksihept-1-il}-1,8-naftalimida (**107**) 146*

3.11.5.5. Priprava N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-metoksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**108**) 147*

3.11.6. Priprava metoksi derivata 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftolne podserije 148

*3.11.6.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-metoksibut-1-il}-1,8-naftalimida (**109**) 148*

*3.11.6.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-metoksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**110**) 148*

*3.11.6.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-metoksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**111**) 149*

*3.11.6.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-metoksihept-1-il}-1,8-naftalimida (**112**) 150*

*3.11.6.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-metoksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**113**) 151*

3.11.7. Fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva 152

3.11.7.1. Fotometanoliza N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**96**) 152*

3.11.7.2. Fotometanoliza N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (**94**) 152*

3.11.7.3. Fotometanoliza N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (**98**) 153*

*3.11.7.4. Fotometanoliza 4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**101**) 153*

3.12. Određivanje kvantnih prinosa reakcije fotometanolize 154

3.13. UV-vis apsorpcijska i fluorescencijska mjerenja 156

3.13.1. UV-vis i fluorescencijski spektri 156

3.13.2. Određivanje kvantnih prinosa fluorescencije 157

3.13.3. Fluorimetrijske titracije spojeva s DNA 158

3.14. Laserska pulsna fotoliza (LFP) 159

3.15. Brojenje pojedinačnih fotona (SPC) 160

3.16. CD spektropolarimetrija 160

3.17. Termalna denaturacija DNA 161

3.18. Križno povezivanje DNA 162

3.19. Antiproliferativna ispitivanja 162

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA 165

4.1. Retrosintetska analiza ciljnih molekula 168

4.1.1. Retrosintetska analiza homobifunkcionalnih spojeva 168

4.1.2. Retrosintetska analiza heterobifunkcionalnih spojeva 170

4.2. Priprava prekursora za sintezu homobifunkcionalnih spojeva 173

4.2.1. Priprava *O*-zaštićenog karbaldehida benzena **10** i naftalena **11** 173

4.2.2. Priprava *O*-zaštićenog karbaldehida antracena **12** 176

4.3. Homobifunkcionalni spojevi 177

4.3.1. Priprava fenolnih homobifunkcionalnih spojeva **16**, **18** i **20**-**22** 179

4.3.2. Priprava naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33**-**37** 181

4.3.3. Priprava antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39** 182

4.4. Generiranje QM inicirano fluoridima 183

4.5. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva naftolnih i antrolnih homobifunkcionalnih spojeva 185

4.5.1. Fotometanoliza naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33**, **34** i **37** 185

4.5.2. Kvantni prinosi reakcija fotometanolize spojeva **33**-**37** 186

4.5.3. UV apsorpcijski spektri i fluorescencijska mjerenja spojeva **33**-**37** 187

4.5.4. Brojenje pojedinačnih fotona (SPC) spojeva **33** i **37** 191

4.5.5. LFP mjerenja spojeva **33** i **37** 192

4.5.6. Fotometanoliza antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39** 193

4.6. Biološka ispitivanja homobifunkcionalnih spojeva 194

4.6.1. Križno povezivanje DNA 194

4.6.1.1. Alkalna agarozna gel-elektroforeza 194

4.6.1.2. Termalna denaturacija DNA 197

4.6.2. Antiproliferativna ispitivanja fenolnih homobifunkcionalnih spojeva **16**, **18** i **20**-**22** 198

4.6.3. Antiproliferativna ispitivanja naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33**-**37** 199

4.6.4. Antiproliferativna ispitivanja antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39** 200

4.7. Priprava 1,8-naftalimidnih prekursora za Grignardovu reakciju 202

4.8. Priprava 4-dietilamin - 1,8-naftalimidnih prekursora za Grignardovu reakciju 204

4.9. Priprava heterobifunkcionalnih derivata Grignardovom reakcijom 206

4.10. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva heterobifunkcionalnih spojeva 210

4.10.1. Fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** 210

4.10.2. Kvantni prinosi reakcije fotometanolize spojeva **94-98** 212

4.10.3. Fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva **99-103** 213

4.10.4. UV apsorpcijski spektri i fluorescencijska mjerenja spojeva **94-98** 214

4.10.5. UV apsorpcijski spektri i fluorescencijska mjerenja spojeva **99-103** 219

4.10.6. LFP mjerenja spojeva **94** i **99** 223

4.11. Biološka ispitivanja heterobifunkcionalnih spojeva 224

4.11.1. Interakcije s molekulom DNA – termalna denaturacija DNA 224

4.11.2. Interakcije s molekulom DNA – CD spektropolarimetrija 225

4.11.3. Interakcije s molekulom DNA – fluorimetrijske titracije 226

4.11.4. Antiproliferativna ispitivanja heterobifunkcionalnih spojeva **94-103** 228

§ 5. ZAKLJUČAK 231

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA 233

§ 7. LITERATURNI IZVORI 237

§ 8. DODATAK XXIII

8.1. Spektri NMR xxiii

8.2. UPLC-MS/UV kromatogrami cxxxv

8.3. Fluorescencijski spektri clxxxvii

8.4. Fluorimetrijske titracije cxcv

8.5. Spektri CD cxcvii

8.6. Termalna denaturacija DNA cxcviii

8.7. Brojenje pojedinačnih fotona (SPC) ccii

8.8. Laserska pulsna fotoliza (LFP) cciii

§ 9. ŽIVOTOPIS CCXV

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

PRIPRAVA KINON-METIDA I ISPITIVANJE NJIHOVA BIOLOŠKOGA UČINKA

Matija Sambol
Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U okviru ovog rada provedene su višestupanjske sinteze homobifunkcionalnih i heterobifunkcionalnih spojeva, prekursora kinon-metida (QM). Homobifunkcionalni spojevi sastoje se od dvije jednake fenolne, naftolne ili antrolne QM prekursorske podjedinice povezane fleksibilnim alkilnim lancem. Heterobifunkcionalni spojevi sastoje se od naftolne QM prekursorske podjedinice i 1,8-naftalimida kao DNA interkalatorske podjedinice. Navedene podjedinice su povezane fleksibilnim alkilnim lancem. Homobifunkcionalni spojevi pripravljeni su Grignardovim reakcijama iz komercijalno dostupnih dibromalkana i *O*-zaštićenih karbaldehida fenola, naftola i antrola. Generiranje QM u fenolnoj podseriji postignuto je dodatkom fluorida, a u naftolnoj i antrolnoj podseriji fotoaktivacijom. Heterobifunkcionalni spojevi pripremljeni su višestupanjskom, konvergentnom sintezom koja uključuje pripravu *O*-zaštićenog 3-brom-2-naftola i priprave ω-formilalkil-1,8-naftalimida i ω-formilalkil-4-dietilamin-1,8-naftalimida. Ključni korak u pripravi je Grignardova reakcija *O*-zaštićenog 3-brom-2-naftola i ω-formilalkil-1,8-naftalimida ili ω-formilalkil-4-dietilamin-1,8-naftalimida. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva homobifunkcionalne i heterobifunkcionalne serije spojeva ispitane su reakcijama fotosolvolize te primjenom spektroskopskih tehnika – UV-vis i fluorescencijske spektroskopije te laserske pulsne fotolize. Za QM generirane iz homobifunkcionalnih spojeva ispitana je sposobnost križnog povezivanja lanaca molekule DNA alkalnom gel-elektroforezom. Nekovalentno vezanje heterobifunkcionalnih spojeva na molekulu DNA ispitano je CD i fluorimetrijskim titracijama. Nadalje, ispitana je antiproliferativna aktivnost na humanim staničnim linijama karcinoma. Homobifunkcionalni spojevi ne reagiraju s DNA, ali pokazuju antiproliferativnu aktivnost nakon osvjetljavanja, vjerojatno zbog generiranja QM. Kod heterobifunkcionalnih spojeva nakon elektronske pobude dolazi do prijenosa energije bez zračenja (FRET-a) s naftola na naftalimid, što smanjuje mogućnost generiranja QM. Usprkos tome, spojevi pokazuju pojačanu citotoksičnost nakon osvjetljavanja. Posebno je zanimljiva 4-dietilamin-1,8-naftalimidna podserija heterobifunkcionalnih spojeva koji su selektivno citotoksični na staničnoj liniji humanog karcinoma pluća (H460).

(253 stranica, 69 slika, 15 tablica, 400 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: antiproliferativna aktivnost / antroli / fenoli / fotodehidratacija / kinon-metidi / 1,8-naftalimid / naftoli /

Mentor: dr. sc. Nikola Basarić, znanstveni savjetnik

Rad prihvaćen: 05. prosinca 2018.

Ocjenitelji: Izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković
Izv. prof. dr. sc. Ines Primožič
Dr. sc. Ivo Piantanida, znanstveni savjetnik u trajnom zvanju

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

PREPARATION OF QUINONE METHIDES AND INVESTIGATION OF THEIR BIOLOGICAL EFFECTS

Matija Sambol
Ruđer Bošković Institute, Bijenička 54, 10 000 Zagreb, Croatia

This thesis describes multi-step synthesis of homobifunctional and heterobifunctional quinone methide (QM) precursors. Homobifunctional compounds contain two equal QM precursors; phenol, naphthol or anthrol subunits, linked by a flexible alkyl chain. Heterobifunctional compounds contain a naphthol moiety as a QM precursor and a 1,8-naphthalimide as a DNA intercalator. Subunits are linked by a flexible alkyl chain. The homobifunctional series were prepared by Grignard reaction from commercially available dibromoalkanes with *O*-protected phenol, naphthol and anthrol carbaldehydes. Generation of QMs in the phenol subseries was achieved by fluoride addition and in the naphthol and anthrol subseries by photoactivation. Heterobifunctional compounds were prepared by a multi-step, convergent synthesis involving the preparation of *O*-protected 3-bromo-2-naphthol and ω-formylalkyl-1,8-naphthalimides and ω-formylalkyl-4-diethylamine-1,8-naphthalimides. The key step in the synthesis was Grignard reaction of *O*-protected 3-bromo-2-naphthol with ω-formylalkyl naphthalimide derivatives. Photochemical reactivity and photophysical properties of homobifunctional and heterobifunctional series were investigated by photo-solvolysis and spectroscopic techniques – UV-vis and fluorescence spectroscopy and laser flash photolysis. The ability of QMs to cross-link DNA, in homobifunctional series was investigated by alkaline gel electrophoresis. Non-covalent binding of heterobifunctional compounds to DNA was investigated by CD and fluorimetric titrations. Furthermore, antiproliferative activity on human cancer cell lines was investigated. Homobifunctional compounds do not react with DNA but they exhibit enhanced antiproliferative activity after irradiation, presumably due to the formation of QMs. Upon excitation of heterobifunctional compounds nonradiative energy transfer (FRET) takes place from naphthol to the naphthalimide moiety, reducing the reactivity in QM formation. Despite that, the studied compounds exhibit enhanced cytotoxicity upon irradiation. 4-Diethylamine-1,8-naphthalimide subseries is particularly interesting since these compounds are selectively cytotoxic to the lung cancer cell line (H460).

(253 pages, 69 figures, 15 tables, 400 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: antiproliferative activity / anthrol / 1,8-naphthalimide / naphthol / phenol / photodehydration / quinone-methides

Supervisor: Dr. Nikola Basarić, Senior Research Scientist

Thesis accepted: 05 December 2018

Reviewers: Dr. Vesna Petrović Peroković, Associate Professor
Dr. Ines Primožič, Associate Professor
Dr. Ivo Piantanida, Senior Scientist

§ 1. UVOD

U posljednjih nekoliko desetljeća u središtu istraživanja antitumorskih spojeva važno mjesto zauzimaju male molekule koje stupaju u interakcije s biomakromolekulama, primjerice proteinima i nukleinskim kiselinama. Male molekule mogu blokirati i/ili remetiti normalni metabolizam stanice, što se u konačnici očituje kao antitumorska aktivnost. Molekule koje djeluju na nukleinske kiseline, a posebice na molekulu DNA ili enzime koji sudjeluju u metabolizmu molekule DNA, dugi niz godina se koriste kao antitumorski lijekovi. Jedan od značajnijih i prvo opisanih načina interakcije malih molekula i nukleinskih kiselina je alkiliranje i križno povezivanje lanaca molekule DNA.[1] U ovom kontekstu su posebno zanimljivi mitomicini, antibiotici koji metaboličkom aktivacijom stvaraju kinon-metide koji uzrokuju križno povezivanje lanaca DNA.[2] Kinon-metidi (QM) su reaktivni, kratkoživući intermedijeri te su česti u kemiji fenola i srodnih spojeva. Njihova reaktivnost je prvenstveno posljedica polarne strukture zbog koje QM reagiraju s nukleofilima i elektrofilima.[3] Vrijeme života im je stoga vrlo kratko, te se ne mogu čuvati kao stabilni reagensi već se generiraju *in situ*. Postoji cijeli niz reakcija kojima se QM mogu generirati među kojima su najznačajnije metode oksidacije, termolize i fotolize odgovarajućih fenolnih derivata.[4] Fotolitičke metode generiranja QM posebice su zanimljive s aspekta primjene u biološkim sustavima jer nude mogućnost vremenske i prostorne kontrole reakcije.[5] Zbog velike reaktivnosti QM mogu alkilirati aminokiseline[6,7], peptide i proteine [8–10], nukleozide i nukleinske kiseline[11–16] i ta ih sposobnost svrstava u potencijalne antitumorske spojeve.[16–19]

Do sada su u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju IRB-a provedene sinteze niza derivata hidroksibifenila[20,21], naftola[22] i antrola[23] koji fotolitički mogu generirati QM. Istražena im je biološka aktivnost na staničnim linijama humanih karcinoma pri čemu su se posebice istaknuli derivati antrola jer mogu stvoriti QM fotokemijskom pobudom zračenjem valnim duljinama većim od 400 nm.[23] Dosad opisani i pripremljeni QM prekursori s molekulom DNA su mogli reagirati samo kao alkilirajući reagensi, dok reakcije križnog povezivanja lanaca molekule DNA nisu bile moguće. Stoga je glavni cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bio prirediti, izolirati i okarakterizirati nove, fotoinducibline alkilirajuće reagense kao potencijalne reagense za križno povezivanje lanaca molekule DNA. Kao prekursori su pripremljeni homobifunkcionalni spojevi, građeni od dvije fenolne, naftolne i antrolne QM

prekursorske podjedinice povezane fleksibilnim, alkilnim lancem. Također su pripremljene dvije podserije heterobifunkcionalnih spojeva koji u svojoj strukturi posjeduju naftalimidnu jezgru kao DNA interkalacijsku podjedinicu i naftolnu QM prekursorsku jedinicu koje su međusobno povezane fleksibilnim, alkilnim lancem. Uvođenjem naftalenske i antracenske jezgre postiže se pomak apsorpcijskog maksimuma molekula prekursora QM prema većim valnim duljinama, a uvođenjem interkalacijske podjedinice očekuje se nekovalentno vezanje QM prekursora s molekulom DNA što povećava vjerojatnost reakcije alkiliranja DNA.[24] Nadalje, antracenski derivati su zanimljivi i stoga što se pretpostavlja da će se interkalirati između parova baza u DNA.[25] U kliničkoj upotrebi postoji niz spojeva čija se antiparazitska, antimikrobna i antitumorska aktivnost zasniva upravo na DNA interkaliranju.[26] Jedan od značajnih DNA interkalatora je i 1,8-naftalimid (NI) za čije je derivate ispitana i dokazana značajna biološka aktivnost.[27] Antitumorska aktivnost derivata NI na staničnim linijama humanih karcinoma ispitana je u nekoliko studija.[27–30] U ciljnim molekulama ovog istraživanja NI jezgra ima nekoliko uloga. NI kao DNA interkalator pretpostavljeno povećava antitumorsku aktivnost spojeva, jer molekulu prekursora QM dovodi na mjesto gdje se treba dogoditi fotogeneriranje QM. Time se postiže selektivnost QM prema DNA, a smanjuje se hidroliza odnosno reakcija QM s vodom. Hipoteza istraživanja, za homobifunkcionalne spojeve je da će mogućnost generiranja bis-QM i križnog povezivanja lanaca molekule DNA doprinijeti povećanoj antiproliferativnoj aktivnosti. Za heterobifunkcionalne spojeve, hipoteza je da će prisutnost NI jezgre povećati selektivnost QM prekursora prema DNA, što će se nakon fotoaktivacije očitovati kao povećana antiproliferativna aktivnost.

U okviru disertacije provedena je višestupanjska sinteza, izolacija i identifikacija ciljnih molekula kojima su istraživane biološka aktivnost, fotokemijska reaktivnosti i fotofizička svojstva. Fotokemijska reaktivnost proučena je preparativnim fotokemijskim reakcijama u prisutnosti metanola kao nukleofila, a fotofizička svojstva ispitana su im upotrebom spektroskopskih tehnika – UV-vis i fluorescencijske spektroskopije, vremenski razlučenih tehnika kao što je LFP (*engl. laser flash photolysis*) i SPC (*engl. single photon counting*). Nadalje, ispitana je antiproliferativna aktivnost na humanim staničnim linijama karcinoma kao i interakcije s molekulom DNA.

Rezultati istraživanja imaju cilj povećati fundamentalno znanje o fotodehidratacijskim reakcijama nastanka QM kao i njihovoj reaktivnosti s biološki značajnim molekulama

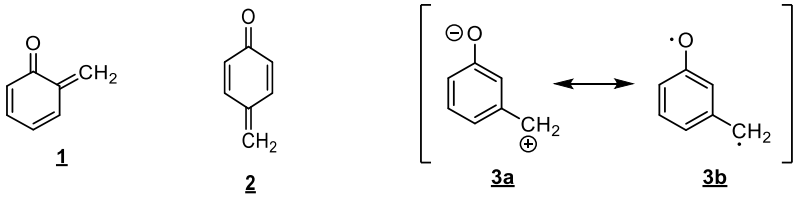
(proteinima i DNA). Nove spoznaje o međuodnosu strukture i biološke aktivnosti omogućit će racionalni dizajn novih fototerapeutika za liječenje karcinoma.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Kinon-metidi[a]

2.1.1. Struktura kinon-metida

Kinon-metidi (QM, *engl. quinone methide*) su organski spojevi građeni od cikloheksadienske jezgre s karbonilnom i egzocikličkom metilenskom skupinom.[3] S obzirom na položaj kisikova atoma i egzocikličke metilenske skupine moguća su tri osnovna izomera roditeljskog benzokinon-metida – *ortho*-QM (**1**), *para*-QM (**2**) i *meta*-QM (**3a**, **3b**) (slika 1).



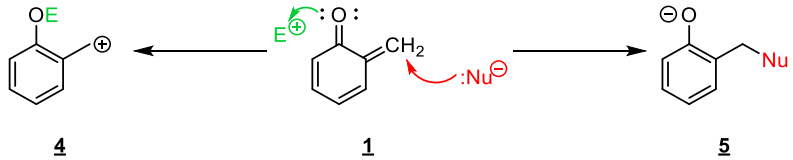
Slika 1. Strukturne formule molekula roditeljskih kinon-metida

o-QM (**1**) i *p*-QM (**2**) su neutralne molekule, dok je *m*-QM (**3a**↔**3b**) rezonancijski hibrid zwitter-iona **3a** i biradikala **3b**, sa značajnim zwitterionskim karakterom. *m*-QM je potrebno prikazati ili kao zwitter-ion **3a** ili kao biradikal **3b** jer ne postoji mogućnost njegova prikazivanja Kekuléovom strukturnom formulom.

2.1.2. Svojstva i kemijska reaktivnost kinon-metida

Zbog velike polarizacije molekule, QM su vrlo reaktivne, kratkoživuće vrste koje mogu sudjelovati u nukleofilnim i elektrofilnim reakcijama (shema 1). Reaktivnost im je značajno veća od reaktivnosti jednostavnih enona (primjerice α, β-nezasićenih ketona) jer prilikom reakcije dolazi do rearomatizacije sustava što djeluje kao pokretačka sila.[3]

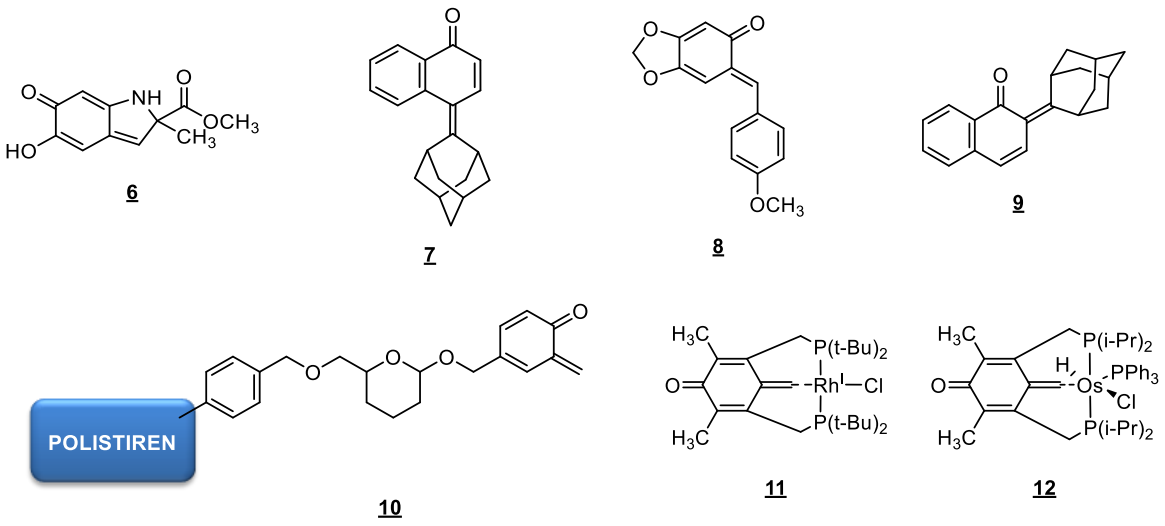
[a] Iako IUPAC preporučuje upotrebu naziva kinometani, u recentnoj i relevantnoj literaturi koristi se naziv kinon-metidi. Radi usklađenosti s istom, u ovoj disertaciji koristit će se naziv kinon-metidi (QM).



4 1 5

Shema 1. Uobičajene elektrofilne i nukleofilne reakcije *o*-QM

Ovisno o strukturi, vrijeme života QM vrlo je kratko i može biti od 1 nanosekunde pa sve do nekoliko sekundi ili minuta.[3] Iz navedenog razloga QM se ne mogu čuvati kao stabilne kemikalije već se generiraju *in situ*. Iako se radi o kratkoživućim vrstama, strukturne modifikacije kao u primjerima molekula **6**-**9**,[22,31,32] imobilizacija na čvrste nosače **10**[33] ili kompleksiranje s prijelaznim metalima poput rodija(I) **11**[34] ili osmija(II) **12**[3] drastično povećavaju njihovu stabilnost, te je moguća njihova izolacija i spektroskopska karakterizacija. Primjeri navedenih stabilnijih QM prikazani su na slici 2.



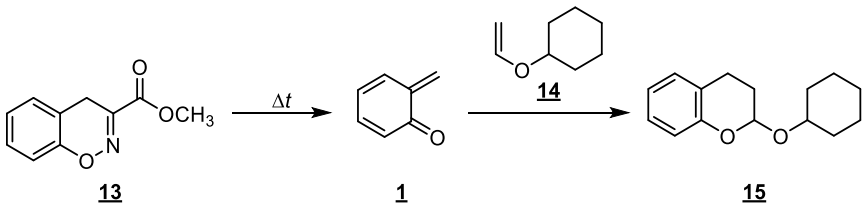
6 7 8 9 10 11 12

Slika 2. Strukturne formule stabilnih QM[3,22,31–34]

Kako se radi o elektronski siromašnim molekulama, elektron-akceptorski supstituenti vezani na aromatsku jezgru djeluju destabilizirajuće, dok elektron-donirajući supstituenti stabiliziraju QM i na taj način im produžuju vrijeme života.[35] Nadalje, supstituenti utječu i na mogućnost generiranja QM – elektron-donorske skupine olakšavaju generiranje QM, dok elektron-akceptorske suprimiraju.[35]

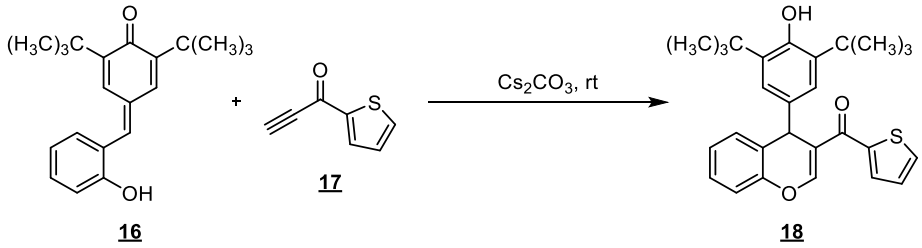
Osim sudjelovanja u elektrofilnim i nukleofilnim reakcijama, QM također mogu sudjelovati i u pericikličkim reakcijama. Zagrijavanjem derivata 1,2-benzoksazina **13** generiran je QM (**1**)

koji u [4+2] cikloadicijskoj reakciji s dienofilom **14** daje derivat kromana **15** kao što je prikazano na shemi 2.[36]



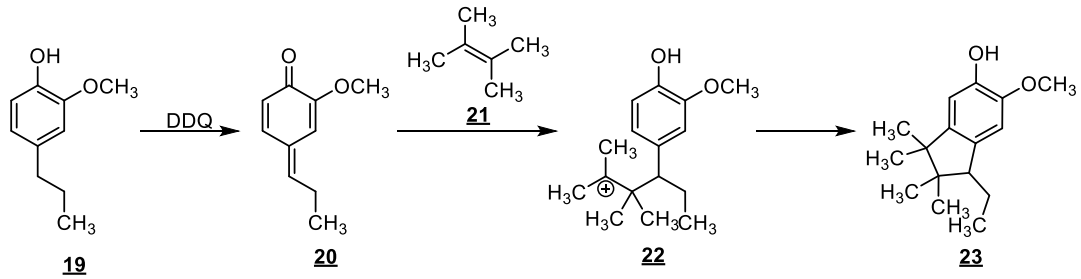
Shema 2. Generiranje *o*-QM (**1**) i [4+2] cikloadicijska reakcija s dienofilom **14**[36]

Osim *o*-QM i *p*-QM mogu sudjelovati u [4+2] cikloadicijskim reakcijama, primjerice na shemi 3 je prikazan primjer [4+2] cikloadicijske reakcije derivata *p*-QM **16** s alkinom **17** uz nastanak derivata kromena **18**.[37]



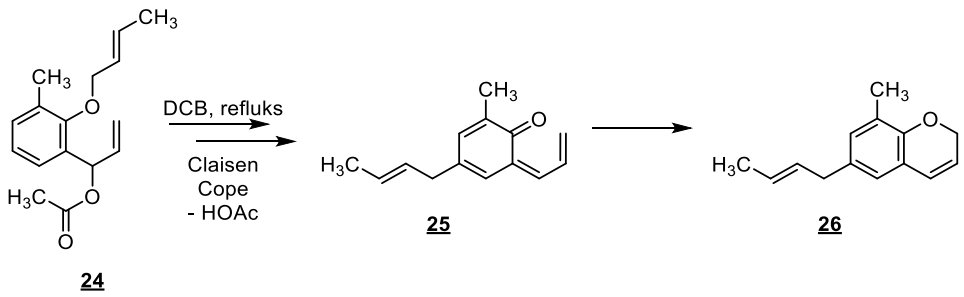
Shema 3. [4+2] cikloadicijska reakcija derivata *p*-QM **16**[37]

Derivati *p*-QM mogu sudjelovati i u [3+2] cikloadicijskim reakcijama (shema 4). Reakcijom dihidroeugenola (**19**) i DDQ nastaje *p*-QM **20** koji u reakciji s alkenom **21** nakon Michaelove adicije i Friedel-Craftsovog alkiliranja daje alkilindanski produkt **23** intermolekulske [3+2] cikloadicije.[38]



Shema 4. Generiranje *p*-QM i reakcija s alkinom **21** uz nastanak alkilindanskog produkta **23**[38]

Određeni *o*-QM mogu sudjelovati i u elektrocikličkim reakcijama.[39] *o*-QM **25** generiran kaskadnom Claisenovom i Copeovom pregradnjom i eliminacijom acetata spontano ciklizira u elektrocikličkoj reakciji u derivat kromena **26** kao što je prikazano na shemi 5.[39]



24 **25** **26**

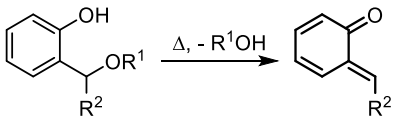
Shema 5. Generiranje *o*-QM **25** i elektrociklička reakcija[39]

Zbog velike reaktivnosti QM, vrlo često produkti dimerizacije[40,41], trimerizacije[42], intramolekulske ili intermolekulske [4+2] cikloadicije[43] spadaju u posredne metode dokaza nastanka QM. Osim navedenog, vrlo se često kao metoda dokaza nastanka QM koriste reakcije s nukleofilima ili dienofilima te izolacija nastalih adukata.[43,44] U posljednjih dvadesetak godina sve češće su u upotrebi vremenski razlučene spektroskopske tehnike, uključujući i lasersku pulsnu fotolizu (LFP, *engl. laser flash photolysis*).[45]

2.1.3. Sintetske metode generiranja kinon-metida

Postoji velik broj sintetskih metoda generiranja QM od kojih su ističu termolitičko generiranje,[45–69] generiranje potaknuto oksidacijom,[41–43,71,72] kiselinom[73,74] ili bazom[57] te generiranje iz sililnih derivata inducirano fluoridima.[11,18,24,35,75–77]

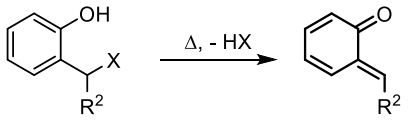
Iako termolitički način generiranja QM nije primjenjiv u biološkim sustavima, on spada u najznačajniji način generiranja QM u sintetskoj organskoj kemiji. Važno je spomenuti da temperatura potrebna za generiranje QM uvelike ovisi o supstituentima vezanim na aromatski prsten. Skupine autora predvođene Hultzschom[46], Schmidtom[47,48], Mulderom[49,50] i Sprenglingom[51] izučavale su metode termolitičkog generiranja QM iz *o*-hidroksibenzilnih alkohola **27a** (shema 6), dok su Wakselman,[52] Gardner[53–57] i Britt[58] istraživali termolitičko generiranje QM iz *o*-hidroksibenzilnih etera **27b** (shema 6).



27a $R^1 = H$
27b $R^1 \neq H$ **28**

Shema 6. Termolitičko generiranje QM **28** iz benzilnih alkohola **27a**[46–51] i etera **27b**[52–58]

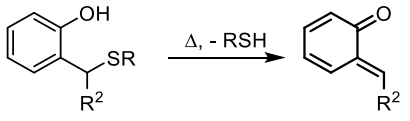
Schmidt,[47,59] Habicher[60–63] i suradnici proučavali su reakcije termolitičkog generiranja QM iz halogenida **29** (shema 7). Naime, termolitičkom eliminacijom halogenovodika nastaju QM *in situ*, a nastanak QM je posredno potvrđen izolacijom adukata s aminima,[59] izolacijom derivata kromana[47] i izolacijom dimera.[62,63]



29 **28**

Shema 7. Termolitičko generiranje QM **28** iz halogenida **29**[47,59–63]

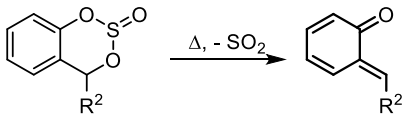
Chiba[64,65] i suradnici objavili su nekoliko publikacija na temu termolitičkog generiranja QM iz benzilnih tioetera **30** (shema 8). Autori navode da tioeteri tipa **30** koji posjeduju veći supstituent (R) na tiolnoj skupini zahtijevaju niže temperature za generiranje QM.[64,65]



30 **28**

Shema 8. Termolitičko generiranje QM **28** iz tioetera **30**[64,65]

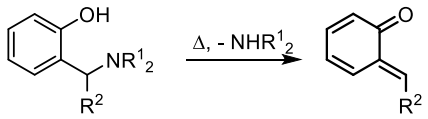
Ciklički sulfitni esteri tipa **31** termolitičkom eliminacijom SO_2 mogu generirati QM, a navedene reakcije prikazane na shemi 9 proučavali su Sheppard[66] i suradnici. Autori su pokazali da, ukoliko se na položaj R^2 uvedu $–CF_3$ skupine, termolizom **31** nastaju relativno stabilni QM koji su okarakterizirani spektroskopijom ^{19}F NMR.[66]



31 **28**

Shema 9. Termolitičko generiranje QM **28** eliminacijom SO_2 iz sulfitnih estera **31**[66]

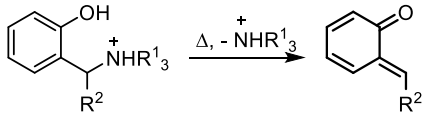
Generiranje QM pirolizom Mannichovih baza **32** (shema 10) istraživali su Von Strandtman[67,68] i Bilgiç[69] sa suradnicima. Von Strandtman[67,68] i suradnici koristili su termolitički generirane QM iz Mannichovih baza za alkiliranje enamina u svrhu priprave derivata pirana.[67,68] Bilgiç[69] i suradnici proveli su termolitičko generiranje QM koji u Diels-Alderovim reakcijama s dienofilima stvaraju derivate kromana.[69]



32 **28**

Shema 10. Termolitičko generiranje QM **28** eliminacijom amina iz Mannichovih baza **32**[67–69]

Nadalje, termolitičkom eliminacijom trialkilamonijevih soli iz derivata **33** Gardner[54], Breuer[70] i suradnici pripremili su QM kao što je prikazano na shemi 11. Priprava spojeva tipa **33** sintetski nije zahtjevna, a kako je trialkilamonijev ion puno bolja izlazna skupina od dialkilamina, generiranje QM iz spojeva tipa **33** zahtjeva niže temperature, odnosno uvjeti generiranja QM puno su blaži od uvjeta generiranja QM iz spojeva tipa **32**.

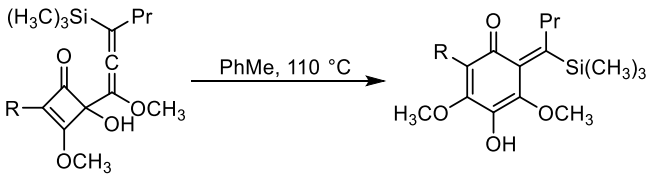


33 **28**

Shema 11. Termolitičko generiranje QM **28** eliminacijom trialkilamonijeve soli[54,70]

Osim do sada spomenutih metoda termolitičkog generiranja iz aromatskih spojeva, postoje i metode generiranja QM iz primjerice derivata 4-alenilciklobutenona **34** koje su proučavali Moore[78] i suradnici (shema 12). Zagrijavanjem spoja **34** u toluenu ili benzenu dolazi do nastanka QM **35** što je posredno potvrđeno izolacijom stabilnih adukata s nukleofilima. Navedena metoda generiranja QM iz supstituiranih 4-alenilciklobutenona zanimljiva je iz

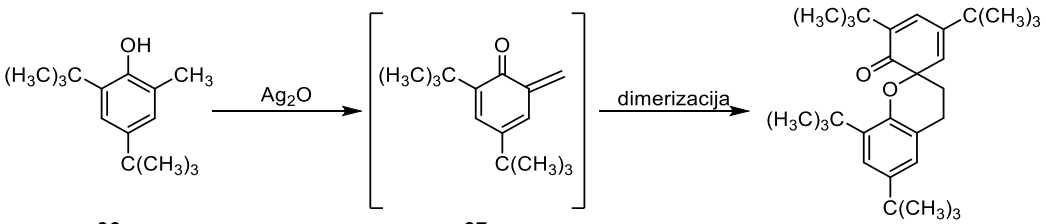
razloga što nudi mogućnost ekspanzije ciklobutenonskog prstena u različite aromatske, prstenaste sustave, među kojima se ističu benzokinonski i naftokinonski sustavi.[78]



34 **35**

Shema 12. Primjer generiranja *o*-QM iz derivata 4-alenilciklobutenona[78]

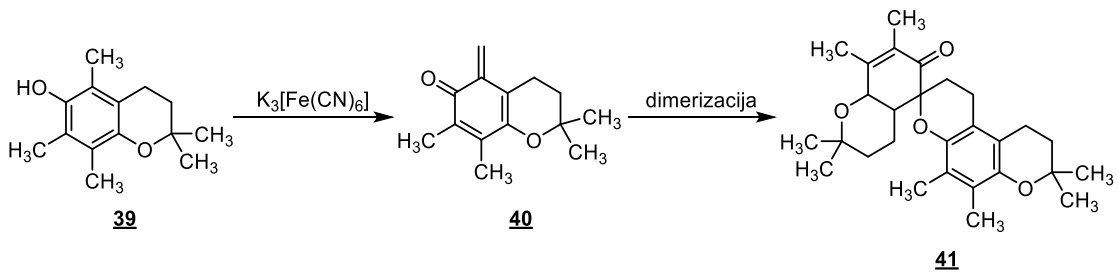
Za generiranje QM oksidacijom najčešće se koriste blagi oksidansi kao što su srebrov(I) oksid,[41–43] olovov(IV) oksid[72] i kalijev heksacijanoferat(III).[40,71] Jednu od prvih reakcija generiranja QM djelovanjem srebrovog(I) oksida na derivat fenola **36** proveo je Waters[41] sa suradnicima 1954. godine. Nastali *o*-QM **37** nije izoliran jer brzo dimerizira u spiro-produkt **38** (shema 13).[41]



36 **37** **38**

Shema 13. Generiranje QM djelovanjem srebrovog(I) oksida na fenol **36** i reakcija dimerizacije nastalog QM **37**[41]

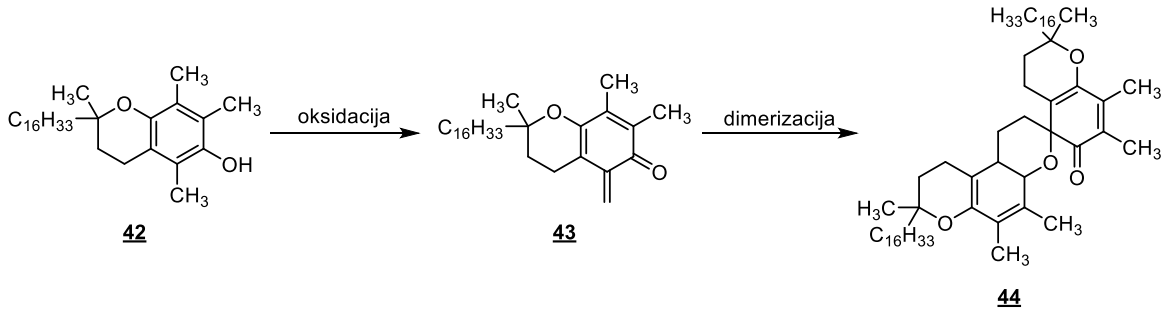
Dean[71] i suradnici proveli su oksidaciju derivata kromana **39** djelovanjem kalijevog heksacijanoferata(III) pri čemu nastaje QM **40**. Zbog velike reaktivnosti, QM **40** također brzo dimerizira u produkt **41** (shema 14).[71]



39 **40** **41**

Shema 14. Generiranje QM **40** djelovanjem kalijevog heksacijanoferata(III) na derivat kromana **39** i reakcija dimerizacije nastalog QM **40**[71]

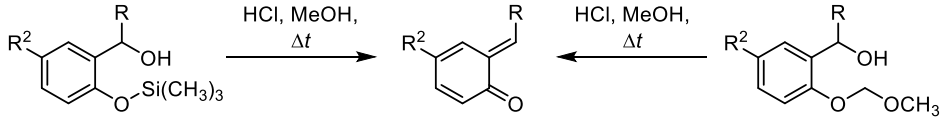
U biološkim sustavima poznat je primjer vitamina E (**42**) koji oksidacijom daje odgovarajući *o*-QM **43** iz kojeg dimerizacijom nastaje produkt **44** (shema 15).[3,79] Reakcijom nastalog dimera **44** s vitaminom C dolazi do reduktivne *retro*-dimerizacije pri čemu se regenerira vitamin E (**42**). Na taj način vitamini C i E sudjeluju u složenom redoks-ciklusu.[3,79] Nastanak QM **43** potvrđen je izolacijom produkta hetero-Diels-Alderove reakcije s derivatom oksazina.[80]



42 **43** **44**

Shema 15. Nastanak i reakcija dimerizacije QM **43** iz vitamina E (**42**)[3,79]

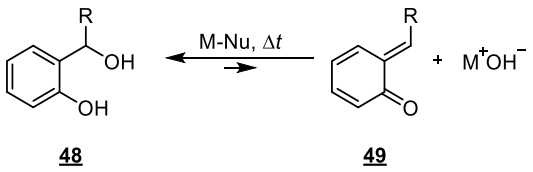
Većina prekursora za termolitičko generiranje QM, dodatkom kiseline ili baze mogu generirati QM pri puno nižim temperaturama. Primjer nastanaka QM iniciran dodatkom kiseline prikazan je na shemi 16, a navedene reakcije proučavali su Boekelheide[73] te Inoue[74] i suradnici. Boekelheide[73] sa suradnicima je pripremio trimetilsilil-aril-eter **45** koji djelovanjem kiseline generira QM **47**. Inoue[74] i suradnici na sličan način kiselinom su generirali QM **47** iz metoksimetil-aril-etera **46**. Oba pristupa kiselinom induciranog generiranja QM temelje se na nestabilnosti *O*-zaštitnih skupina (TMS i MOM) pri kiselim reakcijskim uvjetima.



45 **47** **46**

Shema 16. Kiselinom inducirano generiranje QM[73,74]

Gardner[57] i suradnici prvi su uočili da bazni uvjeti mogu potaknuti generiranje QM iz *o*-hidroksibenzilnih alkohola **48** (shema 17).[57] Naime, autori[57] navode da iz lako dostupnih hidroksibenzilnih alkohola **48**, kao i naftalenskih analoga, upotrebom metanolne otopine hidroksida dolazi do generiranja QM kao korisnih intermedijera u sintezi.[57]

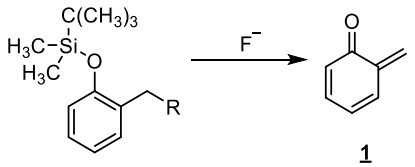


48 **49**

Shema 17. Bazom inducirano generiranje QM[57]

Zanimljivo je spomenuti da je u nekim slučajevima kiselost silikagela dovoljna za iniciranje nastanka QM koji zatim podliježu reakcijama polimerizacije. U konačnici to dovodi do toga da se mnogi *o*-hidroksibenzilni alkoholi ili eteri ne mogu uspješno pročistiti kromatografijom normalnih faza na stupcu silikagela.[79]

Rokita[11,18,24,35,75–77] i suradnici razvili su desililiranje inducirano fluoridima kao metodu generiranja QM. Navedena metoda je vrlo blaga s obzirom da je za generiranje QM potreban samo izvor fluoridnih iona i pogodan supstrat – fenol zaštićen sililnom skupinom koji sadrži izlaznu skupinu u *ortho*-benzilnom položaju. Primjer fluoridom induciranog desililiranja uz generiranje QM prikazan je na shemi 18. Naime, djelovanjem fluoridnog iona na sililom-zaštićeni fenol **50** dolazi do cijepanja Si–O veze uz nastanak stabilnije Si–F veze. Spontanom eliminacijom skupine (R) dolazi do nastanka *o*-QM (**1**).[11,35]

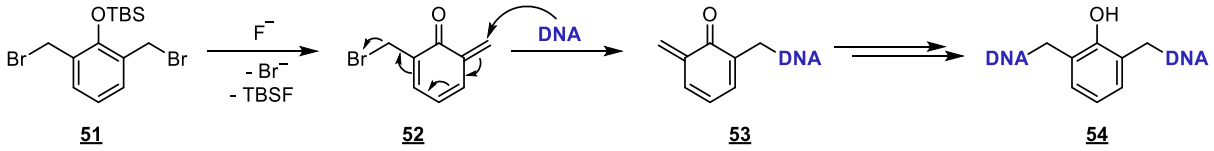


50a R = Br
50b R = OAc

1

Shema 18. Generiranje QM reakcijom desililiranja induciranog fluoridom[11,35]

Ukoliko supstrat sadrži dvije izlazne skupine u oba *ortho*-benzilna položaja, djelovanjem fluorida moguć je nastanak QM za koji je pokazano da može alkilirati i križno povezati lance molekule DNA. Rokita i suradnici[75] pripravili su derivat **51** koji sadrži dvije izlazne skupine u oba *ortho*-benzilna položaja. Fluoridom inducirano uklanjanje sililne zaštitne skupine u prisutnosti oligodeoksinukleotida dovodi do nastanka produkata tipa **54**, velike molekulske mase, s elektroforetskom pokretljivošću koja se pripisuje križno povezanim lancima oligodeoksinukleotida (shema 19).[75]



Shema 19. Generiranje QM iz prekursora **51** fluoridom induciranim desililiranjem i reakcija nastalog QM s DNA[75]

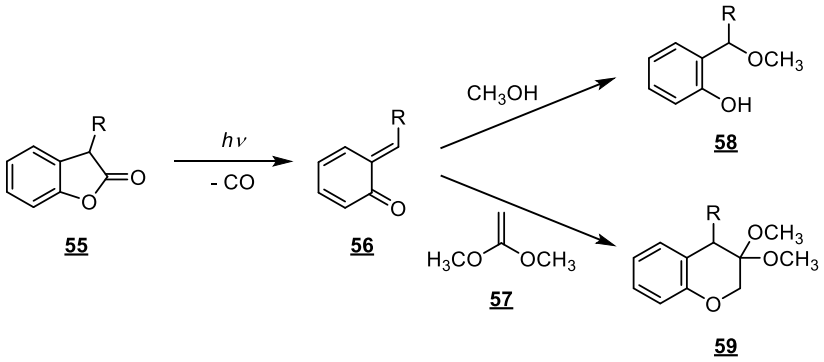
Metoda fluoridom induciranog generiranja QM vrlo je korisna za *in vitro* ispitivanja interakcije QM s biomakromolekulama. Za *in vivo* ispitivanja navedena metoda nije od velike koristi zbog poznate toksičnosti fluoridnih iona kod ljudi i životinja. Minimalna doza fluoridnih iona koja može imati negativan učinak na ljudsko zdravlje je 5 mg/kg tjelesne mase, dok se letalna doza za prosječnog čovjeka kreće između 32 i 64 mg/kg tjelesne mase.[81]

2.1.4. Fotokemijske metode generiranja kinon-metida

Poseban interes posvećen je metodama fotokemijskog generiranja QM jer navedene metode nude brojne prednosti pred ostalim do sada spomenutim tehnikama. Jedna od najvažnijih prednosti je ta što je moguća prostorna i vremenska kontrola stvaranja reaktivnih QM kao i da navedene reakcije ne zahtijevaju upotrebu nikakvog dodatnog reagensa. Također, fotokemijske metode spadaju u vrlo blage metode generiranja aktivnih specija.[3] Iz navedenih razloga pogodna je upotreba fotokemijskog generiranja QM u *in vitro* i u *in vivo* ispitivanjima. Jedan od uvjeta koje molekula prekursora za fotokemijsko generiranje QM mora zadovoljiti, da bi bila primjenjiva u biološkim sustavima, je taj da molekula ima apsorpcijski maksimum na valnim duljinama većim od 350 nm. Na taj način se izbjegavaju fotokemijske reakcije uobičajenih biološki važnih molekula – aromatskih aminokiselina u proteinima i nukleotida u DNA i RNA. Također, poželjno je da su reakcije stvaranja QM što učinkovitije, odnosno da se odvijaju s visokim kvantnim prinosom.[82] Razvoj molekula s navedenim svojstvima omogućuje njihovu primjenu u fototerapiji.[83–85] Općenito, fototerapija uključuje primjenu spoja koji nakon aktivacije pomoću svjetlosti specifične valne duljine stvara reaktivne intermedijere koji u konačnici ireverzibilno oštećuju tkivo. Trenutno u upotrebi postoji nekoliko lijekova čije se djelovanje temelji na fototerapiji, a koriste se u liječenju nekih bolesti tipa psorijaze i vitiliga.[83,86]

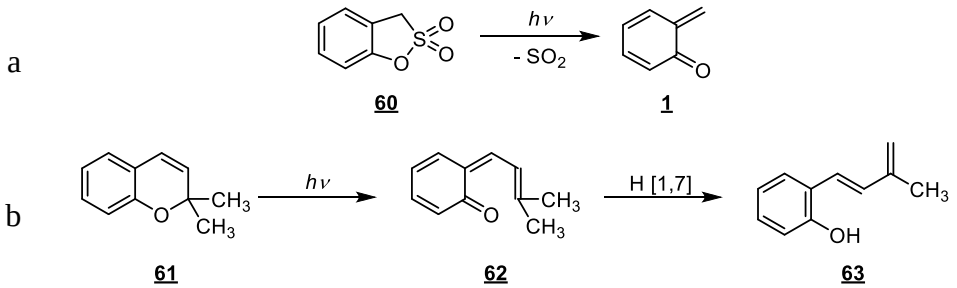
Jedna od prvih opisanih metoda generiranja QM fotokemijskim putem je fotofragmentacija oksaheterocikličkih spojeva. Chapman,[87] Padwa,[88–90] te Gutsche[91] i suradnici proučavali su

fotokemijsku reaktivnost derivata benzofuran-2-ona **55** koji fotokemijskom dekarbonilacijom generiraju QM **56**. Zbog velike reaktivnosti nastali QM **56** nisu izolirani, ali je njihov nastanak posredno potvrđen preko metanolnog adukta **58** i produkta [4+2] Diels-Alderove reakcije s 1,1-dimetoksietenom (**57**) pri čemu nastaju derivati kromana **59** (shema 20).[87–91]



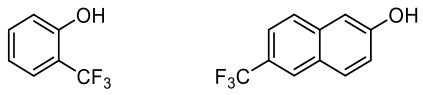
Shema 20. Fotolitičko generiranje QM iz derivata **55** i reakcija nastalog QM **56** s nukleofilom (metanol) i dienofilom (1,1-dimetoksieten (**57**))[87–91]

QM je moguće generirati i fotofragmentacijom sulfona **60**[87] i derivata kromena **61**[92] (shema 21). Fotofragmentacija derivata kromena **61** je zanimljiva iz razloga što fotolitički nastali QM **62** podliježe [1,7] sigmatropnom pomaku vodika pri čemu kao konačni produkt nastaje derivat fenola **63** (shema 21 b).[92]



Shema 21. Fotolitičko generiranje QM iz: (a) sulfona (**60**)[87] i (b) derivata kromena **61**[92]

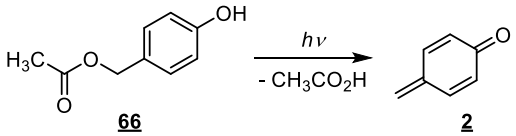
Osim fotofragmentacijom oksaheterocikla, QM mogu nastati fotodehidrohalogenacijom derivata fenola i naftola. Wirz[93–95] i suradnici proveli su fotokemijske eksperimente na različito supstituiranim trifluormetil-fenolima tipa **64** i naftolima tipa **65** (slika 3). Istraživanjem su pokazali da eliminacijom fluorida nastaju QM uz vrlo visoki kvantni prinos reakcije (Φ do 0,8).[93–95]



64 65

Slika 3. Prekursori za generiranje QM fotoeliminacijom halogenovodika[93–95]

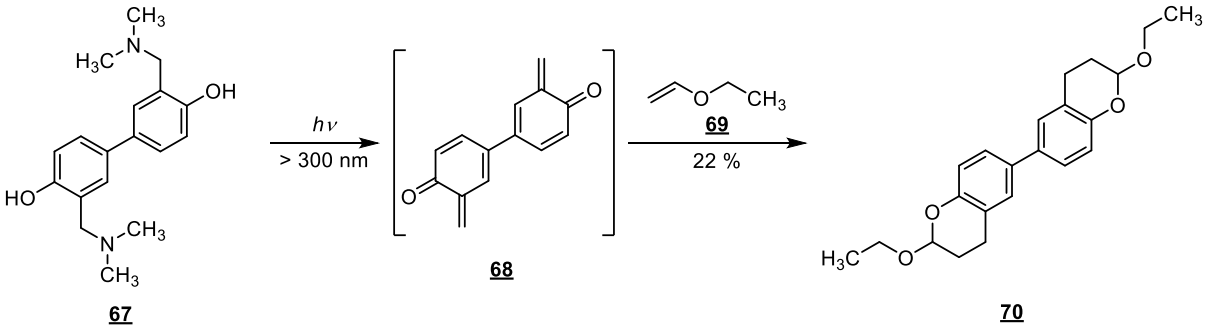
Primjer generiranja QM iz molekula tipa **66** (shema 22) koje fotolitičkom eliminacijom octene kiseline daju QM opisali su Kresge[96] i suradnici. Eliminacijom octene kiseline iz prekursora **66** nastaje roditeljski *p*-QM (**2**) (shema 22) koji je po prvi puta detektiran laserskom pulsnom fotolizom (LFP, *engl. laser flash photolysis*).[96] Osim fotolitičkog generiranja QM na *p*-supstituiranim derivatima provedene su reakcije i na *o*-supstituiranim derivatima.[97–100]



66 2

Shema 22. Fotoeliminacija octene kiseline iz derivata fenola **66** uz nastanak *p*-QM (**2**)[96]

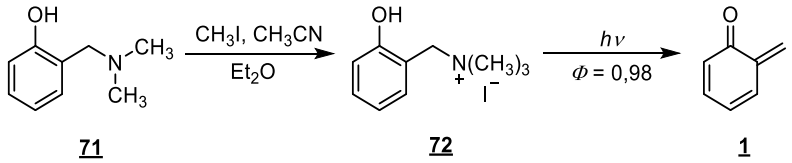
Saito[101] te Matsumoto[102] i suradnici pripremili su niz spojeva – Mannichovih baza fenola,[101] bifenila,[101] naftola[101,102] i fenantrola[102] koje fotoeliminacijom amina u vodenim otopinama mogu generirati QM. Iako QM nisu spektroskopski dokazani, njihov nastanak posredno je potvrđen stvaranjem produkta [4+2] Diels-Alderove reakcije s etil-vinil-eterom (**69**).[101] Posebno zanimljiv je bifenilni prekursor **67** kojem su ispitali tendenciju stvaranja QM **68** kao reaktivnog intermedijera. Autori[101] su pretpostavili da su za nastanak produkta **70** zaslužne Diels-Alderove reakcije bis-QM **68** s etil-vinil-eterom (**69**) (shema 23). Iako autori navode potencijalnu primjenu spoja **67** za križno povezivanje lanaca molekule DNA, *in vitro* ispitivanja s DNA nažalost nisu provedena.[101]



67 68 70

Shema 23. Ftotolitičko generiranje bis-QM eliminacijom amina[101]

Dodatne modifikacije u smislu kvaternizacije dušika Mannichove baze fenola proveli su Freccero[6] i suradnici. Naime, autori[6] su pokazali da je kvantni prinos generiranja QM u vodenim otopinama iz spoja **72** znatno veći (Φ = 0,98 ± 0,02)[6] od alkoholnog derivata **79** (Φ = 0,23).[44] Spoj **72** pripremljen je metilacijom Mannichove baze **71** kao što je prikazano na shemi 24.



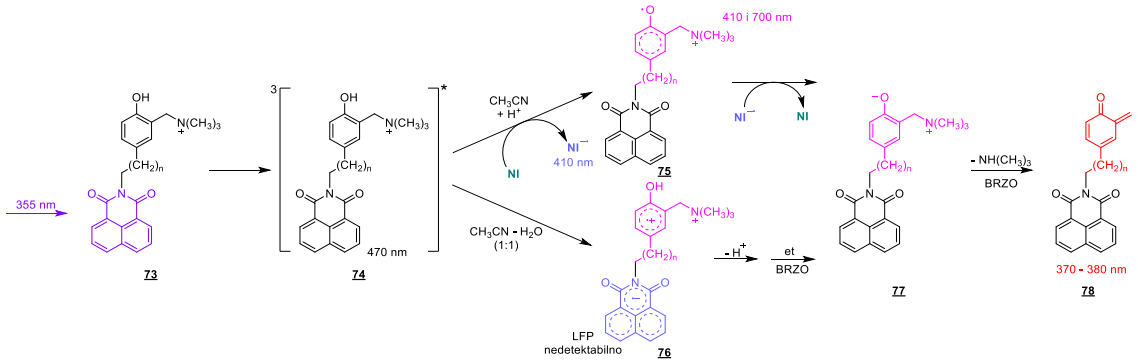
71 **72** **1**

Shema 24. Kvaternizacija dušika Mannichove baze i generiranje QM fotoeliminacijom kvaterne amonijeve soli[6]

Osim učinkovitijeg generiranja QM, prednost kvaternih amonijevih soli je njihova dobra topljivost u vodi kao i nepostojanje slobodnog aminskog dušika – nukleofilnog centra koji bi mogao reagirati s generiranim QM u intermolekulskim reakcijama.[103] Generiranje QM, temeljeno na fotoeliminaciji amonijevih soli dobivenih iz Mannichovih baza fenola, otvorilo je novo područje u istraživanju jer se reakcije generiranja QM odvijaju uz visoke kvantne prinose, a detekciju nastalih QM moguće je provesti LFP-om.[6] Učinkovitost generiranja dugoživućih QM u vodenim otopinama omogućilo je Frecceru[6] provođenje studije reaktivnosti nastalih QM s različitim biološkim nukleofilima među ostalim aminokiselinama glicinom, serinom, cisteinom, lizinom i tirozinom kao i tripeptidom glutationom (GSH).[6]

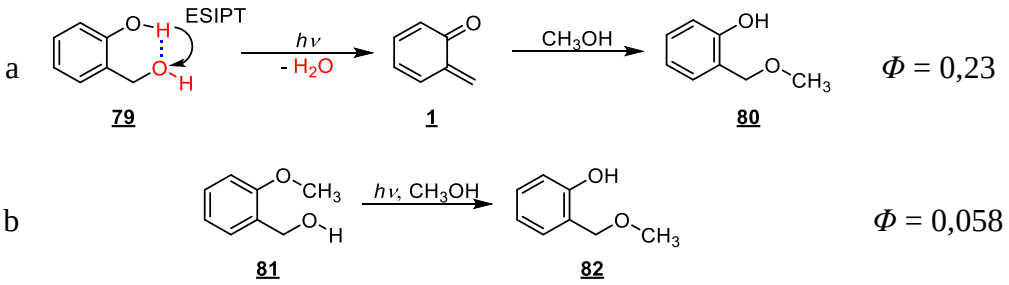
Zanimljiv je primjer fenol-naftalimidnog derivata **73** iz kojeg je također fotoeliminacijom amonijeve soli moguće generirati QM **78**. Navedeni spoj posjeduje naftalimidnu podjedinicu koja ima dvije karakteristike. Prva karakteristika naftalimida proizlazi iz svojstva naftalimida kao DNA interkalatora,[29] dok je druga karakteristika povezana s oksidacijskim svojstvima naftalimida u tripletnom pobuđenom stanju. Tako nakon populacije tripleta **74** slijedi intra- ili intermolekularni prijenos elektrona (eT) s fenola na naftalimid, a zatim deprotoniranje fenolnog radikal-kationa uz nastanak fenoksil-radikala **75**. Povratnim prijenosom elektrona (beT) nastaje fenolat **77** koji vrlo efikasnom eliminacijom amonijeve soli generira QM **78** (shema 25).[104] Mogućnost interkaliranja u DNA i fotofizička svojstva naftalimida iskorištena su kako bi se molekula prekursora QM dovela u blizinu DNA, nakon čega se pobuđivanjem i fotoinduciranim prijenosom elektrona generira QM. Primjer molekule **73** je prvi slučaj fotolitičkog generiranja QM potaknutog fotoinduciranim prijenosom elektrona. Reakcije s nekoliko nukleofila, zajedno s LFP istraživanjem, potvrdila su da je QM **78** ključni međuprodukt nastao ozračivanjem

molekule svjetlom većih valnih duljina od onih koje bi bile potrebne za izravnu pobudu prekursora QM bez naftalimidne podjedinice.[104]



Shema 25. Intermolekulski i intramolekulski fotoinducirani prijenos elektrona (PeT) koji potiče generiranje QM[104]

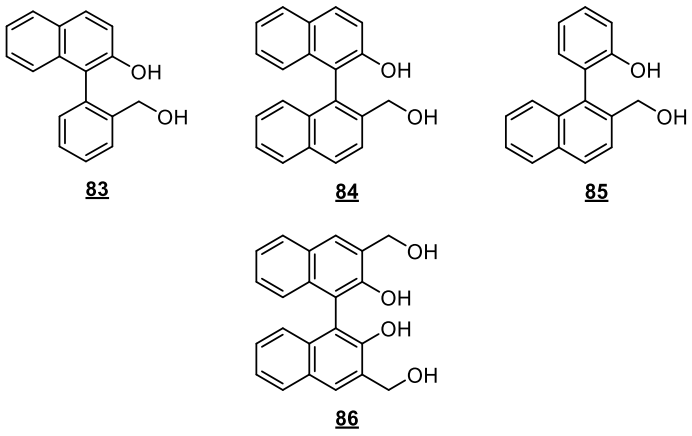
Fotodehidratacijske reakcije spadaju u najproučavanije reakcije generiranja QM. Gomberg[105] je 1913. godine objavio rad u kojem opisuje da benzenska otopina ili praškasti *p*-hidroksitrifenil karbinol mijenjaju boju u žutu ukoliko se izlože sunčevoj svjetlosti. Sam mehanizam reakcije generiranja QM ostao je nepoznat sve do kasnih 1970-tih godina kada je Lewis sa suradnicima ponovno studirao istu reakciju te su pomoću kristalne strukture razjasnili zašto je dehidratacijska reakcija moguća i u čvrstom stanju.[106] Prva sistematična istraživanja fotodehidratacijskih reakcija hidroksibenzilnih alkohola proveo je Wan[107] sa suradnicima. Navedena istraživanja uvelike su pridonijela i postala temelj današnjeg razumijevanja fotodehidratacijskih reakcija. Wan i suradnici proučavali su fotosolvolize derivata fenola te su ustvrdili da derivat **79** ima veći kvantni prinos fotosolvolize nego metoksi derivat **81** (shema 26).[107] Kao razlog tome Wan i suradnici naveli su da kod metoksi derivata **81** ne može doći do intramolekulskog prijenosa protona u pobuđenom stanju – ESIPT (*engl. excited state intramolecular proton transfer*), te je izlazak benzilne –OH skupine puno teži.[44,107] Teorijskom i eksperimentalnom studijom detaljno je opisan mehanizam fotolize fenola **79**.[108] Naime, fotopobuđivanjem **79** u ultrabrzoj adijabatskoj reakciji nastaje QM **1** u pobuđenom stanju, bez ikakvog detektiranog međuprodukta i to sinkroniziranom eliminacijom vode što je dokazano femtosekundnom spektroskopijom.[108]



Shema 26. Fotokemija: (a) hidroksibenzilnog alkohola **79** i (b) etera hidroksibenzilnog alkohola **81**[107]

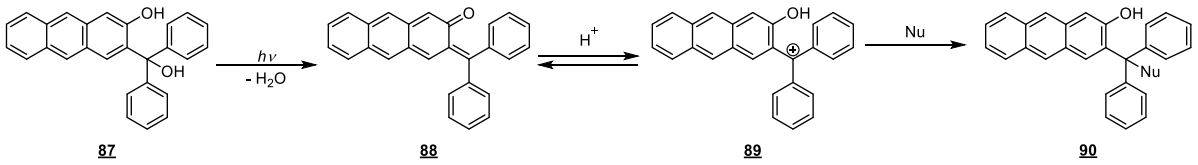
Daljnja istraživanja Wana[44,109] i suradnika provedena su na nizu *o*-, *m*- i *p*- supstituiranih hidroksibenzilnih alkohola kod kojih su vodikovi atomi metilenske skupine zamijenjeni jednom ili dvjema fenilnim skupinama. Utvrđeno je da veće kvantne prinose nastanka QM imaju *o*-supstituirani derivati što je posljedica postojanja vodikove veze između fenolne –OH i benzilne –OH skupine, pa lako dolazi do ESIPT-a. Kod *m*- i *p*-supstituiranih derivata vodikova veza između fenolne –OH i benzilne –OH skupine iste molekule ne može postojati i ESIPT se ne može dogoditi. Prijenos protona tada se odvija uz posredovanje protičnog otapala – ESPT (*engl. excited state proton transfer*).[44,109]

Wan,[110] Popik[111] te Freccero[112] i suradnici proširili su kromoforni sustav te su proveli istraživanje fotodehidratacijskih reakcija na naftalenskim derivatima **83**-**86** (slika 4). Generiranje QM iz takvih derivata posebno je zanimljivo za biološku primjenu jer povećani kromoforni sustav nudi mogućnost generiranja QM sa svjetlošću valnih duljina većih od 350 nm.



Slika 4. Strukturne formule naftalenskih prekursora za generiranje QM fotoeliminacijom vode[110–112]

U Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju Instituta Ruđer Bošković provedena je sinteza i istražena je fotokemijska reaktivnost derivata antracena **87** (shema 27).[23] Pripremljeni derivati antracena pokazali su se vrlo zanimljivima iz razloga jer je za fotogeneriranje QM korišteno zračenje valnih duljina većih od 400 nm što ih čini pogodnima za primjenu u biološkim sustavima. LFP studijom je dokazan nastanak QM **88** kao reaktivne vrste u 2,2,2-trifluoretanolu (TFE) kao otapalu. Kako je TFE kiselo otapalo, QM **88** protoniranjem vrlo lako prelazi u karbokation **89**, koji u reakcijama s nukleofilima daje adukte tipa **90**. Zanimljivo je da etanolamin kao nukleofil ne reagira s QM **88**, a navedeno opažanje je objašnjeno bazičnošću etanolamina koja onemogućuje protoniranje QM **88** u karbokation **89**[23]

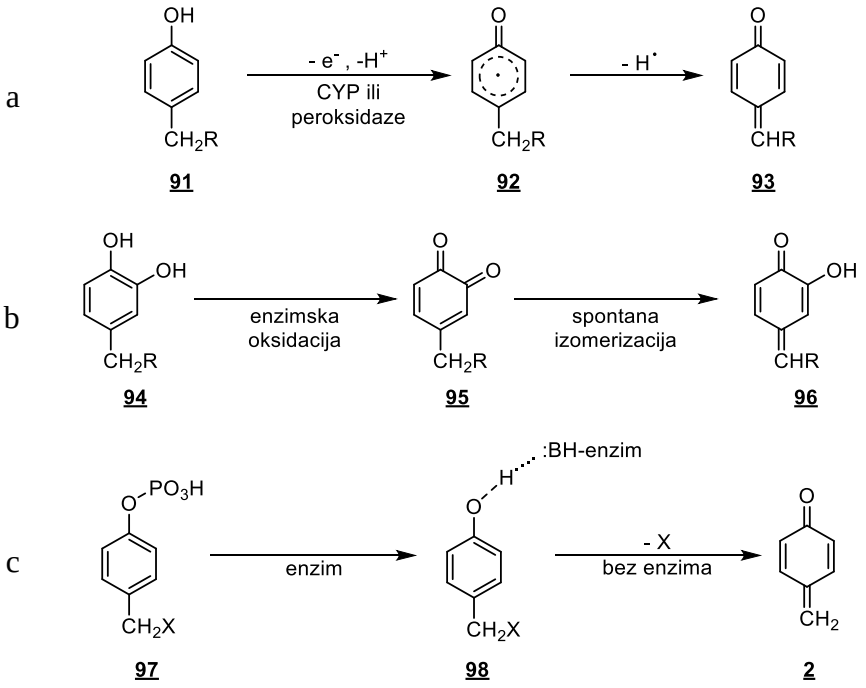


Shema 27. Generiranje QM fotoeliminacijom vode iz derivata antracena[23]

2.1.5. Nastajanje kinon-metida u biološkim uvjetima

Metabolizam ksenobiotika jedan je od najvažnijih načina zaštite organizma od stranih tvari, a može se opisati kao zbroj svih kemijskih transformacija koje se odvijaju na molekulama ksenobiotika. Kemijske transformacije služe kako bi se molekule ksenobiotika što efikasnije deaktivirale, eliminirale i izlučile iz organizma. Iako se neke reakcije deaktivacije odvijaju spontano, u većini ostalih reakcija potrebno je sudjelovanje brojnih enzima od kojih su značajniji citokrom P450 monooksigenaze (CYP), flavin-monooksigenaze (FMO), glutation *S*-transferaze i glukouronil-transferaze.[113] Navedeni enzimi vrlo su važni s gledišta medicinske kemije i farmaceutske industrije jer su odgovorni za metabolizam i aktivnost lijekova.[114] Reakcije koje provode navedeni enzimi mogu se podijeliti na reakcije oksidacije, redukcije, hidrolize i konjugacije s drugim molekulama. Tijekom metabolizma različitih sintetskih ili prirodnih molekula koje sadrže *o*- ili *p*-alkil supstituirane fenole vrlo često kao intermedijeri nastaju QM.[3] Zbog kemijske prirode i reaktivnosti, QM nastali u biološkim sustavima s prisutnim tiolnim i amino-skupinama peptida, proteina i nukleinskih kiselina najčešće reagiraju u neenzimskim Michaelovim adicijama na metilensku skupinu. Navedene reakcije odgovorne su za citotoksičnost i genotoksičnost roditeljskih fenola.[3,115]

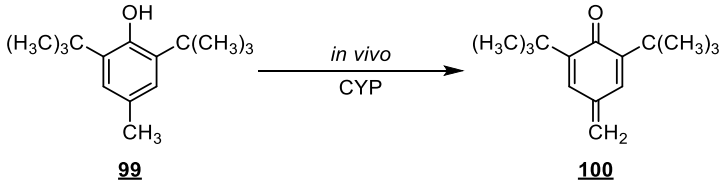
Dva su glavna puta kojim QM mogu nastati u biološkim sustavima: enzimska oksidacija (shema 28 a)[116] i izomerizacija *o*-kinona (shema 28 b).[117–119] U prvom slučaju radi se o uklanjanju dva elektrona (ili elektrona i vodikovog atoma) iz odgovarajućih *p*-supstituiranih fenola **91** u čemu najčešće sudjeluju CYP-ovi ili peroksidaze. U drugom slučaju radi se o oksidaciji derivata 4-alkilkatehola **94** pri čemu nastaju *o*-kinoni **95** koji u ovisnosti o kiselosti protona na 4-alkilnom položaju spontano izomeriziraju u *o*-hidroksi-*p*-QM **96**.[3] Još jedan značajniji način kojim QM nastaju u biološkim sustavima je spontana hidroliza derivata fenola **97** koji imaju na benzilnom položaju prikladnu izlaznu skupinu (shema 28 c).[120,121] Navedena reakcija može biti katalizirana bazičnom aminokiselinom enzima.[3,120,121] Tako nastali QM mogu reagirati na jedan od tri načina: (1) QM alkilira enzim u kojem je nastao, (2) QM reagira s vodom u reakciji hidratacije i (3) QM napušta enzim u kojem je nastao i reagira s ostalim biološkim nukleofilima. Na koji će od ta tri načina QM reagirati prvenstveno ovisi o njegovoj reaktivnosti i strukturi enzima u kojem je nastao.



Shema 28. Putevi nastanka QM u biološkim sustavima: (a) enzimska oksidacija[116]; (b) *o*-kinon izomerizacija[117–119] i (c) spontana hidroliza derivata fenola[120,121]

Iz literature su poznati i proučavani mnogi primjeri nastanka QM u biološkim sustavima. Primjerice, djelovanjem CYP enzima na 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (butilirani hidroksitoluen, BHT) (**99**) nastaje QM **100** (shema 29) koji može alkilirati biološke nukleofile

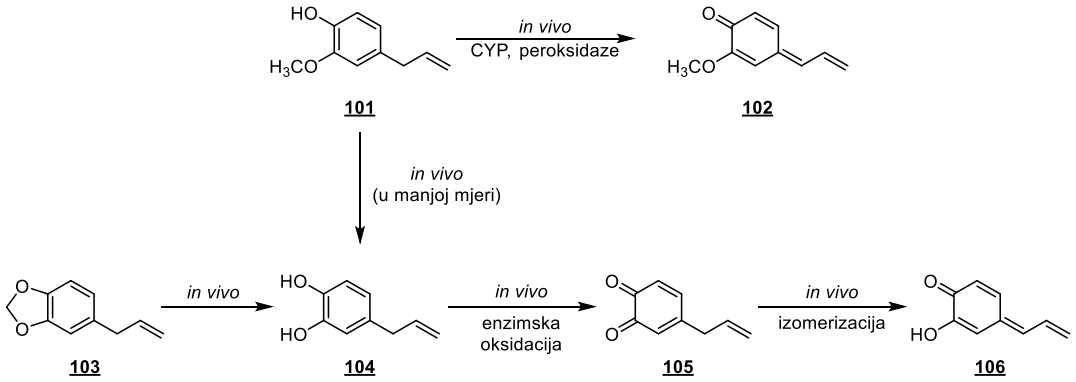
prisutne u stanici.[3,116,122] Witschi[123] i suradnici pokazali su da su CYP enzimi odgovorni za generiranje QM **100** iz BHT (**99**) tako što su miševe izlagali djelovanju ^{14}C-obilježenog BHT-a u prisutnosti i odsutnosti CYP inhibitora. U prisutnosti CYP inhibitora, toksičnost i nastanak adukata BHT i proteina nisu uočeni.[123] BHT (**99**) je zanimljiv iz razloga što se upotrebljava kao antioksidans u hrani, kozmetičkim proizvodima, farmaceutskoj i kemijskoj industriji. Međutim zbog njegove dokazane kancerogenosti na eksperimentalnim životinjama nastoji ga se zamijeniti s manje opasnim antioksidansima.[124]



99 **100**

Shema 29. Nastanak QM **100** iz BHT (**99**) djelovanjem CYP enzima[3]

Bolton[125,126] i suradnici proučavali su nastajanje QM iz eugenola (**101**) (shema 30), prirodnog organskog spoja prisutnog u eteričnim uljima klinčića[127] i cimeta.[128] Dokazali su da se QM **102** nastao u hepatocitima veže na proteine i DNA što se u konačnici očituje kao citotoksični efekt.[125,126] Kancerogenost hidroksikavikola (**104**), prirodnog spoja koji je prisutan u lišću biljke betelov papar (*Piper betle*)[129] i jednog od glavnih metabolita safrola (**103**) i u manjoj mjeri eugenola (**101**), pripisuje se metaboličkom nastanku QM **106**.[130,131] Enzimskom oksidacijom spoja **104**, a potom izomerizacijom nastalog *o*-kinona **105** nastaje QM **106** kao što je prikazano na shemi 30.[3] *o*-kinon **105** relativno je stabilan, a izolirani su njegovi adukti s tiolnim nukleofilima uključujući i adukte s glutationom (GSH).[117]



101 **102** **103** **104** **105** **106**

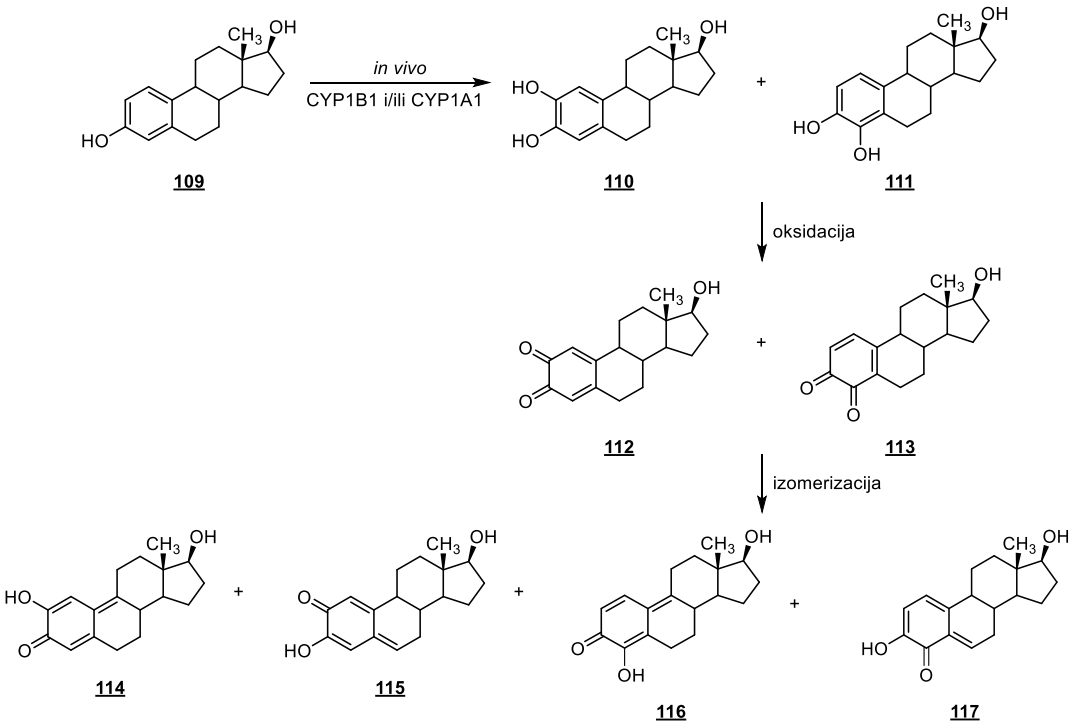
Shema 30. Reakcije nastanka QM **102** i **106** djelovanjem enzima na eugenol (**101**) i safrol (**103**)[3]

Mutagena, karcinogena i antikarcinogena aktivnost kapsaicina (**107**), prirodnog alkaloida izoliranog iz ljute paprike ispitana su u nekoliko navrata i pripisuju se mogućnosti nastanka QM **108** (shema 31).[132–134]

107 **108**

Shema 31. Reakcije nastanka QM **108** djelovanjem enzima na kapsaicin (**107**)[132–134]

Molekulski mehanizmi kao i karcinogeneza estradiola (**109**) vrlo su kompleksni, a pripisuju se nastanku kinona **112** i **113** i njihovoj izomerizaciji u QM **114**-**117** djelovanjem CYP enzima (shema 32).[3,119,135]



109 **110** **111** **112** **113** **114** **115** **116** **117**

Shema 32. Reakcije nastanka QM iz estradiola (**109**)[3,119,135]

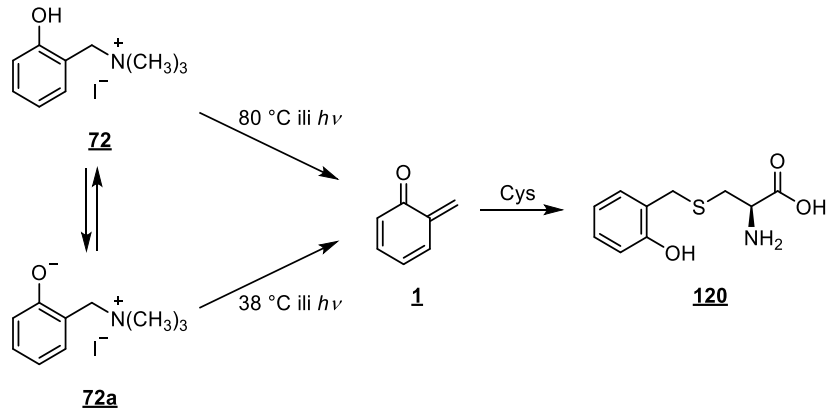
2.2. Biološka aktivnost kinon-metida

Biološka aktivnost QM pokazana je na mnoštvu primjera, a uglavnom se temelji na elektrofilnom karakteru QM iz kojeg proizlazi sposobnost alkiliranja biomolekula – aminokiselina,[6,7] peptida i proteina,[8–10] nukleozida[136,137] i nukleinskih kiselina[11–16]. Osim

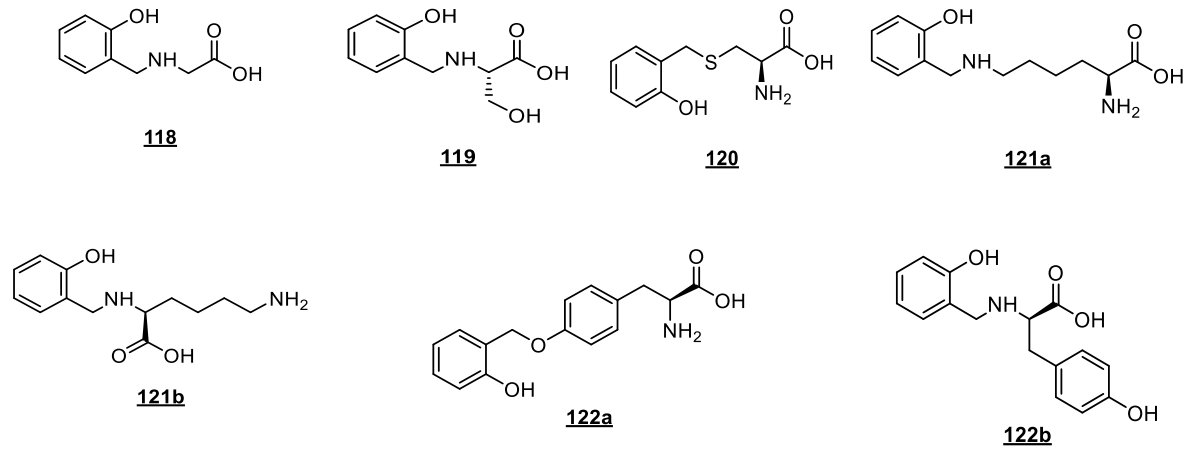
navedenog, QM pokazuju inhibitornu aktivnost prema nekim enzimima[138–146] kao i mogućnost križnog povezivanja lanaca molekule DNA[15–19,75,76,147,148] što ih svrstava u kategoriju potencijalnih antitumorskih spojeva.[16,17,149]

2.2.1. Reakcija kinon-metida s aminokiselinama i proteinima

Kovalentne modifikacije i studiju reaktivnosti aminokiselina s različitim QM proveli su Freccero,[6] Bolton[7] i suradnici. Proučavali su alkiliranje aminokiselina s različitim QM u vodenom mediju. Freccero[6] je ispitao reaktivnost termički i fotolitički generiranog *o*-QM (**1**) s aminokiselinama glicinom, serinom, cisteinom, lizinom i tirozinom. QM (**1**) je generiran iz trimetilamonijeve soli **72** (shema 33), a produkti, alkilirane aminokiseline **118**-**122** prikazane su na slici 5.



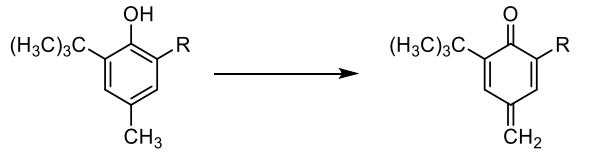
Shema 33. Termolitičko i fotolitičko generiranje *o*-QM (**1**) i reakcija s cisteinom



Slika 5. Strukturne formule produkata nastalih reakcijom QM (**1**) i aminokiselina[6]

Freccerovo istraživanje[6] reakcija termolitički ili fotolitički generiranog *o*-QM (**1**) pri kiselim, neutralnim i bazičnim uvjetima u vodenom mediju s aminokiselinama, dalo je korisnu kvantitativnu karakterizaciju elektrofilnog karaktera QM **1**. Istraživanjem je utvrđeno da vrlo reaktivni *o*-QM (**1**) može alkilirati čak i tirozinski bočni ogranak. Također, kemoselektivnost kod alkilacije lizina i tirozina je pH ovisna. Konkretno, omjeri produkata **121a/121b** i **122a/122b** postepeno rastu promjenom pH iz neutralnog u bazični.[6] Freccero[6] navodi da se zagrijavanjem ili osvjetljavanjem aminokiselinskih adukata **118**-**122**, ovisno o pH medija, može regenerirati QM (**1**). Iz navedenog razloga, adukti QM i aminokiselina mogu poslužiti kao QM prekursori.[6]

Bolton[7] sa suradnicima proučavala je ponašanje nukleofilnih aminokiselina u reakcijama s QM različitih elektrofilnosti odnosno reaktivnosti. Kao prekursori QM korišteni su spojevi **99**, **123** i **124** koji daju odgovarajuće QM – **100**, **125** i **126** (shema 34). QM **100** predstavlja najmanje elektrofilni spoj u seriji, dok QM **126** ima najizraženiji elektrofilni karakter i prema tome najlakše alkilira aminokiseline.[7]



99 R = $C(CH_3)_3$
123 R = $C(CH_3)_2CH_2OH$
124 R = CH_3

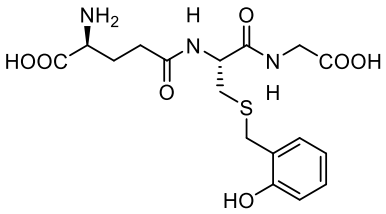
100 R = $C(CH_3)_3$
125 R = $C(CH_3)_2CH_2OH$
126 R = CH_3

Shema 34. Generiranje QM iz BHT (**99**) i njegovih analoga[7]

Istraživanja Freccera[6] i Bolton[7] su pokazala da je kod svih ispitanih aminokiselina, uz iznimku cisteina glavno mjesto alkiliranja α-amino-skupina. Cistein stvara tioetere s velikom selektivnošću čak i sa slabije reaktivnim QM **100**. Aminokiseline lizin i tirozin, ovisno o reaktivnosti QM, mogu reagirati preko bočnog ogranka ili preko α-amino-skupine, dok serin može reagirati jedino preko α-amino-skupine. Navedeni rezultati ukazuju da bi se temeljem kemijske reaktivnosti alkiliranja peptida trebala odvijati prema redoslijedu – cistein-SH > *N*-terminalna aminokiselina > lizin-εNH_2 ≈ histidin-imidazol, pri čemu se alkiliranje bočnih lanaca događa samo s elektrofilnijim QM.[7]

Kako su aminokiseline građevni blokovi peptida i proteina, očekivano je da QM kovalentno modificiraju navedene biomakromolekule. Dokazano je da peptidi i proteini pokazuju relativno veću reaktivnost s QM od aminokiselina.[7] Reakcije QM s tiolnim skupinama glutationa (GSH)

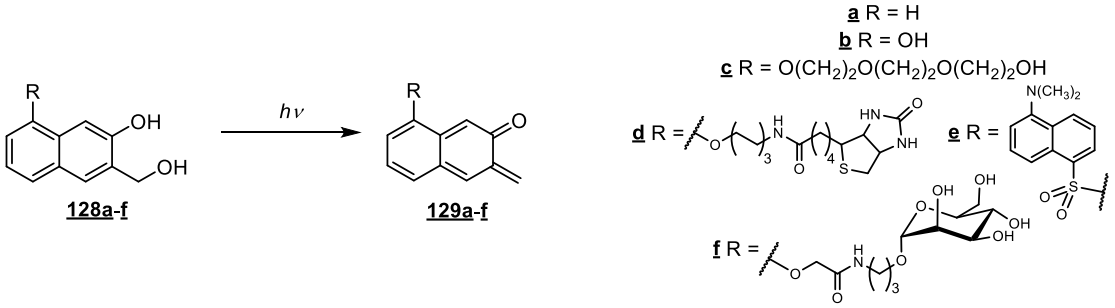
ili cisteinskim bočnim ogranancima proteina vrlo su brze.[7] Alkiliranje staničnih proteina često je ograničeno reakcijom QM s unutarstaničnim tripeptidom glutationom (GSH), što je pokazano u nekoliko primjera.[122,150,151] Kod stanica koje su bile osiromašene GSH količina alkiliranih proteina i toksičnost QM bili su izraženiji nego kod stanica u kojima je koncentracija GSH bila normalna. 2001. godine Freccero[6] i suradnici su priredili i potpuno okarakterizirali adukt **127** koji nastaje reakcijom glutationa i *o*-QM (**1**) (slika 6).[6]



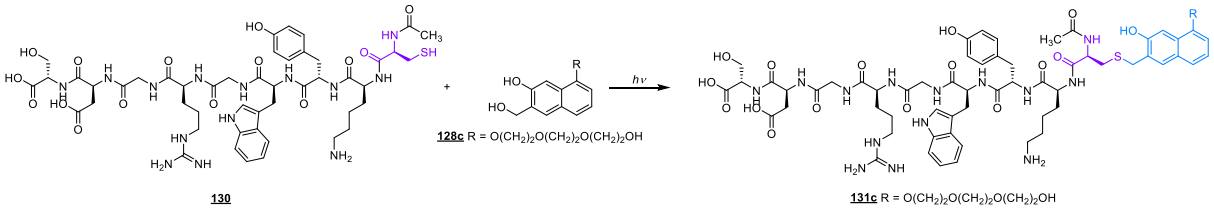
127

Slika 6. Strukturna formula adukta nastalog reakcijom glutationa i *o*-QM[6]

Vodeći se spoznajom da QM najčešće reagiraju sa slobodnom tiolnom skupinom cisteina, Popik,[9] Jiang[10] i suradnici razvili su metodu obilježavanja proteina fotogeneriranim QM, što se među ostalim može iskoristiti u svrhu istraživanja interakcija proteina i liganda ili dva proteina. Popik[9] je sa suradnicima pripravio niz derivata naftola **128** (shema 35). Osvjetljavanjem (λ = 300 ili 350 nm) vodenih otopina spojeva **128** u prisutnosti proteina i polipeptida uočena je selektivnost generiranih *o*-QM **129** (shema 35) prema slobodnim cisteinskim tiolnim skupinama.[9]

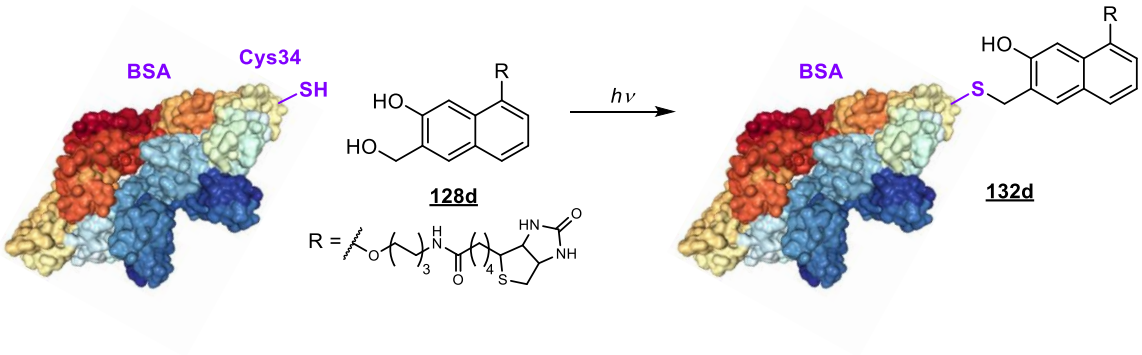


Shema 35. Prekursori QM i shema njihovog fotolitičkog generiranja[9]



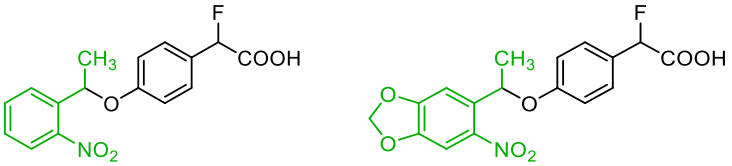
Shema 36. Reakcija fotolitički generiranog QM s oligopeptidom **130**[9]

Navedena selektivnost prema cisteinu dokazana je tako da ukoliko se u oligopeptidu **130**, koji je prikazan na shemi 36, cistein zamijeni metioninom ili se oligopeptid dimerizira preko cistinskog mosta, tada fotogenerirani QM neće reagirati s oligopeptidom. Selektivnost prema cisteinu je uspješno ispitana i s albuminom iz goveđeg seruma (BSA) za koji je poznato da posjeduje otapalu izložen cisteinski bočni ogranak (Cys-34) (shema 37). Ukoliko je tiolna skupina Cys-34 kovalentno modificirana, neće doći do reakcije BSA s fotogeneriranim QM.[9]



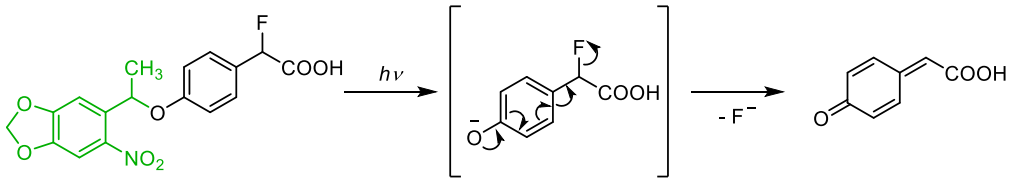
Shema 37. Shematski prikaz kovalentne modifikacije albumina goveđeg seruma (BSA) fotogeneriranim QM iz derivata **128d**[9]

Jiang[10] je sa suradnicima priredio QM prekursore **133** i **134** (slika 7) koji mogu fotogenerirati odgovarajuće QM. Navedene prekursore autori su pripremili u svrhu obilježavanja proteina. Prekursori **133** i **134** posebno su zanimljivi jer posjeduju fotolabilnu zaštitnu skupinu (označeno zelenom bojom) koja se oslobađa ukoliko se molekula prekursora osvijetli UV zračenjem (365 nm), pri čemu istovremeno dolazi do spontane eliminacije fluorida uz nastanak QM (shema 38).[10] Uklanjanje zaštitne skupine (označeno zelenom bojom) jednostavnije je iz **134** što za posljedicu ima da je QM **136** lakše generirati iz **134** nego iz **133**. Također je vrlo zanimljivo što autori[10] navode da bi se fotolabilna zaštitna skupina iz **134** mogla ukloniti osvjetljavanjem pri 400 nm ukoliko je molekula proteina vrlo osjetljiva na UV zračenje (365 nm).[10]



133 **134**

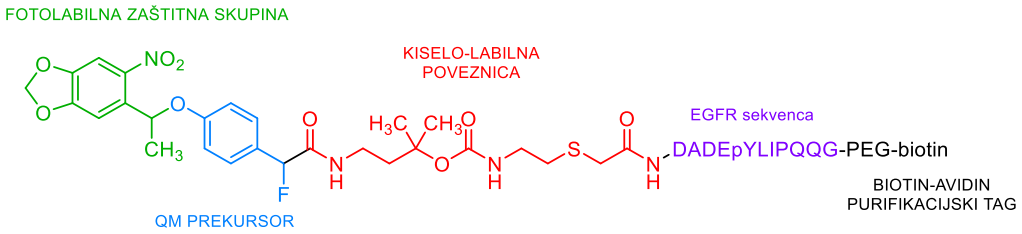
Slika 7. Prekursori s fotolabilnim zaštitnim skupinama korišteni za fotolitičko generiranje QM[10]



134 **135** **136**

Shema 38. Fotolitičko generiranje QM iz prekursora **134** koji posjeduje fotolabilnu zaštitnu skupinu[10]

Navedeni princip generiranja QM iskoristili su Jiang[10] i suradnici te pripremili peptidni konjugat **137** (slika 8) kojim su proveli kovalentno obilježavanje proteina preko točno određenih cisteinskih bočnih ogranka.[10]



137

Slika 8. Prekursor s oligopeptidnom podjedinicom, kiselo-labilnom poveznicom i fotolabilnom zaštitnom skupinom korišten za generiranje QM[10]

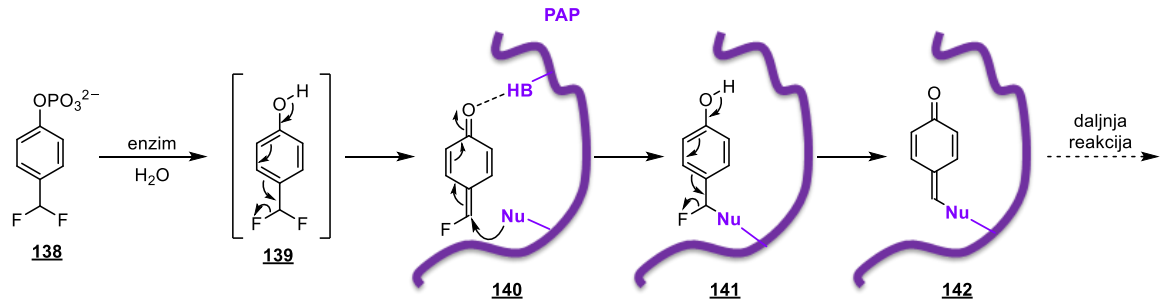
Kovalentne modifikacije tiolnih i amino-skupina peptida i proteina djelovanjem QM pokazane su i na primjerima tripeptida glutationa (GSH)[6,152] i tritirozina (Tyr_3),[8] proteinima hemoglobinu,[7,8] mioglobinu,[153] angiotenzinu III,[8] proteinima stresa (glutation-*S*-transferaza, stresom induciran fosfoprotein 1), proteinima zaduženim za metabolizam ugljikohidrata (α-enolaza, D-3-fosfoglicerat-dehidrogenaza, galektin 1), proteinima metabolizma nukleinskih kiselina (inozin-5'-monofosfat-dehidrogenaza, akonitaza 2, ribonukleoprotein H1), citoskeletnim proteinima (β-aktin, anaksin A3, vinkulin, α-tubulin, β-tubulin),

peroksiredoksinu, karbonil-reduktazi, selenij-vezujućem proteinu, tropomiozinu 5, apolipoproteinu A1, CuZn-superoksid dizmutazi, katalazi, glutation-peroksidazi i mnogim drugima.[154–156]

2.2.2. Deaktivacija enzima kinon-metidima

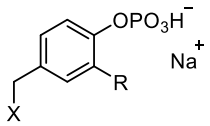
Enzimi su biomakromolekule koje kataliziraju kemijske reakcije u živom organizmu i najčešće su građeni od aminokiselina.[157] Poznat je cijeli niz spojeva čije se terapeutsko djelovanje zasniva na nekoj vrsti inhibicije enzima. Jedan od značajnijih načina inhibicije enzima poznatiji je pod nazivom samoubilačka inhibicija (*engl. suicide inhibition*) ili samoubilačka inaktivacija (*engl. suicide inactivation*). Pod tim pojmom podrazumijeva se vrsta inhibicije enzima do koje dolazi kada se analog supstrata veže u aktivno mjesto enzima, te uslijed vezanja i normalne katalitičke reakcije dolazi do nastanka reaktivne vrste koja s enzimom može stvoriti stabilan, najčešće kovalentni, ireverzibilni kompleks.[158] Poznati su prekursori QM koji mogu dovesti do samoubilačke inaktivacije enzima što u konačnici može dovesti do remećenja normalnog metabolizma stanice.

Whiters[140] i suradnici pripremili su fosfatni derivat fenola **138** (shema 39) s kojim su proveli kinetička mjerenja i pokazali da posjeduje mogućnost samoubilačke inaktivacije enzima humane fosfataze prostatične kiseline (HPAP) i SHP protein tirozin-fosfataze.[140] Fosforilacija i defosforilacija spadaju u značajne posttranslacijske modifikacije proteina koje mogu regulirati strukturu i aktivnost proteina. Iako rijetka, naspram fosforilacije serina i treonina, fosforilacija tirozinskih bočnih ogranaka proteina igra važnu ulogu u regulaciji metabolizma i proliferaciji stanica.[159–161] Navedena činjenica stavlja naglasak na fosfataze – enzime koji reguliraju količinu fosforiliranih proteina jer kataliziraju hidrolizu fosfatnih-monoestera pri kiselim uvjetima. Derivat **138** je fosfatni ester te je pogodan supstrat za navedene enzime. Aktivacijom spoja **138** putem djelovanja enzima fosfataze u aktivnom mjestu enzima nastaje QM **140** koji dovodi do alkiliranja odnosno samoubilačke inaktivacije enzima, kao što je prikazano na shemi 39.[140]



Shema 39. Shematski prikaz inaktivacije enzima fosfataze prostatične kiseline (PAP) fosfatnim derivatom fenola[140]

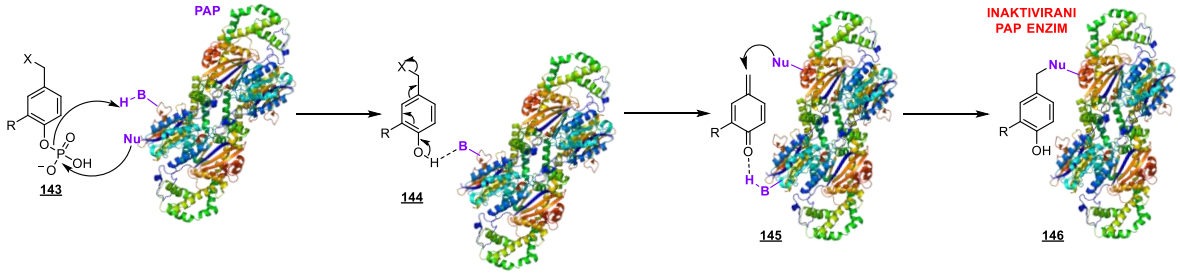
Widlanski[141] i suradnici priredili su derivate **143** (slika 9), koji su strukturno slični Whitersovom spoju **138**. Proveli su kinetička mjerenja inhibicije fosfataze prostatične kiseline (PAP) te su našli da je spoj **143b** dobar supstrat PAP enzima, ali ga ne inhibira, dok analozi **143c** i **143d** efikasno inhibiraju enzim.[141]



143a X = F, R = H
143b X = F, R = NO_2
143c X = Cl, R = NO_2
143d X = Br, R = NO_2

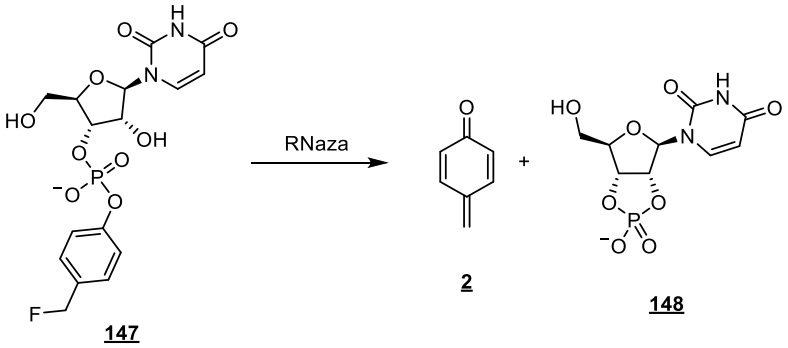
Slika 9. Fosfatni derivati fenola korišteni za inaktivaciju fosfataze prostatične kiseline[141]

Autori[141] su promatrali inhibiciju enzima uz dodatak cisteina (dobar „hvatač“ QM), međutim inhibicija enzima nije usporena što potvrđuje da QM nastaje u aktivnom mjestu enzima i automatski ga inhibira. Međutim, utvrđeno je da se u prisutnosti azida (još bolji „hvatač“ QM) aktivnost enzima vraća. Konačan zaključak autora[141] je da je efikasnost inhibicije PAP enzima ovisna o izlaznoj skupini pri čemu je sa **143d** (bromid kao izlazna skupina) inhibicija najbolja. Autori[141] također navode da najvjerojatniji razlog zašto spoj **143b** ne inhibira PAP spora eliminacija fluorida (**144** → **145**) iz elektronski osiromašenog sustava (shema 40). Također, uočena je selektivnost – derivat **143a** efikasno inhibira PAP i enzim YOP51* (Yersinia protein tirozin-fosfataza), dok nitro-derivati **143c** i **143d** pokazuju veću selektivnost prema PAP enzimu naspram YOP51*.[141]



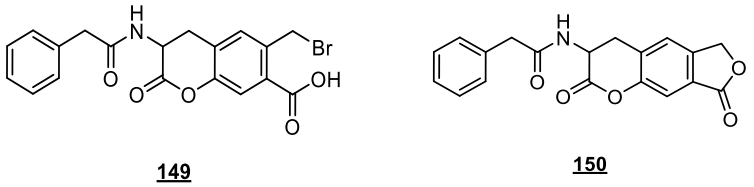
Shema 40. Shematski prikaz inaktivacije enzima fosfataze prostatične kiseline[141]

Widlanski[142] i suradnici priredili su spoj **147** koji je strukturni analog supstrata ribonukleaze A. Vezanjem u aktivno mjesto enzima i enzimskom aktivacijom nastaje *p*-QM (**2**) koji alkilira enzim i dovodi do ireverzibilne, samoubilačke inaktivacije (shema 41).[142] Ribonukleaza A (RNaza A) spada u skupinu nukleaza odnosno fosfodiesteraza, enzima koji kataliziraju razgradnju molekula RNA. Iako je mehanizam djelovanja ribonukleaza dobro istražen, vrlo je malo molekula koje mogu uzrokovati samoubilačku inaktivaciju navedenog enzima. Iako Widlanski[142] i suradnici nisu postigli stopostotnu inhibiciju ribonukleaze, rezultat do kojeg su došli važno je spomenuti jer autori opisuju samoubilačku inhibiciju fosfodiesteraznog enzima.[142]



Shema 41. Nastanak QM iz analoga supstrata djelovanjem ribonukleaze A[142]

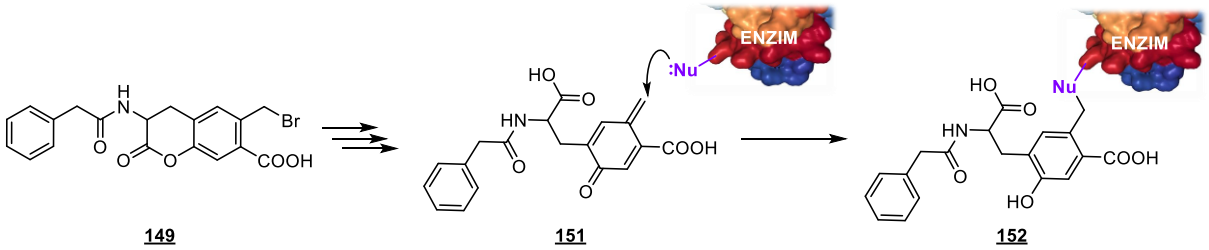
Wakselman[139] i suradnici priredili su dihidrobenzopiranonske derivate **149** i **150** (slika 10) kao supstrate enzima β-laktamaze.[139] β-laktamaze su bakterijski enzimi koji kataliziraju razgradnju β-laktamskih antibiotika (penicilini, cefalosporini, cefalomicini). Posjeduju ih bakterije koje su rezistentne na β-laktamske antibiotike. β-Laktamaza može provesti hidrolizu spojeva **149** i **150** iako su oni strukturno δ-laktoni i to je jedan od primjera u literaturi gdje se opisuje hidroliza δ-laktona β-laktamazama.[139]



149 150

Slika 10. Dihidrobenzopiranonski derivati korišteni za inaktivaciju β-laktamaze[139]

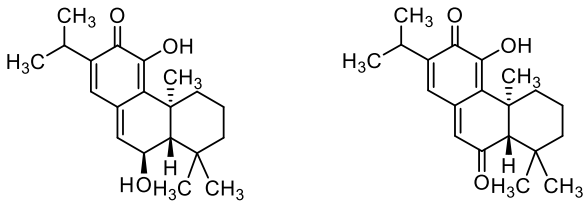
Derivati **149** i **150** posjeduju strukturni motiv koji tijekom djelovanjem enzima daje QM **151** koji može dovesti do samoubilačke inhibicije enzima β-laktamaze kao što je prikazano na shemi 42.[139]



149 151 152

Shema 42. Shematski prikaz nastanka QM **151** i reakcija nastalog QM s β-laktamazom[139]

Kupchan[144] i suradnici proučavali su inhibiciju glikolitičkog enzima fosfofruktokinaze spojevima izoliranim iz prirodnog materijala – taksodonom (**153**) i taksodionom (**154**) (slika 11).[144] Oba stabilna QM spadaju u prirodne diterpenoide izolirane iz močvarnog čempresa (*Taxodium distichum*).[162,163] Poznato je da su točno određeni cisteinski bočni ogranci fosfofruktokinaze zaduženi za enzimsku aktivnost pa je inhibicija djelovanja fosfofruktokinaze izravan dokaz reakcije spojeva **153** i **154** s tiolnim skupinama.[144]

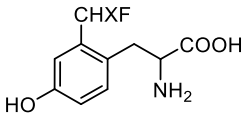


153 154

Slika 11. Strukturne formule taksodona (**153**) i taksodiona (**154**)

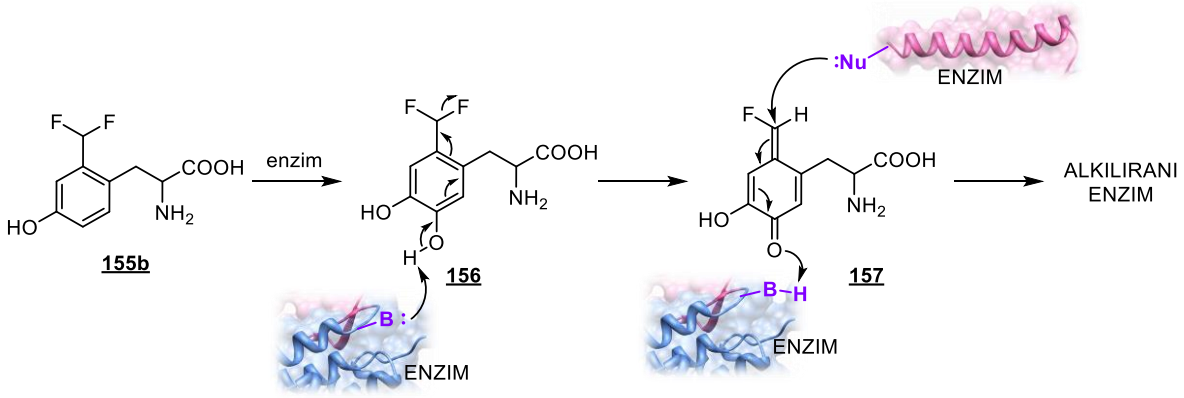
Tirozin-hidroksilaza vrlo je važan enzim u biosintezi kateholamina, neurotransmitera kao što su dopamin, adrenalin i noradrenalin. Navedeni enzim katalizira reakciju pretvorbe L-tirozina u L-3,4-dihidroksifenilalanin. Poznato je da lijek metirozin (Demser®) inhibira enzim tirozin-hidroksilazu i na taj način djeluje kao antihipertenziv. Vodeći se time, Sabol[138] i

suradnici priredili su inhibitore **155** (slika 12) te su potvrdili inhibitornu aktivnost spojeva na enzimu tirozin-hidroksilazi, međutim detaljan mehanizam koji uključuje nastanak QM **157** (shema 43) nije u potpunosti potvrđen.[138]



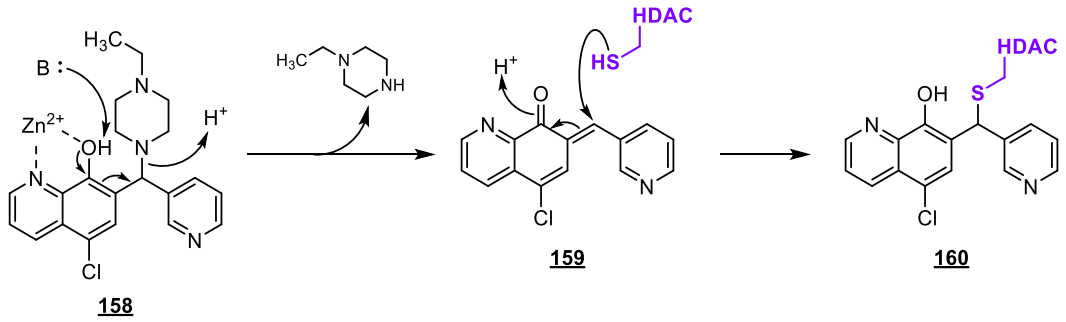
155a X = H
155b X = F

Slika 12. Derivati fenola korišteni za inhibiciju tirozin-hidroksilaze[138]



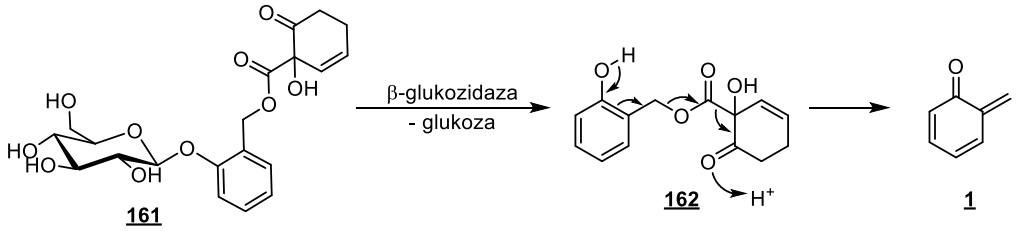
Shema 43. Shematski prikaz nastanka QM **157** i reakcija nastalog QM s tirozin-hidroksilazom[138]

Cink ovisne histon-deacetilaze (HDAC) su enzimi koji spadaju u skupinu hidrolaza koje hidroliziraju acetilne skupine lizinskih bočnih ogranaka histona.[164] Navedeni enzimi imaju važnu ulogu u regulaciji procesa značajnih za stanicu, od primjerice ekspresije gena do aktivnosti proteina. Poremećaj u aktivnosti HDAC povezan je s mnogim bolestima uključujući rak, neurološke poremećaje, poremećaje staničnog metabolizma i upalu.[143,164,165] Koehler[143] i suradnici pripremili su niz hidroksikinolinskih derivata, među kojima i derivat **158** koji je pokazao značajnu inhibitornu aktivnost HDAC5 i HDAC9 enzima u *in vitro* ispitivanjima.[143] Studija koju su autori[143] proveli navodi da reakcijom eliminacije nastaje QM **159** koji alkilira cisteinske bočne ogranke enzima što se u konačnici očituje kao inhibitorna aktivnost (shema 44).[143]



Shema 44. Prikaz nastanka QM **159** i reakcija nastalog QM s enzimom[143]

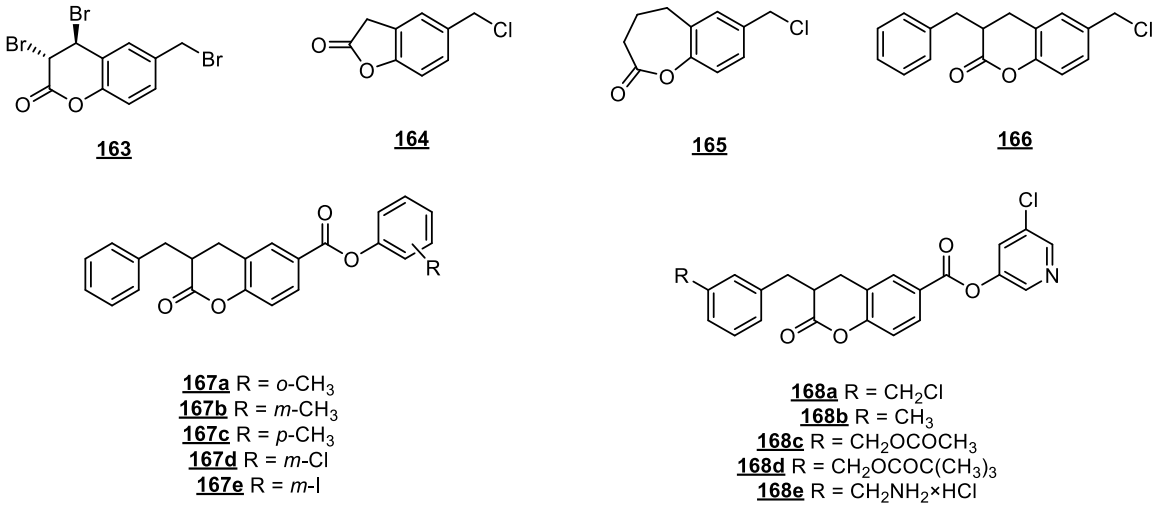
Salikortin (**161**) je prirodni organski spoj prisutan u biljkama porodice vrbovki (*Salicaceae*).[166] Clausen[145] i suradnici pokazali su sposobnost samoubilačke inaktivacije enzima β-glukozidaze iz *Agrobacterium faecalis* djelovanjem spoja **161**. Mehanizam inaktivacije enzima zasniva se na metaboličkom nastanku *o*-QM (**1**) na aglikonskom dijelu **162** tijekom enzimske aktivnosti, kao što je prikazano na shemi 45.[145]



Shema 45. Generiranje *o*-QM (**1**) iz salikortina (**161**) djelovanjem enzima β-glukozidaze[145]

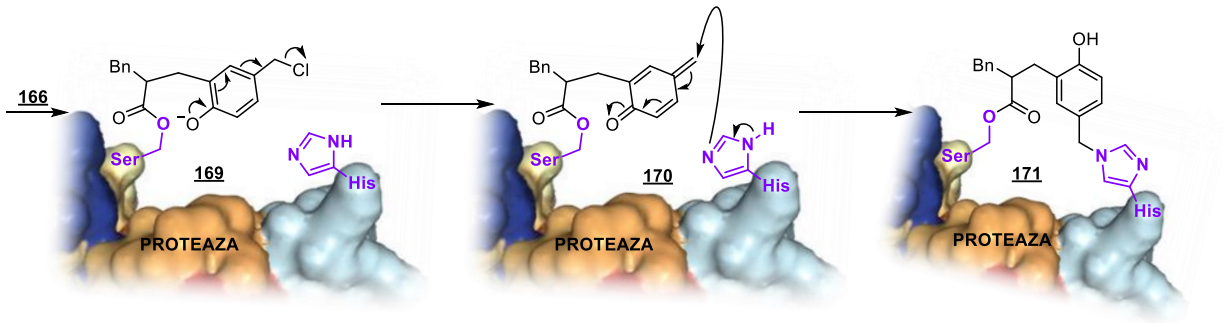
Serinske proteaze (peptidaze ili proteinaze) su enzimi koji hidroliziraju peptidne veze i sudjeluju u metabolizmu proteina. Osim amida (peptida), proteaze mogu hidrolizirati i estere uključujući laktone. Katalitička aktivnost navedenih enzima ovisna je o takozvanoj katalitičkoj trijadi (tri aminokiseline u aktivnom mjestu). Kod serinskih proteaza jedna od aminokiselina katalitičke trijade je serin čija hidroksilna skupina djeluje kao nukleofil i napada karbonilnu-skupinu peptidne veze. Uz sudjelovanje ostale dvije aminokiseline iz aktivnog mjesta dolazi do hidrolize peptidne veze i u konačnici oslobađanja slobodne amino- i karboksilne skupine.[167] Zbog vrlo važne uloge u metabolizmu proteina, serinske proteaze često su meta u razvoju različitih inhibitora kao potencijalnih lijekova, a mehanizam aktivnosti serinske proteaze čini pogodnima za samoubilačku inaktivaciju. U svrhu efikasne inhibicije serinskih proteaza pripremljeni su različiti derivati 3,4-dihidrokumarina **163**-**166**, kumarinkarboksilati **167**, **168** (slika 13), funkcionalizirani ciklopeptidi, neutralni dihalogenazetidinoni.[3] Djelovanje

funkcionaliziranih ciklopeptida i neutralnih halogenazetidinona zasniva se na nastanku dušikovog analoga QM, azakinon-metida.



Slika 13. Derivati 3,4-dihidrokumarina **163**-**166** i kumarinkarboksilati **167** i **168** korišteni za samoubilačku aktivaciju serinskih proteaza[3,168]

Mehanizam inhibicije serinskih proteaza dihidrokumarinima prikazan je na shemi 46, a uključuje nastanak QM **170** koji alkilira histidinski bočni ogranak.[3,168] Na taj način su dvije aminokiseline iz katalitičke trijade križno povezane odnosno dolazi do ireverzibilne inaktivacije enzima.[3,168]



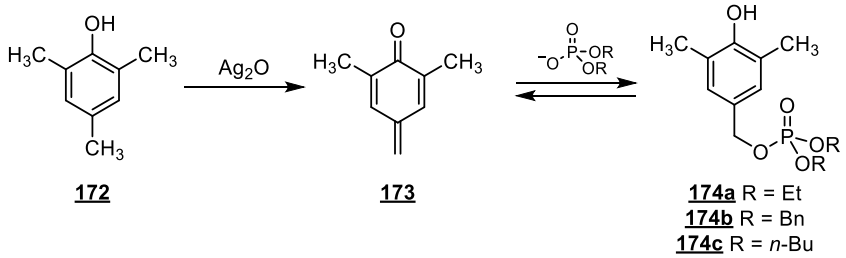
Shema 46. Shematski prikaz inhibicije serinske proteaze derivatom 3,4-dihidrokumarina **166**[3,168]

2.2.3. Reakcija kinon-metida s nukleozidima i DNA

Reaktivnost QM s nukleozidima i nukleinskim kiselinama vrlo je dobro istražena u čemu prednjače istraživanja na DNA,[15,17–19,75,76,147,148] dok su istraživanja na RNA gotovo

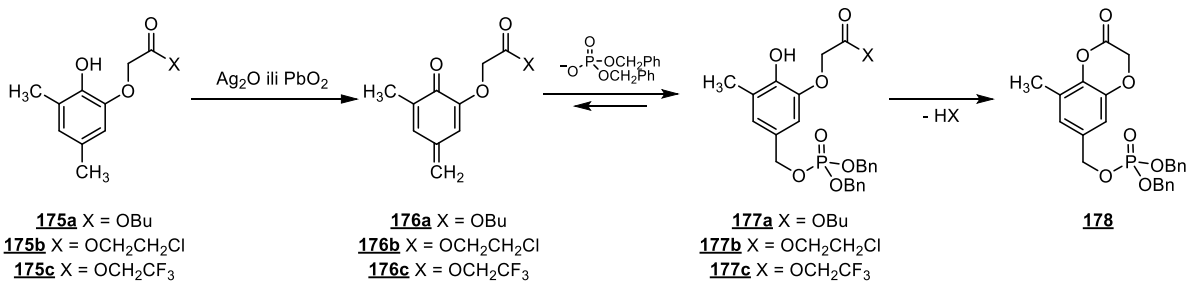
zanemarena. QM može alkilirati nukleinske kiseline ili na fosfatnoj okosnici[169–172] ili na samoj nukleobazi.[11,13,137,173–175]

Iako je fosfatna okosnica jedna od tri glavne komponente nukleinskih kiselina, reakcije alkiliranja s fosfatima nisu toliko istražene jer nisu selektivne za razliku od reakcija alkiliranja nukleobaza. Turnbull[169–172] i suradnici bavili su se reakcijama alkiliranja modelnih spojeva – fosfodiestera. Autori su pokazali da je mogućnost alkiliranja fosfodiestera djelovanjem QM **173** u vodenom mediju moguća, a pri pH = 4 reakcija alkiliranja je značajnija od reakcije hidrolize QM **173** (shema 47). Autori[170] tvrde da je navedeno zapažanje najvjerojatnije posljedica veće nukleofilnosti fosfodiestera pri pH = 4 naspram nukleofilnosti vode.[170] Međutim, Kresgi[96–99] i suradnici navode da se reakcije hidratacije QM u kiselim vodenim otopinama događaju preko brzog i reverzibilnog protoniranja QM na karbonilnom kisikovom atomu i to prijenosom protona s oksonijevog iona, nakon čega slijedi brza reakcija nastalog karbokationa s molekulom vode što se u konačnici očituje inverznim kinetičkim izotopnim efektom.[96–99]



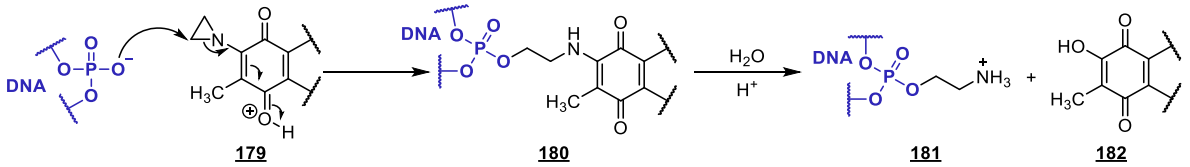
Shema 47. Nastanak QM **173** i reakcija alkiliranja fosfodiestera[170]

Pošto je fosfat dobra izlazna skupina, reakcije alkiliranja fosfodiestera su reverzibilne. Optimizacijom strukture prekursora QM pripremljeni su derivati katehola **175**.[172] Reakcija QM **176** s dibenzilfosfatom i *in situ* laktonizacija nastalog fosfatnog triestera **177** omogućila je Turnbullu[172] i suradnicima stabilizirati nastali fosfatni triester **178** i spriječiti povratnu reakciju (shema 48).[172]



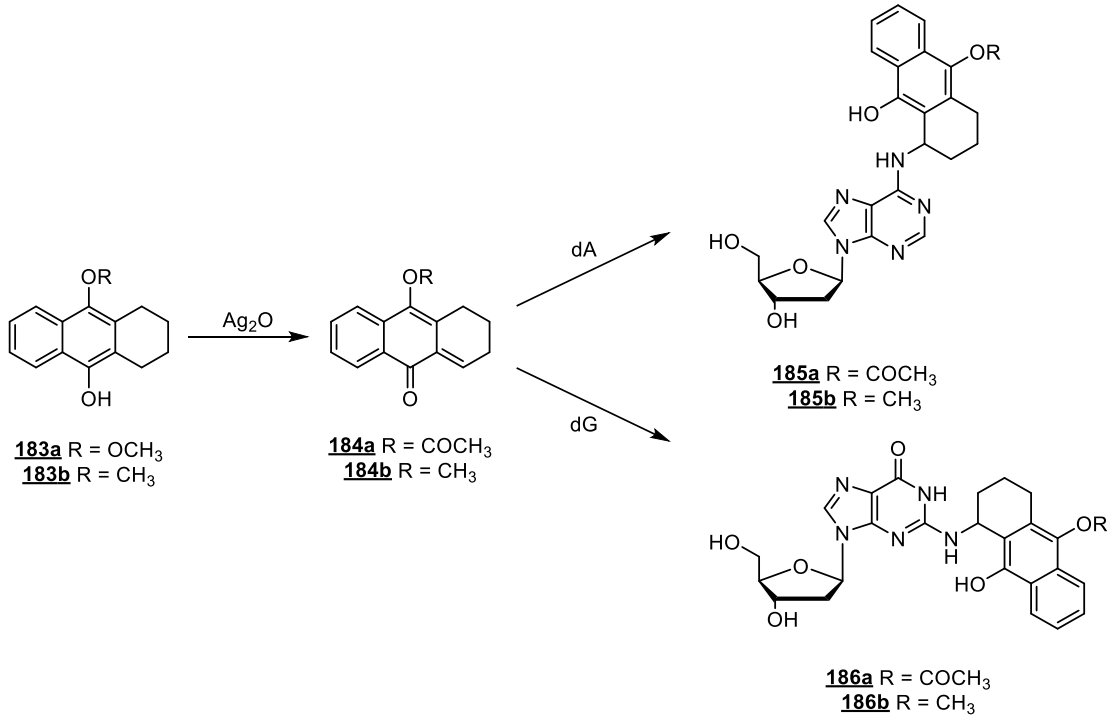
Shema 48. Nastanak QM **176** i ireverzibilna reakcija alkiliranja fosfodiestera[172]

Skibo[176] i suradnici pokazali su da derivati aziridinil-kinona **179** mogu alkilirati DNA na fosfatnoj okosnici (shema 49). Aminoetilna poveznica zbog prisutnosti amino-skupine daje kationske karakteristike fosfatnoj okosnici koje se mogu iskoristiti za vezanje nekih drugih kromofora ili drugih dijelova DNA.[176]



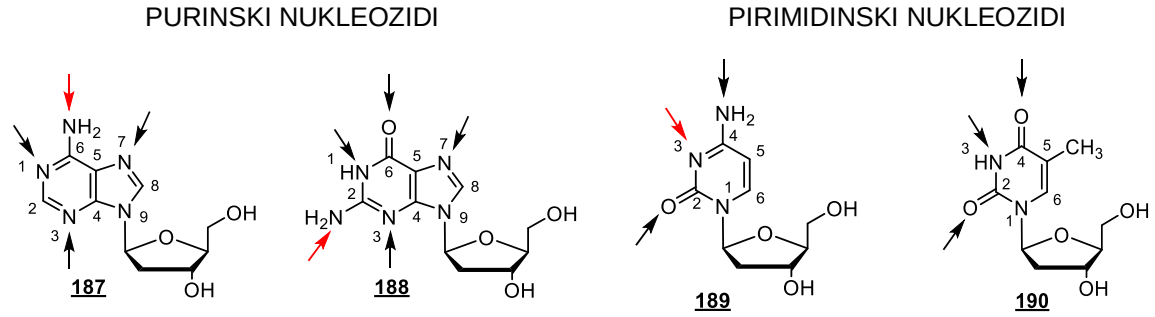
Shema 49. Alkiliranje fosfatne okosnice molekule DNA derivatom aziridinil-kinona **179**[176]

Ovisno o uvjetima i elektrofilnosti reagensa, alkiliranje dušičnih baza nukleinskih kiselina moguće je na bilo kojem kisikovom ili dušikovom atomu.[11] Angle[175] i suradnici pokazali su da oksidativnom aktivacijom nastali QM **184** može stvoriti stabilne kovalentne adukte **185** i **186** s purinskim deoksinukleozidima (shema 50).[175]



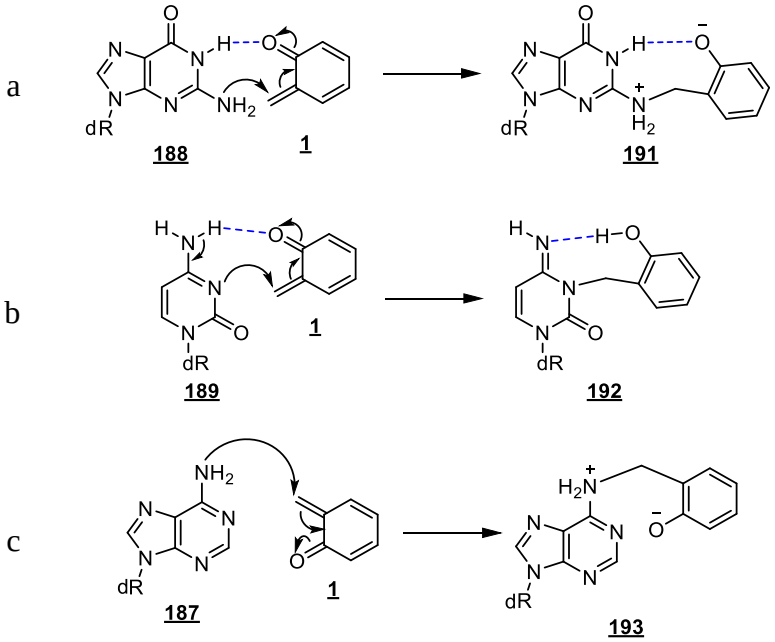
Shema 50. Alkiliranje deoksinukleozida djelovanjem QM[175]

Strukturne karakterizacije i izolacije produkata nastalih reakcijom *o*-QM i deoksinukleozida proveli su Rokita[11] i suradnici te su analizom višedimenzijskih NMR spektara produkata utvrdili najčešća mjesta alkiliranja deoksinukleozida.[11]



Slika 14. Strukturne formule nukleozida. Purinski – deoksiadenozin (dA, **187**) i deoksigvanozin (dG, **188**); pirimidinski – deoksicitidin (dC, **189**) i timidin (T, **190**). Strelicama su označena mjesta mogućih reakcija alkiliranja, dok je crvenim strelicama označeno mjesto alkiliranja u reakciji s *o*-QM[11]

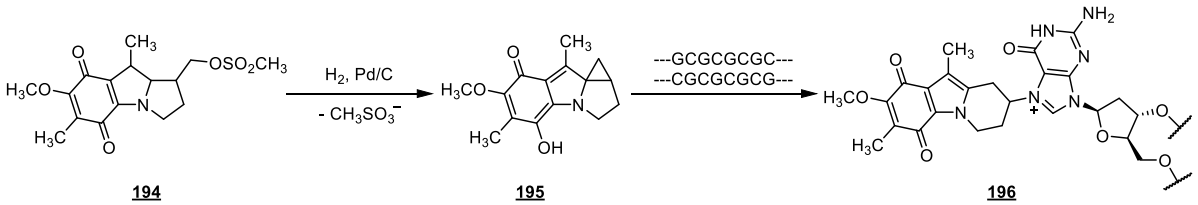
Purinski nukleozidi, deoksiadenozin (dA, **187**) i deoksigvanozin (dG, **188**), s *o*-QM reagiraju preko egzocikličkih amino-skupina na položajima (C^6-NH_2)[11,177] odnosno (C^2-NH_2),[178] dok deoksicitidin (dC, **189**) reagira preko dušikovog atoma (N^3) u prstenu.[11,179] Timidin (T, **190**) ne daje adukte s *o*-QM kod ispitanih uvjeta zbog njegove slabe nukleofilnosti (slika 14).[11] *In vitro* studijom pokazano je da je nukleozide moguće alkilirati i s manje reaktivnim *p*-QM.[180] U tom slučaju izolirani su produkti s timidinom (**190**) pri čemu je timidin alkiliran preko dušikovog atoma (N^3) u prstenu.[180] Ukoliko se mjesta alkiliranja usporede s nukleofilnošću atoma dušičnih baza i produktima alkiliranja dušičnih baza s ostalim alkilirajućim reagensima može se uočiti alkilacijska selektivnost *o*-QM prema određenim atomima u nukleozidima. Navedeno opažanje posljedica je stvaranja vodikove veze koja usmjerava *o*-QM, što u konačnici dovodi do selektivnosti.[11] Nastanak produkata **191** i **192** može se objasniti, međutim nastanak produkta **193** i dalje je iznenađujuć zbog vrlo slabe nukleofilnosti amino-skupine (C^6-NH_2) (shema 51). Proučavanjem mehanizma alkiliranja izotopno obilježenog C6-[^{15}N]dA utvrđeno je da je produkt alkilacije na položaju C^6-NH_2 termodinamički produkt, dok je produkt alkilacije na položaju N^1 kinetički produkt.[3,136] U konačnici, reakcije QM s nukleobazama su reverzibilne te kao rezultat alkiliranja nastaju termodinamički najstabilniji produkti.[11,180]



Shema 51. Moguće orijentacije *o*-QM i nukleozida: (a) dG (**188**); (b) dC (**189**) i (c) dA (**187**) (dR = deoksiriboza)[11,180]

Rokita[11] je sa suradnicima među ostalim proveo kompeticijske eksperimente s deoksinukleozidima te je utvrđeno da su reakcije alkiliranja citidina 10 puta brže nego reakcije alkiliranja purinskih nukleozida.[11] Mogućnosti stvaranja vodikovih veza i utjecaja otapala na alkiliranje pirimidinskih baza DFT komputacijskom studijom proveo je Freccero[181,182] sa suradnicima.

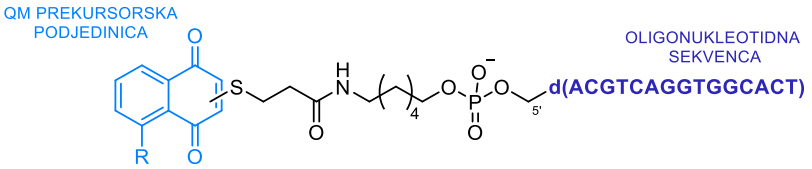
Dok reaktivnost nukleozida slijedi niz dC > dG ≈ dA >> T, u molekuli DNA situacija se mijenja te je reaktivnost svih dušičnih baza puno manja. To je najuočljivije za citozin čija se reaktivnost smanji za više od 3600 puta. U molekuli DNA do izražaja dolazi reaktivnost gvanina koji postaje glavna meta alkiliranja s QM, ponajprije na egzocikličkoj amino-skupini na položaju C^2.[11] Osim Rokite, reakcije alkiliranja oligonukleotidnih sekvenci i DNA proučavali su Skibo[183] i suradnici. Citotoksičnost spoja **194** koji su pripravili pripisuje se nastanku QM **195**. Autori[183] su pokazali alkilacijsku selektivnost QM **195** prema alternirajućoj poli[dG-dC]·poli[dC-dG] oligonukleotidnoj sekvenci (shema 52). Pri jednakim uvjetima alkilacijska aktivnost prema alternirajućoj poli[dA-dT]·poli[dA-dT] nije uočena.[183]



Shema 52. Nastanak QM **195** i reakcija s poli[dG-dC]·poli[dC-dG] oligonukleotidnom sekvencom[183]

Spojevi koji pokazuju selektivnost prema biološkoj meti na osnovu određenih nekovalentnih interakcija predstavljaju izvanredan alat za dizajn i razvoj novih biološki aktivnih spojeva. U svrhu veće selektivnosti prema polinukleotidima pripravljeni su različiti konjugati QM s interkalatorskim podjedinicama,[18,24,76] QM konjugati s komplementarnim oligonukleotidnim sekvencama[184–188] i QM konjugati koji prepoznaju tercijarnu strukturu molekule DNA (veliki/mali utor, kvadriplekse, itd.).[189–195]

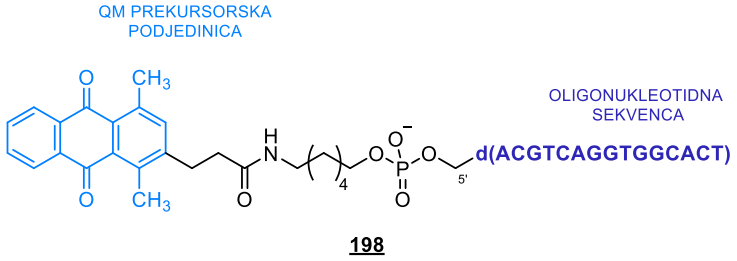
Rokita[184] i suradnici pripravili su naftokinonske derivate **197** (slika 15). Navedeni spojevi **197** posjeduju oligonukleotidnu sekvencu koja je vezana na QM prekursor, zahvaljujući komplementarnom sparivanju dušičnih baza omogućuje specifičnost vezanja, a samim time i usmjeravanje reakcije alkiliranja. Generiranje QM iz derivata **197** u svrhu ispitivanja interakcija s oligodeoksinukleotidima postignuto je enzimskom, bioreduktivnom aktivacijom.[184]



197a R = CH_2OMs
197b R = CH_3

Slika 15. Naftokinonski QM prekursor s oligonukleotidnom sekvencom[184]

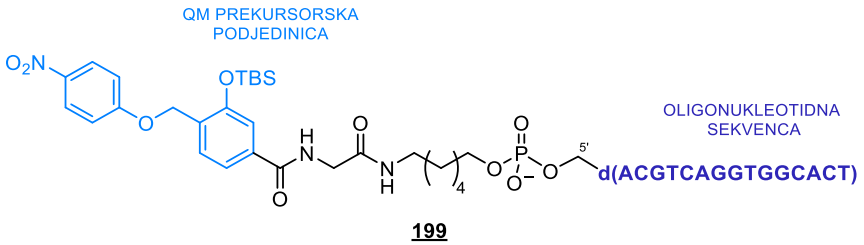
Uz naftokinonske derivate,[184] Rokita[186] je sa suradnicima pripremio i antrakinonski derivat **198** (slika 16). Navedeni derivat **198** posjeduje mogućnost fotolitičkog generiranja QM djelovanjem svjetla valnih duljina većih od 335 nm, pri čemu nije primijećena oksidativna degradacija nukleotida čak i pri produženom osvjetljavanju. Antrakinonski derivat **198** stabilniji je i pokazuje veću reaktivnost generiranih QM prema oligodeoksinukleotidnim sekvencama od naftokinonskih derivata **197**.[186]



198

Slika 16. Antrakinonski QM prekursor s oligonukleotidnom sekvencom[186]

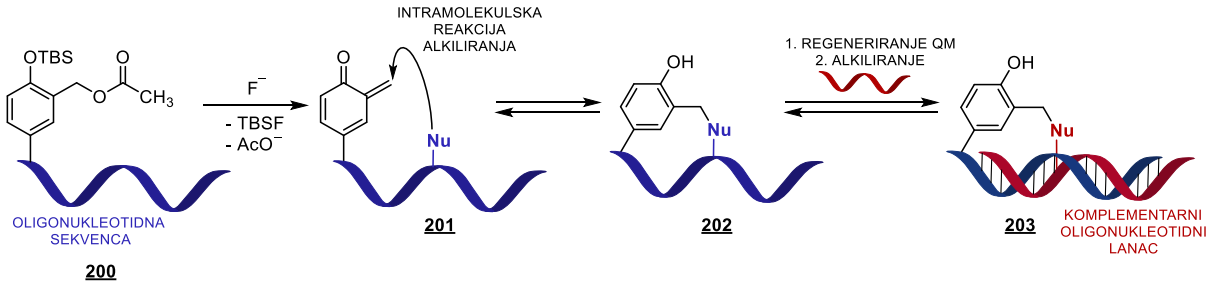
Osim oligodeoksinukleotidnih konjugata koji enzimskom[184] ili fotolitičkom[186] aktivacijom stvaraju QM, Rokita[185] je sa suradnicima priredio konjugat **199** (slika 17) iz kojeg se fluoridom induciranim desililiranjem generira QM koji može alkilirati oligodeoksinukleotidnu sekvencu.[185] Autori su također pokazali da TBS-fenol **199** može u prisutnosti DNA spontano, bez dodatka fluorida stvoriti QM. Iako je reakcija vrlo spora, predstavlja zanimljiv primjer u kojem molekula DNA djeluje kao promotor formiranja elektrofilne vrste.[185] Osim Rokite, sličnom metodologijom alkiliranja DNA bavili su se Constant[187] i suradnici.



199

Slika 17. Fenolni QM prekursor s oligonukleotidnom sekvencom[185]

Rokita[188] i suradnici također su opisali alkilaciju „*capture and release*“ koja pokazuje korisnost reverzibilnosti reakcija QM s nukleotidima. Naime, navedena strategija temelji se na tome da konjugat s oligonukleotidnom sekvencom **200** u reakciji s fluoridnim ionom generira QM **201**. Nastali QM **201** u intramolekulskoj reakciji s oligonukleotidom (—) stvara adukt **202**. U prisutnosti komplementarnog lanca (—) zbog reverzibilnosti reakcije alkilacije ponovno može nastati QM **201** koji potom može alkilirati komplementarni lanac (—) pri čemu nastaje alkilirani adukt **203**.[188] Navedena sekvencijsko-specifična alkilacija prikazana je na shemi 53.

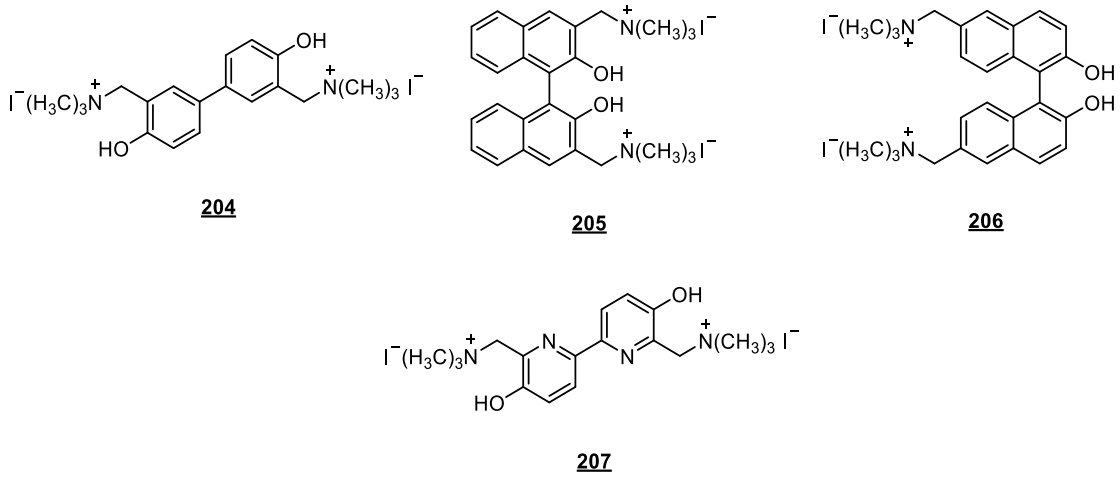


Shema 53. Shematski prikaz alkiliranja oligonukleotidnog lanca – „*capture and release*“[188]

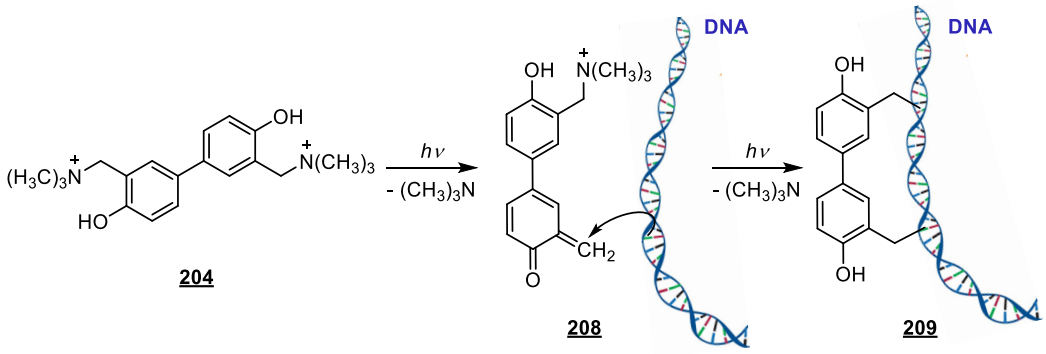
Kao što je ranije navedeno, reakcije QM s nukleobazama su reverzibilne, a stabilnost stvorenih adukata može značajno ovisiti o supstituentima vezanim na QM.[18,76,77,196] Zbog reverzibilnosti, odnosno mogućnosti regeneriranja QM i ponovne alkilacije, QM zaslužuju razmatranje u razvoju alkilirajućih, selektivnijih antitumorskih spojeva koji mogu generirati QM *in vivo*.

Osim do sada navedenih spojeva koji mogu monoalkilirati i stvarati nekovalentne interakcije, postoje spojevi koji mogu alkilirati višestruko i interlančano odnosno križno povezati molekule DNA.[1] Takvi spojevi su od iznimne važnosti zbog činjenice da ukoliko se molekula DNA interlančano križno poveže, to rezultira nemogućnošću progresivnog razdvajanja lanaca molekule DNA tijekom replikacije ili transkripcije što dovodi do blokade metabolizma DNA. U kliničkoj upotrebi postoji niz spojeva koji se koriste kao lijekovi za liječenje raznih bolesti poput psorijaze ili tumora, a djelovanje im se zasniva na mogućnosti križnog povezivanja lanaca DNA.[1,197,198] Poznato je da je križno povezivanje lanaca DNA zaslužno za antiproliferativni učinak nekih antibiotika poput mitomicina koji u stanici metabolički stvaraju QM.[199] Dizajn i priprava takvih spojeva, koji posjeduju dva reaktivna mjesta u svrhu križnog povezivanja lanaca molekule DNA, u centru su interesa od strane nekoliko skupina autora.

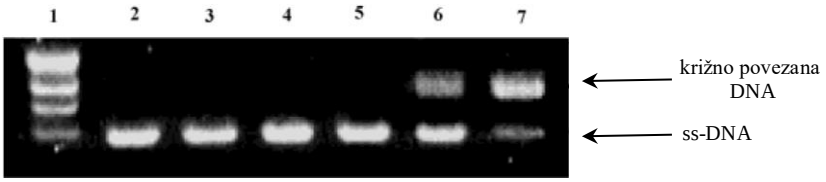
Osim Rokite,[75] čiji je spoj **51** opisan ranije u poglavlju 2.1.3, molekule koje mogu križno povezivati lance DNA, a mehanizam alkiliranja im se temelji na nastanku QM opisali su i pripremili Freccero[15,112,137,148] i Zhou[147] sa suradnicima. Naime, autori su pripravili različite amonijeve soli iz Mannichovih baza bifenila **204**,[147] BINOL-a **205**, **206**[15,137] i bipiridina **207**[148] (slika 18). Generiranje QM iz navedenih spojeva **204**-**207** temelji se na fotoeliminaciji amonijevih soli, a generirani QM mogu dovesti do križnog povezivanja lanaca plazmidne DNA, što je potvrđeno elektroforezom (shema 54 i slika 19)[147].



Slika 18. Prekursori za fotolitičko generiranje QM koji mogu križno povezati lance molekule DNA[15,137,147,148]

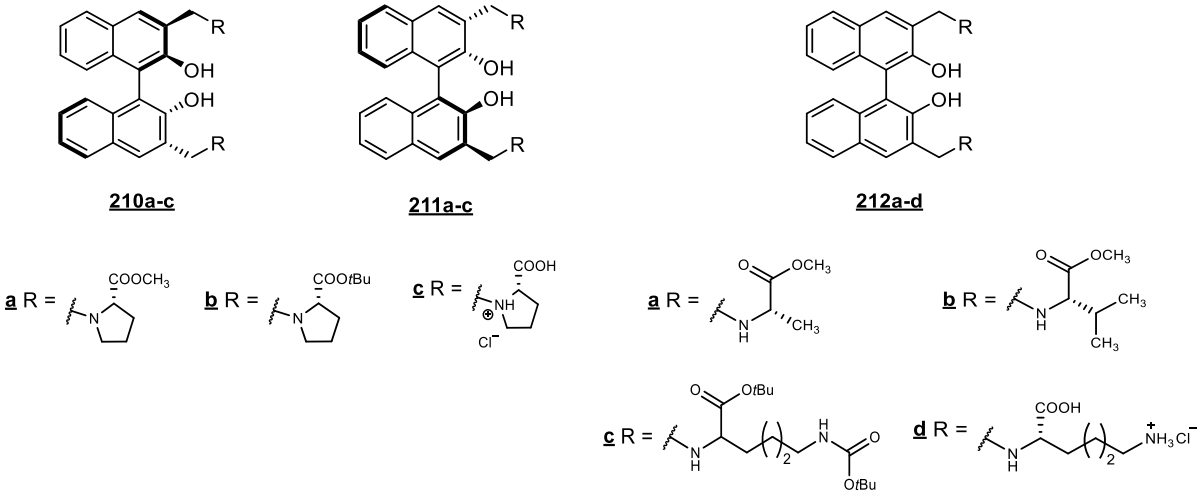


Shema 54. Shematski prikaz križnog povezivanja lanaca molekule DNA djelovanjem QM iz prekursora **204**[147]



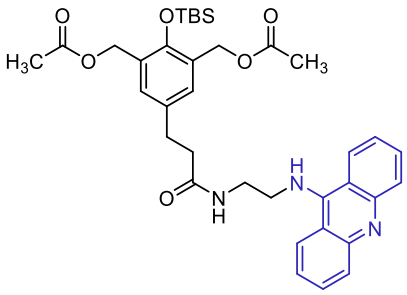
Slika 19. Elektroferogram linearizirane plazmidne DNA (pBR322) (0,7 μg) pri različitim koncentracijama spoja **204** (**3** – 50 μM, **5** – 0,1 μM, **6** – 1 μM, **7** – 10 μM) u fosfatnom puferu (pH = 7,7). Smjese DNA i spoja **204** osvjetljene su na 400 nm kroz 30 min (jažice **5**, **6** i **7**) i razdvojene alkalnom agaroznom gel-elektroforezom. Lambda *Hin*dIII DNA (jažica **1**) korišten je kao standard molekulske mase. U jažici **2** nalazi se DNA koja nije tretirana spojem **204**, u jažici **3** nalazi se DNA tretirana spojem **204** ali bez osvjetljavanja, a u jažici **4** nalazi se osvjetljena (30 min, 400 nm) DNA[147]

Osim navedenih derivata, Freccero[112] i suradnici razvili su cijeli niz spojeva **210**-**212** koji su konjugati BINOL-a i aminokiselina: alanina, lizina, prolina i valina (slika 20). Spojevi **210**-**212** u reakcijama fotodeaminacije daju QM koji mogu križno povezati lance molekule DNA.[112] Zanimljivo je spomenuti da nema razlike u sposobnosti križnog povezivanja između različitih enantiomera ili dijastereomera te su spojevi testirani kao racemične smjese. Autori su također pokazali da konjugati aminokiselina učinkovito ulaze u jezgru gdje reagiraju s DNA, pri čemu dolazi do mono- i bis-alkiliranja molekule DNA.[112]



Slika 20. Strukturne formule BINOL-nih QM prekursora[112]

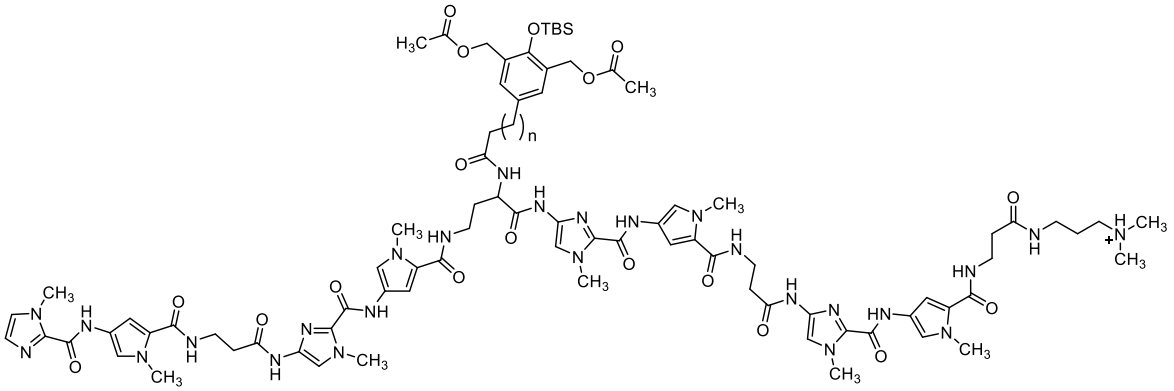
Kako bi se povećala selektivnost alkilirajućih reagensa prema DNA, Rokita[18,24,76] i suradnici pripremili su derivat **213** koji osim QM prekursorske podjedinice sadrži i akridinsku podjedinicu (slika 21).[18,24,76] Poznato je da je 9-aminoakridin odličan DNA interkalator te je iz tog razloga iskorišten kako bi doveo molekulu prekursora QM u neposrednu blizinu molekule DNA gdje se treba dogoditi reakcija alkiliranja odnosno križnog povezivanja. Pokazano je da navedeni QM prekursor **213** postiže 64 puta više križnog povezivanja od analognog spoja koji ne sadrži 9-aminoakridinsku podjedinicu.[18,24,76]



213

Slika 21. Prekursor QM s interkalatorskom podjedinicom[18,24,76]

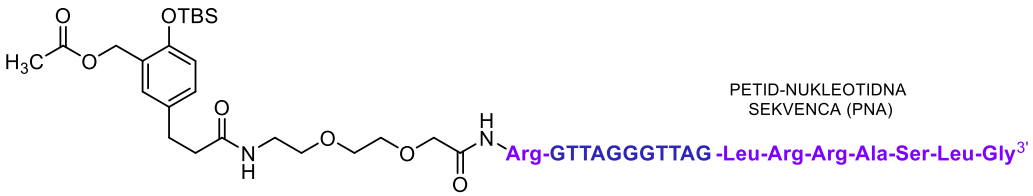
Osim konjugata s interkalatorskom podjedinicom, Rokita[189] i suradnici priredili su derivate s pirol-imidazol poliamidnom podjedinicom **214** (slika 22).[189] Navedena podjedinica ima svojstvo vezanja u mali utor molekule DNA. Prednost ovakvih konjugata naspram oligonukleotidnih konjugata je što *in vivo* ne podliježu djelovanju endonukleaza, enzima koji razaraju polinukleotidne sekvence. Iako su uočeni križno povezani DNA adukti, efikasnost nije bila zadovoljavajuća. Najvjerojatniji razlog slabog križnog povezivanja je taj što se molekula prekursora intramolekulski ciklizira, a nastali adukti su stabilni i ne dolazi do reverzibilnog generiranja QM.[189]



214a n = 1
214b n = 2
214c n = 4

Slika 22. Prekursor QM s pirol-imidazol poliamidnom podjedinicom[189]

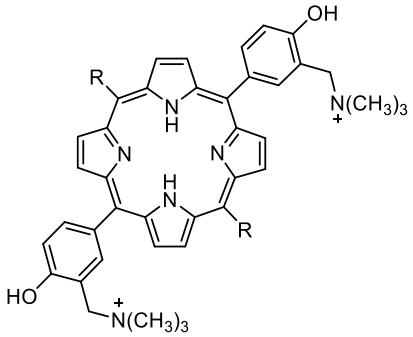
Da bi izbjegli ireverzibilnu intramolekulsku ciklizaciju, Rokita[200] i suradnici pripremili su biokompatibilni peptid-oligonukleotidni konjugat s QM prekursorskom podjedinicom **215** (slika 23). Iako navedeni spoj podliježe intramolekulskoj reakciji alkilacije (ciklizacije), ona nije ireverzibilna te konjugat stoga posjeduje veću alkilacijsku aktivnost od pirol-imidazol poliamidnih konjugata.[200]



215

Slika 23. Prekursor QM s peptid-oligonukleotidnom podjedinicom[200]

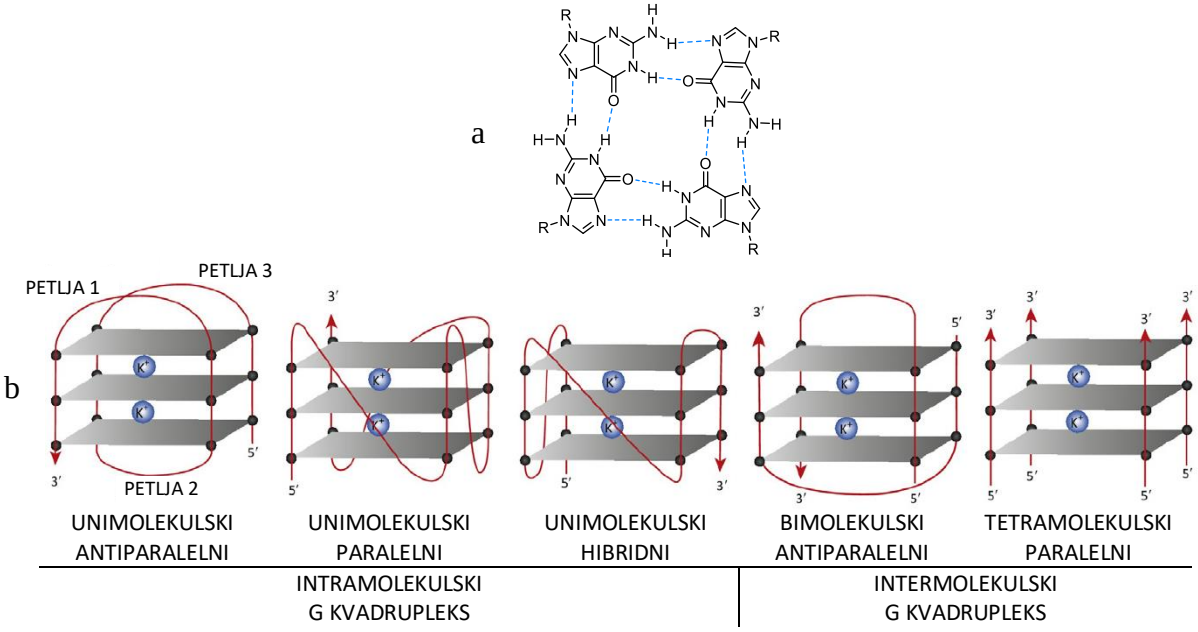
Selektivnost prema tumorskim stanicama kao i antitumorsko djelovanje derivata porfirina[84,201,202] iskoristio je Zhou[190] i sa suradnicima je pripravio konjugate porfirina i QM prekursora **216** (slika 24). Autori su pokazali da navedeni spojevi nakon fotopobude imaju značajnu antiproliferativnu aktivnost, kao i da nakon pobude dovode do cijepanja lanaca superzavijene pBR322 DNA. Navedena aktivnost može biti posljedica stvaranja QM kao i singletnog kisika. Međutim, prisutnost QM nije potvrđena niti kemijskim reakcijama niti spektroskopskim tehnikama.[190]



216a R = H
216b R = CH_2CH_3
216c R = Ph

Slika 24. Prekursor QM s porfirinskom podjedinicom[190]

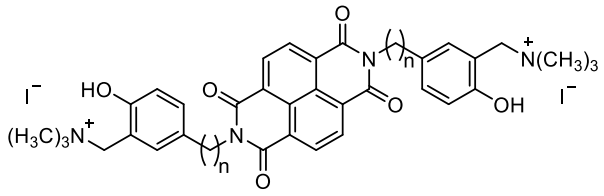
Pri fiziološkim uvjetima gvanozinom bogate regije molekule DNA mogu se udruživati i stvarati G-kvartete. G-kvartet se sastoji od četiri dG (**188**) baze povezane vodikovim vezama u kvadratno planarnoj geometriji (slika 25 a). Udruživanjem G-kvarteta nastaju helikalne, sekundarne strukture poznate pod nazivom G-kvadrupleks ili G-tetrapleks (G4) (slika 25 b).[203]



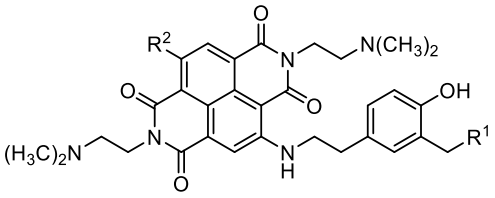
Slika 25. (a) Struktura G kvarteta (R = deoksiribozafosfat-okosinica), (b) reprezentativne topologije G kvadrupleks struktura[203]

Takve sekundarne strukture molekule DNA od velikog su značaja za homeostazu stanice, transkripciju, translaciju, DNA rekombinaciju te stoga ne čudi što su G4 strukture sve češće jedna od glavnih meta u razvoju novih biološki aktivnih spojeva kao potencijalnih lijekova.[204]

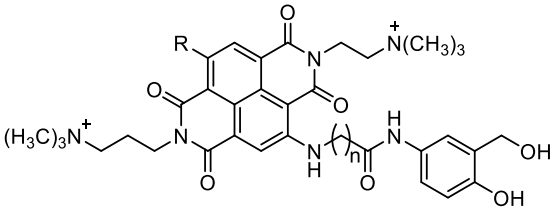
Freccero i suradnici unazad nekoliko godina bave se pripravom i karakterizacijom selektivnih G4 liganad-alkilirajućih spojeva kao potencijalnih antitumorskih i antiviralnih agenasa. Navedeni G4 bifunkcionalni spojevi su konjugati naftalendiimida (NDI) kao izvanrednog liganda za G4 strukture[205] i QM prekursorske podjedinice kao kovalentnog modifikatora. Osim što je izvanredni G4 ligand, NDI jezgra sa sintetskog stajališta nudi velike mogućnosti za povezivanje s QM prekursorskom podjedinicom. Freccero je sa suradnicima sintetizirao niz NDI konjugata **217**-**220** (slika 26)[12,192–195] te je pokazao da se pripremljeni spojevi selektivno, reverzibilno vežu na G4 strukture kao i da su termolitički generirani QM pri blagim uvjetima (40 °C, vodeni medij) alkilirali dušične baze molekule DNA.[12,192–194]



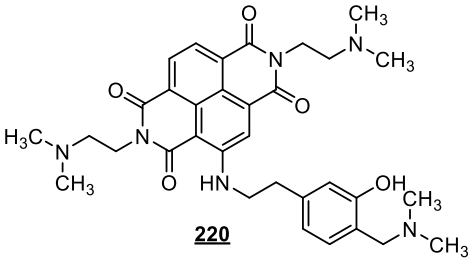
217a n = 1
217b n = 2
217c n = 3



218a R^1 = $N(CH_3)_2$, R^2 = H
218b R^1 = $N(CH_3)_2$, R^2 = Br
218c R^1 = Nmorfolin, R^2 = H
218d R^1 = Nmorfolin, R^2 = Br
218e R^1 = $N^+(CH_3)_3Cl^-$, R^2 = H
218f R^1 = $N^+(CH_3)_3Cl^-$, R^2 = Br



219a n = 1, R = H
219b n = 1, R = Br
219c n = 2, R = H
219d n = 2, R = Br
219e n = 3, R = H
219f n = 3, R = Br



220

Slika 26. Prekursori QM s naftalendiimidnom (NDI) podjedinicom[12,192–195]

Autori[192] su uočili da spojevi **217**, iako posjeduju dvije QM prekursorske podjedinice, mogu samo monoalkilirati ljudsku G4 telomernu strukturnu sekvencu te da pokazuju veliku selektivnost prema G4 strukturama naspram ds-DNA. Najbolja svojstva (alkiliranje, selektivnost prema G4 strukturama) pokazao je spoj **217b**.[192]

U sljedećem istraživanju, Freccero[12] i suradnici pripremili su i niz NDI konjugata **218** koji posjeduju svojstvo reverzibilnog vezanja u telomerne DNA regije. Zbog posjedovanja QM prekursorske podjedinice spojevi **218e** i **218f** posjeduju mogućnost alkiliranja regija DNA u koje se vežu. U spojevima **218a**-**218d**, iako posjeduju QM prekursorsku podjedinicu, generiranje QM pri ispitanim, blagim uvjetima nije moguće jer izlazne skupine ($(CH_3)_2N$, morfolin) nisu dovoljno dobre te se ti spojevi ponašaju kao standardni ligandi za G4 sekvence. Tretman stanica ljudskog melanoma SKMel-5 spojem **218a** pokazuje značajnu inhibiciju rasta stanica (IC_{50} = 1,7 ± 0,5 μmol dm^{-3}).[12] Alkilacijska svojstva spojeva **218e** i **218f** kao selektivnih G4 telomernih alkilirajućih agensa ispitana su samo u *in vitro* uvjetima, dok ispitivanja citotoksičnosti nije bilo moguće provesti zbog slabe permeabilnosti spojeva u stanicu. Kao glavni razlog slabe permeabilnosti, autori navode prisutnost nabijenih, kvaternih amonijevih skupina ($(CH_3)_3N^+$) koje omogućavaju generiranje QM pri blagim uvjetima.[12]

Da bi izbjegli problem slabe permeabilnosti, autori[193] su pripremili derivate **219** iako je poznato da je efikasnost generiranja QM iz alkohola naspram kvaternih amonijevih soli smanjena.[6,44] Usprkos tome, generiranje QM pri blagim uvjetima zajamčeno je zbog prisutnosti amidne elektron-odvlačeće skupine na aromatskom prstenu. Međutim, prisutnost takve skupine smanjuje stabilnost nastalih adukata što u konačnici dovodi i do smanjene efikasnosti alkiliranja.[193]

Spoj **220**[195] posebno je zanimljiv jer je, za razliku od spojeva **217**-**219** gdje je QM generiran termolitički, generiranje QM provedeno fotolitički. Naime, osvjetljavanjem (400 nm < λ < 650 nm) spoja **220** dolazi do vrlo brzog fotoinduciranog intramolekulskog prijenos elektrona uz generiranje fenoksil-radikala koji može alkilirati timidine iz telomernih G4 petlji (Tel22). Uočena je visoka selektivnost stvaranja kovalentnih modifikacija G4 telomernih regija nasuprot ss-DNA i ds-DNA. Nastali fenoksilni radikal je detektiran laserskom pulsnom fotolizom. Citotoksičnost spoja **220** ispitana je na humanim tumorskim staničnim linijama (MCF-7) pri čemu je aktivnost uz osvjetljavanje četiri puta veća nego bez osvjetljavanja (IC_{50foto} = 0,50 μmol dm^{-3}, IC_{50mrak} = 2,10 μmol dm^{-3}).[195]

Opisani hibridni, bifunkcionalni spojevi predstavljaju prvi korak prema racionalnom dizajnu i sintezi novih spojeva sposobnih za selektivno prepoznavanje G4 struktura. Treba imati na umu da reverzibilnost alkiliranja nukleozida s QM pruža veliku prednost u selektivnosti, dok s druge strane predstavlja ozbiljne probleme za strukturnu karakterizaciju nastalih kovalentnih adukata.

2.3. Lijekovi s kinon-metidnom prekursorskom podjedinicom

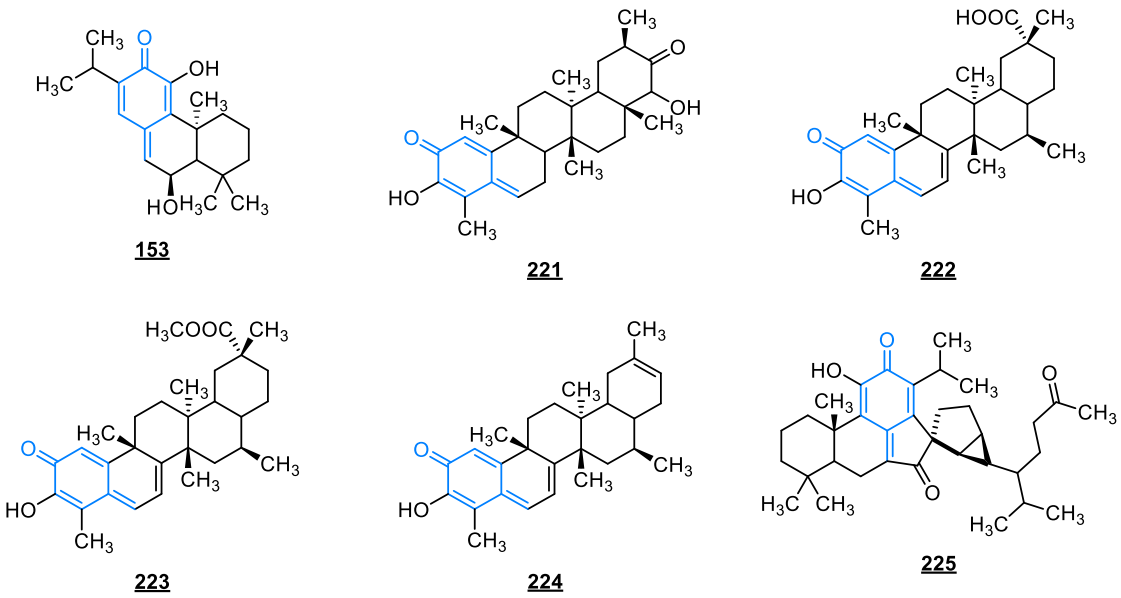
S obzirom na reaktivnost QM prema biomakromolekulama, ne čudi da u kliničkoj upotrebi postoje spojevi čije se terapeutsko djelovanje zasniva na unutarstaničnim reakcijama QM. U literaturi se vrlo često QM nazivaju svi spojevi koji imaju karbonilnu i metilensku skupinu u vinilognim položajima. U slučaju kada su molekule QM kao takve izolirane iz prirodnog materijala, tada govorimo o nativnim QM. Češće QM nastaju metaboličkom aktivacijom odgovarajuće supstituiranih fenolnih derivata i tada govorimo o QM prolijekovima (*engl. prodrug*). Ključna značajka QM (pro)lijekova je njihova reaktivnost te je prilikom dizajna (pro)lijeka potrebna modulacija reaktivnosti kako bi se postigla željena aktivnost i specifičnost prema ciljanim biomakromolekulama. Navedeni zahtjevi predstavljaju veliki izazov sintetskim organskim i medicinskim kemičarima.

Biološka aktivnost nativnih QM i njihovih derivata opisivana je u mnogo navrata. Diterpenoid taksodon (**153**), (slika 27) izoliran je iz močvarnog čempresa (*Taxodium distichum*),[162,163] a također je prisutan i u ružmarinu (*Rosmarinus officinalis*).[206] Zanimljiv je zbog svoje antitumorske,[162] antibakterijske[207] i antifungalne[208] aktivnosti.

Triterpenoidi tingenon (**221**) i celastrol (**222**) (slika 27) izolirani su iz korijena biljke lei gong teng (*Tripterygium wilfordii*), a također posjeduju biološku aktivnost.[209,210] Antitumorska, protuupalna i imunospresivna svojstva celastrola (**222**) pripisuju se modifikaciji cisteinskih bočnih ogranaka (Cys-149) u proteinu IKK β. Navedeni protein zadužen je za fosforilaciju i razgradnju kinaze IκBα koja inhibira aktivaciju faktora NF-κB.[211] Također, celastrol (**222**) prevenira interakciju kinom šaperona HSP90 i košaperona Cdc37 tako što se veže na cisteinski bočni ogranka košaperona Cdc37. Interakcija HSP90 i Cdc37 važna je za stabilizaciju onkogenih kinaza, a pošto celastrol (**222**) remeti njihovu interakciju na taj način remeti aktivaciju onkogenih kinaza.[212] Osim toga, celastrol (**222**) je pokazao i anti-Alzheimerovu aktivnost.[210]

Pristimerin (**223**) (slika 27), metilni ester celastrola (**222**) i iguesterin (**224**) također pokazuju biološku aktivnost, međutim njihovo djelovanje nije toliko istraženo kao u slučaju celastrola (**222**).

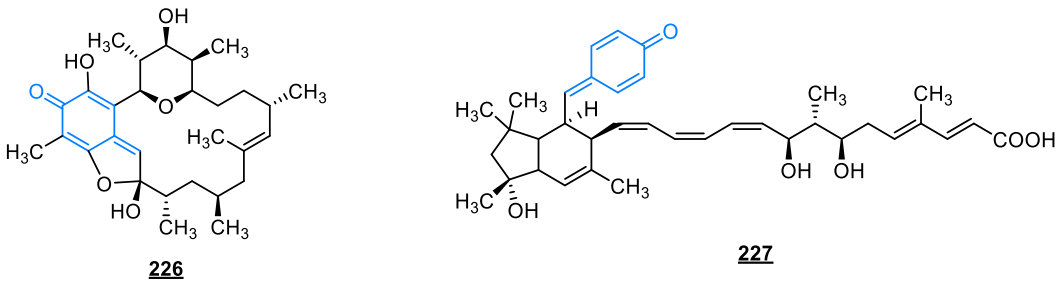
Kriptotrion (**225**) (slika 27) prirodni je organski spoj iz skupine C_{35}-terpena s neobičnim skeletom. Izoliran je iz biljke *Cryptomeria japonica*,[213] a posjeduje antitumorsku aktivnost. Mehanizam biološke aktivnosti nije u potpunosti istražen.[213] Osim navedenih spojeva postoji još cijeli niz terpenoidnih QM spojeva izoliranih iz prirodnog materijala, a posebno iz biljaka porodice kurikovki (*Celastraceae*) koji pokazuju neki oblik biološke aktivnosti.[209,214–217]



Slika 27. Strukturne formule diterpenoida taksodona (**153**), triterpenoida tingenona (**221**), celastrola (**222**), pristimerina (**223**) i iguesterina (**224**) i seskvarterpenoida kriptotriona (**225**)

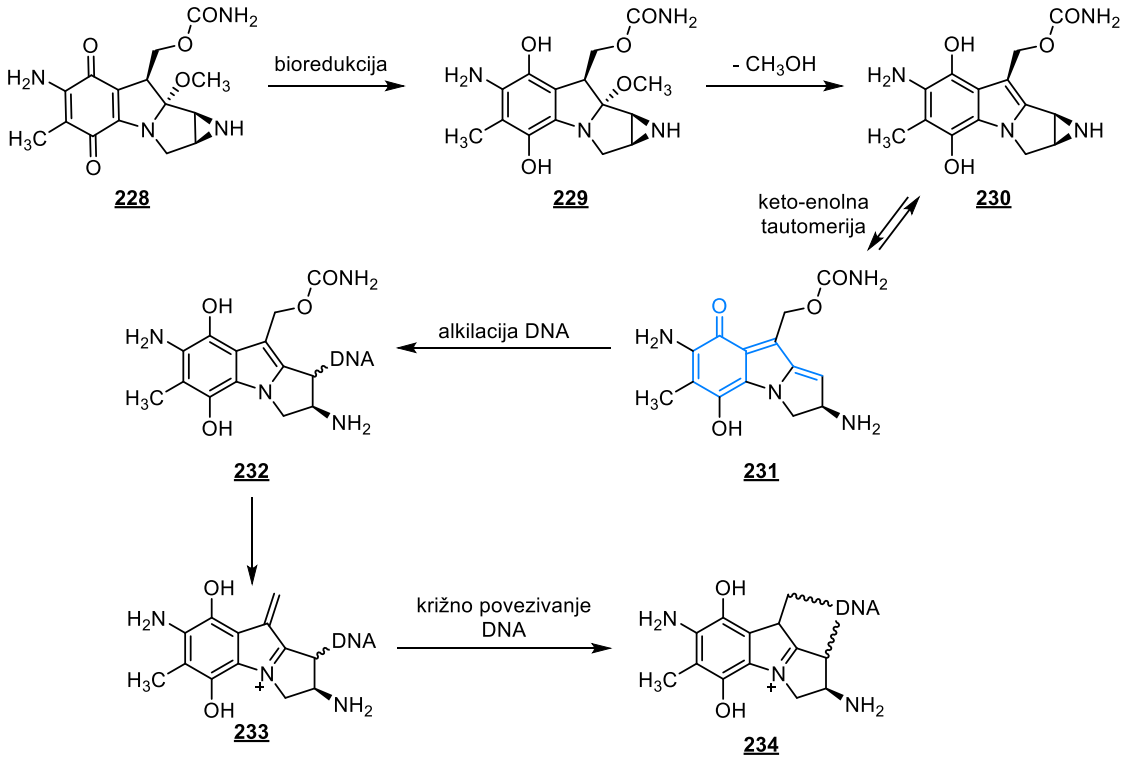
Makrolidni antibiotik kendomicin (**226**) (slika 28) izoliran je 1996. godine iz bakterija roda *Streptomyces*.[218,219] Kendomicin (**226**) ima raznolik i fascinantan farmakološki profil, a pokazuje snažan antagonizam endotelinskih receptora, kao i antagonizam kalcitonin receptora što se očituje kao antiosteoporotska aktivnost.[219] Također, utvrđena je snažna citotoksičnost (GI_{50} < 100 nmol dm^{-3}) prema staničnim linijama karcinoma i antibakterijsko djelovanje širokog spektra, čak i na sojeve MRSA i VRSA bakterija.[219,220] Iako je izoliran iz bakterija, totalna sinteza kendomicina (**226**) provedena je i opisana u nekoliko navrata.[219,221,222]

Elansolid A3 (**227**) (slika 28) spoj izoliran iz bakterija roda *Chitinophaga*[223] pokazuje antibiotsku i antitumorsku aktivnost. Antibiotska aktivnost se ne može pripisati djelovanju QM jer i ciklički oblik, koji nije QM, posjeduje identičnu antibiotsku aktivnost.[223]



Slika 28. Strukturne formule kendomicina (**226**) i elansolida A3 (**227**)

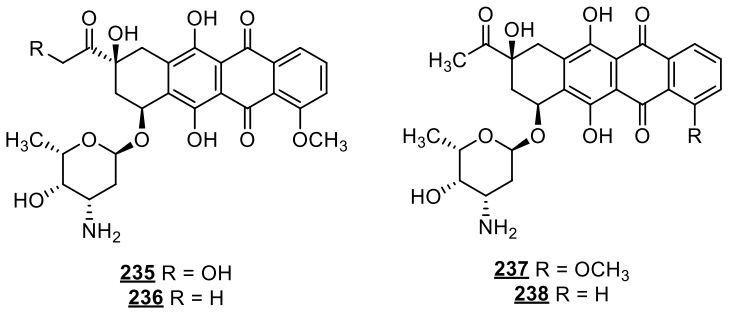
Osim nativnih QM, postoji velik broj što prirodnih što sintetskih spojeva koji metaboličkom aktivacijom stvaraju QM. Moore[224] je predložio da antitumorska aktivnost nekolicine prirodnih organskih spojeva proizlazi iz njihove mogućnosti metaboličkog stvaranja QM. Mitomicini, prirodni organski spojevi koji sadrže aziridinski prsten u svojoj strukturi, prvi puta su izolirani 1956. godine iz aktinobakterija *Streptomyces caespitosus*.[225,226] Najpoznatiji predstavnik iz skupine mitomicina je mitomicin C (**228**) (shema 55). Mitomicin C (**228**) redukcijom *in vivo* stvara QM **231** koji može križno povezati lance molekule DNA, a mehanizam nastanka je prikazan na shemi 55. Mogućnost alkiliranja DNA metabolitom **231** je temelj antiproliferativne aktivnosti mitomicina C (**228**).[199,224] Mitomicin C (**228**) se koristi kao lijek za liječenje različitih poremećaja povezanih s abnormalnim rastom i širenjem stanica.[227,228]



Shema 55. Nastanak QM iz mitomicina C (**228**) i križno povezivanje molekule DNA[199,224]

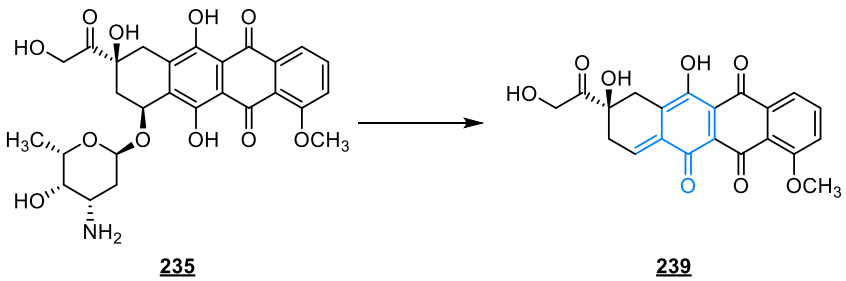
Moore je u radu[224] također naveo da prirodni spojevi antraciklini također mogu metabolički stvarati QM eliminacijom šećerne podjedinice. Antraciklini su velika skupina organskih spojeva izoliranih iz bakterija roda *Streptomyces*, ali poznati su i sintetski dobiveni analozi. Građeni su od tetracikličkog kinofenolnog sustava na koji su vezane ugljikohidratne jedinice i predstavljaju važnu skupinu antitumorskih antibiotika.[229] Značajniji predstavnici ove skupine

su doksorubicin (**235**), daunorubicin (**236**), epirubicin (**237**) i idarubicin (**238**) čije su strukture prikazane na slici 29.



Slika 29. Strukturne formule doksorubicin (**235**), daunorubicin (**236**), epirubicin (**237**) i idarubicin (**238**)

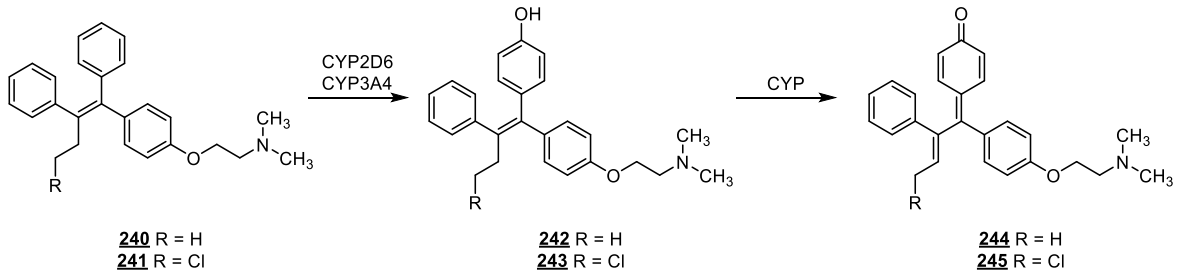
Zajedničko svojstvo svih antraciklina je svojstvo interkaliranja između $^{5'}CpG^{3'}$ sekvence molekule DNA koje je moguće zbog planarnosti strukture.[230] Redoks konverzijom i otpuštanjem glikonskog dijela generiraju QM (na aglikonskom dijelu) kao što je prikazano na primjeru doksorubicina (**235**) na shemi 56, C7 položaj antraciklina postaje elektrofilan te može alkilirati nukleofilne regije proteina i nukleinskih kiselina.[1] Na taj se način inhibira djelovanje enzima topoizomeraze II, koji ima važnu ulogu tijekom replikacije i transkripcije. Navedeno remećenje normalnog metabolizma DNA u konačnici se očituje kao antitumorska aktivnost.[231] Antraciklini se koriste za liječenje različitih vrsta raka. Doksorubicin (**235**) i epirubicin (**237**), koriste se u liječenju karcinoma dojke, dječjim čvrstim tumorima, sarkomima mekog tkiva i agresivnim limfomima. Daunorubicin (**236**) se koristi za liječenje akutnih limfoblastičnih ili mijeloblastičnih leukemija, a idarubicin (**238**) se koristi u liječenju multiplih mijelomima, ne-Hodgkinovih limfomima i raku dojke.[232]



Shema 56. Nastanak QM iz antraciklina

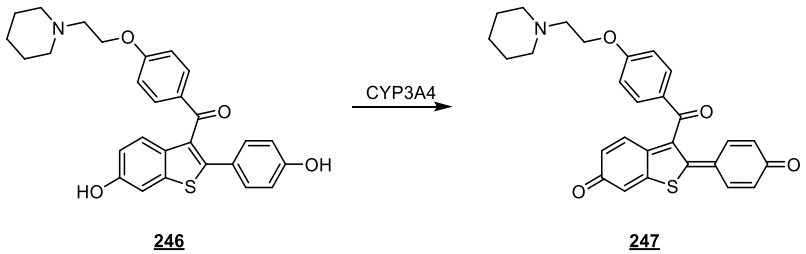
Istraživanja na antraciklinima koja su proveli Koch i suradnici pokazuju da za križno povezivanje lanaca DNA nisu zaslužni QM nastali iz antraciklina, već formaldehid koji nastaje metabolički.[174,233] Kao zaključak Koch navodi da su dva moguća mehanizma križnog povezivanja DNA djelovanjem antraciklina – jedan od njih je da antraciklini reagiraju s formaldehidom, a zatim nastali adukt reagira s DNA, dok drugi da adukt formaldehida i DNA reagira s antraciklinima, iako podrijetlo formaldehida nije u potpunosti istraženo.

Selektivni modulatori estrogenskih receptora (SERM) su klasa lijekova koji se vežu na estrogenske receptore i na taj način proizvode estrogeni ili antiestrogeni učinak, ovisno o tkivu na čije su se estrogenske receptore vezali.[234] Metabolički, djelovanjem CYP (citokrom P450 monooksigenaze) enzima SERM daju fenolne derivate koji daljnjim metabolizmom mogu generirati QM kao što je prikazano na shemi 57.[235] Jedan od prvih SERM-ova koji je korišten u terapiji hormonski ovisnog raka dojke bio je tamoksifen (**240**). Spada u prvu skupinu trifeniletilenskih SERM-ova zajedno s toremifenom (**241**). Djelovanjem CYP enzima molekule SERM **240** i **241** se hidroksiliraju u metabolite **242** i **243** koji daljnjim metabolizmom daju QM **244** i **245**. Nastali QM **244** i **245** mogu reagirati s biološkim nukleofilima stvarajući kovalentne adukte, a takvi adukti uzrokuju neželjene nuspojave lijeka kao što je povećana stopa raka maternice i tromboembolizam.[236,237] Lijek također može uzrokovati hepatokarcinome kod štakora.[235]



Shema 57. Metabolička aktivacija tamoksifena (**240**) i toremifena (**241**) djelovanjem CYP enzima[235]

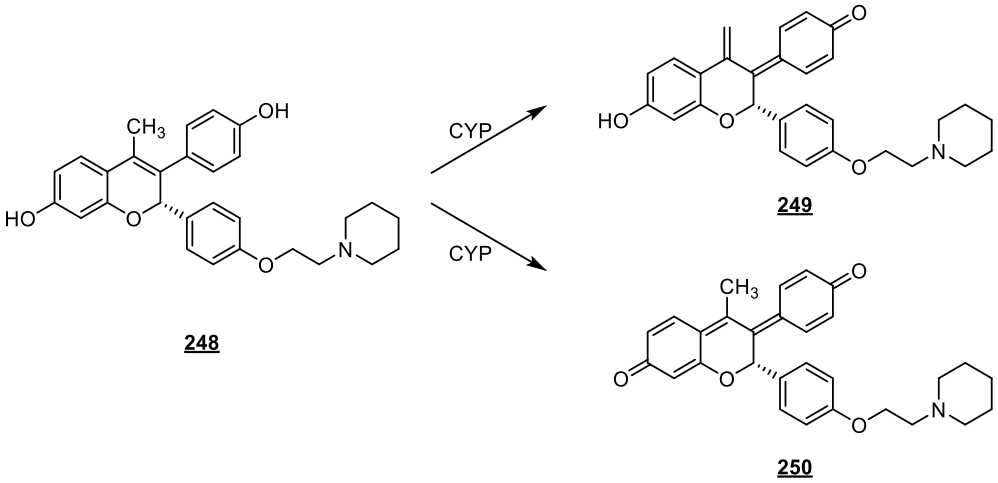
U drugu generaciju benzotiofenskih SERM-ova spada raloksifen (**246**). Raloksifen (**246**) ima visok afinitet za estrogene receptore te pokazuje agonistički efekt na estrogene receptore u koštanom i kardiovaskularnom tkivu, dok u tkivu dojke i endometrija djeluje kao antagonist estrogenih receptora. Metabolički raloksifen (**246**) može stvarati QM **247** (shema 58) čije djelovanje na biomakromolekule izaziva neželjene nuspojave.[235]



246 **247**

Shema 58. Metabolička aktivacija raloksifena (**246**) djelovanjem CYP enzima[235]

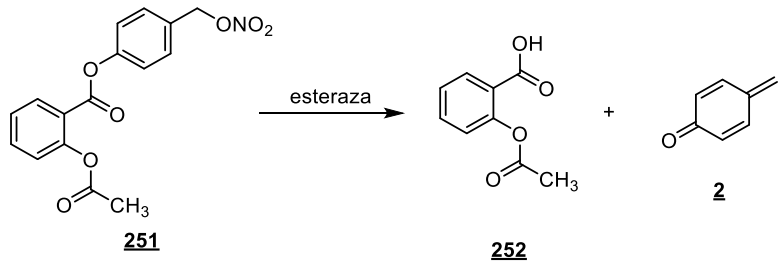
U četvrtu generaciju SERM-ova spada aklobifen (**248**) koji metaboličkom aktivacijom može stvoriti QM **249** i di-QM **250** (shema 59)[235]. Nastali QM mogu reagirati s proteinima i nukleinskim kiselinama, međutim *in vivo* toksičnost nije zabilježena.[238,239]



248 **249** **250**

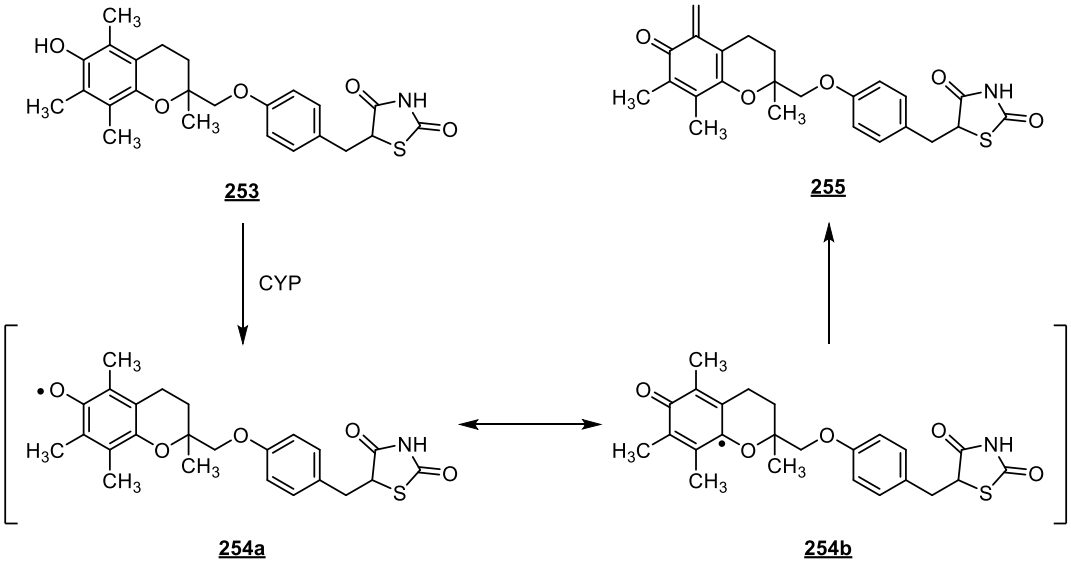
Shema 59. Metabolička aktivacija aklobifena (**248**) djelovanjem CYP enzima[235]

S ciljem smanjenja nuspojava nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID), porastao je interes prema nesteroidnim protuupalnim lijekovima s otpuštanjem dušikovog (II) oksida (NO-NSAID).[240] Da bi se pripremila takva molekula, nesteroidni protuupalni lijek modificira se dijelom koji nakon metaboličke aktivacije otpušta NO. Pripravljen je derivat acetilsalicilne kiseline **251**, a proučavanjem mehanizam djelovanja pokazalo se da NO-aspirin **251** metabolički djelovanjem enzima esteraze može generirati *p*-QM (**2**) (shema 60).[115] Nastali *p*-QM (**2**) reagira s biološki važnim molekulama što se u konačnici očituje kao antitumorska aktivnost.[241,242]



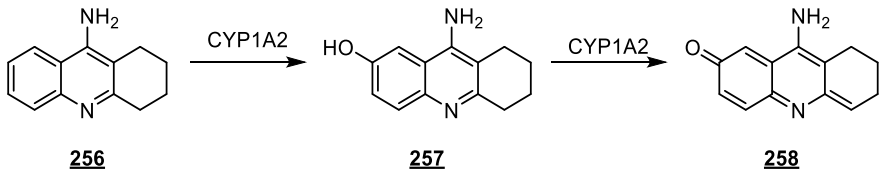
Shema 60. Metabolička aktivacija NO-aspirina (**251**)[115]

Troglitazon (**253**), oralni antidijabetički lijek iz skupine 2,4-tiazolidindiona, koristio se za terapiju dijabetesa tipa 2.[243] Unatoč njegovoj učinkovitosti u terapiji dijabetesa, upotreba troglitazona povezana je s teškom hepatotoksičnosti koja je u nekim slučajevima dovela do teških oštećenja jetre, pa čak i smrti. Zbog navedenih nuspojava, lijek je 2000. godine povučen s američkog tržišta. Nuspojave lijeka pripisuju se metaboličkom nastanku reaktivnih vrsta među ostalim i QM **255** (shema 61).[131,244]



Shema 61. Metabolička aktivacija troglitazona (**253**)[244]

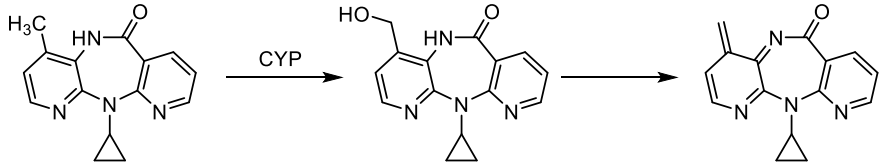
Takrin (**256**), inhibitor acetilkolinesteraze, koristi se za liječenje Alzheimerove bolesti.[245] Takrin (**256**) pokazuje negativni učinak na funkcije jetre kod pacijenata koji su podvrgnuti terapiji.[246] *In vitro* ispitivanja na humanim jetrenim mikrosomima pokazala su da takrin (**256**) djelovanjem enzima CYP1A2 stvara reaktivne i citotoksične metabolite među kojima je i QM **258** (shema 62).[247] Dodavanje antioksidansa kao što je glutation (GSH) ili askorbinska kiselina rezultira značajnom prevencijom citotoksičnosti metabolita.[247,248]



256 257 258

Shema 62. Metabolička aktivacija takrina (**256**)[247]

Osim QM, metabolizmom nekih lijekova može nastati dušikov analog, aza-QM. Zbog reaktivnosti i kemijske prirode, navedeni aza-QM također posjeduju biološku aktivnost koja se često očituje toksičnošću. Metabolizmom lijeka nevirapina (**259**) *in vivo* nastaje aza-QM.[249] Nevirapin (**259**) je antivirusni lijek koji se koristi za terapiju i prevenciju HIV/AIDS-a, posebno HIV-1. Može se koristiti za prevenciju prijenosa HIV-a s majke na dijete tijekom poroda.[250] Nuspojave uzrokovane nevirapinom (**259**) uključuju osip i probleme jetrenih funkcija. Budući da se navedene kliničke manifestacije često pripisuju modifikaciji proteina (alergijske reakcije) i DNA (mutageni učinak), pretpostavljeno je da su metaboliti nevirapina **261** uzrok navedenih nuspojava. Nedavno je također otkrivena veza između opsežnog korištenja nevirapina (**259**) i razvoja raka.[251] Pokazano je da metaboličkom aktivacijom nevirapina (**259**) nastaje hidroksimetilni metabolit **260** koji je prekursor aza-QM **261** (shema 63).[235] Iako aza-QM **261** nije jedina metabolički generirana elektrofilna vrsta, sumnja se da bi mogao sudjelovati u stvaranju nevirapinskih adukata koji su otkriveni u jetrenom tkivu liječenih bolesnika.[248,249]



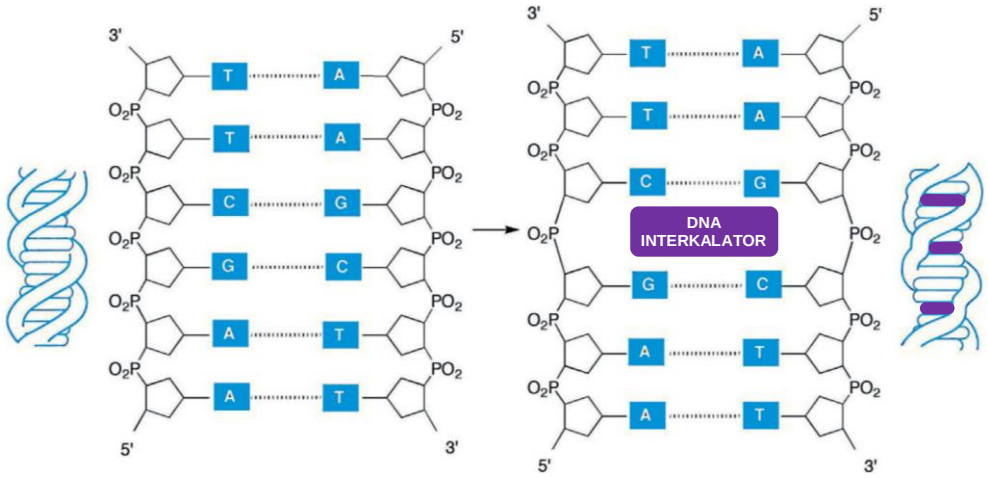
259 260 261

Shema 63. Metabolička aktivacija nevirapina (**259**)[235]

2.4. DNA interkalatori

Deoksiribonukleinska kiselina (DNA) je odgovorna za nasljeđivanje i prenošenje svih osobina kod živih bića i većine virusa.[157] Iz navedenog razloga, DNA je jedna od meta mnogih lijekova među kojima se ističu antitumorski spojevi.[1,252,253] Male molekule koje se mogu umetati između parova baza nukleinskih kiselina, posebice molekule DNA nazivaju se interkalatori. Interkaliranje kao jedan od načina interakcije i vezanja malih molekula u DNA

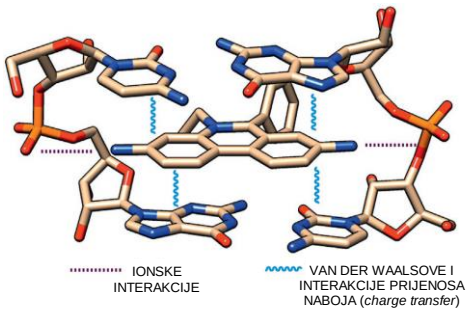
prvi puta je predložio L. Lerman 1961. godine istražujući derivate akridina.[254] Danas je poznato da su DNA interkalatori velika skupina antitumorskih spojeva koji se većinom mogu reverzibilno umetnuti odnosno interkalirati između dvije susjedne baze dvolančane molekule DNA.[26,253,255] Citotoksičnost interkalatora ovisi o brojnim faktorima, kao što su metabolički putevi i mogućnost prolaska kroz citoplazmatsku i jezgrinu membranu.[256] Prilikom interkaliranja, interkalatori uzrokuju značajnu stabilizaciju polinukleotidnog lanca, te se dvostruka uzvojnica DNA produljuje, deformira i djelomično odmotava. Strukturne promjene uzrokovane interkalacijom dovode do smetnji prepoznavanja molekule DNA od strane proteina i enzima kao što su polimeraze, topoizomeraze, transkripcijski čimbenici, sustavi za popravljanje DNA, itd. U konačnici interkaliranje dovodi do remećenja normalnog metabolizama molekule DNA – transkripcije i translacije. Kako kod umetanja interkalatora između parova baza dolazi do deformacije susjednih šupljina (slika 30), u te se šupljine ne mogu vezati druge molekule interkalatora. Navedeno pravilo je princip isključenja susjedne šupljine.



Slika 30. Shematski prikaz deformacije molekule DNA uzrokovan vezanjem interkalatora.[252]

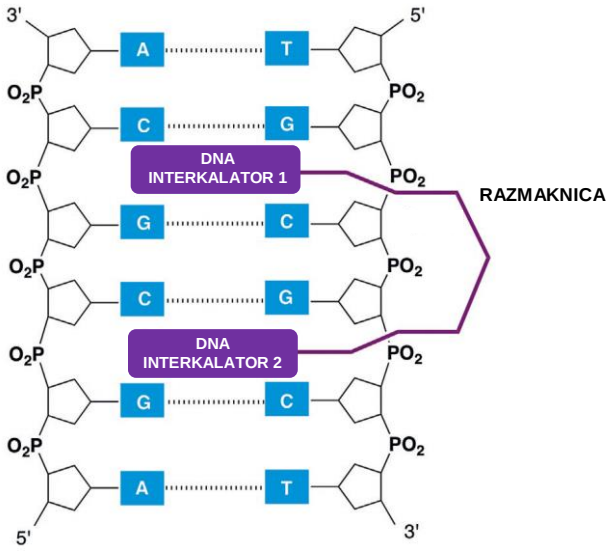
Strukturno su interkalatori planarni, aromatski i heteroaromatski, policiklički ugljikovodici i njihovi derivati. Glavni uvjet da bi uopće došlo do interkaliranja neke molekule u DNA je taj da interkalator fizički stane između susjednih baza pri čemu se u obzir uzimaju Van der Waalsovi promjeri atoma dušičnih baza i interkalatora. Nakon interkaliranja preklapanje aromatskog sustava interkalatora i susjednih heterocikličkih dušičnih baza dodatno je stabilizirano π-π – interakcijama. Dodatne specifične interakcije kao što su vodikove veze, Londonova disperzijska međudjelovanja, elektrostatske interakcije mogu pridonijeti, ali i odmoći stabilizaciji kompleksa interkalator-DNA. Primjer interkaliranja etidijevog bromida (**268**) u molekulu DNA i stvaranja stabilizirajućih interakcija između **268** i DNA dan je na

slici 31. Planarni fenantridinski sustav etidijevog bromida (**268**) stvara Van der Waalsove i π-π interakcije slaganja s dušičnim bazama molekule DNA, dok dvije amino-skupine stvaraju ionske interakcije s fosfatima iz deoksiribozafosfatne okosnice. Navedene interakcije stabiliziraju kompleks **268**-DNA.[252]



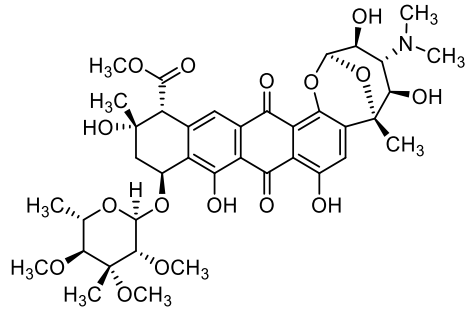
Slika 31. Interkaliranje i interakcija etidijevog bromida (**268**) s fragmentom molekule DNA[252]

Molekule interkalatora imaju preferencijalno mjesto vezanja – neke preferiraju šupljinu između $^{5'}$purin-pirimidin$^{3'}$, a neke između $^{5'}$pirimidin-purin$^{3'}$ dušičnih baza.[257] Osim strukturno jednostavnih interkalatora, poznati su i spojevi složenije strukture koji se interkaliraju između parova baza, ali se zbog veličine i oblika neki dijelovi molekule smještaju u utore molekule DNA. Također, postoje spojevi koji posjeduju dvije interkalatorske podjedinice povezane razmaknicom te je kod takvih spojeva moguća bis-interkalacija (slika 32). Da bi neki spoj bio bis-interkalator, razmaknica koja povezuje dva interkalacijska kromofora mora biti dovoljno dugačka i fleksibilna kako bi se ispunio princip isključenja susjedne šupljine. Za ispitivanje interakcija molekule DNA i interkalatora, u laboratoriju se primjenjuju različite eksperimentalne tehnike kao što su praćenje promjene viskoziteta otopine DNA, promjena elektroforetske pokretljivosti cirkularne DNA, promjena temperature mekšanja, promjene u apsorpcijskim i fluorescencijskim UV-vis spektrima, kao i promjene u spektrima ^{1}H NMR i ^{31}P NMR, te promjene u skretanju polarizirane svjetlosti (spektropolarimetrije CD i LD).[258]

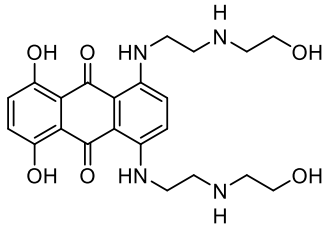


Slika 32. Shematski prikaz interakcije bis-interkalirajućeg spoja s molekulom DNA[252]

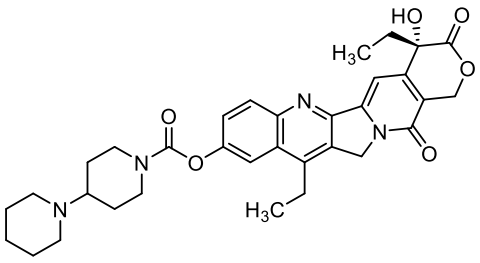
Interkaliranje ima ključnu ulogu u djelovanju mnogih klinički primijenjenih antitumorskih lijekova. Neki od njih prikazani su na slici 33. U tu skupinu spadaju spojevi kao što su antraciklini – doksorubicin (**235**), daunorubicin (**236**), epirubicin (**237**), idarubicin (**238**), nogalamicin (**262**) i mitoksantron (**263**), mitomicini – mitomicin C (**228**), kamptotekini – irinotekan (**264**), derivati akridina – amsakrin (**265**), asulakrin (**266**), aktinomicini – aktinomicin D (daktinomicin) (**267**), i mnogi drugi.



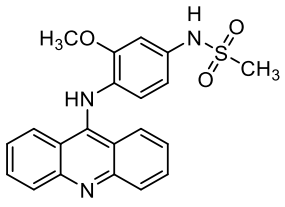
262



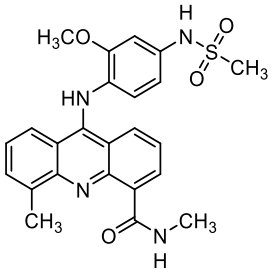
263



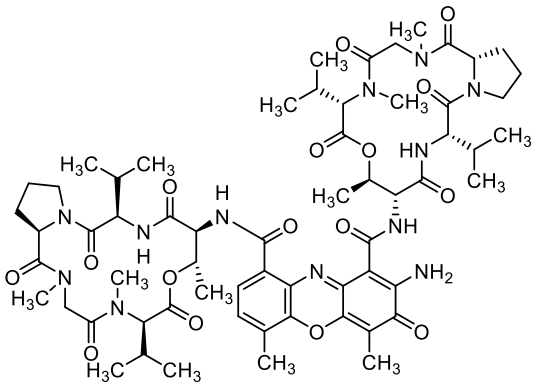
264



265



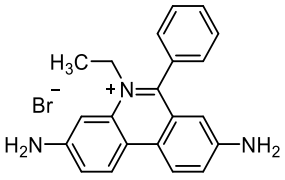
266



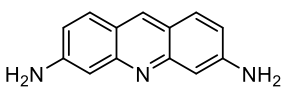
267

Slika 33. Strukturne formule nogalamicina (**262**), mitoksantrona (**263**), irinotekana (**264**), amsakrina (**265**), asulakrina (**266**) i aktinomicina D (daktinomicina) (**267**)[252]

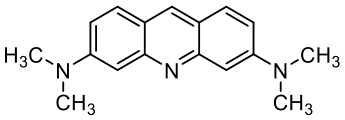
Uloga interkalatora nije ograničena samo na biološku aktivnost, derivati fenantridina – etidijev bromid (**268**) i akridina – proflavin (**269**), akridin narančasto (*acridine orange*) (**270**) (slika 34), zbog promjene fluorescencijskih svojstva prilikom interkaliranja u polinukleotide, koriste se kao markeri u nizu bioloških i biokemijskih tehnika.[252]



268



269



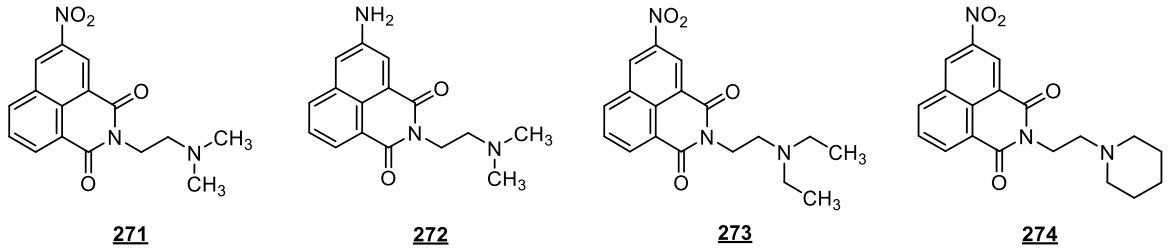
270

Slika 34. Strukturne formule etidijevog bromida (**268**), proflavina (**269**) i akridin narančastog (**270**)[252]

2.4.1. 1,8-Naftalimid i njegovi analozi kao DNA interkalatori

1,8-Naftalimid (NI) je policiklički imid koji se sastoji od dva π-deficijentna aromatska sustava. Većina derivata NI nije fluorescentna zbog visokog kvantnog prinosa međusustavnog prijenosa energije (ISC, *engl. intersystem crossing*); fluorescencija se potiče vezanjem elektron-donorskih skupina.[259] Poznato je da derivati NI posjeduju različitu biološku aktivnost kao što je antivirusna,[260–262] analgetička,[263] lokalno anestetička,[264] antitripanosomalna[265] i antagonistička aktivnost na serotoninske 5-HT3 i 5-HT4 receptore.[266–268]

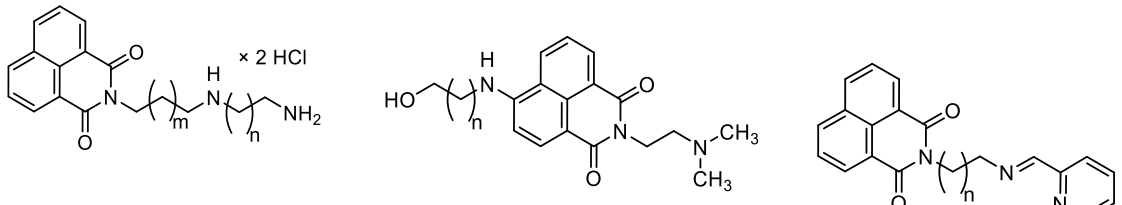
Razvoj derivata 1,8-naftalimida kao potencijalnih antitumorskih spojeva započeli su Braña i suradnici 1973. godine kada su pripremili niz spojeva prikazanih na slici 35.[28,253] Spojevi **271**-**274** posjeduju NI jezgru kao DNA interkalatorsku podjedinicu. U *in vitro* ispitivanjima spojevi **271** i **272** pokazali su značajnu citotoksičnost na staničnim linijama humanih karcinoma.[28,253] Spoj mitonafid (**271**) ušao je u fazu I kliničkih ispitivanja, međutim zbog nuspojava – demencije i gubitaka pamćenja koje su posljedica neurotoksičnosti, kao i leukopenije daljnji napredak mitonafida (**271**) u kliničkim istraživanjima i razvoju lijeka je zaustavljen.[269,270] Zbog značajne aktivnosti na modelima čvrstih tumora u predkliničkim ispitivanjima, amonafid (**272**) je ušao u fazu I i fazu II kliničkih ispitivanja.[271–275] Značajna antitumorska aktivnost prema metastaznom karcinomu dojke u fazi II kliničkih ispitivanja nije uočena.[273] Također, značajna antitumorska aktivnost u fazi II kliničkih ispitivanja kod bolesnika s naprednim karcinomom bubrežnih stanica nije primijećena.[274] Zbog slabe antitumorske aktivnosti, ali i brojnih nuspojava daljnji razvoj amonafida (**272**) kao lijeka nije nastavljen.



271 **272** **273** **274**

Slika 35. 1,8-Naftalimidni derivati koje su pripravili Braña i suradnici[28,253]

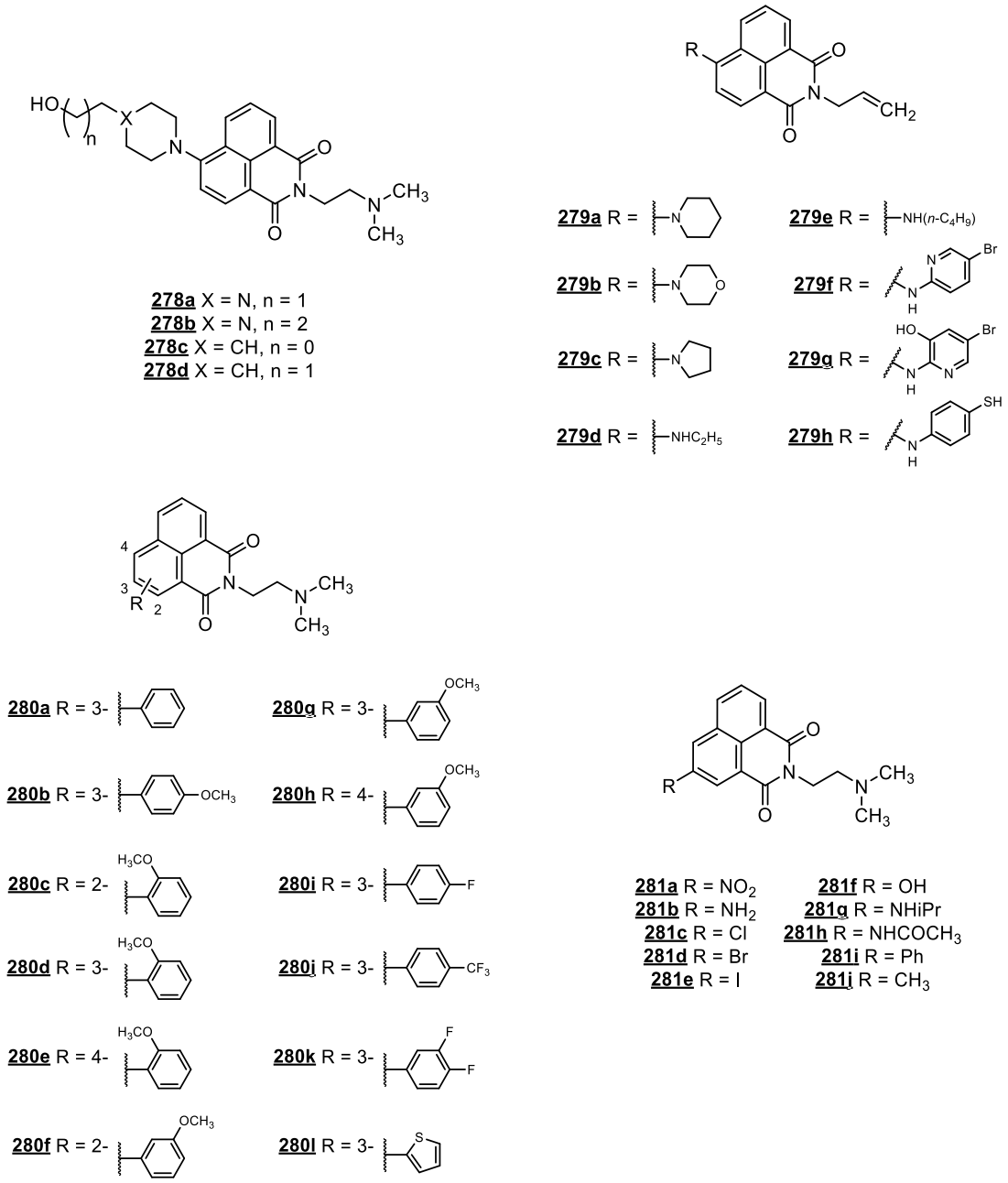
S obzirom na vrlo zanimljive rezultate biološke aktivnosti posebno spojeva **271** i **272**, a u svrhu optimizacije aktivnosti i smanjenja toksičnosti, nekoliko skupina autora pripremili su cijeli niz 4-, 5-, 6- i *N*-supstituiranih NI derivata.[29,276–284] Primjeri sintetiziranih spojeva prikazani su na slici 36.



275a n = 1, m = 1
275b n = 2, m = 1
275c n = 3, m = 1
275d n = 2, m = 3
275e n = 3, m = 3
275f n = 1, m = 1
275g n = 2, m = 5
275h n = 3, m = 5

276a n = 1
276b n = 2
276c n = 3
276d n = 4
276e n = 5

277a n = 1
277b n = 3
277c n = 5



Slika 36. Derivati 1,8-naftalimida kojima je ispitano vezanje na DNA i biološka aktivnost[29,276–284]

Tian[276,277] i suradnici pripremili su niz poliamidnih derivata NI **275** (slika 36) te ispitali *in vitro* antitumorsku aktivnost na staničnim linijama karcinoma kao i mogućnost interkaliranja u molekulu DNA. Autori su pokazali da spoj **275c** posjeduju zanimljivu antitumorsku aktivnost i dobru selektivnost prema tumorskim stanicama. Također, spektroskopska mjerenja su potvrdila da spoj **275c** interkalira u molekulu DNA.[277]

Interakciju s ct-DNA kao i antitumorsku aktivnost NI derivata **276** (slika 36) proučavali su Wang[278] i suradnici. UV-vis, fluorescencijskim i CD spektrima te eksperimentom termalne denaturacije ct-DNA autori su pokazali da spojevi **276** posjeduju srednje vezujući afinitet prema ct-DNA. Zbog pojačanja fluorescencije prilikom vezanja **276c** u DNA, navedeni spoj mogao bi pronaći upotrebu kao sredstvo za bojenje DNA. Spojevi **276c** i **276e** pokazali su zanimljivu aktivnost prema Bel-7402 staničnoj liniji karcinoma.[278]

Da bi ispitali antiproliferativnu aktivnost derivata NI, Seliga[279] i suradnici pripremili su seriju poliamin-NI konjugata s piridinskom podjedinicom **277** (slika 36). Pokazali su da spoj **277a** posjeduje značajnu antiproliferativnu aktivnost prema različitim staničnim linijama tumora. Također, autori[279] su pokazali da spojevi **277** ne inhibiraju ključne DNA metaboličke enzime (polimerazu i topoizomeraze I, II), te navode da je antiproliferativni učinak posljedica interakcije spojeva **277** s molekulom DNA na nespecifični način, a ne putem interkaliranja.[279]

Wang[280] i suradnici pokazali su na primjerima spojeva **278** (slika 36) da supstituenti na položaju 4 imaju značajan utjecaj ne samo na citotoksičnost, već i na spektroskopska svojstva i svojstvo interakcije s DNA. Piperidinski derivati **278c** i **278d** pokazuju veću citotoksičnost prema HeLa, SGC-7901 i A549 staničnim linijama karcinoma od piperazinskih derivata **278a** i **278b**.[280]

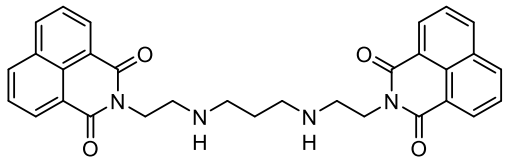
Paul[281] i njegovi suradnici proveli su sintezu i ispitali biološku aktivnost serije *N*-alil-4-supstituiranih NI derivata **279** (slika 36). Najaktivniji se pokazao morfolinski derivat **279b**. Naime, spoj **279b** pokazao je aktivnost prema svih devet ispitanih staničnih linija karcinoma, a spektroskopskim mjerenjima ispitana je i potvrđena mogućnost interkaliranja spoja **279b** u molekulu DNA.[281]

Ispitivanje antiproliferativne aktivnost, kao i pripremu serije 2-, 3- i 4- supstituiranih NI derivata **280** (slika 36), proveli su Xie,[282] Estévez-Braun[283] i suradnici. Spoj **280g** pokazao je puno bolju antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} = 0,5 μmol dm^{-3}) od analoga **280b** (IC_{50} > 30 μmol dm^{-3}) i **280c** (IC_{50} = 24,0 μmol dm^{-3}).[283]

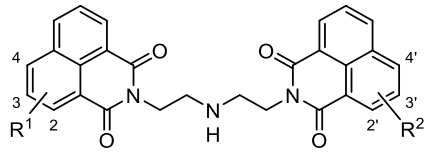
Da bi ispitali mogućnost interkaliranja 3-supstituiranih NI derivata u molekulu DNA i RNA, Johnson[284] i suradnici sintetizirali su spojeve **281** (slika 36). CD spektroskopijom potvrđena je mogućnost interkaliranja spojeva **281**. Eksperimentom termalne denaturacije DNA autori su pokazali da elektron odvlačeći supstituenti (**281a**, **281c**-**281e**) uzrokuju veću stabilizaciju, dok elektron donirajući supsitituenti (**281b**, **281f**-**281j**) uzrokuju manju stabilizaciju interkalacijskog kompleksa između spoja i DNA.[284] Prosječna ΔT_m za elektron odvlačeće

supstituente (**281a**, **281c**-**281e**) iznosi 6,5 °C, dok za elektron donirajuće supstituente (**281b**, **281f**-**281j**) prosječna ΔT_m iznosi 4,8 °C.[284]

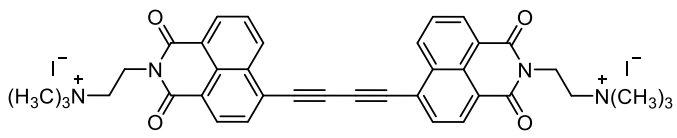
Osim mono-NI derivata, pripremljeni su mnogi bis-NI derivati.[28,29,253] Navedeni derivati prikazani su na slici 37, a posjeduju veću potentnost interkaliranja i pokazali su veću citotoksičnost u predkliničkim modelima. Primjerice, dok mono-NI amonafid (**272**) pokazuje slabu aktivnost protiv ksenografta čvrstih tumora, tretman bis-NI elinafidom (**282**) rezultirao je ne samo inhibicijom rasta tumora već i regresijom tumora u nekoliko modela.[253] Prilikom priprave bis-NI spojeva važno je voditi računa o duljini i fleksibilnosti poveznice kako bi se omogućilo interkaliranje obaju NI podjedinica odnosno kako bi se ispunio princip isključenja susjedne šupljine.



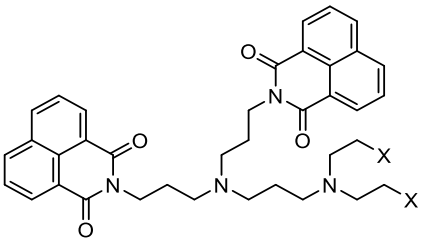
282



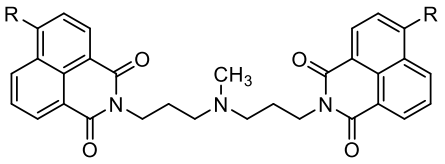
283a R^1 = 4-Br, R^2 = 4'-Br
283b R^1 = 4-Br, 3'-NO_2

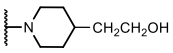
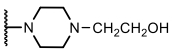


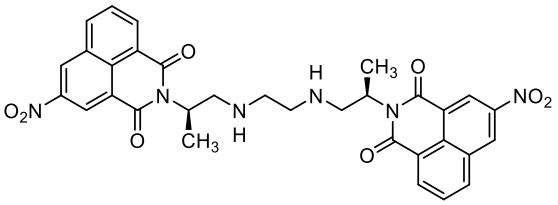
284



285a X = Cl
285b X = OH



286a R = 
286b R = 
286c R =
286d R =



287

Slika 37. Interkalatori s dvije 1,8-naftalimidne podjedinice[253,285–289]

Od pripremljenih bis-NI derivata posebno se ističe spoj elinafid (**282**),[28] bis-interkalator koji posjeduje izvrsnu antitumorsku aktivnost posebno prema stanicama karcinoma jajnika, karcinoma dojke i mezoteliomu.[252] Odsutnost nitro-skupine na molekuli elinafida (**282**) može biti korisna, budući da je nitro-skupina na monomeru **271** odgovorna za neurocitotoksičnost u kliničkim ispitivanjima.[253] Međutim, spoj **282** je stigao do faze I kliničkih ispitivanja, te je nažalost zbog neuromuskularne toksičnost daljnji klinički razvoj zaustavljen.[29,290,291]

Zhang[285] i suradnici priredili su bis-NI derivate **283** (slika 37) koji su zanimljivi iz razloga što fotoaktivacijom mogu uzrokovati cijepanje lanaca superzavijene cirkularne pBR322 DNA. Spektroskopski je dokazano da NI jezgre interkaliraju u DNA, dok aminoalkilna premosnica pomaže u interkaliranju i veže se u veliki utor DNA. Nastajanje manje stabilnog kompleksa s DNA za spoj **283b** u usporedbi s **283a** autori[285] su pripisali nitro-skupini.

Mao[286] i suradnici pripremili su derivat **284** (slika 37) koji uzrokuje značajnu promjenu temperature mekšanja DNA što je posljedica interkaliranja i vezanja u utor molekule DNA.[286]

Sintezu i citotoksičnu aktivnost na pet staničnih linija karcinoma konjugata dušikovih iperita i bis-NI **285** (slika 37) proveli su Meng[287] i suradnici. Spoj **285a** pokazuju veću citotoksičnu aktivnost i od amonafida (**272**), a također pokazuje sposobnost križnog povezivanja lanaca molekule DNA.[287]

Ispitivanje citotoksičnosti na staničnim linijama karcinoma kao i pripravu 4,4'-supstituiranih bis-NI **286** (slika 37) proveli su Wang[288] i suradnici. Spoj **286b** je pokazao bolju i veću citotoksičnu aktivnost na testiranim staničnim linijama karcinoma od amonafida (**272**). Istraživanja interakcije s ct-DNA provedena su spektroskopski i eksperimentima termičke denaturacije ct-DNA te su pokazala da se spoj **286b** u ct-DNA veže kao interkalator. Autori[288] su proveli i studiju hematotoksičnost i kardiotoksičnost spojeva **286** u različitim dozama i vremenu. Pri testiranim uvjetima značajna hematotoksičnost i kardiotoksičnost nije uočena.[288]

Spoj **287** (slika 37) pripremljen je od strane istraživača iz DuPoint Merk te je zbog potencijalnog razvoja u lijek patentno zaštićen 1992. godine.[289]

Otkriće mitonafida (**271**), amonafida (**272**) i elinafida (**282**) te njihov ulazak u klinička ispitivanja pokazali su da razvoj derivata naftalimida predstavlja vrlo važan doprinos organskoj i medicinskoj kemiji. Priprave derivata naftalimida lako je provesti, a strukturne promjene mogu dovesti do značajnijih promjena u aktivnosti, načinu interakcije i vezanja s molekulom DNA.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

Svi upotrijebljeni, komercijalno dostupni reagensi i otapala bili su analitičke ili minimalno purum čistoće (≥ 95 %) i upotrijebljeni su bez dodatnog pročišćavanja. Otapala za provođenje reakcija osjetljivih na vlagu dodatno su posušena na natriju. U fotokemijskim eksperimentima, UV-vis i fluorescencijskim mjerenjima korišteni su metanol i acetonitril HPLC čistoće i ultračista (milli-Q) voda. Spojevi pripravljeni u okviru ove doktorske disertacije identificirani su spektroskopskim metodama (^{1}H i ^{13}C NMR, IR, MS), te im je određeno talište.

Čišćenja spojeva provedena su korištenjem ručnih kolona punjenih silikagelom – Silica Gel 60 (63 – 200 μm) (Fluka) ili korištenjem purifikacijskih sustava Biotage SP1, Biotage Isolera One ili Biotage Isolera Four Dalton 2000. Kod instrumentalnog čišćenja korištene su Biotage SNAP-KP-Sil ili Interchim puriflash SiHC (15 ili 50 μm) kolone. Preparativna TLC čišćenja provedena su na preparativnim TLC pločama – Silica Gel GF 2000 μm UV_{254} (Analtech). Preparativna HPLC-MS/UV čišćenja provedena su na Waters MDAP sustavu opremljenim sa ZQ spektrometrom masa. Čistoća spojeva kao i praćenje tijeka reakcija provođeno je tankoslojnom kromatografijom (TLC), tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) i tekućinskom kromatografijom ultravisoke djelotvornosti spregnute s masenim detektorom (UPLC-MS/UV). TLC je provedena na TLC folijama – Silica Gel 60 F_{254} aluminium sheets (Merck). HPLC analize provedene su na instrumentu Varian Pro Star uz varijabilni UV detektor. UPLC-MS/UV analize provedene su na Waters Acquity UPLC sustavu spregnutim sa SQD spektrometrom masa. Korištene LC metode opisane su u odlomku § 3.2.

Spektri ^{1}H i ^{13}C NMR snimljeni su na spektrometrima Bruker Avance AV300 (opremljen s 5 mm BBO i BBI probom), Bruker Avance AV600 (opremljen s 5 mm BBO i TBI probom), Bruker Avance DPX300, Bruker Avance DRX500, Bruker Avance III 600 (opremljeni s 5 mm BBI probom) i Bruker Avance AV400 (opremljen s 5 mm BBO probom) koristeći standardne Brukerove pulsne sekvence. Spektri su snimani u deuteriranim otapalima pri sobnoj temperaturi. Relativni pomaci izraženi su u ppm prema tetrametilsilanu (TMS) ili otapalu kao unutarnjem standardu.

Infracrveni spektri pripravljenih spojeva snimljeni su na FT-IR ABB Bonem MB102 spektrometru tehnikom KBr pastila ili FT-IR Perkin Elmer Spectrum Two Diamond UATR spektrometru ATR tehnikom. Tališta su određena na Original Kofler Mikroheiztisch aparatu i nisu korigirana. HRMS spektri snimljeni su na Applied Biosystems Voyager DE STR MALDI-TOF/TOF instrumentu. UV-vis spektri snimani su na PG Instruments Limited T80+ spektrofotometru ili Agilent Varian Cary 100 UV-Vis spektrofotometru, a fluorescencijski spektri i fluorescencijske titracije snimljeni su na Agilent Cary Eclipse Varian spektrometru. CD spektri snimljeni su na Jasco J-815 CD spektropolarimetru. T_m DNA određena je na Agilent Varian Cary 100 UV-Vis spektrofotometru. LFP mjerenja provedena su na Edinburgh Instruments spektrometru LP980 s Qsmart Q450 Quantel YAG laserom. SPC mjerenja provedena su na PicoQuant PDL 800-B instrumentu u suradnji s Institute of Physical and Theoretical Chemistry, Technical University Graz. Reakcije potpomognute mikrovalnim zračenjem provedene su u Biotage Initiator Robot Sixty mikrovalnom reaktoru. Fotokemijske reakcije provedene su u Rayonet RPR-101 ili Luzchem LZC-4X fotokemijskim reaktorima. *In vitro* biološka ispitivanja provedena su u suradnji s Laboratorijem za eksperimentalnu terapiju s Instituta Ruđer Bošković.

3.2. Opis korištenih HPLC, UPLC-MS/UV i prep-HPLC-MS/UV metoda

3.2.1. HPLC metodologija

HPLC analize provedene su na instrumentu Varian Pro Star. Postavke instrumenta su sljedeće:
Kolona: Agilent XDB 50×4,6 mm (1,8 μm)
Temperatura kolone: sobna temperatura (nije termostatirana)
Mobilna faza: A: metanol
B: 0,5 % CH_3COOH (aq)
Injektirani volumen: 2,5 μL (manualno)
Gradijent: 70 % A, 30 % B (izokratno)
Protok: 0,3 mL min^{-1}
Trajanje analize: 20 minuta
Diluent: metanol
Detektor: varijabilni UV detektor

3.2.2. UPLC-MS/UV metodologija

UPLC analize su provedene na instrumentu Waters Acquity UPLC spregnutim sa SQD spektrometrom masa. Postavke instrumenta i metode korištene za analizu opisane su u daljnjem tekstu.

3.2.2.1. Opis UPLC-MS/UV metoda

LC uvjeti:

Kolona: Metoda ① i ②: Waters Acquity UPLC BEH C18 50×2,1 mm (1,7 μm)

Metoda ③: Waters Acquity UPLC CSH C18 50×2,1 mm (1,7 μm)

Temperatura kolone: 40 °C

Mobilna faza:

Metoda ①: A: 0,1 % HCOOH (aq);

B: 0,1 % HCOOH u acetonitrilu

Metoda ② i ③ : A: 10 mmol dm^{-3} NH_4HCO_3(aq) podešen na pH = 10 s NH_3(aq);

B: acetonitril

Injektirani volumen: 1,0 μL

Temperatura ladice automatskog uzorkivača: 15 °C

Tablica 1. Gradijent UPLC metoda ① i ②:

VRIJEME (min)	**PROTOK (mL min^{-1})**	**% A**	**% B**
0	0,9	97	3
1,5	0,9	0	100
1,9	0,9	0	100
2,0	0,05	97	3

Tablica 2. Gradijent UPLC metode ③:

VRIJEME (min)	**PROTOK (mL min^{-1})**	**% A**	**% B**
0	0,9	95	5
2	0,9	0	100
3,9	0,9	0	100
3,99	0,9	95	5
4	0,3	95	5

Trajanje analize: 2,0 minute (① i ②); 4,0 minute (③) (½ min za kondicioniranje i ½ min za ispiranje kolone nisu uključene u trajanje analize)

Diluent: CH_3CN – H_2O (1:1), CH_3OH ili DMSO

Uvjeti detektora:

UV detektor:

- PDA raspon: 210 – 340 nm (UV-TIC spektar je zbroj signala od 210 – 340 nm)
- akvizicija 40 Hz

MS detektor:

- ionizacijski mod: pozitivan i negativan alternirajući elektrosprej (ESI^+/ESI^-)
- raspon masa: 90 – 1000 AMU (metoda ① i ②) i 100 – 1500 AMU (metoda ③)
- scan vrijeme: 0,15 s
- *interscan* kašnjenje: MS *interscan* - 0,02 s
- napon na kapilari: 3,00 kV; napon na stošcu (*cone*): 33,00 V; ekstraktor: 3,00 V
- RF leće: 0,2 V
- temperatura izvora (*source temperature*): 150 °C; desolvatacijska temperatura: 350 °C;
- protok desolvatacijskog plina: 750 L h^{-1};
- protok plina na stošcu (*cone gas flow*): 70 L h^{-1}
- LM 1 rezolucija: 15,0; HM 1 rezolucija: 15,0

3.2.3. Preparativna HPLC-MS/UV metodologija

Preparativno HPLC čišćenje spojeva provedeno je na Waters MDAP sustavu koji je opremljen sa ZQ spektrometrom masa. Postavke instrumenta i metoda korištena za čišćenje su sljedeće:

LC uvjeti:

kolona: Waters XBridge Prep. MS C18 OBD 150×30 mm (5 μm)

temperatura kolone: sobna temperatura (nije termostatirana)

Mobilna faza: A: 10 mmol dm^{-3} NH_4HCO_3(aq) podešen na pH=10 s NH_3(aq);

B: acetonitril

Injektirani volumen: nije definiran, maksimalno 950 μL

Tablica 3. Gradijent preparativnog HPLC-a:

VRIJEME (min)	**PROTOK (mL min^{-1})**	**% A**	**% B**
0	50	70	30
1	50	35	65
10	50	0	100
15	50	0	100

Trajanje separacije: 15 minuta (5 min za kondicioniranje i 5 min za ispiranje kolone nisu uključene u trajanje separacije)

Diluent: CH_3CN – H_2O (1:1), MeOH ili DMSO

Uvjeti detektora:

UV detektor:

- PDA raspon: 210 – 600 nm (UV-TIC spektar je suma signala od 210 – 600 nm)
- akvizicija: 1 spektar/s

MS detektor:

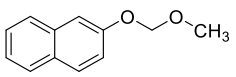
- ionizacijski mod: pozitivan i negativan elektrosprej (ESI^+/ESI^-)
- scan raspon: 100 – 1000 AMU
- scan vrijeme: 1 s
- *interscan* kašnjenje: 0,1 s

Parametri kolektora:

- kašnjenje *split*/kolektor: 19 s.

3.3. Priprava 3-hidroksinaftalen-2-karbaldehida (4)

3.3.1. Priprava 2-(metoksimetoksi)naftalena (**1**)[292]

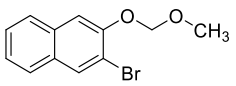


1

U dvogrlu tikvicu (250 mL), opremljenu hladilom i septumom, dodani su 2-naftol (7,29 g, 50,6 mmol), kalijev karbonat (34,68 g, 250,9 mmol) i aceton (100 mL). Sadržaj tikvice je ohlađen na oko 0 °C te je kroz septum dokapan klordimetil-eter (7,0 mL, 92,2 mmol). Sadržaj tikvice je miješan još 15 minuta na oko 0 °C, a zatim je septum zamijenjen čepom i sadržaj tikvice je miješan na temperaturi refluksa tijekom 18 sati. Reakcijska smjesa je potom ohlađena i profiltrirana. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt (uparni ostatak) je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan kao eluens. Dobiveno je 9,38 g (98 %) produkta **1** u obliku žućkaste uljaste tekućine. ^{1}H NMR spektar odgovara literaturno poznatom spektru.[292,293]

2-(metoksimetoksi)naftalen (**1**): 9,38 g (98 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,80-7,69 (m, 3H), 7,47-7,30 (m, 3H), 7,21 (dd, 1H, J = 9,0 Hz, J = 2,4 Hz), 5,29 (s, 2H), 3,52 (s, 3H).

3.3.2. Priprava 3-brom-2-(metoksimetoksi)naftalena (**2**)

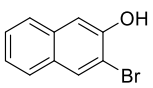


2

U suhu, dvogrlu tikvicu (250 mL), opremljenu lijevkom za dokapavanje i septumom, pod atmosferom dušika dodani su 2-(metoksmetoksi)naftalen (**1**, 6,17 g, 32,8 mmol) i suhi tetrahidrofuran (30 mL). Sadržaj tikvice je ohlađen na –78 °C (aceton/suhi led) te je dokapana otopina *tert*-butil-litija u pentanima (1,7 mol dm^{-3}, 40,0 mL, 68,0 mmol). Sadržaj tikvice je miješan još 15 minuta na –78 °C, a zatim 3 sata na oko 0 °C. Nakon 3 sata miješanja na oko 0 °C, sadržaj tikvice je ponovno ohlađen na –78 °C te je u reakcijsku smjesu dokapan 1,2-dibrometan (5,5 mL, 63,8 mmol). Sadržaj tikvice je miješan još 1 sat na –78 °C, a zatim je kroz 19 sati spontano zagrijan do sobne temperature. U reakcijsku smjesu je zatim oprezno dokapana voda (100 mL) te je nakon 15 minuta miješanja smjesa prebačena u lijevak za odjeljivanje. Organska faza je odvojena, a vodena je ekstrahirana etil-acetatom (3×80 mL). Spojene organske faze oprane su zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (1×100 mL) i osušene bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan - etil-acetat (10:1) kao eluens. Dobiveno je 6,89 g (79 %) produkta **2** u obliku žućkaste uljaste tekućine. ^{1}H NMR spektar odgovara literaturno poznatom spektru.[292]

3-brom-2-(metoksimetoksi)naftalen (**2**): 6,89 g (79 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3055, 2955, 2899, 2826 (Ar C–H), 1458 (Ar C=C), 1150 (C–O–C), 1002, 1084 (C–O), 746 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 8,07 (s, 1H), 7,70 (t, 2H, J = 8,2 Hz), 7,40 (s, 1H), 7,43-7,32 (m, 2H), 5,37 (s, 2H), 3,56 (s, 3H).

3.3.3. Priprava 3-brom-2-hidroksinaftalena (**3**)



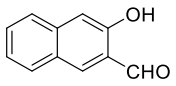
3

U tikvicu (100 mL) dodani su 3-brom-2-(metoksimetoksi)naftalen (**2**, 6,83 g, 25,7 mmol) i metanol (10 mL). Sadržaj tikvice je ohlađen na oko 0 °C, te je dokapana koncentrirana klorovodična kiselina (20,0 mL, 236,3 mmol). Reakcijska smjesa je miješana još 15 min na oko 0 °C, a zatim 3 sata na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu je dokapana zasićena vodena

otopina natrijevog hidrogenkarbonata (≈ 250 mL). Nakon 10 minuta miješanja smjesa je prebačena u lijevak za odjeljivanje, te je ekstrahirana diklormetanom (3×100 mL). Spojene organske faze isprane su zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (1×100 mL), te su zatim osušene bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz diklormetan kao eluens. Dobiveno je 5,50 g (96 %) produkta **3** u obliku bijele do svijetlo žute krutine. ^{1}H NMR spektar odgovara literaturno poznatom spektru.[292,294]

3-brom-2-hidroksinaftalen (**3**): 5,50 g (96 %); t_t = 79 – 80 °C (lit. 82 – 84 °C);[294] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3392 (O–H fenol), 3056 (Ar C–H), 1498 (Ar C=C), 1250 (C–O), 744, 471 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 8,02 (s, 1H), 7,68 (dd, 2H, J = 8,1 Hz, J = 3,5 Hz), 7,46-7,42 (m, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,36-7,32 (m, 1H), 5,59 (s, 1H).

3.3.4. Priprava 3-hidroksinaftalen-2-karbaldehida (**4**)



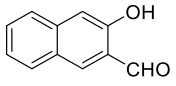
4

U suhu, dvogrlu tikvicu (500 mL), opremljenu septumom, pod atmosferom dušika dodani su 3-brom-2-hidroksinaftalen (**3**, 2,02 g, 9,9 mmol) i suhi dietil-eter (50 mL). Sadržaj tikvice je ohlađen na oko –10 °C (metanol/led) te je dokapana otopina *n*-butil-litija u heksanima (2,5 mol dm^{-3}, 19,2 mL, 48,0 mmol). Reakcijska smjesa je miješana još 20 minuta na –10 °C, a zatim je dokapan suhi *N*,*N*-dimetilformamid (DMF) (5,9 mL, 76,2 mmol). Reakcijska smjesa je miješana još 15 minuta na oko 0 °C, a zatim 1 sat na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu je oprezno dokapana voda (10 mL), a potom vodena otopina klorovodične kiseline (2 mol dm^{-3}, 100 mL). Nakon 19 sati miješanja na sobnoj temperaturi, reakcijska smjesa je prebačena u lijevak za odjeljivanje. Organska faza je odvojena, a vodena je ekstrahirana diklormetanom (3×80 mL). Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz diklormetan - heksan (1:1) kao eluens. Dobiveno je 1,10 g (70 %) produkta **4** u obliku žarko žute kristalinične krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[295]

3-hidroksinaftalen-2-karbaldehid (**4**): 1,10 g (70 %); t_t = 92 – 95 °C (lit. 100 – 102 °C);[296] **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3299 (O–H fenol), 3051 (Ar C–H), 2871 (C–H ald.), 1688 (C=O), 1456 (Ar

C=C), 1180 (C–O); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 10,30 (s, 1H), 10,08 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,86 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,70 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,56 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,4 Hz), 7,37 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,4 Hz), 7,28 (s, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 196,5 (d), 155,8 (s), 138,2 (s), 137,7 (d), 130,2 (d), 129,3 (d), 127,4 (s), 126,6 (d), 124,3 (d), 122,3 (s), 111,9 (d).

3.3.5. Priprava 3-hidroksinaftalen-2-karbaldehida (**4**) (u jednom koraku)[296]

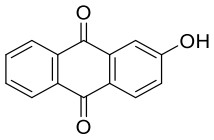


4

U suhu tikvicu (10 mL), opremljenu septumom, pod atmosferom argona dodani su 2-naftol (290 mg, 2,01 mmol) i suhi tetrahidropiran (1,0 mL). U otopinu je oprezno dokapana otopina *tert*-butil-litija u pentanima (1,7 mol dm^{-3}, 2,7 mL, 4,59 mmol), reakcijska smjesa je miješana još 15 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim 4,5 sata na 50 °C. Reakcijska smjesa je ohlađena na oko 0 °C, te je u nju dokapana otopina suhog *N*,*N*-dimetilformamida (DMF) (1,0 mL, 12,91 mmol) u suhom tetrahidropiranu (1 mL). Reakcijska smjesa je miješana još 30 minuta na oko 0 °C, a zatim je kroz 20 sati spontano zagrijana do sobne temperature. U reakcijsku smjesu je oprezno dokapana klorovodična kiselina (1 mol dm^{-3}, 20 mL). Nakon 45 minuta miješanja smjesa je prebačena u lijevak za odjeljivanje te je ekstrahirana dietil-eterom (3×30 mL). Spojene organske faze isprane su vodenom otopinom litijevog klorida (5 %, 1×15 mL), te zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (1×20 mL) i osušene bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 25 % diklormetan/cikloheksan kao eluens. Dobiveno je 270 mg (78 %) produkta **4** u obliku žarko žute krutine. Prema analizi spektra ^{1}H NMR (Dodatak 8.1, Prilog 5) uočena je prisutnost drugog regioizomera (oko 10 %).

3.4. Priprava 3-hidroksiantracen-2-karbaldehida (9)

3.4.1. Priprava 2-hidroksiantrakinona (**5**)[297]

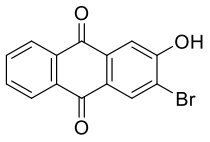


5

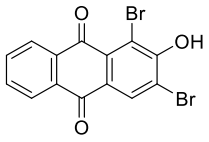
U tikvicu (250 mL), opremljenu klor-kalcijevom cjevčicom, dodani su 2-aminoantrakinon (11,18 g, 50,1 mmol) i koncentrirana sumporna kiselina (130 mL). Reakcijska smjesa je miješana 20 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim je ohlađena na oko 0 °C, te je u nju kroz 5 minuta u nekoliko navrata oprezno dodavan natrijev nitrit (3,88 g, 56,2 mmol). Reakcijska smjesa je miješana još 30 minuta na oko 0 °C, a zatim 4 sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga, reakcijska smjesa je oprezno izlivena na oko 500 g usitnjenog leda u čaši od 2 L. Dobivena suspenzija je uz snažno miješanje zagrijavana pola sata uz vrenje, te je potom ohlađena na sobnu temperaturu. Nastali talog je odfiltriran, ispran destiliranom vodom i osušen pri 40 °C i 10 mbar u vakuumskom sušioniku. Dobiveno je 10,42 g (93 %) produkta **5** u obliku žutosmeđe krutine. Sirovi produkt **5** je bez dodatnog pročišćavanja korišten u sljedećem reakcijskom koraku. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[298]

2-hidroksiantrakinon (**5**): 10,42 g (93 %); t_t = 308 – 310 °C (lit. 301 °C);[297] **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3224 (O–H fenol), 1712 (C=O), 1674, 1568 (Ar C=C), 1301 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 600 MHz) δ/ppm: 11,02 (s, 1H), 8,18-8,16 (m, 2H), 8,09 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,92-7,87 (m, 2H), 7,50 (d, 1H, J = 2,5 Hz), 7,25 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,5 Hz); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 150 MHz) δ/ppm: 182,4 (s), 180,3 (s), 162,2 (s), 138,4 (d), 134,8 (s), 134,5 (d), 134,1 (d), 133,0 (s), 132,8 (s), 126,6 (d, 2C), 125,9 (s), 111,0 (d), 93,4 (d).

3.4.2. Priprava 3-brom-2-hidroksiantrakinona (**6**) i 1,3-dibrom-2-hidroksiantrakinona (**7**)



6



7

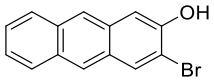
U dvogrlu tikvicu (1 L), opremljenu hladilom i lijevkom za dokapavanje, dodani su sirovi 2-hidroksiantrakinon (**5**, 71,15 g, 285,6 mmol) i koncentrirana octena kiselina (650 mL). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturu refluksa, te je kroz 4 sata oprezno dokapana

otopina broma (65,0 mL, 1260,89 mmol) u koncentriranoj octenoj kiselini (50 mL). Napredak reakcije praćen je HPLC-om (metoda opisana u §3.2.1). Reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu i izlivena u vodu (300 mL). U nastalu suspenziju dokapana je zasićena vodena otopina natrijevog sulfita. Nastali talog je odfiltriran, ispran destiliranom vodom i osušen u evakuiranom eksikatoru iznad kalijevog hidroksida. Dobiveno je 111,60 g sirovog produkta u obliku smeđe krutine. Sirovi produkt je analiziran UPLC-MS/UV (metoda opisana u §3.2.2.1). Spojeve **6** i **7** moguće je odijeliti iz sirovog produkta kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens diklormetan - etil-acetat - octena kiselina (760:40:1) uz postupno povećavanje udjela etil-acetata do 10 %. Pokazalo se da spojeve **6** i **7** nije potrebno odjeljivati jer u sljedećem koraku (redukciji) oba spoja daju isti željeni produkt **8**. Iz tog razloga je sirovi produkt bez dodatnog pročišćavanja korišten u sljedećem reakcijskom koraku. Dio sirovog produkta je pročišćen u svrhu analize i karakterizacije spojeva. NMR karakterizacija spoja **6** odgovara literaturno poznatoj.[298]

3-brom-2-hidroksiantrakinon (**6**): t_t = 235 – 245 °C (lit. 262 – 263°C);[298] **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3350 (O–H fenol), 1668 (C=O), 1570 (Ar C=C), 1274 (C–O), 719 (C–Br); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 300 MHz) δ/ppm: 11,94 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,16-8,13 (m, 2H), 7,91-7,88 (m, 2H), 7,64 (s, 1H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 150 MHz) δ/ppm: 182,0 (s), 180,3 (s), 159,6 (s), 134,5 (d), 134,2 (d), 134,0 (s), 132,9 (s), 132,8 (s), 132,1 (d), 126,6 (d, 2C), 125,8 (s), 116,6 (s), 112,8 (d); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 0,68 min, m/z = 302,97 $[M+H]^+$, nađeno 303,44, 305,38; m/z = 300,95 $[M–H]^–$, nađeno 301,26.

1,3-Dibrom-2-hidroksiantrakinon (**7**): **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3412 (O–H fenol), 3105(C–H), 3070 (C–H),1672 (C=O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 300 MHz) δ/ppm: 8,34 (s, 1H), 8,18-8,10 (m, 2H), 7,93-7,87 (m,2H); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 0,74 min, m/z = 380,88 $[M+H]^+$, nađeno 383,52; m/z = 378,86 $[M–H]^–$, nađeno 381,22.

3.4.3. Priprava 3-brom-2-hidroksiantracena (**8**)



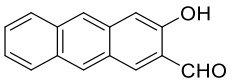
8

U Erlenmeyerovoj tikvici (1 L) otopljen je natrijev tetrahidridoborat (3,50 g, 92,5 mmol) u vodenoj otopini natrijevog karbonata (1 mol dm^{-3}, 120 mL) i otopina je zagrijana do vrenja. U otopinu je dodan izopropanol (15 mL), a zatim je polako dodana otopina smjese 2-hidroksi-3-

bromantrakinona (**6**) i 1,3-dibrom-2-hidroksiantrakinona (**7**) (10,0 g, omjer **6** : **7** prema UPLC/MS-UV je 55% : 29%) u vodenoj otopini natrijevog karbonata (1 mol dm^{-3}, 120 mL). Reakcijska smjesa je zagrijavana 15 minuta na temperaturi vrenja uz intenzivno miješanje. Reakcija je prekinuta pažljivim dodatkom vodene otopine klorovodične kiseline (3 mol dm^{-3}, ≈ 200 mL), te je ohlađena na sobnu temperaturu. Nastali talog je odfiltriran, ispran destiliranom vodom i osušen u evakuiranom eksikatoru iznad kalijevog hidroksida. Sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 50 % diklormetan/cikloheksan kao eluens. Dobiveno je 6,73 g (82 %) produkta **8** u obliku žute krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[299]

3-brom-2-hidroksiantracen (**8**): 6,73 g (82 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 149 – 150 °C (lit. 156 °C uz raspad);[299] **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3512 (O–H fenol), 3049 (Ar C–H), 1438 (Ar C=C), 1005 (C–O), 899 (C–Br); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 10,72 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,98 (dd (t), 2H, J = 7,6 Hz), 7,51-7,31 (m, 3H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 151,0 (s), 132,0 (d), 131,7 (s), 131,5 (s), 129,7 (s), 128,1 (d), 127,7 (s), 127,4 (d), 125,7 (d), 125,2 (d), 124,7 (d), 123,1 (d), 114,7 (s), 107,7 (d); **UPLC-MS/UV**: metoda ①, t_R = 1,28 min, m/z = 272,99 $[M+H]^+$, nađeno 272,01, 273,97; m/z = 270,98 $[M–H]^–$, nađeno 270,99, 273,00.

3.4.4. Priprava 3-hidroksiantracen-2-karbaldehida (**9**)



9

U dvogrlu tikvicu (100 mL), opremljenu septumom, pod atmosferom dušika dodani su 3-brom-2-hidroksiantracen (**8**, 1,40 g, 5,1 mmol) i suhi dietil-eter (20 mL). Sadržaj tikvice je ohlađen na oko –10 °C (metanol/led) te je dokapana otopina *n*-butil-litija u heksanima (2,5 mol dm^{-3}, 8,9 mL, 22,25 mmol). Reakcijska smjesa je miješana još 20 minuta na –10 °C, a zatim je dokapan suhi *N*,*N*-dimetilformamid (DMF) (3,1 mL, 40,04 mmol). Reakcijska smjesa je miješana još 15 minuta na –10 °C, a zatim 1 sat na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu je oprezno dokapana voda (1 mL), a potom vodena otopina klorovodične kiseline (2 mol dm^{-3}, 40 mL). Nakon 19 sati miješanja na sobnoj temperaturi, nastala suspenzija je profiltrirana, a filtrat je prebačen u lijevak za odjeljivanje te je ekstrahiran etil-acetatom (3×20 mL). Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Osušeni i profiltrirani ekstrakt (organska faza) spojen je s talogom te je otapalo upareno na rotacijskom uparivaču. Sirovi

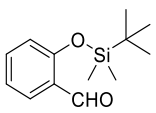
produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz diklormetan - cikloheksan (1:1) kao eluens. Dobiveno je 0,62 g (54 %) produkta **9** u obliku narančaste kristalinične krutine. 3-hidroksiantracen-2-karbaldehid (**9**): 0,62 g (54 %); t_t = 222 – 224 °C (lit. 222 – 232 °C);[300] **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3285 (O–H fenol), 3051 (Ar C–H), 2871(C–H ald.), 1682 (C=O), 1452 (Ar C=C), 1167 (C–O); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 10,13 (s, 1H), 10,07 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,96 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,93 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,52 (ddd, 1H, J = 1,0 Hz, J = 6,8 Hz, J = 8,5 Hz), 7,43 (ddd, 1H, J = 1,0 Hz, J = 6,8 Hz, J = 8,5 Hz), 7,39 (s, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm: 196,5 (d), 153,8 (s), 153,3 (s), 140,7 (d), 134,6 (s), 134,4 (s), 130,6 (s), 129,5 (d), 128,7 (d), 127,7 (d), 127,5 (d), 125,2 (d), 124,2 (d), 123,7 (s), 110,0 (d).

3.5. Priprava *O*-zaštićenih karbaldehida benzena, naftalena i antracena

3.5.1. Opći postupak za uvođenje *tert*-butildimetilsililne zaštitne skupine

U dvogrlu tikvicu (250 mL), opremljenu lijevkom za dokapavanje i klor-kalcijevom cjevčicom, dodani su *o*-hidroksialdehid (1 ekv.), diklormetan (2 mL/mmol aldehida), trietilamin (1,5 ekv.) i 4–(*N*,*N*-dimetilamino)piridin (DMAP) (0,03 ekv.). Reakcijska smjesa je ohlađena na oko 0 °C, te je u nju dokapana otopina *tert*-butildimetilsilil-klorida (1,5 ekv.) u diklormetanu (1 mL/mmol TBSCl). Reakcijska smjesa je miješana još 30 minuta na oko 0 °C, a zatim je kroz 20 sati spontano zagrijana do sobne temperature. U reakcijsku smjesu je dodana zasićena vodena otopina natrijeva hidrogenkarbonata, te je prebačena u lijevak za odjeljivanje. Organska faza je odvojena, a vodena je ekstrahirana diklormetanom. Spojene organske faze isprane su zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida, a zatim posušene bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan - etil-acetat (7:3) ili heksan - diklormetan (1:1) kao eluens.

*3.5.1.1. Priprava 2-(*tert*-butildimetilsililoksi)benzaldehida (***10***)*[301]

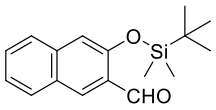


10

Prema općem postupku opisanom u §3.5.1, reakcijom salicilaldehida (1,10 mL, 10,61 mmol) i *tert*-butildimetilsilil-klorida (2,40 g, 15,9 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,11 g (84 %) produkta **10** u obliku prozirnog, viskoznog ulja. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[302]

2-(*tert*-butildimetilsililoksi)benzaldehid (**10**): 2,11 g (84 %); **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3074, 3039 (Ar C–H), 2956 (C–H), 2752 (C–H ald.), 1689 (C=O, Ar ald.), 1479 (Ar C=C), 1253 (Si–CH_3), 1099 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 10,47 (s, 1H), 7,81 (dd, 1H, J = 7,7 Hz, J = 1,5 Hz), 7,46 (dt, 1H, J = 8,3 Hz, J = 1,5 Hz), 7,03 (dd (t), 1H, J = 7,7 Hz), 6,88 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 1,03 (s, 9H), 0,28 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm: 190,0 (d), 158,8 (s), 135,6 (s), 128,3 (d), 127,1 (d), 121,4 (d), 120,1 (d), 25,6 (q, 3C), 18,2 (s), – 4,4 (q, 2C).

*3.5.1.2. Priprava 3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-karbaldehida (***11***)*

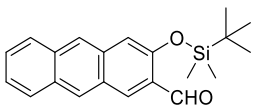


11

Prema općem postupku opisanom u §3.5.1, reakcijom spoja **4** (0,31 g, 1,8 mmol) i *tert*-butildimetilsilil-klorida (0,41 g, 2,7 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 0,41 g (80 %) produkta **11** u obliku svijetlo žute kristalinične krutine.

3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-karbaldehid (**11**): 0,41 g (80 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 61 – 63 °C; **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3055 (Ar C–H), 2956 (C–H), 2858, 2929 (C–H ald.), 1689 (C=O, Ar ald.), 1460 (C=C), 1257 (Si–CH_3), 1105 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 10,59 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,88 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,69 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,52 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,2 Hz), 7,38 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,2 Hz), 7,19 (s, 1H), 1,06 (s, 9H), 0,34 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 190,6 (d), 154,1 (s), 137,5 (s), 130,6 (d), 129,9 (d), 129,0 (d), 128,3 (s), 127,7 (s), 126,5 (d), 124,8 (d), 115,1 (d), 25,7 (q, 3C), 18,4 (s), – 4,3 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,58 min, m/z = 287,15 $[M+H]^+$, nađeno 287,19.

*3.5.1.3. Priprava 3-(*tert*-butildimetilsililoksi)antracen-2-karbaldehida (***12***)*



12

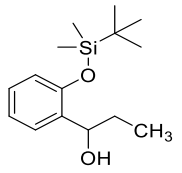
Prema općem postupku opisanom u §3.5.1, reakcijom spoja **9** (0,60 g, 2,7 mmol) i *tert*-butildimetilsilil-klorida (0,61 g, 4,1 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 0,72 g (79 %) produkta **12** u obliku žarko žute, kristalinične krutine.

3-(*tert*-butildimetilsililoksi)antracen-2-karbaldehid (**12**): 0,72 g (79 %); t_t = 61 – 63 °C; **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3055 (Ar C–H), 2956 (C–H), 2858, 2929 (C–H ald.), 1689 (C=O, Ar ald.), 1460 (C=C), 1257 (Si–CH_3), 1105 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 10,61 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,97 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,92 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,49 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,2 Hz), 7,43 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,2 Hz), 7,30 (s, 1H), 1,08 (s, 9H), 0,38 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 190,6 (d), 152,4 (s), 134,2 (s), 133,7 (s), 132,4 (d), 130,9 (s), 129,7 (d), 128,6 (d), 128,4 (s), 127,7 (d), 127,0 (d), 125,1 (d), 124,1 (d), 113,2 (d), 25,7 (q, 3C), 18,4 (s), – 4,2 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,68 min, m/z = 337,16 $[M+H]^+$, nađeno 337,18.

3.6. Priprava homobifunkcionalnih derivata Grignardovom reakcijom

3.6.1. Priprava modelnog spoja – 1-[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]propil-acetata (**14**)

*3.6.1.1. Priprava 1-[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]propan-1-ola (**13**)*



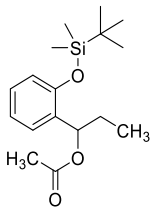
13

U suhu, dvogrlu tikvicu (25 mL), opremljenu hladilom i septumom, pod atmosferom dušika dodani su magnezij (0,12 g, 4,9 mmol), suhi tetrahidrofuran (1 mL) i kristalić joda, koji služi za iniciranje reakcije. U tikvicu je zatim kroz septum dokapan dio otopine brometana (0,36 mL, 4,83 mmol) u suhom tetrahidrofuranu (5 mL), te je reakcija pokrenuta uz blagi refluks i miješanje. Nakon što je početna crveno-smeđa boja reakcijske smjese nestala, dokapan je ostatak otopine brometana. Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa tijekom 1 sata, a zatim je ohlađena na sobnu temperaturu, te je u nju dokapana otopina aldehida **10** (0,95 g, 4,0 mmol) u suhom tetrahidrofuranu (5 mL). Reakcijska smjesa je miješana 2 sata na sobnoj temperaturi. U reakcijsku smjesu je dodana zasićena vodena otopina amonijevog klorida (15 mL), te je prebačena u lijevak za odjeljivanje i ekstrahirana etil-acetatom (3×20 mL). Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja

otapala na rotacijskom uparivaču sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan - etil-acetat (7:3) kao eluens. Dobiveno je 0,89 g (84 %) produkta **13** u obliku bezbojnog ulja.

1-[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]propan-1-ol (**13**): 0,89 g (84 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) *δ*/ppm: 7,36 (dd, 1H, *J* = 7,6 Hz, *J* = 1,7 Hz), 7,13 (td, 1H, *J* = 7,7 Hz, *J* = 1,9 Hz), 6,95 (td, 1H, *J* = 7,4 Hz, *J* = 0,8 Hz), 6,79 (dd, 1H, *J* = 8,1 Hz, *J* = 0,9 Hz), 4,95-4,85 (m, 1H), 2,12 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz), 1,84-1,68 (m, 2H), 1,02 (s, 9H), 0,97 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz), 0,27 (s, 3H), 0,26 (s, 3H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) *δ*/ppm: 152,5 (s), 134,8 (s), 127,8 (d), 126,8 (d), 121,1 (d), 118,1 (d), 71,0 (d), 30,4 (t), 25,8 (q, 3C), 18,2 (s), 10,3 (d), – 4,02 (q), – 4,1 (q).

*3.6.1.2. Priprava 1-[2-(*tert-*butildimetilsililoksi)fenil]propil-acetata (***14***)*



14

U dvogrlu tikvicu (5 mL), opremljenu hladilom i septumom, pod atmosferom dušika dodani su spoj **13** (0,14 g, 0,5 mmol), dietil-eter (2 mL) i piridin (0,10 mL, 1,24 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa tijekom 5 minuta, a zatim je ohlađena na sobnu temperaturu te je dodan acetil-klorid (90 μL, 1,27 mmol). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa tijekom 3 sata. Otapalo je upareno na rotacijskom uparivaču, te je ostatak (sirovi produkt) pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan – dietil-eter (9:1) kao eluens. Dobiveno je 55 mg (35 %) produkta **14** u obliku bezbojnog ulja.

1-[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]propil-acetat (**14**): 55 mg (35 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) *δ*/ppm: 7,28 (dd, 1H, *J* = 7,6 Hz, *J* = 1,6 Hz), 7,13 (td, 1H, *J* = 8,0 Hz, *J* = 1,5 Hz), 6,93 (td, 1H, *J* = 7,5 Hz, *J* = 0,8 Hz), 6,79 (dd, 1H, *J* = 8,1 Hz, *J* = 0,9 Hz), 6,09 (t, 1H, *J* = 6,4 Hz), 2,08 (s, 3H), 1,84-1,77 (m, 2H), 1,03 (s, 9H), 0,89 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz), 0,27 (s, 3H), 0,26 (s, 3H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 170,2 (s), 152,4 (s), 131,7 (s), 128,1 (d), 126,6 (d), 121,0 (d), 118,3 (d), 72,1 (d), 26,6 (t), 25,8 (q, 3C), 21,2 (q), 9,83 (q), – 3,95 (q), – 4,3 (q); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{17}H_{28}O_3Si$ $[M+H]^+$ 309,1886, nađeno 309,1880.

3.6.2. Opći postupak Grignardove reakcije dobivanja homobifunkcionalnih spojeva

U suhu, dvogrlu tikvicu (50 mL), opremljenu hladilom i septumom, pod atmosferom dušika ili argona dodani su magnezij (4,5 ekv.), suhi dietil-eter (1 mL) i kristalić joda, koji služi za iniciranje reakcije. U tikvicu je zatim kroz septum dokapan dio otopine 1, ω(n)-dibromalkana (2,25 ekv., n = 4 – 8) u suhom dietil-eteru (2 mL/mmol 1, ω(n)-dibromalkana), te je reakcija pokrenuta uz blagi refluks i miješanje. Nakon što je početna crveno-smeđa boja reakcijske smjese nestala, dokapan je ostatak otopine 1, ω(n)-dibromalkana. Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa tijekom 3 sata, a zatim je ohlađena na oko 0 °C, te je u nju dokapana otopina *O*-zaštićenog karbaldehida (1 ekv.) u suhom dietil-eteru (5 mL/mmol karbaldehida). Reakcijska smjesa je miješana još 30 minuta na oko 0 °C, a zatim 3 sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga je u reakcijsku smjesu dodana zasićena vodena otopina amonijevog klorida, te je ekstrahirana etil-acetatom. Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 12,5 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens.

3.6.3. Opći postupak esterifikacije

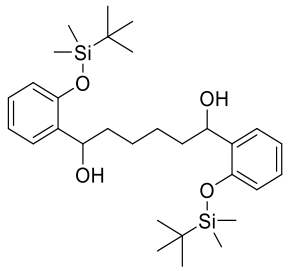
U dvogrlu tikvicu (20 mL), opremljenu hladilom i septumom, pod atmosferom dušika dodani su alkohol (1 ekv.), dietil-eter (10 mL/mmol alkohola) i piridin (4,4 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa tijekom 5 minuta, a zatim je ohlađena na sobnu temperaturu te je dodan acetil-klorid (4,5 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa tijekom 0,5 sata. Otapalo je upareno na rotacijskom uparivaču, te je ostatak (sirovi produkt) pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan - dietil-eter (9:1) kao eluens.

3.6.4. Opći postupak za pripravu estera – „*one-pot*“ acetiliranje

Postupak Grignardove reakcije dobivanja fenolnih homobifunkcionalnih estera u jednom koraku sličan je postupku opisanom u §3.6.2 samo što u reakcijsku smjesu nije dodana vodena otopina amonijevog klorida, već je u dodan acetil-klorid (4,5 ekv.). Nakon 1 sata miješanja na sobnoj temperaturi, otapalo je upareno na rotacijskom uparivaču, te je ostatak (sirovi produkt) pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan - dietil-eter (9:1) kao eluens.

3.6.5. Priprava fenolnih homobifunkcionalnih spojeva

*3.6.5.1. Priprava 1,6-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heksan-1,6-diola (**15**)*

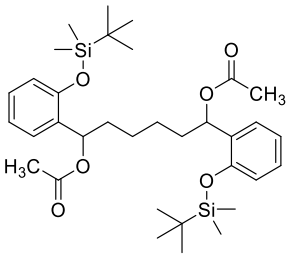


15

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,4-dibrombutana (1,48 mL, 12,39 mmol) i magnezija (603 mg, 24,79 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **10** (1,30 g, 5,5 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 625 mg (43 %) produkta **15** u obliku bezbojnog ulja.

1,6-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heksan-1,6-diol (**15**): 625 mg (43 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,33 (dd, 2H, J = 7,6 Hz, J = 1,4 Hz), 7,12 (td, 2H, J = 8,0 Hz, J = 1,7 Hz), 6,95 (td, 2H, J = 7,5 Hz, J = 0,8 Hz), 6,78 (dd, 2H, J = 8,0 Hz, J = 0,7 Hz), 4,99-4,89 (m, 2H), 2,19-2,11 (m, 2H), 1,80-1,69 (m, 4H), 1,50-1,21 (m, 4H), 1,00 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm: 152,4 (s, 2C), 134,9 (s, 2C), 127,9 (d, 2C), 126,79 (d), 126,78 (d), 121,2 (d, 2C), 118,1 (d, 2C), 69,86 (d), 69,81 (d), 37,5 (t), 37,4 (t), 26,2 (t), 26,1 (t), 25,8 (q, 6C), 18,2 (s, 2C), – 4,1 (q, 4C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{30}H_{50}O_4Si_2$ $[M+Na]^+$ 553,3145, nađeno 553,3140.

*3.6.5.2. Priprava 1,6-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heksan-1,6-diil-diacetata (**16**)*

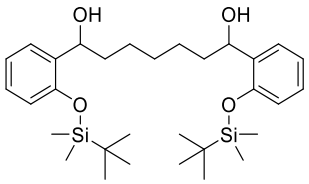


16

Prema općem postupku za esterifikaciju opisanom u §3.6.3, reakcijom spoja **15** (270 mg, 0,51 mmol) i acetil-klorida uz piridin u dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 266 mg (85 %) produkta **16** u obliku bezbojnog ulja.

1,6-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heksan-1,6-diil-diacetat (**16**): 266 mg (85 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,24 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,5 Hz), 7,11 (td, 2H, J = 7,5 Hz, J = 1,6 Hz), 6,91 (td, 2H, J = 6,8 Hz, J = 0,8 Hz), 6,76 (dd, 2H, J = 8,1 Hz, J = 0,6 Hz), 6,09 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 2,04 (s, 6H), 1,80-1,69 (m, 4H), 1,42-1,18 (m, 4H), 1,01 (s, 18H), 0,25 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm: 170,1 (s, 2C), 152,4 (s, 2C), 131,87 (s), 131,81 (s), 128,2 (d, 2C), 126,6 (d), 126,5 (d), 121,1 (d, 2C), 118,3 (d, 2C), 71,1 (d), 71,0 (d), 35,5 (t, 2C), 25,8 (q, 6C), 25,6 (t), 25,5 (t), 21,2 (q, 2C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,3 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{34}H_{54}O_6Si_2$ $[M]^+$ 614,3459, nađeno 614,3429.

*3.6.5.3. Priprava 1,7-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heptan-1,7-diola (**17**)*

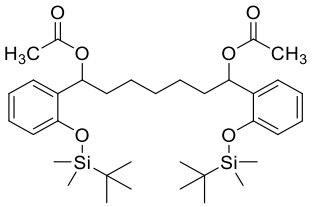


17

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,5-dibrompentana (1,69 mL, 12,41 mmol) i magnezija (603 mg, 24,82 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **10** (1,30 g, 5,5 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 627 mg (42 %) produkta **17** u obliku bezbojnog ulja.

1,7-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heptan-1,7-diol (**17**): 627 mg (42 %); **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3380 (O–H), 3068, 3035 (Ar C–H), 2930 (CH_2–H), 2858 (CH–H), 1487 (Ar C=C), 1252 (Si–CH_3), 1043 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,34 (dd, 2H, J = 7,5 Hz, J = 1,5 Hz), 7,11 (td, 2H, J = 7,8 Hz, J = 1,7 Hz), 6,94 (dd (t), 2H, J = 7,5 Hz), 6,78 (d, 2H, J = 7,8 Hz,), 4,98-4,90 (m, 2H), 2,13-2,11 (m, 2H), 1,76-1,69 (m, 4H), 1,53-1,48 (m, 2H), 1,39-1,29 (m, 4H), 1,01 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 152,5 (s, 2C), 135,0 (s, 2C), 127,8 (d, 2C), 126,8 (d, 2C), 121,2 (d, 2C), 118,2 (d, 2C), 69,83 (d), 69,81 (d), 37,5 (t, 2C), 29,7 (t), 26,13 (t), 26,10 (t), 25,8 (q, 6C), 18,2 (s, 2C), – 3,98 (q, 2C), – 4,0 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{31}H_{55}O_4Si_2$ $[M+Na]^+$ 567,3302, nađeno 567,3309.

*3.6.5.4. Priprava 1,7-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heptan-1,7-diil-diacetata (**18**)*

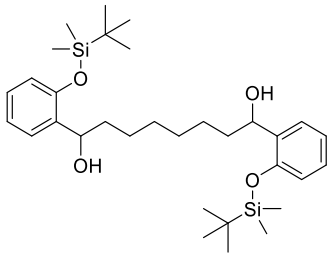


18

Prema općem postupku za esterifikaciju opisanom u §3.6.3, reakcijom spoja **17** (273 mg, 0,50 mmol) i acetil-klorida uz piridin u dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 158 mg (50 %) produkta **18** u obliku bezbojnog ulja.

1,7-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]heptan-1,6-diil-diacetat (**18**): 158 mg (50 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,26 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,4 Hz), 7,11 (td, 2H, J = 7,9 Hz, J = 1,4 Hz), 6,92 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 6,77 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 6,09 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 2,05 (s, 6H), 1,80-1,68 (m, 4H), 1,37-1,16 (m, 6H), 1,02 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm: 170,1 (s, 2C), 152,4 (s, 2C), 131,92 (s), 131,91 (s), 128,1 (d, 2C), 126,6 (d, 2C), 121,0 (d, 2C), 118,3 (d, 2C), 71,0 (d, 2C), 35,6 (t, 2C), 29,5 (t), 25,8 (q, 6C), 25,55 (t), 25,51 (t), 21,2 (q, 2C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,2 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{35}H_{56}O_6Si_2$ $[M]^+$ 628,3615, nađeno 628,3606.

*3.6.5.5. Priprava 1,8-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diola (**19**)*



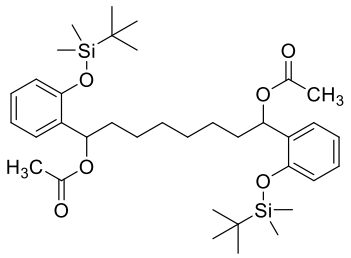
19

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,6-dibromheksana (1,88 mL, 12,39 mmol) i magnezija (603 mg, 24,82 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **10** (1,30 g, 5,5 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,02 g (66 %) produkta **19** u obliku bezbojnog ulja.

1,8-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diol (**19**): 1,02 g (66 %); **IR** (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3440 (O–H), 3056 (Ar C–H), 2930 (CH_2–H), 2858 (CH–H), 1463 (Ar C=C),1252 (Si–CH_3), 1176 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,34 (dd, 2H, J = 7,5 Hz, J = 1,6 Hz),

7,12 (td, 2H, *J* = 8,0 Hz, *J* = 1,8 Hz), 6,95 (td, 2H, *J* = 7,5 Hz, *J* = 0,8 Hz), 6,78 (dd, 2H, *J* = 8,0 Hz, *J* = 0,8 Hz), 4,98-4,90 (m, 2H), 2,11 (d, 2H, *J* = 4,6 Hz), 1,76-1,69 (m, 4H), 1,57-1,47 (m, 2H), 1,36-1,26 (m, 6H), 1,01 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 152,5 (s, 2C), 135,1 (s, 2C), 127,8 (d, 2C), 126,8 (d, 2C), 121,2 (d, 2C), 118,2 (d, 2C), 69,8 (d, 2C), 37,5 (t, 2C), 29,69 (t), 29,67 (t), 26,1 (t), 26,0 (t), 25,8 (q, 6C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,0 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{32}H_{54}O_4Si_2$ $[M+Na]^+$ 581,3458, nađeno 581,3469.

*3.6.5.6. Priprava 1,8-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diil-diacetata (***20***)*



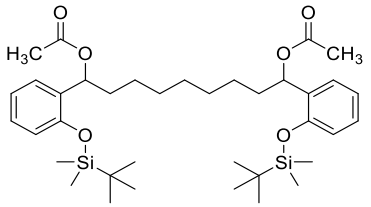
20

Prema općem postupku za esterifikaciju opisanom u §3.6.3, reakcijom spoja **19** (280 mg, 0,50 mmol) i acetil-klorida uz piridin u dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 208 mg (65 %) produkta **20** u obliku bezbojnog ulja.

Prema općem postupku opisanom u §3.6.4, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,6-dibromheksana (0,30 mL, 1,43 mmol) i magnezija (110 mg, 4,48 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **10** (650 mg, 2,76 mmol) u suhom dietil-eteru uz obradu reakcije acetil-kloridom (0,46 mL, 6,47 mmol) dobiveno je 430 mg (48 %) produkta **20** u obliku bezbojnog ulja.

1,8-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diil-diacetat (**20**): 430 mg (48 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) *δ*/ppm: 7,26 (dd, 2H, *J* = 7,3 Hz, *J* = 1,4 Hz), 7,11 (td, 2H, *J* = 7,9 Hz, *J* = 1,4 Hz), 6,92 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz), 6,77 (dd, 2H, *J* = 8,0 Hz, *J* = 0,5 Hz), 6,10 (t, 2H, *J* = 6,4 Hz), 2,05 (s, 6H), 1,82-1,68 (m, 4H), 1,31-1,18 (m, 8H), 1,02 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 170,1 (s, 2C), 152,4 (s, 2C), 131,95 (s), 131,93 (s), 128,1 (d, 2C), 126,6 (d, 2C), 121,0 (d, 2C), 118,3 (d, 2C), 71,0 (d, 2C), 35,6 (t, 2C), 29,47 (t), 29,42 (t), 25,8 (q, 6C), 25,57 (t), 25,54 (t), 21,2 (q, 2C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,2 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{36}H_{58}O_6Si_2$ $[M–H]^–$ 641,3694, nađeno 641,3690.

*3.6.5.7. Priprava 1,9-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]nonan-1,9-diil-diacetata (***21***)*

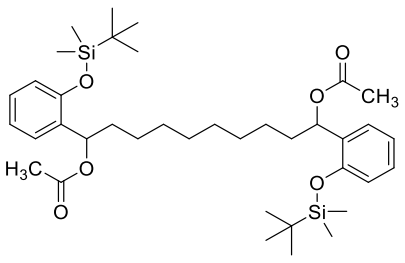


21

Prema općem postupku opisanom u §3.6.4, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,7-dibromheptana (0,36 mL, 2,10 mmol) i magnezija (102 mg, 4,19 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **10** (220 mg, 0,93 mmol) u suhom dietil-eteru uz obradu reakcije acetil-kloridom (0,15 mL, 2,05 mmol) dobiveno je 58 mg (19 %) produkta **21** u obliku bezbojnog ulja.

1,9-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]nonan-1,9-diil-diacetat (**21**): 58 mg (19 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 7,27 (dd, 2H, J = 7,7 Hz, J = 1,5 Hz), 7,12 (td, 2H, J = 7,6 Hz, J = 1,6 Hz), 6,92 (td, 2H, J = 7,4 Hz, J = 0,7 Hz), 6,78 (dd, 2H, J = 8,0 Hz, J = 0,8 Hz), 6,11 (t, 2H, J = 6,2 Hz), 2,06 (s, 6H), 1,81-1,69 (m, 4H), 1,37-1,19 (m, 10H), 1,02 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 170,1 (s, 2C), 152,4 (s, 2C), 132,0 (s, 2C), 128,1 (d, 2C), 126,6 (d, 2C), 121,0 (d, 2C), 118,3 (d, 2C), 71,14 (d, 2C), 35,7 (t, 2C), 29,48 (t), 29,41 (t), 29,40 (t), 25,8 (q, 6C), 25,5 (t, 2C), 21,2 (q, 2C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,2 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{37}H_{60}O_6Si_2$ $[M]^+$ 656,3928, nađeno 656,3950.

*3.6.5.8. Priprava 1,10-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]dekan-1,10-diil-diacetata (***22***)*



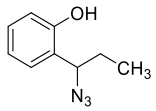
22

Prema općem postupku opisanom u §3.6.4, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,8-dibromoktana (0,38 mL, 2,05 mmol) i magnezija (100 mg, 4,10 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **10** (215 mg, 0,91 mmol) u suhom dietil-eteru uz obradu reakcije acetil-kloridom (0,14 mL, 2,00 mmol) dobiveno je 33 mg (11 %) produkta **22** u obliku bezbojnog ulja.

1,10-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]dekan-1,10-diil-diacetat (**22**): 33 mg (11 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 7,27 (dd, 2H, J = 7,7 Hz, J = 1,6 Hz), 7,11 (td, 2H, J = 7,6 Hz, J = 1,6 Hz), 6,92 (td, 2H, J = 7,4 Hz, J = 0,6 Hz), 6,78 (dd, 2H, J = 8,1 Hz, J = 0,8 Hz), 6,11 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,06 (s, 6H), 1,82-1,69 (m, 4H), 1,27-1,18 (m, 12H), 1,03 (s, 18H), 0,26 (s, 12H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 170,1 (s, 2C), 152,4 (s, 2C), 132,0 (s, 2C), 128,1 (d, 2C), 126,7 (d, 2C), 121,0 (d, 2C), 118,3 (d, 2C), 71,14 (d, 2C), 35,7 (t, 2C), 29,49 (t, 2C), 29,42 (t, 2C), 25,84 (q, 6C), 25,57 (t, 2C), 21,2 (q, 2C), 18,27 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,3 (q, 2C); **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{38}H_{62}O_6Si_2$ $[M+Na–H]^-$ 692,3904, nađeno 692,3893.

3.6.6. Fluoridom inducirano generiranje QM

*3.6.6.1. Priprava 2-(1-azidoprop-1-il)fenola(**23**)*

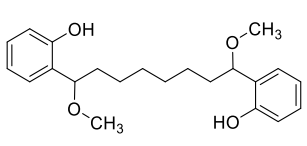


23

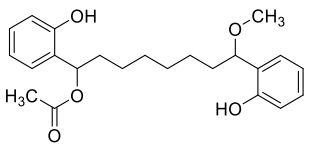
U tikvicu (5 mL) dodani su spoj **14** (30 mg, 0,09 mmol), natrijev azid (19 mg, 0,29 mmol), acetonitril (0,6 mL) i voda (0,3 mL). U reakcijsku smjesu je dokapana otopina kalijevog fluorida (12 mg, 0,21 mmol) u vodi (0,3 mL). Reakcijska smjesa je miješana 12 sati na sobnoj temperaturi, te je potom prebačena u lijevak za odjeljivanje, razrijeđena vodom (10 mL) i ekstrahirana etil-acetatom (3×10 mL). Spojene organske faze posušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz diklormetan - metanol (9:1) kao eluens. Dobiveno je 8 mg (47 %) produkta **23** u obliku tankog bezbojnog filma po stjenkama tikvice.

2-(1-azidoprop-1-il)fenol (**23**): 8 mg (47 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 7,19 (td, 1H, J = 8,0 Hz, J = 1,2 Hz), 7,18 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, J = 1,3 Hz), 6,91 (td, 1H, J = 7,4 Hz, J = 0,9 Hz), 6,85 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, J = 0,9 Hz), 4,62 (t, 1H, J = 6,9 Hz), 1,94-1,81 (m, 2H), 0,97 (t, 3H, J = 7,3 Hz).

*3.6.6.2. Metanoliza 1,8-bis[2-(*tert*-butildimetilsililoksi)fenil]oktan-1,8-diil-diacetata (***20***)*



24



25

U tikvicu (5 mL) dodani su spoj **20** (30 mg, 0,05 mmol) i metanol (2,0 mL). U nastalu otopinu dokapana je otopina kalijevog fluorida (19 mg, 0,33 mmol) u vodi (0,3 mL). Reakcijska smjesa je miješana 1 sat na sobnoj temperaturi, te je potom prebačena u lijevak za odjeljivanje, razrijeđena vodom (10 mL) i ekstrahirana dietil-eterom (3×5 mL). Spojene organske faze posušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 12,5 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens. Dobiveno je 8 mg (49 %) produkta **24** u obliku tankog bezbojnog filma po stjenkama tikvice i 6 mg (33 %) produkta **25** u obliku tankog bezbojnog filma po stjenkama tikvice.

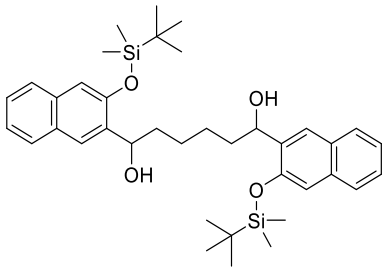
2,2'-(1,8-dimetoksioktan-1,8-diil)difenol (**24**): 8 mg (49 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 7,91 (s, 2H), 7,20-7,16 (m, 2H), 6,93-6,90 (m, 2H), 6,87-6,85 (m, 2H), 6,84-6,81 (m, 2H), 4,22 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 3,37 (s, 6H), 1,92-1,84 (m, 2H), 1,72-1,63 (m, 2H), 1,43-1,35 (m, 2H), 1,31-1,19 (m, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 155,3 (s, 2C), 128,9 (d, 2C), 128,4 (d, 2C), 125,0 (s, 2C), 119,5 (d, 2C), 116,7 (d, 2C), 86,0 (d, 2C), 57,2 (q, 2C), 35,8 (t, 2C), 29,2 (t, 2C), 25,6 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,29 min, m/z = 357,20 $[M–H]^–$, nađeno 357,21; m/z = 295,16 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 295,26; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{22}H_{30}O_4$ $[M+H]^+$ 359,2222, nađeno 359,2235.

1,8-bis(2-hidroksifenil)-8-metoksioktil-acetat (**25**): 6 mg (33 %); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 7,91 (d, 1H, J = 1,4 Hz), 7,30 (br. s, 1H), 7,27-7,25 (m, 1H), 7,23-7,19 (m, 1H), 7,19-7,15 (m, 1H), 6,94-6,90 (m, 3H), 6,86 (dd, 1H, J = 8,1 Hz, J = 1,0 Hz), 6,82 (tt, 1H, J = 6,3 Hz, J = 1,0 Hz), 5,80 (t, 1H, J = 7,0 Hz), 4,22 (dd (t), 1H, J = 6,9 Hz), 3,37 (d, 3H, J = 0,8 Hz), 2,07 (d, 3H, J = 1,2 Hz), 2,07-2,01 (m, 1H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,72-1,65 (m, 1H), 1,34-1,16 (m, 8H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 172,6 (s), 155,3 (s), 154,6 (s), 129,9 (d), 128,9 (d), 128,4 (d), 127,4 (d), 125,6 (s), 125,0 (s), 120,8 (d), 119,6 (d), 118,0 (d), 116,7 (d), 86,0 (d), 72,1 (d), 57,2 (q), 35,8 (t), 33,5 (t), 29,1 (t), 29,0 (t), 25,8 (t), 25,6 (t), 21,1 (q); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,30 min, m/z = 385,20 $[M–H]^–$, nađeno 357,37; m/z = 325,18 [M–H–

$CH_3COOH]^-$, nađeno 325,17; *m*/*z* = 295,16 $[M–CH_3OH–CH_3COO]^+$, nađeno 295,22; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{23}H_{30}O_5$ $[M+H]^+$ 387,2171, nađeno 387,2160.

3.6.7. Priprava naftolnih derivata

*3.6.7.1. Priprava 1,6-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]heksan-1,6-diola (**26**)*

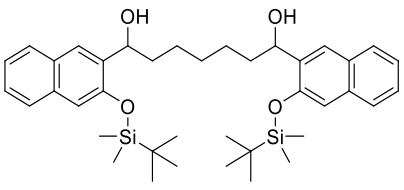


26

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,4-dibrombutana (0,37 mL, 3,06 mmol) i magnezija (149 mg, 6,13 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **11** (390 mg, 1,36 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 217 mg (51 %) produkta **26** u obliku bijele krutine.

1,6-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]heksan-1,6-diol (**26**): 217 mg (51 %); t_t = 44 – 45 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3333 (O–H), 2951, 2929, 2857 (Ar C–H), 1499 (Ar C=C), 1250 (Si–CH_3), 1463 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,80 (s, 2H), 7,74 (d, 2H, *J* = 7,9 Hz), 7,64 (dd, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,4 Hz), 7,39 (dt, 2H, *J* = 8,3 Hz, *J* = 1,3 Hz), 7,31 (dt, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 1,2 Hz), 7,11 (s, 2H), 5,09-5,01 (m, 2H), 2,30 (br. s, 2H), 1,95-1,72 (m, 4H), 1,67-1,58 (m, 2H), 1,52-1,43 (m, 2H), 1,03 (s, 18H), 0,33 (s, 6H), 0,32 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 151,2 (s, 2C), 136,3 (s, 2C), 133,5 (s, 2C), 128,9 (s, 2C), 127,6 (d, 2C), 126,1 (d, 2C), 125,9 (d, 2C), 125,7 (d, 2C), 123,9 (d, 2C), 113,1 (d, 2C), 70,38 (d), 70,30 (d), 37,5 (t, 2C), 26,2 (t), 26,1 (t), 25,8 (q, 6C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

*3.6.7.2. Priprava 1,7-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]heptan-1,7-diola (**27**)*

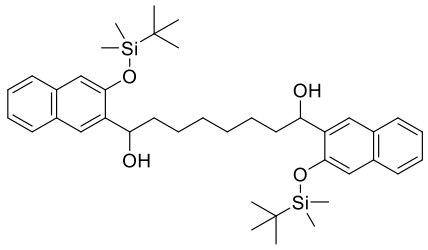


27

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,5-dibrompentana (1,07 mL, 7,86 mmol) i magnezija (382 mg, 15,71 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **11** (1000 mg, 3,49 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 736 mg (65 %) produkta **27** u obliku bijele krutine.

1,7-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]heptan-1,7-diol (**27**): 736 mg (65 %); t_t = 57 – 58 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3276 (O–H), 2928, 2857 (Ar C–H), 1499 (Ar C=C), 1248 (Si–CH_3), 1463 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,80 (s, 2H), 7,74 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,64 (d, 2H, J = 8,3 Hz), 7,39 (dt, 2H, J = 8,0 Hz, J = 1,2 Hz), 7,31 (dt, 2H, J = 8,0 Hz, J = 1,1 Hz), 7,11 (s, 2H), 5,10-4,99 (m, 2H), 2,30 (d, 2H, J = 4,7 Hz), 1,92-1,68 (m, 4H), 1,57-1,49 (m, 2H), 1,42-1,31 (m, 4H), 1,04 (s, 18H), 0,34 (s, 6H), 0,33 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 151,2 (s, 2C), 136,4 (s, 2C), 133,4 (s, 2C), 128,9 (s, 2C), 127,6 (d, 2C), 126,1 (d, 2C), 125,9 (d, 2C), 125,7 (d, 2C), 123,9 (d, 2C), 113,0 (d, 2C), 70,4 (d, 2C), 37,5 (t, 2C), 29,8 (t), 26,19 (t), 26,16 (t), 25,8 (q, 6C), 18,2 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

*3.6.7.3. Priprava 1,8-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]oktan-1,8-diola (**28**)*



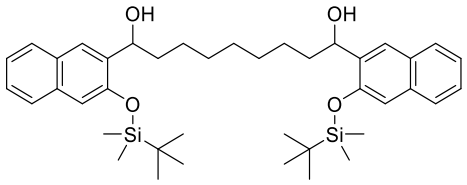
28

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,6-dibromheksana (0,36 mL, 2,36 mmol) i magnezija (115 mg, 4,71 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **11** (300 mg, 1,05 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 267 mg (78 %) produkta **28** u obliku bijele krutine.

1,8-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]oktan-1,8-diol (**28**): 267 mg (78 %); t_t = 41 – 42 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3369 (O–H), 2929, 2857 (Ar C–H), 1499 (Ar C=C), 1249 (Si–CH_3), 1463 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,80 (s, 2H), 7,75 (dd, 2H, J = 7,9 Hz, J = 0,5 Hz), 7,65 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,39 (dt, 2H, J =8,0 Hz, J = 1,4 Hz), 7,31 (dt, 2H, J = 8,0 Hz, J = 1,4 Hz), 7,11 (s, 2H), 5,09-5,00 (m, 2H), 2,29 (d, 2H, J = 4,7 Hz), 1,92-1,69 (m, 4H), 1,57-1,48 (m, 2H), 1,41-1,26 (m, 6H), 1,03 (s, 18H), 0,34 (s, 6H), 0,33 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 151,2 (s, 2C), 136,5 (s, 2C), 133,4 (s, 2C), 128,9 (s, 2C), 127,6 (d,

2C), 126,1 (d, 2C), 125,9 (d, 2C), 125,7 (d, 2C), 123,9 (d, 2C), 113,0 (d, 2C), 70,4 (d, 2C), 37,6 (t, 2C), 29,72 (t), 29,70 (t), 26,1 (t, 2C), 25,8 (q, 6C), 18,29 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

*3.6.7.4. Priprava 1,9-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]nonan-1,9-diola (***29***)*

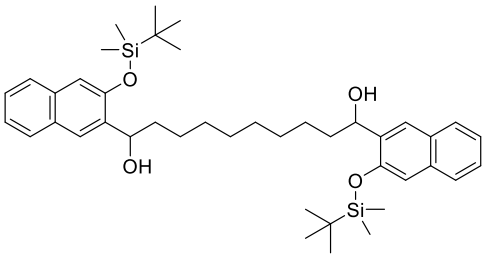


29

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,7-dibromheptana (0,67 mL, 3,93 mmol) i magnezija (191 mg, 7,86 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **11** (500 mg, 1,75 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 370 mg (63 %) produkta **29** u obliku bijele krutine.

1,9-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]nonan-1,9-diol (**29**): 370 mg (63 %); t_t = 42 – 43 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3369 (O–H), 2928, 2856 (Ar C–H), 1500 (Ar C=C), 1249 (Si–CH$_3$), 1463 (Si–O–C); **^{1}H NMR** (CDCl$_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,81 (s, 2H), 7,75 (dd, 2H, J = 8,0 Hz, J = 0,5 Hz), 7,64 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 0,4 Hz), 7,42-7,35 (m, 2H), 7,35-7,29 (m, 2H), 7,11 (s, 2H), 5,09-5,00 (m, 2H), 2,28 (d, 2H, J = 4,7 Hz), 1,92-1,68 (m, 4H), 1,55-1,46 (m, 2H), 1,42-1,19 (m, 8H), 1,04 (s, 18H), 0,34 (s, 6H), 0,33 (s, 6H); **^{13}C NMR** (CDCl$_3$, 100 MHz) δ/ppm: 151,2 (s, 2C), 136,5 (s, 2C), 133,4 (s, 2C), 128,9 (s, 2C), 127,6 (d, 2C), 126,1 (d, 2C), 125,9 (d, 2C), 125,7 (d, 2C), 123,9 (d, 2C), 113,0 (d, 2C), 70,4 (d, 2C), 37,6 (t, 2C), 29,6 (t, 2C), 29,5 (t), 26,11 (t, 2C), 25,8 (q, 6C), 18,3 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

*3.6.7.5. Priprava 1,10-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]dekan-1,10-diola (***30***)*



30

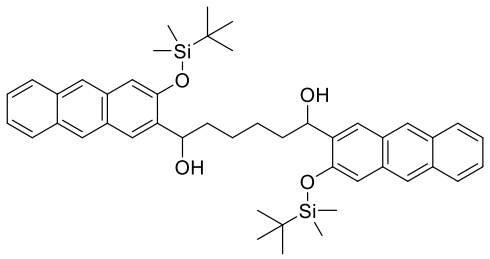
Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,8-dibromoktana (0,56 mL, 3,06 mmol) i magnezija (149 mg, 6,13 mmol) u suhom dietil-eteru.

Reakcijom s karbaldehidom **11** (390 mg, 1,36 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 227 mg (49 %) produkta **30** u obliku bijele krutine.

1,10-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)naftalen-2-il]dekan-1,10-diol (**30**): 227 mg (49 %); t_t = 40 – 41 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3352 (O–H), 2928, 2856 (Ar C–H), 1500 (Ar C=C), 1249 (Si–CH$_3$), 1463 (Si–O–C); **^{1}H NMR** (CDCl$_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,81 (s, 2H), 7,75 (dd, 2H, J = 8,0 Hz, J = 0,5 Hz), 7,64 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 0,4 Hz), 7,42-7,35 (m, 2H), 7,35-7,29 (m, 2H), 7,11 (s, 2H), 5,09-5,00 (m, 2H), 2,28 (d, 2H, J = 4,8 Hz), 1,92-1,68 (m, 4H), 1,551,46 (m, 2H), 1,42-1,23 (m, 10H), 1,05 (s, 18H), 0,35 (s, 6H), 0,33 (s, 6H); **^{13}C NMR** (CDCl$_3$, 100 MHz) δ/ppm: 151,2 (s, 2C), 136,5 (s, 2C), 133,4 (s, 2C), 128,9 (s, 2C), 127,6 (d, 2C), 126,1 (d, 2C), 125,9 (d, 2C), 125,7 (d, 2C), 123,9 (d, 2C), 113,0 (d, 2C), 70,4 (d, 2C), 37,6 (t, 2C), 29,6 (t, 2C), 29,5 (t, 2C), 26,1 (t, 2C), 25,8 (q, 6C), 18,3 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

3.6.8. Priprava antrolnih derivata

*3.6.8.1. Priprava 1,6-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)antracen-2-il]heksan-1,6-diola (***31***)*



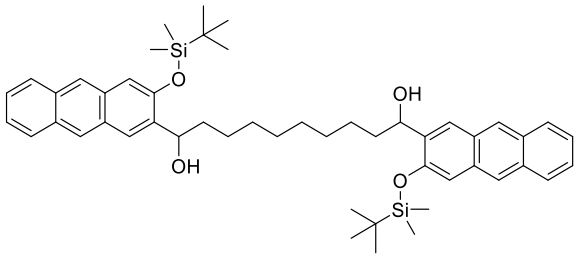
31

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,4-dibrombutana (0,24 mL, 2,01 mmol) i magnezija (98 mg, 4,01 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **12** (300 mg, 0,89 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 129 mg (40 %) produkta **31** u obliku bež krutine.

1,6-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)antracen-2-il]heksan-1,6-diol (**31**): 129 mg (40 %); t_t = 77 – 78 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3369 (O–H), 2928, 2857 (Ar C–H), 1634 (Ar C=C), 1207 (Si–CH$_3$), 1457 (Si–O–C); **^{1}H NMR** (CDCl$_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,35 (s, 2H), 8,23 (s, 2H), 8,04-7,83 (m, 6H), 7,50-7,37 (m, 4H), 7,29 (s, 2H), 5,16-5,06 (m, 2H), 2,06-1,80 (m, 5H), 1,78-1,50 (m, 5H), 1,07 (s, 18H), 0,41 (s, 6H), 0,40 (s, 6H); **^{13}C NMR** (CDCl$_3$, 125 MHz) δ/ppm: 151,1 (s, 2C), 137,3 (s, 2C), 131,9 (s, 2C), 131,8 (s, 2C), 130,6 (s, 2C), 128,2 (d, 2C), 128,1 (s, 2C), 127,5 (d, 2C), 126,1 (d, 2C), 125,8 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,4 (d, 2C), 123,6 (d, 2C), 111,5 (d, 2C),

70,6 (d, 2C), 37,4 (t, 2C), 26,25 (t), 26,21 (t), 25,8 (q, 6C), 18,3 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

*3.6.8.2. Priprava 1,10-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)antracen-2-il]dekan-1,10-diola (***32***)*



32

Prema općem postupku opisanom u §3.6.2, di-Grignardov reagens je pripremljen iz 1,8-dibromoktana (0,37 mL, 2,01 mmol) i magnezija (98 mg, 4,01 mmol) u suhom dietil-eteru. Reakcijom s karbaldehidom **12** (300 mg, 0,89 mmol) u suhom dietil-eteru nakon obrade i izolacije dobiveno je 152 mg (43 %) produkta **32** u obliku bež krutine.

1,10-bis[3-(*tert*-butildimetilsililoksi)antracen-2-il]dekan-1,10-diol (**32**): 152 mg (43 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 70 – 71 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3332 (O–H), 2927, 2855 (Ar C–H), 1634 (Ar C=C), 1207 (Si–CH_3), 1457 (Si–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,33 (s, 2H), 8,23 (s, 2H), 7,97 (s, 2H), 7,93 (dd, 4H, J = 13,0 Hz, J = 8,2 Hz), 7,45-7,34 (m, 4H), 7,23 (s, 2H), 5,11-5,02 (m, 2H), 2,13 (br. s, 2H), 1,96-1,86 (m, 2H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,64-1,49 (m, 4H), 1,38-1,24 (m, 8H), 1,06 (s, 18H), 0,40 (s, 6H), 0,38 (s, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 151,2 (s, 2C), 137,5 (s, 2C), 131,9 (s, 2C), 131,8 (s, 2C), 130,6 (s, 2C), 128,2 (d, 2C), 128,1 (s, 2C), 127,5 (d, 2C), 126,1 (d, 2C), 125,7 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,4 (d, 2C), 123,6 (d, 2C), 11,4 (d, 2C), 70,7 (d, 2C), 37,5 (t, 2C), 29,7 (t, 2C), 26,9 (t, 2C), 26,1 (t, 2C), 25,8 (q, 6C), 18,3 (s, 2C), – 3,9 (q, 2C), – 4,1 (q, 2C).

3.7. Uklanjanje zaštitnih skupina - priprava homobifunkcionalnih spojeva

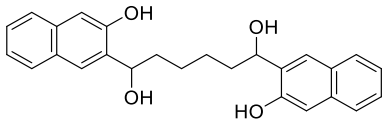
3.7.1. Opći postupak uklanjanja *tert*-butildimetilsililne zaštitne skupine

U tikvicu (25 mL), opremljenu septumom, pod atmosferom dušika ili argona dodani su *tert*-butildimetilsililni eter (1,0 ekv.) i tetrahidrofuran (10 mL/mmol TBS-eter). Reakcijska smjesa je ohlađena na oko 0 °C, te je u nju dokapana otopina tetrabutilamonijevog fluorida u tetrahidrofuranu (1 mol dm^{-3}, 2,2 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana još 20 minuta na 0 °C,

a zatim 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga reakcijska smjesa je razrijeđena vodom, te je ekstrahirana etil-acetatom. Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen ili kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 30 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens ili trituriranjem hladnim etil-acetatom i dietil-eterom (u slučaju antrolnih derivata).

3.7.2. Priprava naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

*3.7.2.1. Priprava 1,6-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heksan-1,6-diola (**33**)*

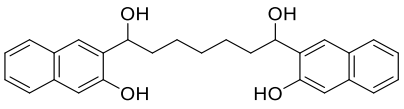


33

Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **26** (217 mg, 0,34 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 92 mg (66 %) produkta **33** u obliku bijele krutine.

1,6-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heksan-1,6-diol (**33**): 92 mg (66 %); t_t = 178 – 180 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3498 (O–H fenol), 3400 (O–H), 2938, 2857 (Ar C–H), 1636 (Ar C=C), 1259 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 500 MHz) δ/ppm: 9,73 (br. s, 2H), 7,80 (s, 2H), 7,73 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,32 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 0,9 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 7,5 Hz, J = 0,5 Hz), 7,08 (s, 2H), 5,12 (br. s, 2H), 4,97-4,88 (m, 2H), 1,79-1,66 (m, 2H), 1,59-1,29 (m, 6H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 125 MHz) δ/ppm: 152,8 (s, 2C), 135,8 (s), 135,7 (s), 133,2 (s, 2C), 127,7 (s, 2C), 127,4 (d, 2C), 125,4 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,9 (d, 2C), 122,5 (d, 2C), 108,3 (d, 2C), 67,29 (d), 67,26 (d), 37,9 (t, 2C), 25,5 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,32 min, m/z = 401,18 $[M–H]^-$, nađeno 401,57; m/z = 385,18 $[M–OH]^+$, nađeno 385,61; m/z = 367,17 $[M–OH–H_2O]^+$, nađeno 367,55; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{26}H_{26}O_4$ $[M+Na]^+$ 425,1723, nađeno 425,1729.

*3.7.2.2. Priprava 1,7-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heptan-1,7-diola (**34**)*

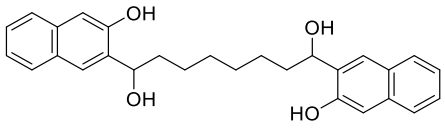


34

Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **27** (730 mg, 1,13 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 425 mg (90 %) produkta **34** u obliku bijele krutine.

1,7-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heptan-1,7-diol (**34**): 425 mg (90 %); t_t = 168 – 170 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3378 (O–H), 2942, 2929, 2919 (Ar C–H), 1635 (Ar C=C), 1230 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,73 (s, 2H), 7,80 (s, 2H), 7,74 (d, 2H, J = 8,3 Hz), 7,62 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,31 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 7,1 Hz, J = 1,2 Hz), 7,08 (s, 2H), 5,10 (d, 2H, J = 4,3 Hz), 4,98-4,89 (m, 2H), 1,79-1,64 (m, 2H), 1,58-1,45 (m, 2H), 1,45-1,17 (m, 6H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 152,8 (s, 2C), 135,7 (s, 2C), 133,2 (s, 2C), 127,7 (s, 2C), 127,4 (d, 2C), 125,4 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,4 (d, 2C), 122,5 (d, 2C), 108,2 (d, 2C), 67,2 (d, 2C), 37,9 (t, 2C), 29,2 (t), 25,5 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,37 min, m/z = 415,19 $[M–H]^-$, nađeno 415,71; m/z = 399,20 $[M–OH]^+$, nađeno 399,89; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{27}H_{28}O_4$ $[M+Na]^+$ 439,1880, nađeno 439,1860.

*3.7.2.3. Priprava 1,8-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)oktan-1,8-diola (**35**)*

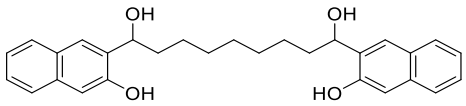


35

Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **28** (267 mg, 0,41 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 170 mg (97 %) produkta **35** u obliku bijele krutine.

1,7-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)heptan-1,7-diol (**35**): 170 mg (97 %); t_t = 162 – 163 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3497 (O–H fenol), 3326 (O–H), 2934, 2915, 2849 (Ar C–H), 1709, 1635 (Ar C=C), 1229 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,74 (br. s, 2H), 7,80 (s, 2H), 7,74 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,62 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,32 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,2 Hz), 7,08 (s, 2H), 5,11 (br. s, 2H), 4,98-4,89 (m, 2H), 1,77-1,64 (m, 2H), 1,58-1,45 (m, 2H), 1,45-1,12 (m, 8H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 152,8 (s, 2C), 135,8 (s, 2C), 133,2 (s, 2C), 127,7 (s, 2C), 127,4 (d, 2C), 125,4 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,9 (d, 2C), 122,5 (d, 2C), 108,2 (d, 2C), 67,1 (d, 2C), 37,8 (t, 2C), 29,2 (t, 2C), 25,4 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,43 min, m/z = 429,21 $[M–H]^-$, nađeno 429,76; m/z = 413,21 $[M–OH]^+$, nađeno 413,89; m/z = 395,20 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 395,78; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{28}H_{30}O_4$ $[M+Na]^+$ 453,2036, nađeno 453,2039.

*3.7.2.4. Priprava 1,9-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)nonan-1,9-diola (***36***)*

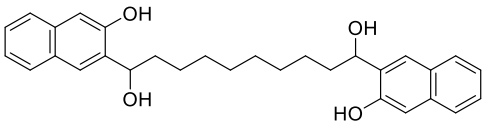


36

Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **29** (370 mg, 0,55 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 200 mg (82 %) produkta **36** u obliku bijele krutine.

1,9-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)nonan-1,9-diol (**36**): 200 mg (82 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 112 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3536 (O–H fenol), 3380 (O–H), 2942, 2922, 2850 (Ar C–H), 1635 (Ar C=C), 1244 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,73 (s, 2H), 7,81 (s, 2H), 7,73 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,62 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,32 (td, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,2 Hz), 7,08 (s, 2H), 5,11 (br. s, 2H), 4,98-4,86 (m, 2H), 1,79-1,64 (m, 2H), 1,58-1,44 (m, 2H), 1,45-1,15 (m, 10H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 152,8 (s, 2C), 135,8 (s, 2C), 133,2 (s, 2C), 127,7 (s, 2C), 127,4 (d, 2C), 125,4 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,9 (d, 2C), 122,5 (d, 2C), 108,2 (d, 2C), 67,1 (d, 2C), 37,8 (t, 2C), 29,2 (t), 29,1 (t, 2C), 25,4 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,50 min, m/z = 443,22 $[M–H]^-$, nađeno 443,80; m/z = 409,22 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 409,83; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{29}H_{32}O_4$ $[M+Na]^+$ 467,2192, nađeno 467,2190.

*3.7.2.5. Priprava 1,10-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)dekan-1,10-diola (***37***)*



37

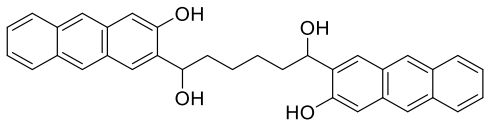
Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **30** (226 mg, 0,33 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 128 mg (85 %) produkta **37** u obliku bijele krutine.

1,10-bis(3-hidroksinaftalen-2-il)dekan-1,10-diol (**37**): 128 mg (85 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 152 – 155 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3497 (O–H fenol), 3326 (O–H), 2948, 2914, 2849 (Ar C–H), 1635 (Ar C=C), 1229 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,73 (s, 2H), 7,81 (s, 2H), 7,73 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,61 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,32 (td, 2H, J = 7,1 Hz, J = 1,1 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 7,1 Hz, J = 1,2 Hz), 7,08 (s, 2H), 5,11 (br. s, 2H), 4,98-4,88 (m, 2H), 1,77-1,64 (m, 2H), 1,58-1,46 (m, 2H), 1,45-1,16 (m, 12H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 152,8 (s, 2C), 135,7 (s, 2C), 133,2 (s, 2C), 122,7 (s, 2C), 127,4 (d, 2C), 125,4 (d, 2C), 125,3 (d, 2C), 124,9 (d, 2C),

122,5 (d, 2C), 108,2 (d, 2C), 67,1 (d, 2C), 37,7 (t, 2C), 29,1 (t, 2C), 29,0 (t, 2C), 25,4 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,59 min, *m*/*z* = 457,24 $[M–H]^-$, nađeno 457,71; *m*/*z* = 423,23 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 423,69; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{30}H_{34}O_4$ $[M+Na]^+$ 481,2349, nađeno 481,2332.

3.7.3. Priprava antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

*3.7.3.1. Priprava 1,6-bis[3-hidroksiantracen-2-il]heksan-1,6-diola (**38**)*

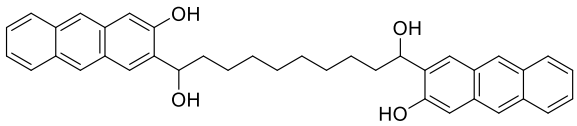


38

Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **31** (120 mg, 0,164 mmol) nakon obrade i trituriranja dobiveno je 42 mg (50 %) produkta **38** u obliku bež krutine.

1,6-bis[3-hidroksiantracen-2-il]heksan-1,6-diol (**38**): 42 mg (50 %); t_t = raspad > 350 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3499 (O–H fenol), 3051 (O–H), 2948, 2914, 2856 (Ar C–H), 1635 (Ar C=C), 1285 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-*d*$_6$, 600 MHz) δ/ppm: 9,96 (br. s, 2H), 8,38 (s, 2H), 8,21 (s, 2H), 7,98 (s, 2H), 7,96 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz), 7,93 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz), 7,40 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz), 7,35 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz), 7,19 (s, 2H), 5,21-5,13 (m, 2H), 4,99-4,92 (m, 2H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,61-1,36 (m, 6H); **^{13}C NMR** (DMSO-*d*$_6$, 150 MHz) δ/ppm: 153,0 (s, 2C), 137,6 (s, 2C), 131,9 (s, 2C), 131,2 (s, 2C), 129,4 (s, 2C), 128,0 (d, 2C), 127,4 (s, 2C), 127,3 (d, 2C), 125,5 (d, 2C), 125,0 (d, 2C), 124,9 (d, 2C), 123,8 (d, 2C), 122,2 (d, 2C), 106,3 (d, 2C), 67,48 (d), 67,44 (d), 37,8 (t, 2C), 25,63 (t), 25,60 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,29 min, *m*/*z* = 501,21 $[M–H]^-$, nađeno 501,22; *m*/*z* = 485,21 $[M–OH]^+$ nađeno 485,21; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{34}H_{30}O_4$ $[M–H]^-$ 501,2066, nađeno 501,2043.

*3.7.3.2. Priprava 1,10-bis[3-hidroksiantracen-2-il]dekan-1,10-diola (**39**)*



39

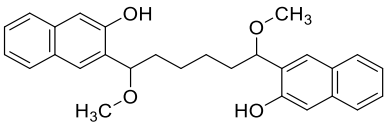
Prema općem postupku opisanom u §3.7.1, reakcijom iz TBS-etera **32** (142 mg, 0,180 mmol) nakon obrade i trituriranja dobiveno je 75 mg (74 %) produkta **39** u obliku bež krutine.

1,10-bis[3-hidroksiantracen-2-il]dekan-1,10-diol (**39**): 75 mg (74 %); t_t = 250 – 252 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3494 (O–H fenol), 3051 (O–H), 2947, 2914, 2849 (Ar C–H), 1635 (Ar C=C), 1284 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,96 (s, 2H), 8,39 (s, 2H), 8,21 (s, 2H), 7,99 (s, 2H), 7,96 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,93 (d, 2H, J = 8,3 Hz), 7,43-7,31 (m, 4H), 7,20 (s, 2H), 5,21-5,14 (m, 2H), 5,00-4,91 (m, 2H), 1,83-1,71 (m, 2H), 1,59-1,47 (m, 2H), 1,48-1,33 (m, 4H), 1,33-1,17 (m, 8H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 153,0 (s, 2C), 137,6 (s, 2C), 131,9 (s, 2C), 131,2 (s, 2C), 129,4 (s, 2C), 128,0 (d, 2C), 127,4 (s, 2C), 127,3 (d, 2C), 125,5 (d, 2C), 125,0 (d, 2C), 124,9 (d, 2C), 123,8 (d, 2C), 122,2 (d, 2C), 106,2 (d, 2C), 67,3 (d, 2C), 37,7 (t, 2C), 29,1 (t, 2C), 29,0 (t, 2C), 25,4 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,46 min, m/z = 557,27 $[M–H]^–$, nađeno 557,22; m/z = 523,26 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 523,30; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{38}H_{38}O_4$ $[M–H]^–$ 557,2692, nađeno 557,2689.

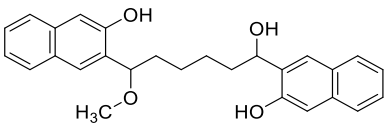
3.7.4. Opći postupak provođenja preparativne fotometanolize

U kvarcnu kivetu (100 mL), opremljenu vodenim hladilom (*hladni prst*) i dovodom argona, dodani su prekursor kinon-metida (≈ 20 mg) i metanol – voda (4:1, 100 mL). Otopina je propuhana argonom 15 minuta, te je smještena u fotokemijski reaktor. Sadržaj kivete osvjetljavan je uz konstantno hlađenje i propuhivanje otopine argonom. Sastav fotosmjese nakon osvjetljavanja analiziran je UPLC-MS/UV (metode opisane u §3.2.2). Nakon uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, fotoprodukti su dobiveni pročišćavanjem preparativnom HPLC-MS/UV kromatografijom (postavke instrumenta i metoda opisani u §3.2.3)

*3.7.4.1. Priprava 3,3'-(1,6-dimetoksiheks-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**40**) i 3,3'-(1-hidroksi-6-metoksiheks-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**41**)*



40



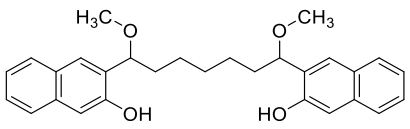
41

Prema općem postupku za preparativnu fotometanolizu opisanom u §3.7.4, u reaktoru s lampama (15×8 W, λ_{max} = 300 nm) nakon 60 minuta osvjetljavanja iz prekursora **33** (20 mg, 50 μmol) izolirano je 15 mg (67 %) dimetoksi-produkta **40** u obliku žućkaste krutine i 6 mg (28 %) smjese metoksi-dijastereoizomera **41** u obliku žućkaste krutine.

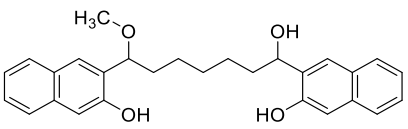
3,3'-(1,6-dimetoksiheks-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalen) (**40**): 15 mg (67 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 48 – 49 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3324 (O–H fenol), 2934, 2860, 2827 (Ar C–H), 1640, 1508 (Ar C=C), 1463 (C–O), 1069 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,90-7,77 (m, 2H), 7,58-7,45 (m, 4H), 7,25-7,20 (m, H), 7,17-7,08 (m, 2H), 7,06 (s, 2H), 4,20 (q, 2H, J = 6,9 Hz), 3,22 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 1,90-1,74 (m, 2H), 1,66-1,53 (m, 2H), 1,36-1,24 (m, 2H), 1,19-1,07 (m, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 153,4 (s, 2C), 134,4 (s, 2C), 128,0 (s, 2C), 127,79 (d), 127,76 (d), 127,38 (s, 2C), 127,35 (d, 2C), 126,3 (d, 2C), 126,2 (d, 2C), 123,5 (d, 2C), 111,3 (d, 2C), 86,0 (q), 85,9 (q), 57,3 (d, 2C), 35,7 (t), 35,6 (t), 25,58 (t), 25,52 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,38 min, m/z = 429,21 $[M–H]^–$, nađeno 429,21; m/z = 367,17 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 367,21; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{28}H_{30}O_4$ $[M+Na]^+$ 453,2042, nađeno 453,2037.

Smjesa dijastereoizomera 3,3'-(1-hidroksi-6-metoksiheks-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalen) (**41**): 6 mg (28 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 63 – 65 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3296 (O–H fenol), 3053 (O–H), 2935, 2860, 2829 (Ar C–H), 1635, 1509 (Ar C=C), 1464 (C–O), 1069 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 7,99 (d, 1H, J = 5,5 Hz), 7,84 (br. s, 1H), 7,72-7,62 (m, 4H), 7,44-7,35 (m, 4H), 7,33-7,26 (m, 2H), 7,23-7,19 (m, 2H), 4,99-4,90 (m, 1H), 4,38 (q, 1H, J = 6,8 Hz), 3,37 (d, 3H, J = 7,6 Hz), 2,61 (br. s, 1H), 2,06-1,90 (m, 2H), 1,90-1,71 (m, 2H), 1,55-1,42 (m, 2H), 1,40-1,24 (m, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 153,5 (s, 2C), 153,4 (s, 2C), 134,4 (s, 2C), 134,2 (s, 2C), 129,7 (s, 4C), 128,1 (s, 4C), 127,8 (d, 2C), 127,7 (d, 2C), 127,5 (d, 2C), 127,3 (d, 2C), 126,3 (d, 2C), 126,3 (d, 4C), 126,2 (d, 2C), 123,6 (d, 4C), 111,6 (d, 2C), 111,4 (d, 2C), 86,0 (d), 85,9 (d), 76,09 (d), 76,07 (d), 57,3 (q, 2C), 36,8 (t), 36,7 (t), 35,7 (t), 35,6 (t), 25,5 (t, 4C). smjesa dijastereoizomera; **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,23 min, m/z = 415,19 $[M–H]^–$, nađeno 415,14; m/z = 367,17 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 367,21; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{27}H_{28}O_4$ $[M+Na]^+$ 439,1885, nađeno 439,1885.

*3.7.4.2. Priprava 3,3'-(1,7-dimetoksihept-1,7-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**42**) i 3,3'-(1-hidroksi-7-metoksihept-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**43**)*



42



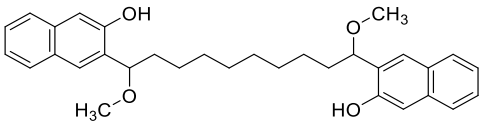
43

Prema općem postupku za preparativnu fotometanolizu opisanom u §3.7.4, u reaktoru s lampama (10×8 W, λ_{max} = 300 nm) nakon 60 minuta osvjetljavanja iz prekursora **34** (20 mg, 48 μmol) izolirano je 9 mg (42 %) dimetoksi-produkta **42** u obliku žućkaste krutine i 2 mg (10 %) metoksi-produkta **43** u obliku žućkaste krutine.

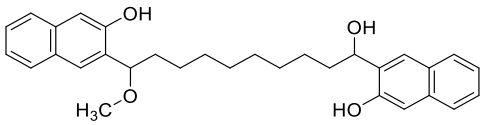
3,3'-(1,7-dimetoksihept-1,7-diil)bis(2-hidroksinaftalen) (**42**): 9 mg (42 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 39 – 40 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3332 (O–H fenol), 2934, 2859, 2828 (Ar C–H), 1634, 1508 (Ar C=C), 1463 (C–O), 1070 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,01 (br. s, 2H), 7,72-7,65 (m, 4H), 7,45-7,35 (m, 4H), 7,32-7,26 (m, 2H), 7,22 (s, 2H), 4,38 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 3,39 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 2,05-1,91 (m, 2H), 1,80-1,69 (m, 2H), 1,49-1,37 (m, 2H), 1,36-1,18 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 153,5 (s, 2C), 134,4 (s, 2C), 128,1 (s, 2C), 127,8 (d, 2C), 127,5 (s, 2C), 127,3 (d, 2C), 126,3 (d, 4C), 123,5 (d, 2C), 111,3 (d, 2C), 86,1 (d, 2C), 57,3 (q, 2C), 35,8 (t, 2C), 29,1 (t), 25,7 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,44 min, m/z = 443,22 $[M–H]^–$, nađeno 443,25; m/z = 381,18 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 381,24; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{29}H_{32}O_4$ $[M+Na]^+$ 467,2198 nađeno 467,2201.

3,3'-(1-hidroksi-7-metoksihept-1,6-diil)bis(2-hidroksinaftalen) (**43**): 2 mg (10 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 45 – 47 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3271 (O–H fenol), 3052 (O–H), 2929, 2855 (Ar C–H), 1634, 1509 (Ar C=C), 1463 (C–O), 1073 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,03 (br. s, 2H), 7,73-7,63 (m, 4H), 7,46-7,34 (m, 4H), 7,32-7,26 (m, 2H), 7,23-7,17 (m, 2H), 4,97-4,87 (m, 1H), 4,39 (t, 1H, J = 7,0 Hz), 3,38 (s, 3H), 2,03-1,89 (m, 2H), 1,88-1,70 (m, 2H), 1,51-1,39 (m, 2H), 1,38-1,20 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 134,2 (s, 2C), 129,9 (s, 2C), 128,0 (s, 2C), 127,7 (d, 2C), 127,5 (d), 127,3 (d), 126,3 (d, 2C), 126,2 (d), 126,1 (d), 123,5 (d, 2C), 111,5 (d), 111,3 (d), 86,1 (d), 76,1 (d), 57,3 (q), 36,9 (t), 35,7 (t), 29,0 (t), 15,7 (t), 25,6 (t), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma; **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,29 min, m/z = 429,21 $[M–H]^–$, nađeno 429,17; m/z = 381,18 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 381,24; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{28}H_{30}O_4$ $[M+Na]^+$ 453,2042 nađeno 453,2038.

*3.7.4.3. Priprava 3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**44**) i 3,3'-(1-hidroksi-10-metoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksinaftalena) (**45**)*



44



45

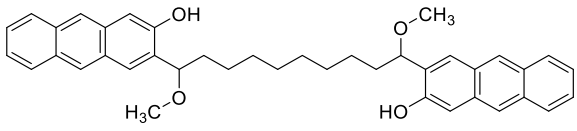
Prema općem postupku za preparativnu fotometanolizu opisanom u §3.7.4, fotometanolizom u reaktoru s lampama (10×8 W, λ_{max} = 300 nm) nakon 60 minuta osvjetljavanja iz prekursora **37** (20 mg, 44 μmol) izolirano je 8 mg (38 %) dimetoksi-produkta **44** u obliku žućkaste krutine i 3 mg (13 %) metoksi-produkta **45** u obliku žućkaste krutine.

3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksinaftalen) (**44**): 8 mg (38 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 32 – 35 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3335 (O–H fenol), 2927, 2854, 2828 (Ar C–H), 1641, 1508 (Ar C=C), 1464 (C–O), 1075 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,09 (s, 2H), 7,74 (t, 4H, J = 8,7 Hz), 7,49 (s, 2H), 7,45 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 7,34 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 7,27 (s, 2H), 4,44 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 3,44 (s, 6H), 2,08-1,94 (m, 2H), 1,86-1,74 (m, 2H), 1,53-1,39 (m, 2H), 1,37-1,19 (m, 10H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 153,6 (s, 2C), 134,4 (s, 2C), 128,1 (s, 2C), 127,8 (d, 2C), 127,6 (s, 2C), 127,4 (d, 2C), 126,3 (d, 4C), 123,5 (d, 2C), 111,3 (d, 2C), 86,3 (d, 2C), 57,3 (q, 2C), 35,9 (t, 2C), 29,3 (t, 2C), 29,2 (t, 2C), 25,8 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,58 min, m/z = 485,27 $[M–H]^-$, nađeno 485,21; m/z = 423,23 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 423,27; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{32}H_{38}O_4$ $[M+Na]^+$ 509,2668 nađeno 509,2678.

3,3'-(1-hidroksi-10-metoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksinaftalen) (**45**): 3 mg (13 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 44 – 45 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3296 (O–H fenol), 3052 (O–H), 2925, 2853 (Ar C–H), 1635, 1509 (Ar C=C), 1464 (C–O), 1077 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,06 (s, 1H), 7,94 (br. s, 1H), 7,73-7,64 (m, 4H), 7,47-7,42 (m, 2H), 7,42-7,36 (m, 2H), 7,32-7,27 (m, 2H), 7,23 (s, 2H), 4,98 (t, 1H, J = 6,6 Hz), 4,41 (t, 1H, J = 7,0 Hz), 3,40 (s, 3H), 2,63 (br. s, 1H), 2,04-1,90 (m, 2H), 1,89-1,79 (m, 1H), 1,79-1,72 (m, 1H), 1,50-1,35 (m, 2H), 1,34-1,14 (m, 10H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 129,7 (s, 2C), 128,1 (s, 2C), 127,8 (d, 2C), 127,5 (d), 127,3 (d), 126,34 (d), 126,30 (d, 2C), 126,2 (d), 123,58 (d), 123,53 (d), 111,6 (d), 111,3 (d), 86,3 (d), 76,4 (d), 57,3 (q), 37,0 (t), 35,8 (t), 29,2 (t, 4C), 25,7 (t, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- i dva -CH- atoma; **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,43 min, m/z = 471,25

$[M–H]^-$, nađeno 471,25; *m*/*z* = 423,23 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 423,21; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{31}H_{36}O_4$ $[M+Na]^+$ 495,2511 nađeno 495,2509.

3.7.5. Priprava 3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksiantracena) (**46**)



46

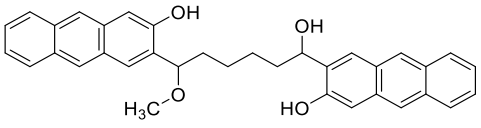
U tikvicu (50 mL) dodani su spoj **39** (18 mg, 32 μmol), metanol (20,0 mL) i koncentrirana sumporna kiselina, (*w* = 98 %, 100 μL). Reakcijska smjesa je miješana 15 sati na sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa je razrijeđena vodom (20 mL), neutralizirana zasićenom vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata (≈ 4 mL) i ekstrahirana etil-acetatom (3×15 mL). Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen preparativnom HPLC-MS/UV kromatografijom (postavke instrumenta i metoda opisani u §3.2.3). Izolirano je 8 mg (43 %) produkta **46** u obliku žućkasto smeđe krutine.

3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksiantracen) (**46**): 8 mg (43 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 65 – 68 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3323 (O–H fenol), 2926, 2854 (Ar C–H), 1661, 1649 (Ar C=C), 1458 (C–O), 1079 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,29 (s, 2H), 8,23 (s, 2H), 8,09 (s, 2H), 7,96-7,90 (m, 4H), 7,62 (s, 2H), 7,44-7,36 (m, 4H), 7,34 (s, 2H), 4,44 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz), 3,43 (s, 3H), 3,43 (s, 3H), 2,07-1,96 (m, 2H), 1,84-1,75 (m, 2H), 1,48-1,39 (m, 2H), 1,31-1,21 (m, 10H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 153,1 (s, 2C), 132,5 (s, 2C), 132,2 (s, 2C), 130,3 (s, 2C), 129,0 (s, 2C), 128,1 (d, 2C), 128,0 (d, 2C), 127,6 (d, 2C), 127,4 (s, 2C), 125,9 (d, 2C), 125,4 (d, 2C), 124,4 (d, 2C), 123,6 (d, 2C), 109,6 (d, 2C), 86,4 (d, 2C), 57,3 (q, 2C), 35,8 (t, 2C), 29,3 (t, 2C), 29,2 (t, 2C), 25,9 (t, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,72 min, *m*/*z* = 585,30 $[M–H]^-$, nađeno 585,20; *m*/*z* = 523,26 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 523,06.

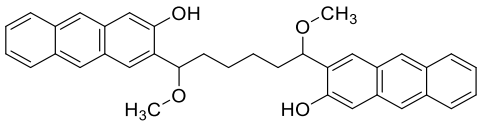
3.7.6. Opći postupak provođenja fotometanolize

U kvarcnu kivetu od 20 mL, opremljenu septumom i iglom za dovod argona, dodani su prekursor kinon-metida i metanol (7 mL/mg prekursora) (uz dodatak vode ili DMSO). Otopina je propuhana argonom 15 minuta, te je smještena u fotokemijski reaktor i osvjetljavana. Sastav fotosmjese nakon osvjetljavanja analiziran je UPLC-MS/UV (metoda opisana u §3.2.2.1).

*3.7.6.1. Fotometanoliza 1,6-bis[3-hidroksiantracen-2-il]heksan-1,6-diola (**38**)*



47



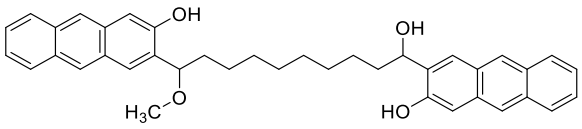
48

Prema općem postupku za fotometanolizu opisanom u §3.7.6, u reaktoru s lampama (1×8 W, λ_{max} = 350 nm) nakon 10 minuta osvjetljavanja iz prekursora **38** (1 mg, 2 μmol) u smjesi otapala metanol - DMSO (140:1) (7 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi-produkta **47** i dimetoksi-produkta **48**. [t_R (**38**) = 1,29 min, *m*/*z* = 501,21 $[M–H]^-$, nađeno 501,08.].

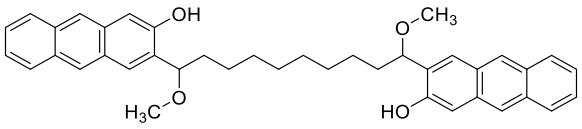
3,3'-(1-hidroksi-6-metoksiheksan-1,6-diil)bis(2-hidroksiantracen) (**47**): **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R (**47**) = 1,43 min, *m*/*z* = 515,22 $[M–H]^-$, nađeno 515,03; *m*/*z* = 485,21 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 485,18; *m*/*z* = 467,20 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 467,22.

3,3'-(1,6-dimetoksiheksan-1,6-diil)bis(2-hidroksiantracen) (**48**): **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R (**48**) = 1,57 min, *m*/*z* = 529,24 $[M–H]^-$, nađeno 529,17; *m*/*z* = 467,20 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 467,22.

*3.7.6.2. Fotometanoliza 1,10-bis[3-hidroksiantracen-2-il]dekan-1,10-diola (**39**)*



49



46

Prema općem postupku za fotometanolizu opisanom u §3.7.6, u reaktoru s lampama (1×8 W, λ_{max} = 350 nm) nakon 10 minuta osvjetljavanja iz prekursora **39** (1 mg, 2 μmol) u smjesi otapala metanol - DMSO (140:1) (7 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi produkta **49** i dimetoksi-produkta **46**. [t_R (**39**) = 1,46 min, *m*/*z* = 557,27 $[M–H]^-$, nađeno 557,20.]

3,3'-(1-hidroksi-10-metoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksiantracen) (**49**) **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R (**49**) = 1,60 min, *m*/*z* = 571,29 $[M–H]^-$, nađeno 571,28; *m*/*z* = 523,26 $[M–OCH_3–H_2O]^+$, nađeno 523,34.

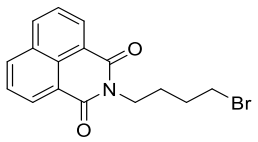
3,3'-(1,10-dimetoksidekan-1,10-diil)bis(2-hidroksiantracen) (**46**) **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R (**46**) = 1,71 min, *m*/*z* = 585,30 $[M–H]^-$, nađeno 585,42; *m*/*z* = 523,26 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 523,34.

3.8. Priprava *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida

3.8.1. Opći postupak priprave *N*-(ω-bromalkil)-1,8-naftalimida (*N*-alkiliranje 1,8-naftalimida)[303]

U dvogrlu tikvicu (1 L), opremljenu refluksnim hladilom i lijevkom za dokapavanje, dodani su 1, ω(n)-dibromalkan (2,5 ekv., n = 4 – 8), kalijev karbonat (4,0 ekv.) i acetonitril (25 mL/mmol 1,8-naftalimida). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturu refluksa, te je u nju dokapana suspenzija 1,8-naftalimida (1,0 ekv.) u acetonitrilu (6 mL/mmol 1,8-naftalimida). Reakcijska smjesa je miješana na temperaturi refluksa 18 h. Reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu, te je profiltrirana. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt (uparni ostatak) otopljen je u diklormetanu, te je dodan silikagel (3×masa sirovog produkta). Otapalo je upareno, zaostala krutina je prebačen na sinter lijevak sa slojem silikagela ($h \approx 4$ cm), te je sadržaj lijevka ispran cikloheksanom (3×150 mL), a zatim diklormetanom (3×200 mL). Diklormetan je uparen na rotacijskom uparivaču. Dobiveni produkt (iz diklormetana) je bez dodatnog pročišćavanja korišten u sljedećem reakcijskom koraku.

3.8.1.1. Priprava N-*(4-brombut-1-il)-1,8-naftalimida (***50***)*



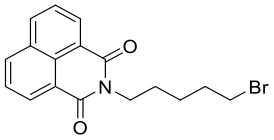
50

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,4-dibrombutana (6,54 mL, 54,77 mmol) i 1,8-naftalimida (4,32 g, 21,9 mmol) uz kalijev karbonat (12,11 g, 87,6 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 3,90 g (54 %) produkta **50** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[303]

N-(4-brombut-1-il)-1,8-naftalimid (**50**): 3,90 g (54 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 105 – 106 °C (lit. 100 – 103 °C);[303] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3078 (Ar C–H), 2968, 2870 (C–H), 1698 (Ar C=C), 1652 (C=O), 1592, 1586

(C–N amid), 775 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 0,7 Hz), 8,21 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 0,4 Hz), 7,75 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 4,23 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 3,48 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 2,03-1,95 (m, 2H), 1,95-1,87 (m, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 133,9 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,5 (s, 2C), 39,3 (t), 33,1 (t), 30,2 (t), 26,8 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ①, t_R = 1,25 min, m/z = 332,03 $[M+H]^+$, nađeno 332,07, 334,06.

3.8.1.2. Priprava N-*(5-brompent-1-il)-1,8-naftalimida (***51***)*

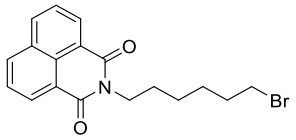


51

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,5-dibrompentana (7,46 mL, 54,77 mmol) i 1,8-naftalimida (4,32 g, 21,9 mmol) uz kalijev karbonat (12,11 g, 87,6 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 6,61 g (87 %) produkta **51** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[303]

N-(5-brompent-1-il)-1,8-naftalimid (**51**): 6,61 g (87 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 110 – 112 °C (lit. 118 – 120 °C);[303] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3061, 3018 (Ar C–H), 2954, 2969, 2860 (C–H), 1694 (Ar C=C), 1656 (C=O), 1586 (C–N amid), 775 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,21 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, J = 1,0 Hz), 7,78-7,72 (m, 2H), 4,20 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,43 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 1,96 (quin, 2H, J = 7,0 Hz), 1,78 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,61-1,53 (m, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 133,9 (d, 2C), 131,6 (s), 131,2 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,6 (s, 2C), 40,0 (t), 35,5 (t), 32,4 (t), 27,2 (t), 25,6 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,32 min, m/z = 346,04 $[M+H]^+$, nađeno 346,08, 348,09.

3.8.1.3. Priprava N-*(6-bromheks-1-il)-1,8-naftalimida (***52***)*



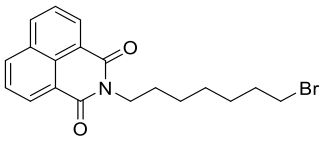
52

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,6-dibromheksana (9,45 mL, 62,38 mmol) i 1,8-naftalimida (4,92 g, 24,5 mmol) uz kalijev karbonat (13,79 g, 99,8 mmol) nakon

obrade i izolacije dobiveno je 6,45 g (72 %) produkta **52** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[303]

N-(6-bromheks-1-il)-1,8-naftalimid (**52**): 6,45 g (72 %); t_t = 99 – 100 °C (lit. 90 – 94 °C);[303] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3062(Ar C–H), 2933, 2856 (C–H), 1693(Ar C=C), 1660 (C=O), 1588 (C–N amid), 780 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,59 (d, 2H, J = 7,2 Hz), 8,20 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,74 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 4,19 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,40 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 1,88 (quin, 2H, J = 7,1 Hz), 1,76 (quin, 2H, J = 7,6 Hz), 1,55-1,49 (m, 2H), 1,49-1,43 (m, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,7 (s, 2C), 40,2 (t), 33,8 (t), 32,6 (t), 27,8 (t, 2C), 26,2 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,40 min, m/z = 360,06 $[M+H]^+$, nađeno 360,12, 362,09.

3.8.1.4. Priprava N-*(7-bromhept-1-il)-1,8-naftalimida (***53***)*

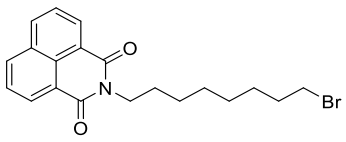


53

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,7-dibromheptana (9,75 mL, 57,05 mmol) i 1,8-naftalimida (4,50 g, 22,8 mmol) uz kalijev karbonat (12,62 g, 91,3 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 4,94 g (58 %) produkta **53** u obliku bijele krutine.

N-(7-bromhept-1-il)-1,8-naftalimid (**53**): 4,94 g (58 %); t_t = 80 – 83 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3063 (Ar C–H), 2930, 2853 (C–H), 1692 (Ar C=C), 1657 (C=O), 1588 (C–N amid), 779 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,1 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 7,78-7,71 (m, 2H), 4,18 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,39 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 1,85 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,74 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,50-1,32 (m, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,7 (s, 2C), 40,3 (t), 33,9 (t), 32,7 (t), 28,4 (t), 28,0 (t), 27,9 (t), 26,9 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,47 min, m/z = 374,08 $[M+H]^+$, nađeno 374,17, 376,11.

3.8.1.5. Priprava N-*(8-bromokt-1-il)-1,8-naftalimida (***54***)*



54

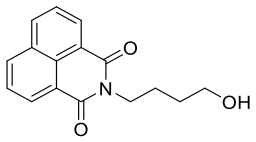
Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,8-dibromoktana (11,49 mL, 62,38 mmol) i 1,8-naftalimida (4,92 g, 24,9 mmol) uz kalijev karbonat (13,79 g, 99,8 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 7,19 g (74 %) produkta **54** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[303]

N-(8-bromokt-1-il)-1,8-naftalimid (**54**): 3,90 g (54 %); t_t = 80 °C (lit. 70 – 75 °C);[303] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3063 (Ar C–H), 2935, 2919, 2852 (C–H), 1695 (Ar C=C), 1658 (C=O), 1586 (C–N amid), 777 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,1 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 7,78-7,72 (m, 2H), 4,18 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,39 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 1,84 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,74 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,48-1,29 (m, 8H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,7 (s, 2C), 40,3 (t), 33,9 (t), 32,7 (t), 29,1 (t), 28,6 (t), 28,1 (t), 28,0 (t), 26,9 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,53 min, m/z = 388,09 $[M+H]^+$, nađeno 388,15, 390,15.

3.8.2. Opći postupak priprave *N*-(ω-hidroksialkil)-1,8-naftalimida

U tikvicu (250 mL) opremljenu septumom stavljeni su *N*-(ω-bromalkil)-1,8-naftalimid, heksametilfosforamid (HMPA) (4 mL HMPA/mmol brom derivata) i voda (45 ekv.). Reakcijska smjesa je zagrijana na 100 °C i miješana 17 h. Reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu, prebačena u lijevak za odjeljivanje, razrijeđena vodom te je ekstrahirana dietil-eterom (3×100 mL). Spojene organske faze isprane su vodenom otopinom klorovodične kiseline (1 mol dm^{-3}, 2×80 mL), zasićenom vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata (1×80 mL), vodenom otopinom litijevog klorida (5 %, 1×50 mL) i zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (1×100 mL) te posušene bezvodnim natrijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt je bez dodatnog pročišćavanja korišten u sljedećem reakcijskom koraku.

3.8.2.1. Priprava N-*(4-hidroksibut-1-il)-1,8-naftalimida (***55***)*

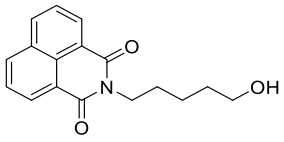


55

Prema općem postupku opisanom u §3.8.2, reakcijom bromida **50** (3,63 g, 10,9 mmol) i vode (8,9 mL) u HMPA, nakon obrade dobiveno je 2,23 g (76 %) produkta **55** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[304]

N-(4-hidroksibut-1-il)-1,8-naftalimid (**55**): 2,23 g (76 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 89 – 90 °C (lit. 111 – 113 °C);[304] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3509 (Ar C–H), 3314 (O–H), 2937, 2872 (C–H), 1692 (Ar C=C), 1652 (C=O), 1587 (C–N amid); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 7,77-7,72 (m, 2H), 4,23 (t, 2H, J = 735 Hz), 3,75 (t, 2H, J = 6,2 Hz), 1,88 (s, 1H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,70 (quin, 2H, J = 7,3 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 133,9 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,0 (s), 126,9 (d, 2C), 122,5 (s, 2C), 62,4 (t), 39,9 (t), 29,9 (t), 24,4 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 0,87 min, m/z = 270,11 $[M+H]^+$, nađeno 270,14.

3.8.2.2. Priprava N*-(5-hidroksipent-1-il)-1,8-naftalimida (***56***)*

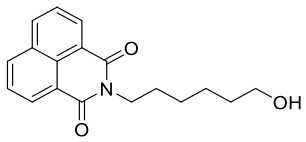


56

Prema općem postupku opisanom u §3.8.2, reakcijom bromida **51** (3,93 g, 11,4 mmol) i vode (9,2 mL) u HMPA, nakon obrade dobiveno je 2,85 g (89 %) produkta **56** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[304]

N-(5-hidroksipent-1-il)-1,8-naftalimid (**56**): 2,85 g (89 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 92 °C (lit. 94 – 96 °C);[304] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3397 (O–H), 3062 (Ar C–H), 2938, 2858 (C–H), 1698 (Ar C=C), 1661 (C=O), 1587 (C–N amid); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 8,60 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,21 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, J = 1,0 Hz), 7,79-7,72 (m, 2H), 4,20 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,67 (t, 2H, J = 6,4 Hz), 1,79 (quin, 2H, J = 7,4 Hz), 1,73-1,61 (m, 2H), 1,57-1,46 (m, 2H), 1,35 (br. s, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,6 (s, 2C), 62,7 (t), 40,2 (t), 32,3 (t), 27,8 (t), 23,2 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 0,94 min, m/z = 284,13 $[M+H]^+$, nađeno 284,16.

3.8.2.3. Priprava N-*(6-hidroksiheks-1-il)-1,8-naftalimida (***57***)*

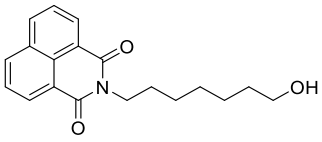


57

Prema općem postupku opisanom u §3.8.2, reakcijom bromida **52** (6,25 g, 17,4 mmol) i vode (14,1 mL) u HMPA, nakon obrade dobiveno je 3,92 g (76 %) produkta **57** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[305]

N-(6-hidroksiheks-1-il)-1,8-naftalimid (**57**): 3,92 g (76 %); t_t = 70 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3358 (O–H), 3285 (Ar C–H), 2929, 2858 (C–H), 1697 (Ar C=C), 1659 (C=O), 1590 (C–N amid); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, J = 1,0 Hz), 7,77-7,72 (m, 2H), 4,18 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,65 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 1,77-1,72 (m, 2H), 1,65-1,54 (m, 2H), 1,49-1,43 (m, 4H), 1,42 (br. s, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,6 (s, 2C), 62,7 (t), 40,2 (t), 32,5 (t), 27,9 (t), 26,6 (t), 25,2 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,01 min, m/z = 298,14 $[M+H]^+$, nađeno 298,17.

3.8.2.4. Priprava N-*(7-hidroksihept-1-il)-1,8-naftalimida (***58***)*

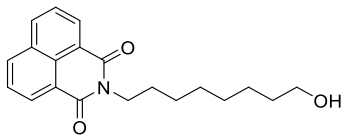


58

Prema općem postupku opisanom u §3.8.2, reakcijom bromida **53** (4,78 g, 12,8 mmol) i vode (10,4 mL) u HMPA, nakon obrade dobiveno je 3,88 g (98 %) produkta **58** u obliku bijele krutine.

N-(7-hidroksihept-1-il)-1,8-naftalimid (**58**): 3,88 g (98 %); t_t = 70 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3526 (O–H), 2929, 2853 (C–H), 1689 (Ar C=C), 1650 (C=O), 1589 (C–N amid); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, J = 1,0 Hz), 7,78-7,69 (m, 2H), 4,17 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,64 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 1,73 (quin, 2H, J = 7,4 Hz), 1,57 (quin, 2H, J = 6,9 Hz), 1,49-1,30 (m, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,7 (s, 2C), 62,9 (t), 40,3 (t), 32,6 (t), 28,9 (t), 27,9 (t), 26,9 (t), 25,5 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,09 min, m/z = 312,16 $[M+H]^+$, nađeno 312,19.

3.8.2.5. Priprava N*-(8-hidroksiokt-1-il)-1,8-naftalimida (***59***)*



59

Prema općem postupku opisanom u §3.8.2, reakcijom bromida **54** (6,88 g, 17,7 mmol) i vode (14,4 mL) u HMPA, nakon obrade dobiveno je 5,65 g (98 %) produkta **59** u obliku bijele krutine.

N-(8-hidroksiokt-1-il)-1,8-naftalimid (**59**): 5,65 g (98 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 66 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3331 (O–H), 3252, 3074 (Ar C–H), 2926, 2858 (C–H), 1699 (Ar C=C), 1662 (C=O), 1588 (C–N amid); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, J = 1,0 Hz), 7,77-7,72 (m, 2H), 4,17 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,63 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 1,73 (quin, 2H, J = 7,6 Hz), 1,57 (quin, 2H, J = 6,7 Hz), 1,47-1,36 (m, 8H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,8 (d, 2C), 122,7 (s, 2C), 62,9 (t), 40,4 (t), 32,7 (t), 29,2 (t, 2C), 28,0 (t), 26,9 (t), 25,6 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,17 min, m/z = 326,18 $[M+H]^+$, nađeno 326,20.

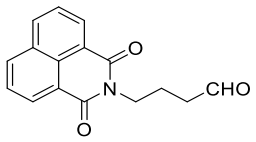
3.8.3. Opći postupak priprave *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida – Swernova oksidacija

U suhu, dvogrlu tikvicu (250 mL), opremljenu lijevkom za dokapavanje i septumom, pod atmosferom argona dodani su oksalil-klorid (5 ekv.) i suhi diklormetan (1 mL/mmol oksalil-klorida). Reakcijska smjesa je ohlađena na –78 °C, te je dokapana otopina suhog dimetil-sulfoksida (DMSO) (10 ekv.) u suhom diklormetanu (0,2 mL/mmol DMSO). Reakcijska smjesa je miješana 1 sat na –78 °C. U reakcijsku smjesu je zatim dokapana otopina *N*-(ω-hidroksialkil)-1,8-naftalimida (1,0 ekv.) u suhom diklormetanu (1 mL/mmol hidroksialkil-1,8-naftalimida). Reakcijska smjesa je miješana 2 sata na –78 °C. U reakcijsku smjesu je zatim dokapan trietilamin (15 ekv.), te je reakcija miješana 1 sat na –78 °C, a zatim je kroz 17 sati spontano zagrijana do sobne temperature. Reakcijska smjesa je prebačena u lijevak za odjeljivanje, razrijeđena vodom te je ekstrahirana diklormetanom. Spojene organske faze isprane su zasićenom vodenom otopinom amonijevog klorida i zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida te posušene bezvodnim natrijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 50 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens.

3.8.4. Opći postupak priprave *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida – Dess-Martinova oksidacija[306]

U tikvicu (250 mL), opremljenu lijevkom za dokapavanje, dodani su Dess-Martinov perjodinan (DMP, 1,2 ekv.) i diklormetan (2,5 mL/mmol DMP). U otopinu Dess-Martin perjodinana na sobnoj temperaturi dokapana je otopina *N*-(ω-hidroksialkil)-1,8-naftalimida (1,0 ekv.) u diklormetanu (2,5 mL/mmol hidroksialkil-1,8-naftalimida). Sadržaj tikvice je miješan još 1,5 sat na sobnoj temperaturi, a zatim je dodana otopina natrijevog tiosulfata (9,5 ekv.) u zasićenoj vodenoj otopini natrijevog hidrogenkarbonata (1 mL/mmol $Na_2S_2O_3$). Nastala suspenzija je miješana 20 minuta na sobnoj temperaturi, te je prebačena u lijevak za odjeljivanje i ekstrahirana diklormetanom. Spojene organske faze isprane su zasićenom vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata i zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida te posušene bezvodnim natrijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 50 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens.

3.8.4.1. Priprava N*-(3-formilprop-1-il)-1,8-naftalimida (***60***)*

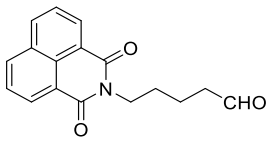


60

Prema općem postupku opisanom u §3.8.3, Swernovom oksidacijom alkohola **55** (2,15 g, 7,9 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,17 g (55 %) produkta **60** u obliku bijele krutine. ^{1}H NMR spektar odgovara literaturno poznatom spektru.[307]

N-(3-formilprop-1-il)-1,8-naftalimid (**60**): 1,17 g (55 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 78 – 80 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3063 (Ar C–H), 2952, 2729 (C–H), 2830 (C–H ald.), 1698 (C=O, ald.), 1660 (C=O), 1586 (C–N amid), 1341 (C=C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 9,81 (t, 1H, J = 1,4 Hz), 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,22 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 7,76 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 7,2 Hz), 4,25 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 2,59 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,4 Hz), 2,11 (quin, 2H, J = 7,2 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 201,4 (d), 164,2 (s, 2C), 134,0 (d, 2C), 131,5 (s), 131,3 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,5 (s, 2C), 41,3 (t), 39,4 (t), 20,7 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 0,96 min, m/z = 268,10 $[M+H]^+$, nađeno 268,14; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{16}H_{13}NO_3$ $[M+H]^+$ 268,0974 nađeno 268,0984.

3.8.4.2. Priprava N-*(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimida (***61***)*

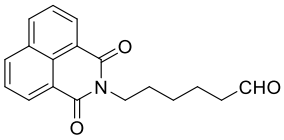


61

Prema općem postupku opisanom u §3.8.3, Swernovom oksidacijom alkohola **56** (1,93 g, 6,8 mmol) dobiveno je 1,22 g (55 %) produkta **61**, dok je prema postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **56** (4,86 g, 17,2 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (8,73 g, 20,6 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 4,25 g (88 %) produkta **61** u obliku bijele krutine.

N-(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimid (**61**): t_t = 94 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2942, 2732 (C–H), 2831 (C–H ald.), 1690 (C=O, ald.), 1656 (C=O), 1586 (C–N amid), 1339 (C=C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm: 9,79 (t, 1H, J = 1,6 Hz), 8,60 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,0 Hz), 8,22 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 0,9 Hz), 7,76 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 7,3 Hz), 4,22 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 2,59-2,48 (m, 2H), 1,88-1,70 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 202,2 (d), 164,2 (s, 2C), 133,9 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,5 (s, 2C), 43,4 (t), 39,7 (t), 27,5 (t), 19,5 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,03 min, m/z = 282,11 $[M+H]^+$, nađeno 282,10; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{17}H_{15}NO_3$ $[M+H]^+$ 282,1130 nađeno 282,1140.

3.8.4.3. Priprava N-*(5-formilpent-1-il)-1,8-naftalimida (***62***)*



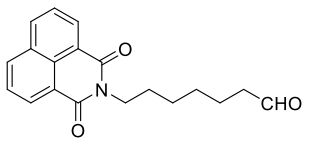
62

Prema općem postupku opisanom u §3.8.3, Swernovom oksidacijom alkohola **57** (5,24 g, 17,6 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 4,65 g (89 %) produkta **62** u obliku bijele krutine.

N-(5-formilpent-1-il)-1,8-naftalimid (**62**): 4,65 g (89 %); t_t = 76 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3060 (Ar C–H), 2927, 2851 (C–H), 2699 (C–H ald.), 1690 (C=O, ald.), 1649 (C=O), 1584 (C–N amid), 1343 (C=C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 9,76 (t, 1H, J = 1,8 Hz), 8,59 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J =1,0 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 7,74 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 7,3 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 2,45 (td, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,7 Hz), 1,82-1,66 (m, 4H), 1,52-1,42 (m, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 202,5 (d), 164,1 (s, 2C), 133,9 (d, 2C),

131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,6 (s, 2C), 43,7 (t), 40,0 (t), 27,7 (t), 26,5 (t), 21,5 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,11 min, *m*/*z* = 296,13 $[M+H]^+$, nađeno 296,16; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{18}H_{17}NO_3$ $[M+H]^+$ 296,1287 nađeno 296,1291.

3.8.4.4. Priprava N-*(6-formilheks-1-il)-1,8-naftalimida (***63***)*

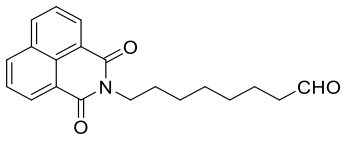


63

Prema općem postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **58** (3,68 g, 11,8 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (6,02 g, 14,2 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,82 g (77 %) produkta **63** u obliku bijele krutine.

N-(6-formilheks-1-il)-1,8-naftalimid (**63**): 2,82 g (77 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 83 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2931, 2857 (C–H), 2710 (C–H ald.), 1693 (C=O, ald.), 1657 (C=O), 1586 (C–N amid), 1343 (C=C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 9,75 (t, 1H, *J* = 1,9 Hz), 8,59 (dd, 2H, *J* = 7,4 Hz, *J* = 0,9 Hz), 8,20 (dd, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,9 Hz), 7,74 (dd, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 7,3 Hz), 4,17 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz), 2,43 (td, 2H, *J* = 7,3 Hz, *J* = 1,8 Hz), 1,75 (quin, 2H, *J* = 7,4 Hz), 1,65 (quin, 2H, *J* = 7,3 Hz), 1,50-1,36 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 202,7 (d), 164,1 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,6 (s, 2C), 43,7 (t), 40,2 (t), 28,8 (t), 27,8 (t), 26,8 (t), 21,9 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,19 min, *m*/*z* = 310,14 $[M+H]^+$, nađeno 310,18; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{19}H_{19}NO_3$ $[M+H]^+$ 310,1443 nađeno 310,1438.

3.8.4.5. Priprava N-*(7-formilhept-1-il)-1,8-naftalimida (***64***)*



64

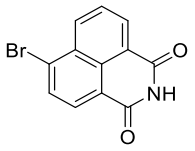
Prema općem postupku opisanom u §3.8.3, Swernovom oksidacijom alkohola **59** (5,85 g, 17,9 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 3,57 g (61 %) produkta **64** u obliku bijele krutine.

N-(7-formilhept-1-il)-1,8-naftalimid (**64**): 4,65 g (89 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 71 – 73 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2928, 2727 (C–H), 2850 (C–H ald.), 1695 (C=O, ald.), 1655 (C=O), 1590 (C–N amid), 1342 (C=C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 9,75 (t, 1H, *J* = 1,8 Hz), 8,59 (dd, 2H, *J* = 7,2 Hz,

J = 0,8 Hz), 8,20 (dd, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,7 Hz), 7,74 (t, 2H, *J* = 7,8 Hz), 4,17 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,41 (td, 2H, *J* = 7,3 Hz, *J* = 1,7 Hz), 1,73 (quin, 2H, *J* = 7,4 Hz), 1,62 (quin, 2H, *J* = 7, 3Hz), 1,49-1,28 (m, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) *δ*/ppm: 202,8 (d), 164,1 (s, 2C), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 126,9 (d, 2C), 122,7 (s, 2C), 43,8 (t), 40,3 (t), 29,0 (t, 2C), 27,9 (t), 26,8 (t), 22,0 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,26 min, *m*/*z* = 324,16 $[M+H]^+$, nađeno 324,20; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{20}H_{21}NO_3$ $[M+H]^+$ 324,1600 nađeno 324,1598.

3.9. Priprava 4-dietilamin-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida

3.9.1. Priprava 4-brom-1,8-naftalimida (**65**)[308]

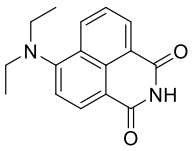


65

U tikvicu (2 L) dodani su 4-brom-1,8-naftanhidrid (12,0 g, 43,3 mmol) i vodena otopina amonijaka (*w* = 33 %, 550 mL). Nastala suspenzija je zagrijavana i miješana 4 sata na 40 °C, a zatim je ohlađena na sobnu temperaturu i profiltrirana. Talog je ispran destiliranom vodom i osušen u eksikatoru iznad kalijevog hidroksida. Dobiveno je 11,82 g (98 %) produkta **65** u obliku bijele krutine. Sirovi produkt **65** je bez dodatnog pročišćavanja korišten u slijedećem reakcijskom koraku.

4-brom-1,8-naftalimid (**65**): 11,82 g (98 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 299 – 300 °C (lit. 296 – 298 °C);[308] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3164, 3059, 2852 (Ar C–H), 1671 (C=O), 1586 (C–N amid), 1367 (C=C), 779, 704 (C–Br); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 600 MHz) *δ*/ppm: 11,72 (br. s, 1H), 8,51 (dd, 1H, *J* = 8,5 Hz, *J* = 0,9 Hz), 8,49 (dd, 1H, *J* =7,3 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,25 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz), 8,18 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz), 7,96 (dd, 1H, *J* = 8,5 Hz, *J* = 7,3 Hz); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 150 MHz) *δ*/ppm: 163,6 (s), 163,5 (s), 132,6 (d), 131,2 (d), 130,8 (d), 130,2 (d), 130,0 (s), 129,5 (s), 129,1 (s), 128,7 (d), 123,2 (s), 122,4 (s); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 0,97 min, *m*/*z* = 275,91 $[M+H]^+$, nađeno 276,52, 278,48.

3.9.2. Priprava 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**)



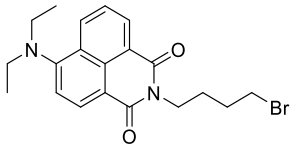
66

U vijalu za mikrovalni reaktor dodani su 4-brom-1,8-naftalimid (**65**, 950 mg, 3,44 mmol), bakrov (II) klorid (255 mg, 1,89 mmol), dietilamin (10 mL, 96,66 mmol) i 2-metoksietanol (12 mL). Reakcijska smjesa je zagrijavana u mikrovalnom reaktoru 2 sata na 160 °C. Reakcija je paralelno provedena u 13 šarži po 950 mg spoja **65** (ukupno 12,35 g, 44,7 mmol). Nakon provedenog mikrovalnog zagrijavanja, reakcijske smjese su spojene, dodana im je zasićena vodena otopina amonijevog klorida (800 mL), te su ekstrahirane etil-acetatom (3×180 mL). Spojene organske faze oprane su zasićenom vodenom otopinom amonijevog klorida (2×100 mL), zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (1×200 mL) i osušene bezvodnim natrijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 30 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens. Dobiveno je 10,46 g (87 %) produkta **66** u obliku žuto-narančaste krutine.

4-dietilamin-1,8-naftalimid (**66**): 10,46 g (87 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 169 °C (lit. 249 – 251 °C);[309] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3173, 3058, 2986, 2930 (Ar C–H), 1665 (C=O), 1571 (C–N amid), 1368 (C–N Ar amin), 1104, 1064 (C–N amin); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 500 MHz) δ/ppm: 11,51 (br. s, 1H), 8,44 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 8,40 (d, 1H, J = 6,8 Hz), 8,31 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,76 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,32 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 3,38 (q, 4H, J = 6,8 Hz), 1,10 (t, 6H, J = 6,8 Hz); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 125 MHz) δ/ppm: 164,3 (s), 163,8 (s), 154,6 (s), 130,9 (d), 130,8 (d), 130,7 (s), 129,9 (d), 126,8 (s), 125,4 (d), 123,0 (s), 116,6 (d), 115,0 (s), 46,8 (t, 2C), 12,1 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,06 min, m/z = 269,13 $[M+H]^+$, nađeno 269,62.

3.9.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-(ω-bromalkil)-1,8-naftalimida

*3.9.3.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-(4-brombut-1-il)-1,8-naftalimida (***67***)*

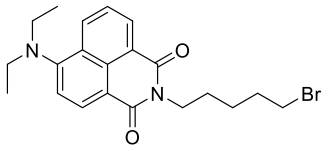


67

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,4-dibrombutana (2,23 mL, 18,63 mmol) i 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**, 2,00 g, 7,5 mmol) uz kalijev karbonat (4,12 g, 29,8 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,68 g (89 %) produkta **67** u obliku intenzivno žutog ulja.

4-dietilamin-*N*-(4-brombut-1-il)-1,8-naftalimid (**67**): 2,68 g (89 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2961, 2933, 2850 (C–H), 1691 (Ar C=C), 1652 (C=O), 1586, 1570 (C–N amid), 1350 (C–N Ar amin), 1174 (C–N amin), 781, 757 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,55 (dd, 1H, J = 7,2 Hz, J = 0,7 Hz), 8,46 (t, 2H, J = 8,5 Hz), 7,64 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,21 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 3,46 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 6,9 Hz), 2,03-1,79 (m, 4H), 1,16 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 155,1 (s), 132,1 (d), 131,1 (d), 130,9 (d), 130,1 (s), 127,2 (s), 125,1 (d), 122,9 (s), 116,7 (d), 115,4 (s), 47,3 (t, 2C), 39,0 (t), 33,2 (t), 30,2 (t), 26,9 (t), 12,1 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,49 min, m/z = 403,10 $[M+H]^+$, nađeno 403,18, 405,16.

*3.9.3.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-(5-brompent-1-il)-1,8-naftalimida (**68**)*



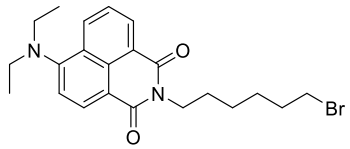
68

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,5-dibrompentana (2,58 mL, 18,91 mmol) i 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**, 2,03 g, 7,6 mmol) uz kalijev karbonat (4,18 g, 30,3 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,50 g (79 %) produkta **68** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-(5-brompent-1-il)-1,8-naftalimid (**68**): 2,50 g (79 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 62 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2967, 2940, 2825 (C–H), 1691 (Ar C=C), 1650 (C=O), 1588, 1572 (C–N amid), 1351 (C–N Ar amin), 1167 (C–N amin), 783, 757 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,55 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 8,47 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 8,45 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 8,14 Hz), 4,16 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,47-3,35 (m, 6H), 1,93 (quin, 2H, J = 7,1 H), 1,75 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,56 (quin, 2H, J = 7,7 Hz), 1,16 (t, 6H, J = 6,9 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,0 (s), 132,0 (d), 131,0 (d), 130,9 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 115,6 (s), 47,4 (t, 2C), 39,8 (t), 33,6 (t), 32,4 (t), 27,2 (t),

25,6 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za jedan -C- atom (oko 155 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,54 min, *m*/*z* = 417,12 $[M+H]^+$, nađeno 417,17, 419,21.

*3.9.3.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-(6-bromheks-1-il)-1,8-naftalimida (***69***)*

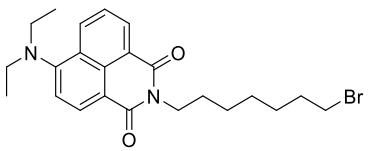


69

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,6-dibromheksana (2,88 mL, 19,01 mmol) i 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**, 2,04 g, 7,6 mmol) uz kalijev karbonat (4,20 g, 30,4 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,68 g (82 %) produkta **69** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-(6-bromheks-1-il)-1,8-naftalimid (**69**): 2,68 g (82 %); t_t = 79 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2965, 2940, 2857 (C–H), 1688 (Ar C=C), 1650 (C=O), 1587, 1572 (C–N amid), 1351 (C–N Ar amin), 1247 (C–N amin), 779, 757 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, *J* = 7,1 Hz), 8,48 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 8,46 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz), 7,65 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 4,16 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz), 3,443,36 (m, 6H), 1,87 (quin, 2H, *J* = 7,2 Hz), 1,74 (quin, 2H, *J* = 7,4 Hz), 1,54-1,47 (m, 2H), 1,47-1,42 (m, 2H), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 132,0 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,2 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,8 (d), 115,7 (s), 47,4 (t, 2C), 40,0 (t), 33,8 (t), 32,7 (t), 27,9 (t), 27,9 (t), 26,2 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za jedan -C- atom (oko 155 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,58 min, *m*/*z* = 431,13 $[M+H]^+$, nađeno 431,20, 433,18.

*3.9.3.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-(7-bromhept-1-il)-1,8-naftalimida (***70***)*



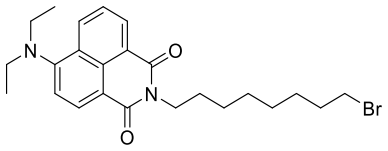
70

Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,7-dibromheptana (3,26 mL, 19,10 mmol) i 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**, 2,05 g, 7,6 mmol) uz kalijev karbonat (4,22 g, 30,6

mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,16 g (63 %) produkta **70** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-(7-bromhept-1-il)-1,8-naftalimid (**70**): 2,16 g (63 %); t_t = 33 – 35 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2960, 2933, 2857 (C–H), 1688 (Ar C=C), 1649 (C=O), 1586, 1573 (C–N amid), 1345 (C–N Ar amin), 1244, 1235 (C–N amin), 779, 757 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,55 (d, 1H, J = 6,9 Hz), 8,47 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 8,44 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,64 (t, 1H, J = 7,7 Hz), 7,19 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,15 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 3,45-3,32 (m, 6H), 1,84 (quin, 2H, J = 6,7 Hz), 1,72 (quin, 2H, J = 7,0 Hz), 1,49-1,31 (m, 6H), 1,15 (t, 6H, J = 6,9 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 154,9 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,1 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 115,7 (s), 47,3 (t, 2C), 40,0 (t), 33,9 (t), 32,7 (t), 28,4 (t), 28,05 (t), 25,01 (t), 26,8 (t), 12,1 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,65 min, m/z = 445,15 $[M+H]^+$, nađeno 445,19, 447,19.

*3.9.3.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-(8-bromokt-1-il)-1,8-naftalimida (**71**)*



71

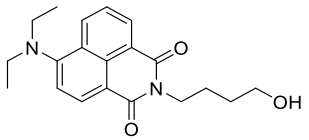
Prema općem postupku opisanom u §3.8.1, reakcijom iz 1,8-dibromoktana (3,52 mL, 19,10 mmol) i 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**, 2,05 g, 7,6 mmol) uz kalijev karbonat (4,22 g, 30,6 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 2,75 g (78 %) produkta **71** u obliku gustog, žuto-narančastog ulja.

4-dietilamin-*N*-(8-bromokt-1-il)-1,8-naftalimid (**71**): 2,75 g (78 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2929, 2854 (C–H), 1693 (Ar C=C), 1652 (C=O), 1586, 1575 (C–N amid), 1349 (C–N Ar amin), 1239 (C–N amin), 781, 760 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,57 (d, 1H, J = 7,0 Hz), 8,53-8,43 (m, 2H), 7,66 (t, 1H, J = 7, 9Hz), 7,22 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,15 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,49-3,32 (m, 6H), 1,83 (quin, 2H, J = 7,2 Hz), 1,75-1,67 (m, 2H), 1,47-1,27 (m, 8H), 1,16 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,1 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 115,9 (s), 47,57 (t), 47,54 (t), 40,2 (t), 34,0 (t), 32,7 (t), 29,1 (t), 28,6 (t), 28,1 (t), 28,0 (t), 27,0 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za jedan -C- atom (oko 155 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,70 min, m/z = 459,16 $[M+H]^+$, nađeno 459,21, 461,21.

3.9.4. Opći postupak priprave 4-dietilamin-*N*-(ω-hidroksialkil)-1,8-naftalimida

U tikvicu (100 mL) opremljenu septumom stavljeni su 4-dietilamin-*N*-(ω-bromalkil)-1,8-naftalimid, heksametilfosforamid (HMPA) (4 mL HMPA/mmol brom derivata) i voda (45 ekv.). Reakcijska smjesa je zagrijana na 100 °C i miješana 17 h. Reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu, prebačena u lijevak za odjeljivanje, razrijeđena vodom te je ekstrahirana diklormetanom. Spojene organske faze isprane su zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida i posušene bezvodnim natrijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt je nanesen na sloj C18-silikagela, te je u nekoliko navrata opran toplom vodom (na taj način se ukloni HMPA), a zatim je C18-silikagel ispran s nekoliko porcija metanola. Spojene metanolne frakcije su uparene na rotacijskom uparivaču. Sirovi produkt (uparni ostatak) je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 50 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens.

*3.9.4.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-(4-hidroksibut-1-il)-1,8-naftalimida (**72**)*

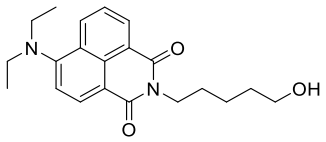


72

Prema općem postupku opisanom u §3.9.4 reakcijom bromida **67** (2,67 g, 6,6 mmol) i vode (5,4 mL) u HMPA, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,29 g (57 %) produkta **72** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamin-*N*-(4-hidroksibut-1-il)-1,8-naftalimid (**72**): 1,29 g (57 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3470 (O–H), 2957, 2929, 2871 (C–H), 1685 (Ar C=C), 1683 (C=O), 1578 (C–N amid), 1341 (C–N Ar amin), 1238 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,51-8,46 (m, 2H), 7,66 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 4,23 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,73 (t, 2H, J = 6,4 Hz), 3,42 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 1,83 (quin, 2H, J = 7,2 Hz), 1,69 (quin, 2H, J = 7,2 Hz), 1,17 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 132,1 (d), 131,1 (d), 130,9 (d), 130,2 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 62,5 (t), 47,5 (t, 2C), 39,6 (t), 29,8 (t), 24,5 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,14 min, m/z = 341,19 $[M+H]^+$, nađeno 341,23.

*3.9.4.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-(5-hidroksipent-1-il)-1,8-naftalimida (***73***)*

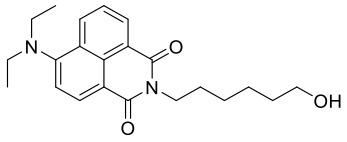


73

Prema općem postupku opisanom u §3.9.4 reakcijom bromida **68** (2,49 g, 5,9 mmol) i vode (4,8 mL) u HMPA, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,53 g (72 %) produkta **73** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamin-*N*-(5-hidroksipent-1-il)-1,8-naftalimid (**73**): 1,53 g (72 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3437 (O–H), 2933, 2861 (C–H), 1691 (Ar C=C), 1647 (C=O), 1585, 1575 (C–N amid), 1348 (C–N Ar amin), 1239 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,49-8,43 (m, 2H), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 3,65 (t, 2H, J = 6,4 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 1,76 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,65 (quin, 2H, J = 6,9 Hz), 1,52-1,46 (m, 2H), 1,16 (t, 6H, J = 7,2 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 132,0 (d), 131,1 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,8 (d), 62,8 (t), 47,4 (t, 2C), 40,0 (t), 32,4 (t), 27,8 (t), 23,2 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,21 min, m/z = 355,20 $[M+H]^+$, nađeno 355,80.

*3.9.4.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-(6-hidroksiheks-1-il)-1,8-naftalimida (***74***)*



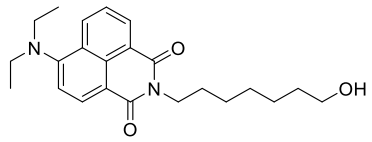
74

Prema općem postupku opisanom u §3.9.4 reakcijom bromida **69** (2,67 g, 6,2 mmol) i vode (5,0 mL) u HMPA, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,49 g (65 %) produkta **74** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamin-*N*-(6-hidroksiheks-1-il)-1,8-naftalimid (**74**): 1,49 g (65 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3445 (O–H), 2931, 2857 (C–H), 1692 (Ar C=C), 1649 (C=O), 1585 (C–N amid), 1349 (C–N Ar amin), 1237 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 8,50-8,42 (m, 2H), 7,65 (t, 1H, J = 7,7 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,17 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 3,64 (t, 2H, J = 6,4 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 1,74 (quin, 2H, J = 7,2 Hz), 1,65 (br. s, 1H), 1,59 (quin, 2H, J = 6,7 Hz), 1,48-1,42 (m, 4H), 1,16 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150

MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 132,0 (d), 131,1 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 62,7 (t), 47,5 (t, 2C), 39,9 (t), 32,6 (t), 28,0 (t), 26,6 (t), 25,2 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,28 min, m/z = 369,22 $[M+H]^+$, nađeno 369,81.

*3.9.4.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-(7-hidroksihept-1-il)-1,8-naftalimida (**75**)*

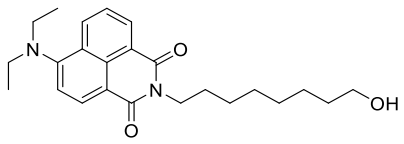


75

Prema općem postupku opisanom u §3.9.4 reakcijom bromida **70** (2,15 g, 4,8 mmol) i vode (3,9 mL) u HMPA, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,64 g (89 %) produkta **75** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamin-*N*-(7-hidroksihept-1-il)-1,8-naftalimid (**75**): 1,64 g (89 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3448 (O–H), 2929, 2855 (C–H), 1692 (Ar C=C), 1649 (C=O), 1585, 1575 (C–N amid), 1348 (C–N Ar amin), 1236 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 8,50-8,44 (m, 2H), 7,66 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,15 (t, 2H, J = 7,7 Hz), 3,63 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 1,72 (quin, 2H, J = 7,3 Hz), 1,63 (br. s, 1H), 1,56 (quin, 2H, J = 6,8 Hz), 1,41-1,33 (m, 6H), 1,16 (t, 6H, J = 7,1 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 62,9 (t), 47,5 (t, 2C), 40,1 (t), 32,6 (t), 28,9 (t), 27,9 (t), 26,9 (t), 25,5 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,33 min, m/z = 383,23 $[M+H]^+$, nađeno 383,30.

*3.9.4.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-(8-hidroksiokt-1-il)-1,8-naftalimida (**76**)*



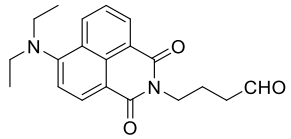
76

Prema općem postupku opisanom u §3.9.4 reakcijom bromida **71** (2,71 g, 5,9 mmol) i vode (4,8 mL) u HMPA, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,75 g (75 %) produkta **76** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamin-*N*-(8-hidroksiokt-1-il)-1,8-naftalimid (**76**): 1,75 g (75 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3436 (O–H), 2927, 2854 (C–H), 1692 (Ar C=C), 1649 (C=O), 1586, 1575 (C–N amid), 1348 (C–N Ar amin), 1237 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 8,50-8,43 (m, 2H), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 4,15 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,62 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 1,71 (quin, 2H, J = 7,5 Hz), 1,65 (br. s, 1H), 1,55 (quin, 2H, J = 6,8 Hz), 1,38-1,30 (m, 8H), 1,16 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 63,0 (t), 47,5 (t, 2C), 40,2 (t), 32,7 (t), 29,2 (t, 2C), 28,0 (t, 2C), 27,0 (t), 25,6 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,40 min, m/z = 397,25 $[M+H]^+$, nađeno 397,23.

3.9.5. Priprava 4-dietilamino-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida

*3.9.5.1. Priprava 4-dietilamino-*N*-(3-formilprop-1-il)-1,8-naftalimida (**77**)*

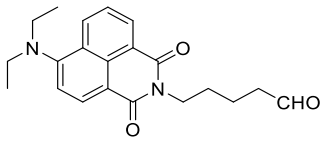


77

Prema općem postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **72** (1,29 g, 3,8 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (1,92 g, 4,5 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 0,99 g (77 %) produkta **77** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamino-*N*-(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimid (**77**): 0,99 g (77 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2968, 2871 (C–H), 2720 (C–H ald.), 1690 (C=O, ald.), 1647 (C=O), 1584, 1574 (C–N amid), 1384 (C=C), 1347 (C–N Ar amin), 1235 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 9,79 (s, 1H), 8,56 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 8,50-8,44 (m, 2H), 7,66 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 4,23 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 3,42 (q, 4H, J = 7,1 Hz), 2,56 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,09 (quin, 2H, J = 7,2 Hz), 1,17 (t, 6H, J = 7,1 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 201,5 (d), 164,6 (s), 164,1 (s), 132,1 (d), 131,1 (d), 131,0 (d), 130,2 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 122,9 (s), 116,8 (d), 115,4 (s), 47,4 (t, 2C), 41,3 (t), 39,2 (t), 20,8 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za jedan -C- atom (oko 155 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,26 min, m/z = 339,17 $[M+H]^+$, nađeno 339,66; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{20}H_{22}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 339,1709 nađeno 339,1717.

*3.9.5.2. Priprava 4-dietilamino-*N*-(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimida (***78***)*

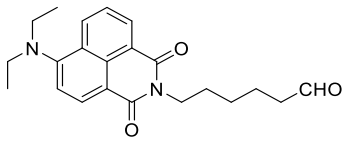


78

Prema općem postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **73** (1,50 g, 4,2 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (2,15 g, 5,1 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,01 g (68 %) produkta **78** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamino-*N*-(4-formilbut-1-il)-1,8-naftalimid (**78**): 1,01 g (68 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2965, 2933 (C–H), 2718 (C–H ald.), 1691 (C=O, ald.), 1649 (C=O), 1585, 1574 (C–N amid), 1387 (C=C), 1347 (C–N Ar amin), 1237 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 9,77 (s, 1H), 8,56 (d, 1H, J = 6,9 Hz), 8,48 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,66 (t, 1H, J = 7,6 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 4,19 (t, 2H, J = 6,3 Hz), 3,42 (q, 4H, J = 6,4 Hz), 2,52 (t, 2H, J = 2,5 Hz), 1,84-1,69 (m, 4H), 1,16 (t, 6H, J = 6,5 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 202,3 (d), 164,6 (s), 164,0 (s), 132,0 (d), 131,1 (d), 130,9 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,3 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 47,5 (t, 2C), 43,5 (t), 39,5 (t), 27,6 (t), 19,5 (t), 12,18 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 i 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,31 min, m/z = 353,19 $[M+H]^+$, nađeno 353,70; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{21}H_{24}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 353,1865 nađeno 353,1854.

*3.9.5.3. Priprava 4-dietilamino-*N*-(5-formilpent-1-il)-1,8-naftalimida (***79***)*



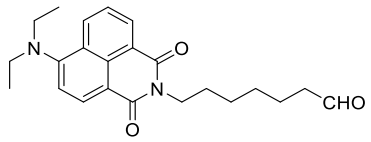
79

Prema općem postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **74** (1,49 g, 4,0 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (2,06 g, 4,9 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,15 g (77 %) produkta **79** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamino-*N*-(5-formilpent-1-il)-1,8-naftalimid (**79**): 1,15 g (77 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2933, 2860 (C–H), 2717 (C–H ald.), 1692 (C=O, ald.), 1650 (C=O), 1586, 1574 (C–N amid), 1387 (C=C), 1348 (C–N Ar amin), 1237 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 9,75 (s, 1H), 8,56 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,50-8,43 (m, 2H), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 4,17 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,46-2,42 (m, 2H), 1,75 (quin, 2H, J

= 7,6 Hz), 1,71 (quin, 2H, *J* = 7,6 Hz), 1,46 (quin, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 202,6 (d), 164,6 (s), 164,1 (s), 132,0 (d), 131,0 (d), 130,9 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 47,4 (t, 2C), 43,7 (t), 39,8 (t), 27,8 (t), 26,6 (t), 21,8 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 i 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,38 min, *m*/*z* = 367,20 $[M+H]^+$, nađeno 367,73; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{22}H_{26}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 367,2022 nađeno 367,2036.

3.9.5.4. Priprava 4-dietilamino-N-*(6-formilheks-1-il)-1,8-naftalimida (***80***)*

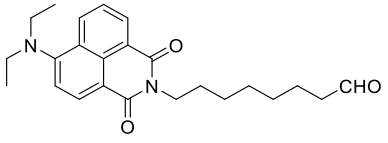


80

Prema općem postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **75** (1,64 g, 4,3 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (2,18 g, 5,2 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,16 g (71 %) produkta **80** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamino-*N*-(6-formilheks-1-il)-1,8-naftalimid (**80**): 1,16 g (71 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2932, 2856 (C–H), 2716 (C–H ald.), 1692 (C=O, ald.), 1650 (C=O), 1586, 1575 (C–N amid), 1387 (C=C), 1348 (C–N Ar amin), 1236 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) *δ*/ppm: 9,75 (s, 1H), 8,56 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz), 8,49-8,43 (m, 2H), 7,65 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 4,15 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 3,41 (q, 4H, *J* = 7,0 Hz), 2,41 (td, 2H, *J* = 7,3 Hz, *J* = 1,4 Hz), 1,73 (quin, 2H, *J* = 7,3 Hz), 1,68-1,60 (m, 2H), 1,47-1,37 (m, 4H), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 202,8 (d), 164,6 (s), 164,1 (s), 148,2 (s), 132,0 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,8 (d), 115,7 (s), 47,4 (t, 2C), 43,8 (t), 40,0 (t), 28,8 (t), 27,9 (t), 26,8 (t), 21,9 (t), 12,2 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,44 min, *m*/*z* = 381,22 $[M+H]^+$, nađeno 381,76; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{23}H_{28}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 381,2178 nađeno 381,2159.

3.9.5.5. Priprava 4-dietilamino-N-*(7-formilhept-1-il)-1,8-naftalimida (***81***)*



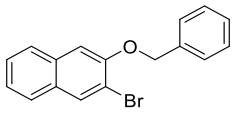
81

Prema općem postupku opisanom u §3.8.4, oksidacijom alkohola **76** (1,75 g, 4,4 mmol) Dess-Martinovim perjodinanom (2,25 g, 5,3 mmol) u diklormetanu, nakon obrade i izolacije dobiveno je 1,38 g (79 %) produkta **81** u obliku gustog, narančastog ulja.

4-dietilamino-*N*-(7-formilhept-1-il)-1,8-naftalimid (**81**): 1,38 g (79 %); **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2930, 2855 (C–H), 2715 (C–H ald.), 1692 (C=O, ald.), 1652 (C=O), 1586, 1574 (C–N amid), 1386 (C=C), 1348 (C–N Ar amin), 1236 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 9,74 (s, 1H), 8,55 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,51-8,42 (m, 2H), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 4,15 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 3,40 (q, 4H, J = 6,9 Hz), 2,40 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 1,77-1,67 (m, 2H), 1,65-1,57 (m, 2H), 1,46-1,29 (m, 6H), 1,16 (t, 6H, J = 6,9 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 202,9 (d), 164,5 (s), 164,1 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 127,3 (s), 125,2 (d), 123,1 (s), 116,8 (d), 115,8 (s), 47,4 (t, 2C), 43,8 (t), 40,1 (t), 29,0 (t, 2C), 28,0 (t), 26,8 (t), 22,0 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za jedan -C- atom (oko 155 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,51 min, m/z = 395,23 $[M+H]^+$, nađeno 395,78; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{24}H_{30}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 395,2335 nađeno 395,2337.

3.10. Priprava heterobifunkcionalnih derivata Grignardovom reakcijom

3.10.1. Priprava 2-benziloksi-3-bromnaftalena (**82**)[22]

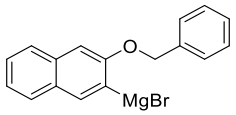


82

U tikvicu (250 mL), dodani su 2-brom-3-hidroksinaftalen (**3**, 8,88 g, 39,8 mmol), kalijev karbonat (11,04 g, 79,9 mmol), *N*,*N*-dimetilformamid (120,0 mL) i benzil-bromid (7,20 mL, 60,62 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2,5 sata na 60 °C. Reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu, prebačena u lijevak za odjeljivanje, razrijeđena vodom (500 mL) te je ekstrahirana diklormetanom (3×150 mL). Spojene organske faze isprane su redom vodenom otopinom litijevog klorida (5 %, 3×200 mL), zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (3×200 mL) i osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 33 % diklormetan/cikloheksan kao eluens. Dobiveno je 12,35 g (99 %) produkta **82** u obliku bijele krutine. NMR karakterizacija produkta odgovara podacima iz literature.[22]

2-benziloksi-3-bromnaftalen (**82**): 12,35 g (99 %); t_t = 83 °C (lit. 83 – 84 °C);[22] **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3031 (Ar C–H), 2872 (C–H), 1379 (C=C), 1245 (C–O), 1019 (C–O–C), 753 (C–Br); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,06 (s, 1H), 7,69 (d, 2H, J = 9,0 Hz), 7,54 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,46-7,38 (m, 3H), 7,38-7,31 (m, 2H), 7,22 (s, 1H), 5,27 (s, 2H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 152,6 (s), 136,4 (s), 133,4 (s), 132,4 (d), 129,5 (s), 128,6 (d, 2C), 127,9 (d), 127,0 (d, 2C), 126,7 (d), 126,6 (d, 2C), 124,5 (d), 113,9 (s), 108,3 (d), 70,6 (t).

3.10.2. Priprava Grignardovog reagensa - [3-(benziloksi)naft-2-il] magnezijevog bromida (**83**)



83

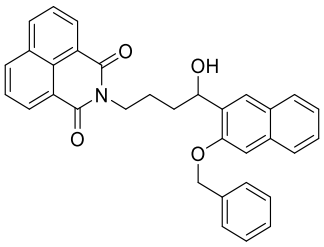
U suhu, trogrlu tikvicu (500 mL), opremljenu refluksnim hladilom, lijevkom za dokapavanje i septumom, pod atmosferom argona dodani su magnezij (0,53 g, 21,8 mmol), nekoliko kristalića joda i suhi THF (5,0 mL). U tikvicu je dokapan dio otopine 2-brom-3-(benziloksi)naftalena (**82**, 4,50 g, 14,4 mmol) u suhom THF-u (80 mL), te je reakcija pokrenuta uz blagi refluks i miješanje. Nakon što je početna crveno-smeđa boja reakcijske smjese nestala, dokapan je ostatak otopine bromida **82**. Reakcijska smjesa je miješana 3 – 4 sata na temperaturi refluksa (napredak reakcije nastanka Grignardovog reagensa praćen je UPLC-MS/UV; metoda ③ opisana u §3.2.2). Nastala otopina Grignardovog reagensa **83** je ohlađena na sobnu temperaturu i korištena isti dan u sljedećem reakcijskom koraku.

3.10.3. Opći postupak reakcije Grignardovog reagensa **83** i *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida

U suhu tikvicu (100 mL), opremljenu septumom, pod atmosferom argona dodani su *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimid (1,0 ekv.) i suhi THF (7 mL/mmol aldehid). Otopina je ohlađena na oko 0 °C, te je u nju dokapana otopina Grignardovog reagensa **83** (1,1 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana pola sata na oko 0 °C, a zatim je kroz 5 sati spontano zagrijana do sobne temperature. U reakcijsku smjesu je dokapana zasićena vodena otopina amonijevog klorida. Nakon 15 minuta miješanja smjesa je prebačena u lijevak za odjeljivanje, te je ekstrahirana etil-acetatom. Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 30 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens.

3.10.4. Priprava 1,8-naftalimid-naftalen heterobifunkcionalnih spojeva

3.10.4.1. Priprava N-*{4-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (***84***)*

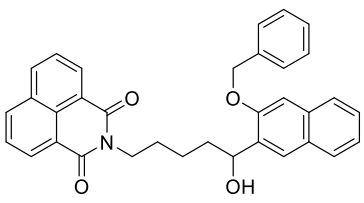


84

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **60** (920 mg, 3,44 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 385 mg (22 %) produkta **84** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{4-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimid (**84**): 385 mg (22 %); t_t = 156 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3031 (Ar C–H), 2954, 2923 (C–H), 1655 (C=O), 1591 (C–N amid), 1341 (C=C), 1254 (C–O), 1061 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,57 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz), 8,19 (d, 2H, *J* = 8,2 Hz), 7,81 (s, 1H), 7,78-7,69 (m, 3H), 7,67 (dd, 1H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,3 Hz), 7,49-7,42 (m, 2H), 7,42-7,35 (m, 3H), 7,35-7,27 (m, 2H), 7,17 (s, 1H), 5,19 (s, 2H), 5,15 (q, 1H, *J* = 6,0 Hz), 4,25 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz), 2,85 (d, 1H, *J* = 6,7 Hz), 2,14-1,78 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 154,3 (s), 136,5 (s), 133,8 (d, 2C), 133,6 (s), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,79 (s), 128,73 (d, 2C), 128,1 (s), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,3 (d, 2C), 126,9 (d, 2C), 126,3 (d), 126,2 (d), 126,1 (d), 123,9 (d), 122,6 (s, 2C), 106,6 (d), 71,2 (d), 70,0 (t), 40,1 (t), 34,6 (t), 24,8 (t), nema signala dostatnog intenziteta za jedan -C- atom (oko 134 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,42 min, *m*/*z* = 484,19 $[M–OH]^+$, nađeno 484,15; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{33}H_{27}NO_4$ $[M+Na]^+$ 524,1838 nađeno 524,1852.

3.10.4.2. Priprava N-*{5-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (***85***)*

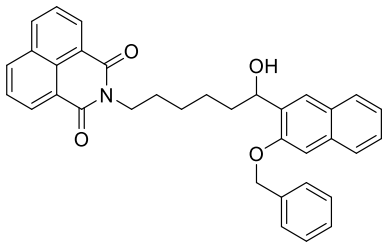


85

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **61** (968 mg, 3,44 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 381 mg (21 %) produkta **85** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{5-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimid (**85**): 381 mg (21 %); t_t = 155 – 157 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3047 (Ar C–H), 2955, 2925, 2854 (C–H), 1649 (C=O), 1591 (C–N amid), 1340 (C=C), 1237 (C–O), 1091 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 0,9 Hz), 8,20 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 0,8 Hz), 7,81 (s, 1H), 7,79-7,66 (m, 4H), 7,49-7,43 (m, 2H), 7,43-7,30 (m, 4H), 7,25-7,18 (m, 2H), 5,21 (s, 2H), 5,10 (q, 1H, J = 6,2 Hz), 4,16 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 2,60 (d, 1H, J = 6,2 Hz), 2,06-1,88 (m, 2H), 1,84-1,70 (m, 2H), 1,69-1,58 (m, 1H), 1,56-1,44 (m, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,2 (s), 133,8 (d, 2C), 133,5 (s), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,8 (s), 128,6 (d, 2C), 128,1 (s), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,4 (d, 2C), 126,9 (d, 2C), 126,3 (d), 126,1 (d), 126,0 (d), 123,9 (d), 122,7 (s, 2C), 106,6 (d), 70,9 (d), 70,1 (t), 40,2 (t), 37,1 (t), 27,8 (t), 23,5 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,45 min, m/z = 498,21 $[M–OH]^+$, nađeno 498,25; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{34}H_{29}NO_4$ $[M+Na]^+$ 538,1994 nađeno 538,1970.

3.10.4.3.Priprava N-*{6-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (***86***)*



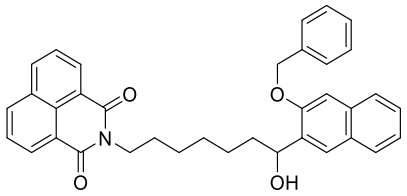
86

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **62** (930 mg, 3,15 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 662 mg (40 %) produkta **86** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{6-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimid (**86**): 662 mg (40 %); t_t = 146 – 149 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3053, 3027 (Ar C–H), 2926, 2858 (C–H), 1648 (C=O), 1590 (C–N amid), 1345 (C=C), 1239 (C–O), 1074 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 0,7 Hz), 8,19 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 0,6 Hz), 7,82-7,66 (m, 5H), 7,48-7,27 (m, 7H), 7,19 (s, 1H), 5,20 (s, 2H), 5,11-5,02 (m, 1H), 4,20-4,10 (m, 2H), 2,00-1,82 (m, 2H), 1,79-1,67 (m, 2H), 1,65-1,43 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,2 (s), 133,8 (d, 2C), 133,5 (s), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,8 (s),

128,6 (d, 2C), 128,1 (s), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,3 (d, 2C), 126,9 (d, 2C), 126,3 (d), 126,1 (d), 126,0 (d), 123,9 (d), 122,7 (s, 2C), 106,5 (d), 70,9 (d), 70,0 (t), 40,3 (t), 37,3 (t), 28,0 (t), 26,9 (t), 25,7 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,50 min, *m*/*z* = 512,22 $[M–OH]^+$, nađeno 512,69; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{35}H_{31}NO_4$ $[M+Na]^+$ 552,2151 nađeno 552,2131.

3.10.4.4.Priprava N-*{7-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (***87***)*



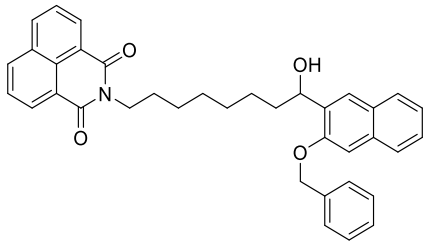
87

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **63** (1064 mg, 3,44 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 508 mg (27 %) produkta **87** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{7-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimid (**87**): 508 mg (27 %); t_t = 122 – 123 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3048, 3023 (Ar C–H), 2938, 2925, 2851 (C–H), 1645 (C=O), 1588 (C–N amid), 1347 (C=C), 1237 (C–O), 1054 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 0,9 Hz), 8,19 (dd, 2H, *J* = 8,3 Hz, *J* = 0,7 Hz), 7,81-7,66 (m, 5H), 7,49-7,36 (m, 5H), 7,36-7,29 (m, 2H) 7,20 (s, 1H), 5,21 (s, 2H), 5,10-5,00 (m, 1H), 4,15 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 2,59 (d, 1H, *J* = 6,1 Hz), 1,97-1,79 (m, 2H), 1,77-1,62 (m, 2H), 1,56-1,33 (m, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,3 (s), 133,8 (d, 2C), 133,5 (s), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,8 (s), 128,6 (d, 2C), 128,1 (s), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,4 (d, 2C), 126,9 (d, 2C), 126,3 (d), 126,1 (d), 126,0 (d), 123,9 (d), 122,7 (s, 2C), 106,6 (d), 71,1 (d), 70,1 (t), 40,3 (t), 37,4 (t), 29,1 (t), 28,0 (t), 27,0 (t), 25,9 (t);

UPLC-MS/UV: metoda ②, t_R = 1,55 min, *m*/*z* = 526,24 $[M–OH]^+$, nađeno 526,16; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{36}H_{33}NO_4$ $[M+Na]^+$ 566,2307 nađeno 566,2295.

3.10.4.5.Priprava N-*{8-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***88***)*



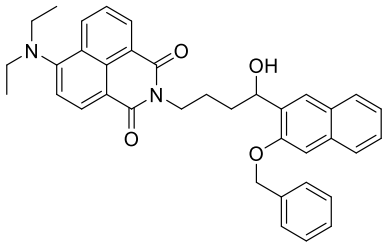
88

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **64** (1113 mg, 3,44 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 542 mg (28 %) produkta **88** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{8-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimid (**88**): 542 mg (28 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 111 – 112 °C; **IR (**ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3060, 3032 (Ar C–H), 2931, 2925 (C–H), 1663 (C=O), 1590 (C–N amid), 1341 (C=C), 1232 (C–O), 1072 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 0,9 Hz), 8,19 (dd, 2H, *J* = 8,3 Hz, *J* = 1,0 Hz), 7,82-7,66 (m, 5H), 7,49-7,36 (m, 5H), 7,36-7,28 (m, 2H), 7,21 (s, 1H), 5,21 (s, 2H), 5,10-4,97 (m, 1H), 4,15 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,55 (d, 1H, *J* = 5,9 Hz), 1,97-1,79 (m, 2H), 1,77-1,63 (m, 2H), 1,56-1,27 (m, 8H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,3 (s), 133,8 (d, 2C), 133,5 (s), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,8 (s), 128,7 (d, 2C), 128,16 (s), 128,13 (d), 127,7 (d), 127,4 (d, 2C), 126,9 (d, 2C), 126,3 (d), 126,1 (d), 126,0 (d), 123,9 (d), 122,7 (s, 2C), 106,6 (d), 71,2 (d), 70,1 (t), 40,4 (t), 37,4 (t), 29,4 (t), 29,2 (t), 28,0 (t), 27,0 (t), 26,0 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,59 min, *m*/*z* = 540,25 $[M–OH]^+$, nađeno 540,17; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{37}H_{35}NO_4$ $[M+Na]^+$ 580,2464 nađeno 580,2460.

3.10.5. Priprava 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftol heterobifunkcionalnih spojeva

*3.10.5.1.Priprava 4-dietilamin-*N*-{4-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (***89***)*

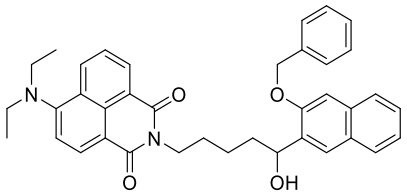


89

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **77** (722 mg, 2,13 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 273 mg (22 %) produkta **89** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{4-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimid (**89**): 273 mg (22 %); t_t = 65 – 66 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3453 (O–H), 3057 (Ar C–H), 2965, 2929 (C–H), 1647 (C=O), 1585 (C–N amid), 1383 (C=C), 1348 (C–N Ar amin), 1236 (C–O), 1175 (C–N amin), 1063 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,54 (d, 1H, J = 6,9 Hz), 8,46 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,82 (s, 1H), 7,75 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,69-7,61 (m, 2H), 7,45 (d, 2H, J = 7,45 Hz), 7,41-7,35 (m, 3H), 7,34-7,28 (m, 2H), 7,22-7,14 (m, 2H), 5,19 (s, 2H), 5,18-5,12 (m, 1H), 4,24 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,97 (br. s, 1H), 2,12-2,02 (m, 1H), 2,02-1,90 (m, 2H), 1,88-1,79 (m, 1H), 1,16 (t, 6H, J = 7,1 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,1 (s), 154,3 (s), 136,5 (s), 133,9 (s), 133,5 (s), 132,0 (d), 131,1 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,79 (s), 128,71 (d, 2C), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,36 (d, 2C), 127,31 (s), 126,3 (d), 126,2 (d), 126,0 (d), 125,2 (d), 123,8 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 106,6 (d), 71,1 (d), 70,0 (t), 47,4 (t, 2C), 39,9 (t), 34,6 (t), 24,8 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,58 min, m/z = 555,26 $[M–OH]^+$, nađeno 555,19; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{37}H_{36}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 573,2753, nađeno 573,2775.

*3.10.5.2.Priprava 4-dietilamin-*N*-{5-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (**90**)*



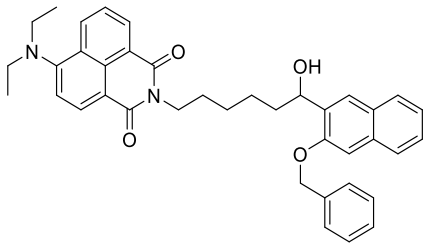
90

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **78** (797 mg, 2,26 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 419 mg (32 %) produkta **90** u obliku intenzivno žute krutine

4-dietilamin-*N*-{5-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimid (**90**): 419 mg (32 %); t_t = 63 – 64 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3468 (O–H), 3057 (Ar C–H), 2930, 2861 (C–H), 1647 (C=O), 1585 (C–N amid), 1384 (C=C), 1347 (C–N Ar amin), 1237 (C–O), 1175 (C–

N amin), 1067 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,55 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,47 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,82 (s, 1H), 7,76 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,69 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,45 (d, 2H, J = 7,3 Hz), 7,43-7,30 (m, 4H), 7,25-7,16 (m, 3H), 5,20 (s, 2H), 5,13-5,07 (m, 1H), 4,14 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,42 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,66 (br. s, 1H), 2,03-1,90 (m, 2H), 1,82-1,70 (m, 2H), 1,68-1,61 (m, 1H), 1,56-1,46 (m, 1H), 1,17 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,3 (s), 133,5 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,8 (s), 128,6 (d, 2C), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,4 (d, 2C), 127,3 (s), 126,3 (d), 126,07 (d), 126,01 (d), 125,2 (d), 123,9 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 106,5 (d), 70,9 (d), 70,0 (t), 47,5 (t, 2C), 39,9 (t), 37,1 (t), 27,9 (t), 23,5 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,61 min, m/z = 569,28 $[M–OH]^+$, nađeno 569,25; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{38}H_{38}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 587,2910, nađeno 587,2917.

*3.10.5.3.Priprava 4-dietilamin-*N*-{6-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**91**)*



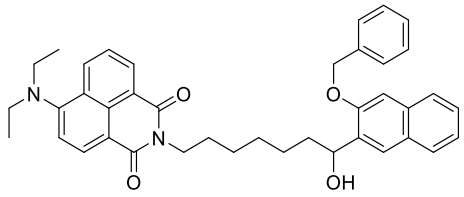
91

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **79** (907 mg, 2,48 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 529 mg (36 %) produkta **91** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{6-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimid (**91**): 529 mg (36 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 55 – 56 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3469 (O–H), 3058 (Ar C–H), 2931, 2857 (C–H), 1648 (C=O), 1585 (C–N amid), 1384 (C=C), 1347 (C–N Ar amin), 1237 (C–O), 1175 (C–N amin), 1068 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,55 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 8,48 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,80 (s, 1H), 7,76 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,69 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,65 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,44 (d, 2H, J = 7,3 Hz), 7,42-7,35 (m, 3H), 7,35-7,27 (m, 2H), 7,23-7,17 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 5,09-5,03 (m, 1H), 4,19-4,09 (m, 2H), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,67 (br. s, 1H), 1,98-1,82 (m, 2H), 1,77-1,66 (m, 2H), 1,64-1,53 (m, 2H), 1,53-1,59 (m, 2H), 1,16 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,3

(s), 133,5 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,8 (s), 128,6 (d, 2C), 128,0 (d), 127,7 (d), 127,39 (d, 2C), 127,35 (s), 126,3 (d), 126,08 (d), 126,02 (d), 125,3 (d), 123,9 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 106,5 (d), 70,9 (d), 70,0 (t), 47,59 (t), 47,51 (t), 40,0 (t), 37,4 (t), 28,1 (t), 26,8 (t), 25,7 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,65 min, *m*/*z* = 583,30 $[M–OH]^+$, nađeno 583,24; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{39}H_{40}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 601,3066, nađeno 601,3051.

*3.10.5.4.Priprava 4-dietilamin-*N*-{7-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (***92***)*



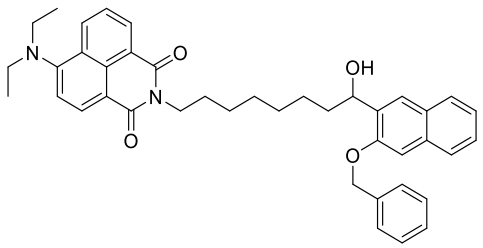
92

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **80** (862 mg, 2,27 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 910 mg (65 %) produkta **92** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{7-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimid (**92**): 910 mg (65 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 47 – 48 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3469 (O–H), 3058 (Ar C–H), 2930, 2855 (C–H), 1646 (C=O), 1585 (C–N amid), 1384 (C=C), 1348 (C–N Ar amin), 1235 (C–O), 1176 (C–N amin), 1067 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,55 (d, 1H, *J* = 6,8 Hz), 8,48 (d, 2H, *J* = 8,1 Hz), 7,79 (s, 1H), 7,77 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 7,69 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 7,65 (t, 1H, *J* = 7,9 Hz), 7,46 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz), 7,40 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz), 7,35-7,30 (m, 2H), 7,23-7,17 (m, 2H), 5,21 (s, 2H), 5,08-5,02 (m, 1H), 4,13 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 3,41 (q, 4H, *J* = 7,0 Hz), 2,61 (br. s, 1H), 1,96-1,80 (m, 2H), 1,75-1,64 (m, 2H), 1,55-1,45 (m, 1H), 1,45-1,33 (m, 5H), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,3 (s), 133,5 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,7 (d), 130,1 (s), 128,8 (s), 128,7 (d, 2C), 128,1 (d), 127,7 (d), 127,4 (d, 2C), 127,3 (s), 126,3 (d), 126,0 (d, 2C), 125,2 (d), 123,9 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 106,6 (d), 71,1 (d), 70,1 (t), 47,59 (t), 47,50 (t), 40,1 (t), 37,4 (t), 29,2 (t), 28,0 (t), 27,0 (t), 26,0 (t), 12,18 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,69 min, *m*/*z* = 597,31 $[M–OH]^+$, nađeno

597,27; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{40}H_{42}N_2O_4$ $[M+Na]^+$ 637,3042, nađeno 637,3044.

*3.10.5.5.Priprava 4-dietilamin-*N*-{8-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***93***)*



93

Prema općem postupku opisanom u §3.10.3, reakcijom THF otopine Grignardovog reagensa **83** i aldehida **81** (1077 mg, 2,73 mmol) u suhom tetrahidrofuranu nakon obrade i izolacije dobiveno je 1026 mg (60 %) produkta **93** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{8-[3-(benziloksi)naftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimid (**93**): 1026 mg (60 %); t_t = 47 – 48 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3469 (O–H), 3058 (Ar C–H), 2927, 2854 (C–H), 1649 (C=O), 1585 (C–N amid), 1384 (C=C), 1347 (C–N Ar amin), 1235 (C–O), 1175 (C–N amin), 1084 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz) δ/ppm: 8,56 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,48 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,79 (s, 1H), 7,77 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,70 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,66 (t, 1H, J = 7,7 Hz), 7,46 (d, 2H, J = 7,3 Hz), 7,40 (t, 3H, J = 7,5 Hz), 7,37-7,31 (m, 2H), 7,24-7,17 (m, 2H), 5,21 (s, 2H), 5,08-5,02 (m, 1H), 4,13 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,41 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,57 (1H, br. s), 1,96-1,80 (m, 2H), 1,75-1,64 (m, 2H), 1,53-1,44 (m, 1H), 1,43-1,23 (m, 7H), 1,16 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 154,4 (s), 136,5 (s), 134,3 (s), 133,5 (s), 131,9 (d), 131,9 (d), 130,7 (d), 130,1 (s), 128,8 (s), 128,7 (d, 2C), 128,1 (d), 127,7 (d), 127,4 (d, 2C), 127,3 (s), 126,3 (d), 126,1 (d), 126,0 (d), 125,3 (d), 123,9 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 106,6 (d), 71,2 (d), 70,0 (t), 47,5 (t, 2C), 40,2 (t), 37,5 (t), 29,4 (t), 29,3 (t), 28,1 (t), 27,0 (t), 26,0 (t), 12,1 (q, 2C); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,72 min, m/z = 611,33 $[M–OH]^+$, nađeno 611,27; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{41}H_{44}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 629,3379, nađeno 6299,3400.

3.11. Uklanjanje zaštitne skupine - priprava heterobifunkcionalnih spojeva

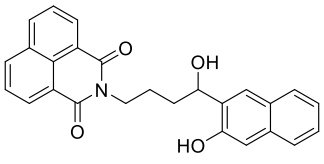
3.11.1. Opći postupak uklanjanje benzilne zaštitne skupine transfer hidrogenolizom

U tikvicu (10 mL), opremljenu septumom, dodani su benzilni eter (1,0 ekv.), THF (5 mL/mmol benzilni eter), metanol ili 2-propanol* (5 mL/mmol benzilni eter), paladij na ugljenu (10%, 0,1 ekv. ili 1,2 ekv*.) i amonijev formijat (5,0 ekv.). Reakcijska smjesa je zagrijana na 65 °C od 2 do 9 h (napredak reakcije praćen je UPLC-MS/UV; metoda ② opisana u §3.2.2). Nakon što je sav početni benzilni eter potrošen, reakcijska smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu i profiltrirana kroz sloj Celita. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, dobiveni sirovi produkt (uparni ostatak) je pročišćen preparativnom HPLC-MS/UV kromatografijom (postavke instrumenta i metoda opisani u §3.2.3) ili kromatografijom na stupcu silikagela, 0 → 30 % etil-acetat/cikloheksan kao eluens.

* U slučaju 4-dietilamino-1,8-naftalimidne serije kao otapalo je korištena smjesa THF – 2-propanol i 1,2 ekv. Pd/C

3.11.2. Priprava 1,8-naftalimid-naftol heterobifunkcionalnih spojeva

3.11.2.1. Priprava N-*{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida (***94***)*

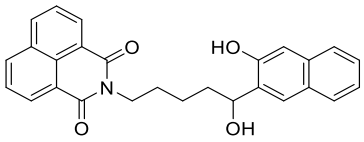


94

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **84** (350 mg, 0,70 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 75 mg, 70 μmol) i amonijev formijat (220 mg, 3,49 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 113 mg (39 %) produkta **94** u obliku svijetlo žute krutine. *N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimid (**94**): 113 mg (39 %); t_t = 205 – 207 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3425 (O–H alkohol), 3207 (Ar O–H), 3045 (Ar C–H), 2953, 2916 (C–H), 1652 (C=O), 1585 (C–N amid), 1347 (C=C), 1239 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,78 (br. s, 1H), 8,46 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,1 Hz), 8,44 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, J = 1,0 Hz), 7,90-7,78 (m, 3H), 7,72 (dd, 1H, J = 7,9 Hz, J = 0,5 Hz), 7,62 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, J =0,5 Hz), 7,36-7,28 (m, 1H), 7,26-7,18 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 5,21 (br. s, 1H), 5,04-4,91 (m, 1H), 4,16-3,99 (m, 2H), 1,91-1,56 (m, 4H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 163,3 (s, 2C), 152,6 (s), 135,3 (s), 134,2 (d, 2C), 133,2 (s), 131,2 (s), 130,7 (d, 2C), 127,6 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 127,2 (d, 2C), 125,4 (d), 125,3 (d), 125,0 (d), 122,6 (d), 122,0 (s, 2C), 108,3 (d), 67,0

(d), 35,2 (t), 24,2 (t), jedan signal -CH_2- ispod DMSO; **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,34 min, *m*/*z* = 410,14 $[M–H]^-$, nađeno 410,48; *m*/*z* = 394,14 $[M–OH]^+$, nađeno 394,66; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{26}H_{21}NO_4$ $[M+H]^+$ 412,1549, nađeno 412,1542.

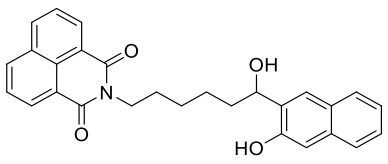
3.11.2.2.Priprava N-*{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (***95***)*



95

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **85** (330 mg, 0,64 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 68 mg, 64 μmol) i amonijev formijat (214 mg, 3,39 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 121 mg (45 %) produkta **95** u obliku svijetlo žute krutine. *N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimid (**95**): 121 mg (45 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 167 – 168 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3423 (O–H alkohol), 3231 (Ar O–H), 3042 (Ar C–H), 2948, 2866 (C–H), 1663 (C=O), 1591 (C–N amid), 1342 (C=C), 1242 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 600 MHz) δ/ppm: 9,76 (s, 1H), 8,45 (dd, 2H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,42 (dd, 2H, *J* = 8,3 Hz, *J* = 1,0 Hz), 7,86-7,79 (m, 3H), 7,72 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 7,61 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz), 7,33-7,29 (m, 1H), 7,23-7,19 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 5,16 (d, 1H, *J* = 4,6 Hz), 4,95 (quin, 1H, *J* = 3,9 Hz), 4,02 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz), 1,83-1,76 (m, 1H), 1,72-1,54 (m, 3H), 1,53-1,41 (m, 2H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 150 MHz) δ/ppm: 163,3 (s, 2C), 152,8 (s), 135,6 (s), 134,2 (d, 2C), 133,2 (s), 131,2 (s), 130,6 (d, 2C), 127,6 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 127,2 (d, 2C), 125,4 (d), 125,3 (d), 124,9 (d), 122,5 (d), 122,0 (s, 2C), 108,3 (d), 67,1 (d), 37,5 (t), 27,6 (t), 23,1 (t), jedan signal -CH_2- ispod DMSO; **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,41 min, *m*/*z* = 424,16 $[M–H]^-$, nađeno 424,09; *m*/*z* = 408,16 $[M–OH]^+$, nađeno 408,17; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{27}H_{23}NO_4$ $[M+H]^+$ 426,1705, nađeno 426,1709.

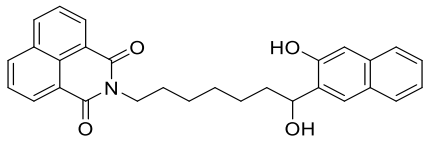
3.11.2.3.Priprava N-*{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (***96***)*



96

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **86** (350 mg, 0,66 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 70 mg, 66 μmol) i amonijev formijat (208 mg, 3,30 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 169 mg (58 %) produkta **96** u obliku svijetlo žute krutine. *N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimid (**96**): 169 mg (58 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 145 – 146 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3521 (O–H alkohol), 3264 (Ar O–H), 3052 (Ar C–H), 2939, 2928 (C–H), 1645 (C=O), 1589 (C–N amid), 1342 (C=C), 1238 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ/ppm: 9,75 (br. s, 1H), 8,54-8,40 (m, 4H), 7,86 (dd (t), 2H, J = 7,8 Hz), 7,84 (s, 1H), 7,73 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,62 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,36-7,28 (m, 1H), 7,26-7,18 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 5,15 (br. s, 1H), 4,99-4,90 (m, 1H), 4,03 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 1,82-1,27 (m, 8H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ/ppm: 163,3 (s, 2C), 152,8 (s), 135,7 (s), 134,2 (d, 2C), 133,2 (s), 131,2 (s), 130,7 (d, 2C), 127,7 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 127,1 (d, 2C), 125,4 (d), 125,3 (d), 124,9 (d), 122,5 (d), 122,0 (s, 2C), 108,2 (d), 67,0 (d), 37,6 (t), 27,6 (t), 26,6 (t), 25,2 (t), jedan signal -CH_2- ispod DMSO; **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,49 min, m/z = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,76; m/z = 422,18 $[M–OH]^+$, nađeno 422,71; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{28}H_{25}NO_4$ $[M+Na]^+$ 462,1681, nađeno 462,1678.

3.11.2.4.Priprava N-*{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (***97***)*

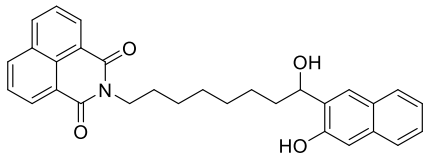


97

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **87** (350 mg, 0,64 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 69 mg, 65 μmol) i amonijev formijat (203 mg, 3,22 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 95 mg (33 %) produkta **97** u obliku svijetlo žute krutine. *N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimid (**97**): 95 mg (33 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 75 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3314 (O–H), 3056 (Ar C–H), 2929, 2855 (C–H), 1648 (C=O), 1589 (C–N amid), 1343 (C=C), 1234 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 600 MHz) δ/ppm: 9,74 (s, 1H), 8,46 (dd, 2H, J = 7,3 Hz, J = 1,1 Hz), 8,42 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 7,84 (dd (t), 2H, J = 7,6 Hz), 7,80 (s, 1H), 7,73 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,61 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,33-7,28 (m, 1H), 7,23-7,18 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,12 (d, 1H, J = 4,6 Hz), 4,94 (quin, 1H, J = 3,9 Hz), 4,01 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 1,74-1,68 (m, 1H), 1,64-1,57 (m, 2H), 1,56-1,49 (m, 1H), 1,45-1,32 (m, 6H); **^{13}C NMR** (DMSO-d_6, 150 MHz) δ/ppm: 163,3 (s, 2C), 152,8 (s), 135,7 (s), 134,2 (d, 2C), 133,2

(s), 131,2 (s), 130,6 (d, 2C), 127,7 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 127,1 (d, 2C), 125,4 (d), 125,3 (d), 125,0 (d), 122,5 (d), 122,0 (s, 2C), 108,3 (d), 67,1 (d), 37,7 (t), 28,8 (t), 27,5 (t), 26,6 (t), 25,3 (t), jedan signal -CH_2- ispod DMSO; **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,56 min, *m*/*z* = 452,19 $[M–H]^-$, nađeno 452,14; *m*/*z* = 436,19 $[M–OH]^+$, nađeno 436,22; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{29}H_{27}NO_4$ $[M+K]^+$ 492,1577, nađeno 492,1592.

3.11.2.5.Priprava N-*{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***98***)*

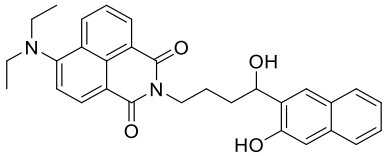


98

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **88** (350 mg, 0,63 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 67 mg, 63 μmol) i amonijev formijat (198 mg, 3,14 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 45 mg (15 %) produkta **98** u obliku svijetlo žute krutine. *N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimid (**98**): 45 mg (15 %); t_t = 69 – 70 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3423 (O–H alkohol), 3301 (Ar O–H), 3053 (Ar C–H), 2930, 2855 (C–H), 1657 (C=O), 1590 (C–N amid), 1346 (C=C), 1236 (C–O); **^{1}H NMR** (DMSO-d_6, 600 MHz) δ/ppm: 9,74 (s, 1H), 8,46 (dd, 2H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,41 (dd, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,7 Hz), 7,84 (dd (t), 2H, *J* = 7,6 Hz), 7,80 (s, 1H), 7,73 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,61 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 7,32-7,28 (m, 1H), 7,23-7,18 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,11 (d, 1H, *J* = 4,6 Hz), 4,94 (quin, 1H, *J* = 3,9 Hz), 4,00 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,76-1,67 (m, 1H), 1,64-1,48 (m, 3H), 1,45-1,16 (m, 8H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 163,3 (s, 2C), 152,8 (s), 135,7 (s), 134,2 (d, 2C), 133,2 (s), 131,2 (s), 130,6 (d, 2C), 127,7 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 127,1 (d, 2C), 125,4 (d), 125,3 (d), 125,0 (d), 122,5 (d), 122,0 (s, 2C), 108,3 (d), 67,2 (d), 37,7 (t), 28,9 (t), 28,8 (t), 27,4 (t), 26,8 (t), 25,3 (t), jedan signal -CH_2- ispod DMSO; **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,64 min, *m*/*z* = 466,20 $[M–H]^-$, nađeno 466,09; *m*/*z* = 450,21 $[M–OH]^+$, nađeno 450,22; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{30}H_{29}NO_4$ $[M+K]^+$ 506,1734, nađeno 506,1751.

3.11.3. Priprava 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftol heterobifunkcionalnih spojeva

*3.11.3.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8 naftalimida (***99***)*

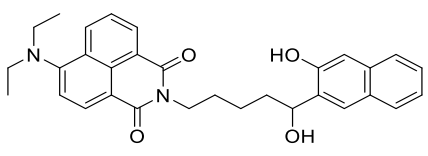


99

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **89** (307 mg, 0,54 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 625 mg, 0,59 mmol) i amonijev formijat (170 mg, 2,70 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 66 mg (26 %) produkta **99** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin- *N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimid (**99**): 66 mg (26 %); t_t = 85 – 86 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3317 (O–H), 3049 (Ar C–H), 2967, 2930 (C–H), 1638 (C=O), 1583 (C–N amid), 1391 (C=C), 1352 (C–N Ar amin), 1238 (C–O), 1064 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 8,51 (br. s, 1H), 8,49 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 8,42 (s, 1H), 7,74-7,65 (m, 3H), 7,54 (s, 1H), 7,40 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,33-7,26 (m, 2H), 7,21 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 5,31-5,21 (m, 1H), 4,41-4,25 (m, 2H), 4,02 (br. s, 1H), 3,46 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,21-2,86 (m, 4H), 1,21 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,8 (s), 164,3 (s), 153,9 (s), 134,2 (s), 132,3 (d), 131,3 (d), 131,1 (d), 130,2 (s), 129,9 (s), 128,1 (s), 127,5 (d), 127,1 (s), 126,2 (d), 126,1 (d, 2C), 125,2 (d), 123,3 (d), 122,8 (s), 116,7 (d), 111,6 (d), 75,2 (d), 47,5 (t, 2C), 39,3 (t), 34,1 (t), 24,4 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,62 min, m/z = 481,21 $[M–H]^–$, nađeno 481,17; m/z = 483,23 $[M+H]^+$, nađeno 483,22; m/z = 465,20 $[M–OH]^+$, nađeno 465,20; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{30}H_{30}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 483,2283, nađeno 483,2287.

*3.11.3.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimida (***100***)*

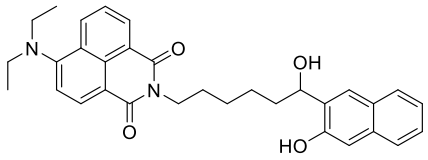


100

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **90** (305 mg, 0,52 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 610 mg, 0,57 mmol) i amonijev formijat (165 mg, 2,62 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 140 mg (54 %) produkta **100** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-hidroksipent-1-il}-1,8-naftalimid (**100**): 140 mg (54 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 77 – 79 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3300 (O–H), 3054 (Ar C–H), 2967, 2931 (C–H), 1639 (C=O), 1583 (C–N amid), 1390 (C=C), 1352 (C–N Ar amin), 1237 (C–O), 1067 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 8,52 (br. s, 1H), 8,48 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 8,30 (s, 1H), 7,74-7,65 (m, 3H), 7,51 (s, 1H), 7,41 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,34-7,28 (m, 2H), 7,21 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 5,18-5,07 (m, 1H), 4,23 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 3,46 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,22-2,10 (m, 1H), 2,09-1,98 (m, 1H), 1,92-1,79 (m, 2H), 1,73-1,63 (m, 1H), 1,62-1,50 (m, 1H), 1,22 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,7 (s), 164,3 (s), 153,8 (s), 134,1 (s), 132,2 (d), 131,2 (d), 131,0 (d), 130,1 (s), 130,0 (s), 128,1 (s), 127,5 (d), 127,2 (s), 126,1 (d), 126,1 (d, 2C), 125,2 (d), 123,4 (d), 122,9 (s), 116,8 (d), 111,5 (d), 75,6 (d), 47,5 (t, 2C), 39,8 (t), 36,7 (t), 27,6 (t), 23,0 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,68 min, m/z = 495,23 $[M–H]^-$, nađeno 495,12; m/z = 497,24 $[M+H]^+$, nađeno 497,22; m/z = 479,23 $[M–OH]^+$, nađeno 479,21; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{31}H_{32}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 497,2440, nađeno 497,2430.

*3.11.3.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**101**)*



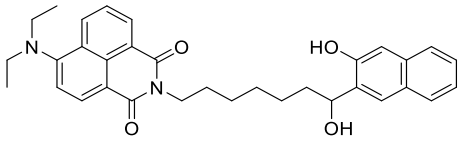
101

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **91** (303 mg, 0,50 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 590 mg, 0,55 mmol) i amonijev formijat (162 mg, 2,57 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 100 mg (39 %) produkta **101** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimid (**101**): 100 mg (39 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 70 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3300 (O–H), 3054 (Ar C–H), 2932, 2857 (C–H), 1639

(C=O), 1583 (C–N amid), 1390 (C=C), 1351 (C–N Ar amin), 1238 (C–O), 1068 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 8,52 (br. s, 1H), 8,48 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 8,34 (s, 1H), 7,76-7,64 (m, 3H), 7,45 (s, 1H), 7,40 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,33-7,27 (m, 2H), 7,21 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 5,10-5,00 (m, 1H), 4,31-4,13 (m, 2H), 3,62 (br. s, 1H), 3,45 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 2,15-2,04 (m, 1H), 1,96-1,72 (m, 3H), 1,65-1,57 (m, 2H), 1,56 -1,45 (m, 2H), 1,21 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm:164,8 (s), 164,3 (s), 153,9 (s), 134,1 (s), 132,2 (d), 131,2 (d), 131,0 (d), 130,1 (s, 2C), 128,1 (s), 127,5 (d), 127,2 (s), 126,13 (d), 126,10 (d, 2C), 125,2 (d), 123,3 (d), 122,9 (s), 116,8 (d), 111,5 (d), 75,4 (d), 47,5 (t, 2C), 39,6 (t), 37,0 (t), 27,9 (t), 26,1 (t), 25,0 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,75 min, m/z = 509,24 $[M–H]^–$, nađeno 509,22; m/z = 511,26 $[M+H]^+$, nađeno 511,32; m/z = 493,25 $[M–OH]^+$, nađeno 493,25; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{32}H_{34}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 511,2597, nađeno 511,2571.

*3.11.3.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimida (***102***)*



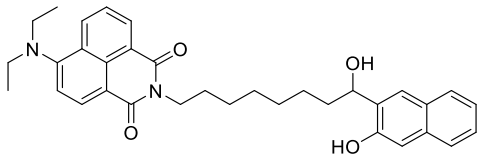
102

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **92** (302 mg, 0,49 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 572 mg, 0,54 mmol) i amonijev formijat (155 mg, 2,46 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 143 mg (56 %) produkta **102** u obliku intenzivno žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-hidroksihept-1-il}-1,8-naftalimid (**102**): 143 mg (56 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 66 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3300 (O–H), 3054 (Ar C–H), 2931, 2856 (C–H), 1638 (C=O), 1583 (C–N amid), 1390 (C=C), 1351 (C–N Ar amin), 1236 (C–O), 1068 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 8,51 (br. s, 1H), 8,48 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 8,28 (s, 1H), 7,74-7,64 (m, 3H), 7,49 (s, 1H), 7,40 (t, 1H, J = 7,3 Hz), 7,34-7,27 (m, 2H), 7,21 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 5,12-5,03 (m, 1H), 4,19 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,45 (q, 4H, J = 7,0 Hz), 3,38 (br. s, 1H), 2,12-2,00 (m, 1H), 1,98-1,86 (m, 1H), 1,81-1,72 (m, 2H), 1,61-1,35 (m, 6H), 1,21 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,2 (s), 153,8 (s), 134,1 (s), 132,1 (d), 131,1 (d), 130,9 (d), 130,18 (s), 130,16 (s), 128,1 (s), 127,5 (d), 127,2

(s), 126,2 (d), 126,1 (d, 2C), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 111,5 (d), 75,8 (d), 47,4 (t, 2C), 40,0 (t), 37,0 (t), 28,5 (t), 27,6 (t), 26,6 (t), 25,4 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,81 min, *m*/*z* = 523,26 $[M–H]^-$, nađeno 523,22; *m*/*z* = 525,22 $[M+H]^+$, nađeno 525,22; *m*/*z* = 507,26 $[M–OH]^+$, nađeno 507,30; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{33}H_{36}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 525,2753, nađeno 525,2728.

*3.11.3.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***103***)*



103

Prema općem postupku opisanom u §3.11.1, reakcijom iz benzilnog etera **93** (309 mg, 0,49 mmol) uz paladij na ugljenu (10 %, 575 mg, 0,54 mmol) i amonijev formijat (155 mg, 2,46 mmol) nakon obrade i izolacije dobiveno je 125 mg (47 %) produkta **103** u obliku intenzivno žute krutine.

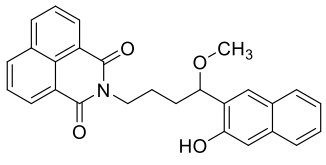
4-dietilamin-*N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimid (**103**): 125 mg (47 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 59 – 60 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3300 (O–H), 3055 (Ar C–H), 2928, 2854 (C–H), 1639 (C=O), 1583 (C–N amid), 1390 (C=C), 1350 (C–N Ar amin), 1236 (C–O), 1068 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm: 8,58 (d, 1H, *J* = 7,1 Hz), 8,52-8,47 (m, 2H), 8,24 (s, 1H), 7,74-7,64 (m, 3H), 7,49 (s, 1H), 7,40 (t, 1H, *J* = 7,3 Hz), 7,34-7,27 (m, 2H), 7,21 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz), 5,05 (t, 1H, *J* = 6,8 Hz), 4,17 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 3,44 (q, 4H, *J* = 7,0 Hz), 3,19 (br. s, 1H), 2,10-1,97 (m, 1H), 1,96-1,85 (m, 1H), 1,81-1,67 (m, 2H), 1,59-1,48 (m, 1H), 1,45-1,33 (m, 7H), 1,20 (t, 6H, *J* = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,2 (s), 153,8 (s), 134,1 (s), 132,1 (d), 131,1 (d), 130,9 (d), 130,1 (s, 2C), 128,1 (s), 127,5 (d), 127,2 (s), 126,2 (d), 126,1 (d, 2C), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 111,4 (d), 75,9 (d), 47,4 (t, 2C), 40,2 (t), 37,0 (t), 28,89 (t), 28,82 (t), 27,8 (t), 26,7 (t), 25,5 (t), 12,2 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ③, t_R = 1,88 min, *m*/*z* = 537,28 $[M–H]^-$, nađeno 537,22; *m*/*z* = 521,28 $[M–OH]^+$, nađeno 521,30; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{34}H_{38}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 539,2910, nađeno 539,2906.

3.11.4. Opći postupak priprave metoksi derivata heterobifunkcionalnih spojeva

U tikvicu (10 mL) dodani su prekursor kinon-metida (≈ 10 mg), metanol (3,0 mL) i koncentrirana sumporna kiselina, (w = 98 %, 50 μL). Reakcijska smjesa je miješana 15 sati na sobnoj temperaturi, a zatim je razrijeđena vodom (10 mL) i neutralizirana zasićenom vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata (≈ 2 mL). Smjesa je prebačena u lijevak za odjeljivanje i ekstrahirana dietil-eterom (3×5 mL). Spojene organske faze osušene su bezvodnim magnezijevim sulfatom. Nakon filtriranja i uparavanja otapala na rotacijskom uparivaču, sirovi produkt je pročišćen na preparativnoj TLC ploči uz cikloheksan - etil-acetat (7:3) kao mobilnu fazu.

3.11.5. Priprava metoksi derivata 1,8-naftalimid-naftolne podserije

3.11.5.1. Priprava N-*{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-metoksibut-1-il}-1,8-naftalimida (***104***)*

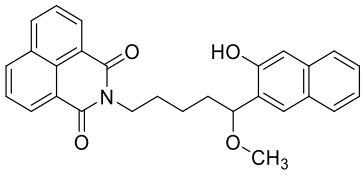


104

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **94** (10 mg, 24 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 5 mg (44 %) produkta **104** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-metoksibut-1-il}-1,8-naftalimid (**104**): 5 mg (44 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 64 – 65 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3229 (Ar O–H), 3054 (Ar C–H), 2948, 2918 (C–H), 1646 (C=O), 1588 (C–N amid), 1344 (C=C), 1233 (C–O), 1105 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,0 Hz), 8,19 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 1,0 Hz), 8,02 (s, 1H), 7,74 (dd (t), 2H, J = 7,7 Hz), 7,69 (dd, 1H, J = 8,1 Hz, J = 0,6 Hz), 7,66 (dd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 0,4 Hz), 7,52 (s, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 7,29-7,26 (m, 1H), 7,20 (s, 1H), 4,58-4,53 (m, 1H), 4,31-4,19 (m, 2H), 3,42 (s, 3H), 2,17-2,10 (m, 1H), 2,00-1,86 (m, 2H), 1,83-1,75 (m, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 153,4 (s), 134,4 (s), 133,9 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,15 (s), 128,13 (s), 127,9 (d), 127,4 (d), 127,2 (s), 126,9 (d, 2C), 126,2 (d, 2C), 123,4 (d), 122,6 (s, 2C), 111,4 (d), 85,5 (d), 57,4 (q), 39,7 (t), 33,3 (t), 24,6 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,30 min, m/z = 424,16 $[M–H]^–$, nađeno 424,08; m/z = 394,14 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 394,16; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{27}H_{23}NO_4$ $[M+Na]^+$ 448,1525, nađeno 448,1520.

3.11.5.2. Priprava N-*{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-metoksipent-1-il}-1,8-naftalimida (***105***)*

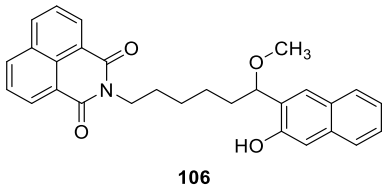


105

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **95** (10 mg, 24 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (60 %) produkta **105** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-metoksipent-1-il}-1,8-naftalimid (**105**): 6 mg (60 %); t_t = 58 – 60 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3320 (Ar O–H), 3056 (Ar C–H), 2931, 2863 (C–H), 1657 (C=O), 1589 (C–N amid), 1342 (C=C), 1234 (C–O), 1169 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, *J* = 7,3 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,20 (dd, 2H, *J* = 8,3 Hz, *J* = 0,9 Hz), 8,03 (s, 1H), 7,74 (dd (t), 2H, *J* = 7,7 Hz), 7,69 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 7,47 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 1H), 7,29-7 ,26 (m, 1H), 7,21 (s, 1H), 4,49-4,45 (m, 1H), 4,17 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 3,40 (s, 3H), 2,15-2,06 (m, 1H), 1,90-1,82 (m, 1H), 1,82-1,73 (m, 2H), 1,65-1,57 (m, 1H), 1,50-1,42 (m, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,1 (s, 2C), 153,5 (s), 134,4 (s), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,2 (d, 2C), 128,15 (s), 128,11 (s), 127,7 (d), 127,4 (s), 127,3 (d), 126,9 (d, 2C), 126,2 (d, 2C), 123,4 (d), 122,6 (s, 2C), 111,3 (d), 85,8 (d), 57,3 (q), 40,1 (t), 35,5 (t), 27,6 (t), 23,4 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,35 min, *m*/*z* = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,61; *m*/*z* = 408,16 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 408,64; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{28}H_{25}NO_4$ $[M+Na]^+$ 462,1681, nađeno 462,1671.

3.11.5.3. Priprava N-*{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-metoksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (***106***)*



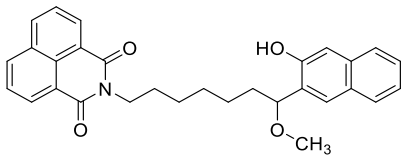
106

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **96** (10 mg, 23 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (53 %) produkta **106** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-metoksiheks-1-il}-1,8-naftalimid (**106**): 6 mg (53 %); t_t = 55 – 56 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3319 (Ar O–H), 3056 (Ar C–H), 2933, 2858 (C–H), 1658 (C=O),

1589 (C–N amid), 1341 (C=C), 1236 (C–O), 1106 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,58 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,0 Hz), 8,19 (dd, 2H, J = 8,3 Hz, J = 1,0 Hz), 8,03 (s, 1H), 7,74 (dd (t), 2H, J = 7,7 Hz), 7,69 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,67 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,45 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 1H), 7,30-7 ,26 (m, 1H), 7,21 (s, 1H), 4,43 (t, 1H, J = 7,0 Hz), 4,19-4,13 (m, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,08-1,98 (m, 1H), 1,83-1,67 (m, 3H), 1,59-1,51 (m, 1H), 1,49-1,41 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 1H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm:164,1 (s, 2C), 153,5 (s), 134,4 (s), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 128,0 (s), 127,7 (d), 127,5 (s), 127,3 (d), 126,9 (d, 2C), 126,2 (d, 2C), 123,4 (d), 122,7 (s, 2C), 111,3 (d), 86,0 (d), 57,2 (q), 40,2 (t), 35,8 (t), 27,9 (t), 26,8 (t), 25,6 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,41 min, m/z = 452,19 $[M–H]^–$, nađeno 452,23; m/z = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,26; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{29}H_{27}NO_4$ $[M+Na]^+$ 476,1838, nađeno 476,1815.

3.11.5.4. Priprava N-*{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-metoksihept-1-il}-1,8-naftalimida (***107***)*



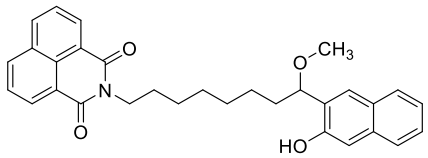
107

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **97** (10 mg, 22 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 8 mg (80 %) produkta **107** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-metoksihept-1-il}-1,8-naftalimid (**107**): 8 mg (80 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 38 – 40 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3343 (Ar O–H), 3055 (Ar C–H), 2930, 2856 (C–H), 1657 (C=O), 1589 (C–N amid), 1342 (C=C), 1233 (C–O), 1107 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, J = 1,0 Hz), 8,19 (dd, 2H, J = 8,2 Hz, J = 0,9 Hz), 8,05 (s, 1H), 7,74 (dd (t), 2H, J = 7,7 Hz), 7,71 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,67 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,46 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 1H), 7,30-7 ,23 (m, 1H), 7,22 (s, 1H), 4,42 (t, 1H, J = 7,0 Hz), 4,16 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 3,40 (s, 3H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,81-1,68 (m, 3H), 1,51-1,26 (m, 6H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm:164,1 (s, 2C), 153,5 (s), 134,3 (s), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,1 (s), 128,0 (s), 127,7 (d), 127,5 (s), 127,3 (d), 126,9 (d, 2C), 126,2 (d, 2C), 123,4 (d), 122,7 (s, 2C), 111,3 (d), 86,0 (d), 57,2 (q), 40,3 (t), 35,8 (t), 29,0 (t), 28,0 (t), 26,9 (t), 25,8 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,47 min, m/z = 466,20 $[M–H]^–$, nađeno 466,19; m/z = 436,19

$[M–OCH_3]^+$, nađeno 436,27; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{30}H_{29}NO_4$ $[M+Na]^+$ 490,1994, nađeno 490,1983.

3.11.5.5. Priprava N-*{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-metoksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***108***)*



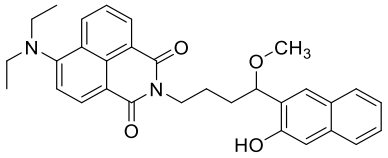
108

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **98** (10 mg, 21 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (53 %) produkta **108** u obliku svijetlo žute krutine.

N-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-metoksiokt-1-il}-1,8-naftalimid (**108**): 6 mg (53 %); $\boldsymbol{t_t}$ = 38 – 40 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3343 (Ar O–H), 3055 (Ar C–H), 2928, 2855 (C–H), 1658 (C=O), 1589 (C–N amid), 1342 (C=C), 1233 (C–O), 1167 (C–O–C); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,59 (dd, 2H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,20 (dd, 2H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,9 Hz), 8,06 (s, 1H), 7,74 (dd (t), 2H, *J* = 7,7 Hz), 7,71 (dd, 1H, *J* = 8,3 Hz, *J* = 0,6 Hz), 7,68 (dd, 1H, *J* = 8,2 Hz, *J* = 0,6 Hz), 7,46 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 1H), 7,30-7 ,27 (m, 1H), 7,22 (s, 1H), 4,26 (t, 1H, *J* = 7,0 Hz), 4,16 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 3,40 (s, 3H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,80-1,67 (m, 3H), 1,49-1,35 (m, 4H), 1,33-1,23 (m, 4H); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,2 (s, 2C), 153,5 (s), 134,3 (s), 133,8 (d, 2C), 131,5 (s), 131,1 (d, 2C), 128,16 (s), 128,10 (s), 127,7 (d), 127,6 (s), 127,3 (d), 126,9 (d, 2C), 126,2 (d, 2C), 123,4 (d), 122,7 (s, 2C), 111,2 (d), 86,1 (d), 57,3 (q), 40,4 (t), 35,8 (t), 29,1 (t, 2C), 28,0 (t), 26,9 (t), 25,8 (t); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,52 min, *m*/*z* = 480,22 $[M–H]^–$, nađeno 480,26; *m*/*z* = 450,21 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 450,23; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{31}H_{31}NO_4$ $[M+Na]^+$ 504,2151, nađeno 504,2133.

3.11.6. Priprava metoksi derivata 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftolne podserije

*3.11.6.1. Priprava 4-dietilamin-*N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-metoksibut-1-il}-1,8-naftalimida (***109***)*

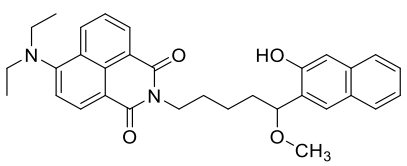


109

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **99** (10 mg, 21 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 8 mg (73 %) produkta **109** u obliku žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-metoksibut-1-il}-1,8-naftalimid (**109**): 8 mg (73 %); t_t = 40 – 43 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3334 (Ar O–H), 3054 (Ar C–H), 2927, 2854 (C–H), 1644 (C=O), 1584 (C–N amid), 1389 (C–N Ar amin), 1349 (C–O), 1235 (C–O–C), 1067 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,60 (dd, 1H, J = 7,2 Hz, J = 1,0 Hz), 8,53 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 8,50 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 8,11 (s, 1H), 7,74 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,72-7,67 (m, 2H), 7,57 (s, 1H), 7,44-7,40 (m, 1H), 7,34-7,26 (m, 1H), 7,27-7,23 (m, 2H), 4,64-4,59 (m, 1H), 4,25-4,22 (m, 2H), 3,49-3,42 (m, 7H), 2,21-2,12 (m, 1H), 2,02-1,89 (m, 2H), 1,87-1,78 (m, 1H), 1,21 (t, 6H, J = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,6 (s), 164,1 (s), 153,5 (s), 134,4 (s), 132,0 (d), 131,1 (d), 130,9 (d), 130,1 (s), 128,1 (s), 127,8 (d), 127,43 (d), 127,40 (s), 127,3 (s), 126,2 (d, 2C), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,0 (s), 116,8 (d), 111,3 (d), 85,4 (d), 57,4 (q), 47,4 (t, 2C), 39,4 (t), 33,3 (t), 24,6 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C-atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,50 min, m/z = 495,23 $[M–H]^–$, nađeno 495,71; m/z = 497,24 $[M+H]^+$, nađeno 497,71; m/z = 465,22 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 465,67; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{31}H_{32}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 497,2440, nađeno 497,2450.

*3.11.6.2. Priprava 4-dietilamin-*N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-metoksipent-1-il}-1,8-naftalimida (***110***)*

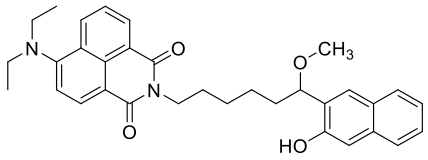


110

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **100** (10 mg, 20 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (60 %) produkta **110** u obliku žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{5-[3-hidroksinaftalen-2-il]-5-metoksipent-1-il}-1,8-naftalimid (**110**): 6 mg (60 %); t_t = 40 – 42 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3341 (Ar O–H), 3054 (Ar C–H), 2925, 2853 (C–H), 1651 (C=O), 1584 (C–N amid), 1389 (C–N Ar amin), 1351 (C–O), 1235 (C–O–C), 1066 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,55 (dd, 1H, J = 7,2 Hz, J = 0,9 Hz), 8,51-8,43 (m, 2H), 8,05 (s, 1H), 7,70-7,62 (m, 3H), 7,47 (s, 1H), 7,40-7,35 (m, 1H), 7,29-7,26 (m, 1H), 7,23-7,18 (m, 2H), 4,50-4,45 (m, 1H), 4,17-4,12 (m, 2H), 3,46-3,35 (m, 7H), 2,15-2,06 (m, 1H), 1,89-1,71 (m, 3H), 1,64-1,55 (m, 1H), 1,51-1,39 (m, 1H), 1,16 (t, 6H, J = 7,1 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 153,5 (s), 134,4 (s), 131,9 (d), 131,1 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,1 (s), 127,7 (d), 127,5 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 126,2 (d, 2C), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,0 (s), 116,9 (d), 111,3 (d), 85,7 (d), 57,3 (q), 47,5 (t, 2C), 39,9 (t), 35,5 (t), 27,6 (t), 23,4 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,53 min, m/z = 509,24 $[M–H]^–$, nađeno 509,72; m/z = 511,26 $[M+H]^+$, nađeno 511,72; m/z = 479,23 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 479,69; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{32}H_{34}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 511,2597, nađeno 511,2594.

*3.11.6.3. Priprava 4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-metoksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (**111**)*



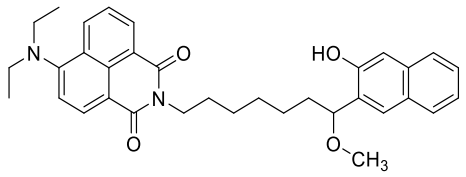
111

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **101** (10 mg, 20 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (60 %) produkta **111** u obliku žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-metoksiheks-1-il}-1,8-naftalimid (**111**): 6 mg (60 %); t_t = 40 – 42 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3335 (Ar O–H), 3054 (Ar C–H), 2927, 2855 (C–H), 1644 (C=O), 1583 (C–N amid), 1389 (C–N Ar amin), 1349 (C–O), 1239 (C–O–C), 1068 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,55 (dd, 1H, J = 7,2 Hz, J = 1,0 Hz), 8,52-8,43 (m, 2H), 8,04 (s, 1H), 7,71-7,62 (m, 3H), 7,45 (s, 1H), 7,40-7,35 (m, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H),

7,23-7,18 (m, 2H), 4,43 (t, 1H, *J* = 6,8 Hz), 4,15 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 3,45-3,35 (m, 7H), 2,08-1,96 (m, 1H), 1,82-1,67 (m, 2H), 1,59-1,50 (m, 1H), 1,49-1,41 (m, 2H), 1,41-1,31 (m, 2H), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,1 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 153,5 (s), 134,3 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,0 (s), 127,7 (d), 127,6 (s), 127,39 (d), 127,36 (s), 126,2 (d, 2C), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,1 (s), 116,9 (d), 111,2 (d), 85,9 (d), 57,2 (q), 47,5 (t, 2C), 40,0 (t), 35,8 (t), 28,0 (t), 26,8 (t), 25,6 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,58 min, *m*/*z* = 523,26 $[M–H]^-$, nađeno 523,67; *m*/*z* = 525,27 $[M+H]^+$, nađeno 525,74; *m*/*z* = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{33}H_{36}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 525,2753, nađeno 525,2745.

*3.11.6.4. Priprava 4-dietilamin-*N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-metoksihept-1-il}-1,8-naftalimida (***112***)*



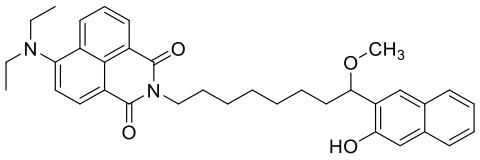
112

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **102** (10 mg, 19 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (54 %) produkta **112** u obliku žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{7-[3-hidroksinaftalen-2-il]-7-metoksihept-1-il}-1,8-naftalimid (**112**): 6 mg (54 %); t_t = 40 – 42 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3336 (Ar O–H), 3054 (Ar C–H), 2927, 2855 (C–H), 1644 (C=O), 1584 (C–N amid), 1389 (C–N Ar amin), 1349 (C–O), 1235 (C–O–C), 1068 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) *δ*/ppm: 8,56 (dd, 1H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,51-8,42 (m, 2H), 8,06 (s, 1H), 7,70 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz), 7,68-7,63 (m, 2H), 7,46 (s, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H), 7,23-7,18 (m, 2H), 4,42 (t, 1H, *J* = 6,9 Hz), 4,14 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 3,46-3,35 (m, 7H), 2,05-1,96 (m, 1H), 1,81-1,66 (m, 3H), 1,52-1,39 (m, 2H), 1,35-1,26 (m, 4H), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,1 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) *δ*/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 153,5 (s), 134,3 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,0 (s), 127,7 (d), 127,6 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 126,24 (d), 126,21 (d), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,1 (s), 116,8 (d), 111,2 (d), 86,0 (d), 57,2 (q), 47,4 (t, 2C), 40,1 (t), 35,8 (t), 29,0 (t), 28,0 (t), 26,9 (t), 25,8 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**:

metoda ②, t_R = 1,63 min, *m*/*z* = 537,28 $[M–H]^-$, nađeno 537,69; *m*/*z* = 539,29 $[M+H]^+$, nađeno 539,81; *m*/*z* = 507,26 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 507,78; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{34}H_{38}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 539,2910, nađeno 539,2914.

*3.11.6.5. Priprava 4-dietilamin-*N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-metoksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***113***)*



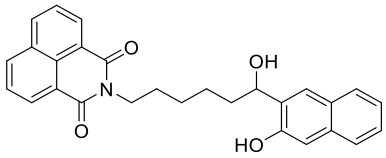
113

Prema općem postupku opisanom u §3.11.4, reakcijom iz alkohola **103** (10 mg, 19 μmol) u metanolu kiselo-kataliziranom reakcijom nakon obrade i izolacije dobiveno je 6 mg (60 %) produkta **113** u obliku žute krutine.

4-dietilamin-*N*-{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-metoksiokt-1-il}-1,8-naftalimid (**113**): 6 mg (60 %); t_t = 40 – 43 °C; **IR** (ATR) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3337 (Ar O–H), 3054 (Ar C–H), 2926, 2854 (C–H), 1646 (C=O), 1584 (C–N amid), 1389 (C–N Ar amin), 1350 (C–O), 1235 (C–O–C), 1069 (C–N amin); **^{1}H NMR** ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm: 8,56 (dd, 1H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 1,0 Hz), 8,51-8,43 (m, 2H), 8,08 (s, 1H), 7,71 (dd, 1H, *J* = 8,1 Hz, *J* = 0,4 Hz), 7,69-7,63 (m, 2H), 7,46 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H), 7,23-7,19 (m, 2H), 4,43 (t, 1H, *J* = 6,8 Hz), 4,14 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 3,44-3,35 (m, 7H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,81-1,66 (m, 3H), 1,48-1,35 (m, 8H), 1,16 (t, 6H, *J* = 7,0 Hz); **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm: 164,5 (s), 164,0 (s), 153,5 (s), 134,3 (s), 131,9 (d), 131,0 (d), 130,8 (d), 130,1 (s), 128,1 (s), 127,74 (d), 127,72 (s), 127,4 (d), 127,3 (s), 126,23 (d), 126,21 (d), 125,2 (d), 123,4 (d), 123,1 (s), 116,8 (d), 111,2 (d), 85,9 (d), 57,2 (q), 47,5 (t, 2C), 40,2 (t), 35,9 (t), 29,19 (t), 29,14 (t), 28,0 (t), 27,0 (t), 25,8 (t), 12,1 (q, 2C), nema signala dostatnog intenziteta za dva -C- atoma (oko 155 ppm i oko 115 ppm); **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R = 1,67 min, *m*/*z* = 551,29 $[M–H]^-$, nađeno 551,64; *m*/*z* = 553,31 $[M+H]^+$, nađeno 553,77; *m*/*z* = 521,28 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 521,73; **HRMS** (MALDI TOF/TOF): računato za $C_{35}H_{40}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 553,3066, nađeno 553,3060.

3.11.7. Fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva

3.11.7.1. Fotometanoliza N-*{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida* (**96**)



96

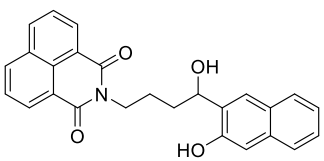
Prema općem postupku za fotometanolizu opisanom u §3.7.6, osvjetljavanje je provedeno pri dvije različite valne duljine: λ = 254 nm (8×8 W) i λ_{max} = 350 nm (8×8 W). Nakon 60 minuta osvjetljavanja iz prekursora **96** (7 mg, 13 μmol) u smjesi otapala CH_3OH:H_2O (4:1) (12,5 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi produkta **106** u malim količinama (1 – 2 %) (Dodatak 8.2.9, Prilog 154, Prilog 155)

UPLC-MS/UV: metoda ② [pri 254 nm, 60 min] t_R (**96**) = 1,27 min, *m*/*z* = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,55; t_R (**106**) = 1,42 min, *m*/*z* = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,66; [pri 350 nm, 60 min] t_R (**96**) = 1,25 min, *m*/*z* = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,55; t_R (**106**) = 1,42 min, *m*/*z* = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,60.

Prema općem postupku za preparativnu fotometanolizu opisanom u §3.7.4, u reaktoru s lampama (14×8 W, λ_{max} = 350 nm) nakon 180 minuta osvjetljavanja iz prekursora **96** (35 mg, 80 μmol) u smjesi otapala CH_3OH:H_2O (4:1) (100 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi produkta **106** i 1,8-naftalimida u složenoj smjesi fotoprodukata (Dodatak 8.2.9, Prilog 156).

UPLC-MS/UV: metoda ②, t_R (**96**) = 1,23 min, *m*/*z* = 422,18 $[M–OH]^+$, nađeno 422,26; t_R (**106**) = 1,41 min, *m*/*z* = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,32; t_R (1,8-naftalimid) = 0,72 min, *m*/*z* = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,05.

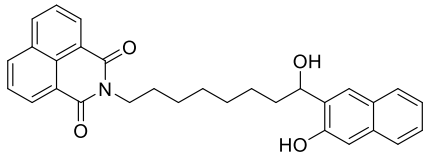
3.11.7.2. Fotometanoliza N-*{4-[3-hidroksinaftalen-2-il]-4-hidroksibut-1-il}-1,8-naftalimida* (**94**)



94

Prema općem postupku za fotometanolizu opisanom u §3.7.6, osvjetljavanje je provedeno pri λ_{max} = 350 nm (14×8 W). Nakon 180 minuta osvjetljavanja iz prekursora **94** (9 mg, 22 μmol) u smjesi otapala CH_3OH:H_2O (4:1) (20 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi produkta **104** i 1,8-naftalimida u složenoj smjesi fotoprodukata (Dodatak 8.2.9, Prilog 157). **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R (**94**) = 1,16 min, *m*/*z* = 394,14 $[M–OH]^+$, nađeno 394,26; t_R (**104**) = 1,32 min, *m*/*z* = 394,14 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 394,31; t_R (1,8-naftalimid) = 0,74 min, *m*/*z* = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,21.

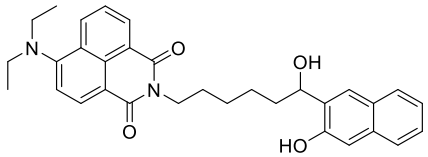
3.11.7.3. Fotometanoliza N-*{8-[3-hidroksinaftalen-2-il]-8-hidroksiokt-1-il}-1,8-naftalimida (***98***)*



98

Prema općem postupku za fotometanolizu opisanom u §3.7.6, osvjetljavanje je provedeno pri λ_{max} = 350 nm (14×8 W). Nakon 180 minuta osvjetljavanja iz prekursora **98** (8 mg, 22 μmol) u smjesi otapala CH_3OH:H_2O (4:1) (20 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi produkta **108** i 1,8-naftalimida u složenoj smjesi fotoprodukata (Dodatak 8.2.9, Prilog 158). **UPLC-MS/UV**: metoda ②, t_R (**98**) = 1,39 min, *m*/*z* = 450,21 $[M–OH]^+$, nađeno 450,36; t_R (**108**) = 1,55 min, *m*/*z* = 450,36 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 450,41; t_R (1,8-naftalimid) = 0,74 min, *m*/*z* = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,16.

3.11.7.4. Fotometanoliza 4-dietilamin-N-*{6-[3-hidroksinaftalen-2-il]-6-hidroksiheks-1-il}-1,8-naftalimida (***101***)*



101

Prema općem postupku za fotometanolizu opisanom u §3.7.6, osvjetljavanje je provedeno pri četiri različite valne duljine: λ = 254 nm (8×8 W), λ_{max} = 300 nm (8×8 W), λ_{max} = 350 nm (8×8 W) i λ_{max} = 420 nm (8×8 W). Nakon 60 ili 120 minuta osvjetljavanja prekursora **101** (7 mg, 13 μmol) u smjesi otapala CH_3OH:H_2O (4:1) (12,5 mL) UPLC/MS-UV metodom dokazan je

nastanak metoksi produkta **111** u vrlo malim količinama (< 1 %). Pri λ_{max} = 420 nm nastanak spoja **111** nije uočen (Dodatak 8.2.9, Prilog 160 – Prilog 162). **UPLC-MS/UV**: metoda ② [pri 254 nm, 120 min]: t_R (**101**) = 1,44 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66; t_R (**111**) = 1,58 min, *m*/*z* = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70; [pri 300 nm, 120 min]: t_R (**101**) = 1,45 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66; t_R (**111**) = 1,58 min, *m*/*z* = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70; [pri 350 nm, 60 min]: t_R (**101**) = 1,45 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66; t_R (**111**) = 1,55 min, *m*/*z* = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70; [pri 420 nm, 60 min]: t_R (**101**) = 1,44 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66. Nastanak spoja **111** nije uočen.

3.12. Određivanje kvantnih prinosa reakcije fotometanolize

Kvantni prinosi reakcije fotometanolize naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** i 1,8-naftalimid-naftolnih spojeva **94-98** određeni su u argonom propuhanim otopinama u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Apsorbancija otopina kod određivanja kvantnih prinosa fotometanolize pri 254 nm bila je u rasponu 0,5 – 0,9. Uz otopine spojeva u kiveti potpuno jednake geometrije (*l* = 1,00 cm), kod svakog određivanja kvantnog prinosa osvjetljavana je i otopina aktinometra. Kao aktinometar korišten je kalijev jodid – kalijev jodat (IOD)[310] za kojeg je iz literature poznat kvantni prinos (Φ_{254} = 0,74)[311]. Osvjetljavanje je provedeno u Luzchem LZC-4X reaktoru s jednom niskotlačnom živinom lampom pri 254 nm. Sve kivete s uzorcima i aktinometrom tijekom osvjetljavanja su postavljene na jednakoj udaljenosti od izvora zračenja čime je osigurano da jednak fotonski tok iz izvora zračenja dolazi do svakog uzorka/aktinometra. Kada jednaki fotonski tok dolazi do uzoraka i aktinometra tada je ozračenost svih otopina jednaka (ozračenost je množina fotona koja pada na jedinicu površine). Kvantni prinos (Φ) fotokemijske reakcije po definiciji je:

$$\Phi = \frac{n(\text{fotoprodukt})}{n(\text{apsorbirani fotoni})} \quad (1)$$

iz izraza (1) dobivamo da je:

$$n(\text{apsorbirani fotoni}) = \frac{n(\text{fotoprodukt})}{\Phi} \quad (2)$$

Za otopine kod kojih je $A_{254} > 3$ može se smatrati da svi upadni fotoni bivaju apsorbirani i tada vrijedi izraz:

$$n(\text{ukupni fotoni}) = n(\text{apsorbirani fotoni}) \quad (3)$$

Navedeni izraz (3) vrijedi za KI/KIO_3 aktinometar.

Za otopine kod kojih je $A_{254} < 1$ vrijedi izraz:

$$n(\text{ukupni fotoni}) = \frac{n(\text{apsorbirani fotoni})}{(1-T)} \quad (4)$$

Pri čemu je T transmitancija otopine za koju vrijedi:

$$T = 10^{-A} \quad (5)$$

Navedeni izrazi (4) i (5) vrijede za određivane spojeve jer je A_{254} u rasponu 0,4 – 0,7.

Kod određivanja kvantnih prinosa potrebno je imati na umu da fotoprodukti također apsorbiraju zračenje valne duljine 254 nm. Iz navedenog razloga otopine se osvjetljavaju do maksimalno 30 % konverzije u fotoprodukte kako bi pogreška u određivanju kvantnog prinosa bila što manja. Konverzije za spojeve određene su UPLC-MS/UV, a za IOD aktinometar UV-vis spektrofotometrijom.

Broj apsorbiranih (tj. ukupni broj) fotona za KI/KIO_3 aktinometar određen je iz izraza:

$$n(\text{ukupni fotoni}) \approx n\,(\text{apsorbirani fotoni}) = \frac{\Delta A_{352} \cdot V_{irr}}{\varepsilon_{352} \cdot l \cdot \Phi_{lit}} \quad (6)$$

gdje su:

ΔA_{352}	razlika u apsorbanciji pri 352 nm za osvjetljavani i neosvjetljavani uzorak aktinometra
V_{irr}	volumen osvjetljavane otopine
ε_{352}	molarni apsorpcijski koeficijent za trijodid, I_3^-, u otopini koja sadrži smjesu jodida (I^-) i jodata (IO_3^-), iznosi ε_{352} = 27600 mol^{-1} dm^3 cm^{-1}
l	duljina optičkog puta (l = 1,00 cm)
Φ_{lit}	kvantni prinos aktinometra, poznat iz literature,[311] Φ_{254} = 0,74.

Kako Φ_{lit} ovisi o koncentraciji jodidnih iona i temperaturi (ϑ / °C), korekcije se vrše upotrebom izraza:

$$\Phi = 0{,}75 \cdot [1 + 0{,}02(\vartheta - 20{,}7)] \cdot [1 + 0{,}23(c(\mathrm{I^-}) - 0{,}577)] \quad (7)$$

Pri čemu je $c(\mathrm{I^-})$ određena iz apsorbancije upotrebom izraza:

$$c(\mathrm{I^-}) = \frac{A_{300}}{1{,}061} \quad (8)$$

Kako su mjerenja provedena pri jednakim uvjetima za aktinometar i otopine uzorka, množina apsorbiranih fotona dobivena iz izraza (6) za aktinometar odgovara množini apsorbiranih fotona za otopine uzorka.

$$\Phi = \frac{A_{254} \cdot V_{\text{irr}} \cdot x_{\text{fotoPR}}}{\varepsilon_{254} \cdot l \cdot n(\text{fotoni}) \cdot (1-T)} \quad (9)$$

pri čemu su:

A_{254}	apsorbancija otopine spoja pri 254 nm, izmjerena prije osvjetljavanja
V_{irr}	volumen osvjetljavane otopine
x_{fotoPR}	množinski udio nastalog fotoprodukta
ε_{254}	molarni apsorpcijski koeficijent spoja pri 254 nm
l	duljina optičkog puta (l = 1,00 cm)
n(fotoni)	množina fotona, izračunata iz izraza (6)

Molarni apsorpcijski koeficijenti za ispitivane spojeve određeni su UV-vis spektrofotometrijom. Korištenjem izraza (9) izračunati su kvantni prinosi za spojeve **33**-**37** i **94**-**98**. Kvantni prinosi prikazani su u rezultatima i raspravi. Obzirom da fotometanolizom heterobifunkcionalnih spojeva **94**-**98** nastaje više fotoprodukata, kvantni prinosi za heterobifunkcionalne spojeve **94**-**98** izračunati su preko količine izreagiranog reaktanta. Količine izreagiranog reaktanta određene su UPLC-MS/UV metodom dodatka standarda. Kao standard korištena je metanolna otopina dietil-ftalata (DEP) (γ = 0,254 g dm^{-3}). U alikvotni dio neosvjetljavane otopine spojeva **94**-**98** i alikvotni dio otopine spojeva **94**-**98** nakon osvjetljavanja dodana je jednaka, poznata količina standarda, otopine DEP u metanolu, te je pomoću UPLC-MS/UV određena konverzija početnih spojeva u fotoprodukte.

3.13. UV-vis apsorpcijska i fluorescencijska mjerenja

3.13.1. UV-vis i fluorescencijski spektri

Snimanja UV-vis apsorpcijskih spektara otopina spojeva **33**-**37**, **94**-**98** i **99**-**103** provedena su u kvarcnim kivetama duljine optičkog puta l =1,00 cm u smjesi otapala metanol - voda (4:1) pri sobnoj temperaturi.

Snimanja svih fluorescencijski spektara otopina spojeva provedena su u kvarcnim kivetama duljine optičkog puta l =1,00 cm. Emisijski fluorescencijski spektri spojeva **33**-**37** snimljeni su uz valne duljine pobude λ_{ex} = 300, 310, 320 nm. Pobudni (ekscitacijski) fluorescencijski spektri snimljeni su pri λ_{em} = 350 i 370 nm pri širinama ulazne i izlazne pukotine 2,5 nm. Kao otapalo korišteni su acetonitril i smjesa otapala acetonitril - voda (3:1), a spektri su snimani pri 25 °C.

Emisijski fluorescencijski spektri spojeva **94-98** snimljeni su uz valnu duljinu pobude λ_{ex} = 270, 310, 330 i 350 nm, dok su pobudni fluorescencijski spektri snimljeni pri λ_{em} = 375 i 400 nm. Spektri su snimani pri širinama ulazne i izlazne pukotine 5 nm. Kao otapalo korišteni su acetonitril i smjesa otapala acetonitril - voda (4:1), a spektri su snimani pri 25 °C.

Emisijski fluorescencijski spektri spojeva **99-103** snimljeni su uz valnu duljinu pobude λ_{ex} = 400, 410 i 420 nm, dok su pobudni fluorescencijski spektri snimljeni pri λ_{em} = 500 i 520 nm. Spektri su snimani pri širinama ulazne i izlazne pukotine 5 nm. Kao otapalo korišteni su acetonitril i smjesa otapala acetonitril - voda (4:1), a spektri su snimani pri 25 °C.

Emisijski fluorescencijski spektri spoja **33** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) u rasponu pH 4 – 8 pri 25 °C snimani su uz valnu duljinu pobude λ_{ex} = 320 nm. Spektri su snimani pri širini ulazne pukotine od 2,5 nm i izlazne pukotine od 5 nm. pH vrijednost otopina izmjerena je kombiniranom staklenom elektrodom (Mettler Toledo InLab Easy BNC) koja je priključena na potenciometar Mettler Toledo SevenMulti. Prije mjerenja provedena je kalibracija uređaja otopinama dvaju pufera (pH = 4,00 ± 0,02 i 7,00 ± 0,02).

3.13.2. Određivanje kvantnih prinosa fluorescencije

Kvantni prinosi fluorescencije naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** i 1,8-naftalimid-naftolnih spojeva **94-98** određeni su u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (3:1 ili 4:1) upotrebom otopine kinin-sulfata u 0,5 mol dm^{-3} sumpornoj kiselini (Φ_R = 0,546)[312] kao standarda. Kvantni prinosi 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftolnih spojeva **99-103** određeni su u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) upotrebom otopine akridin žuto (*acridine yellow*) u metanolu (Φ_R = 0,570)[313] kao standarda.

Otopine spojeva **33-37**, **94-98** i **99-103** i standarda, čije apsorbancije pri valnoj duljini pobude iznose oko 0,1, propuhivane su argonom u trajanju od 20 minuta. Tako propuhanim otopinama snimljeni su apsorpcijski, a potom i emisijski fluorescencijski spektri pri potpuno istim postavkama spektrometra (širine ulazne i izlazne pukotine tijekom mjerenja nisu mijenjane).

Emisijski fluorescencijski spektri kod određivanja kvantnog prinosa fluorescencije za spojeve **33-37** snimljeni su uz valnu duljinu pobude λ_{ex} = 300, 310 i 320 nm. Spektri su snimani pri širinama ulazne i izlazne pukotine od 2,5 nm. Kao otapalo korišteni su acetonitril i smjesa otapala acetonitril - voda (3:1), a spektri su snimani pri 25 °C.

Emisijski fluorescencijski spektri kod određivanja kvantnog prinosa fluorescencije za spojeve **94-98** snimljeni su uz valnu duljinu pobude λ_{ex} = 300, 310 i 320 nm. Spektri su snimani pri širini ulazne pukotine od 2,5 nm i izlazne pukotine od 5 nm. Kao otapalo korišteni su acetonitril i smjesa otapala acetonitril - voda (4:1), a spektri su snimani pri 25 °C.

Emisijski fluorescencijski spektri kod određivanja kvantnog prinosa fluorescencije za spojeve **99-103** snimljeni su uz valnu duljinu pobude λ_{ex} = 400, 410 i 420 nm. Spektri su snimani pri širinama ulazne i izlazne pukotine od 5 nm. Kao otapalo korišteni su acetonitril i smjesa otapala acetonitril - voda (4:1), a spektri su snimani pri 25 °C.

Dobivene vrpce u spektrima su integrirane te je uvrštavanjem podataka u izraz (10) izračunat kvantni prinos fluorescencije (Φ).

$$\Phi = \Phi_R \cdot \frac{I}{I_R} \cdot \frac{A_R}{A} \cdot \left(\frac{n_D}{n_D{}^R}\right)^2 \quad (10)$$

Φ_R	kvantni prinos fluorescencije standarda
I	integral emisijskog spektra otopine spoja
I_R	integral emisijskog spektra otopine standarda
A_R	apsorbancija otopine standarda pri valnoj duljini pobude
A	apsorbancija otopine spoja pri valnoj duljini pobude
n_D	indeks loma svjetlosti otapala (n_{CH_3CN} = 1,344, $n_{CH_3CN-H_2O}$ = 1,341)[314]
$n_D{}^R$	indeks loma svjetlosti otapala standarda ($n_{H_2SO_4}$= 1,346; n_{CH_3OH} = 1,329)[314]

3.13.3. Fluorimetrijske titracije spojeva s DNA

Fluorimetrijske titracije spojeva **94-98** i **99-103** s ct-DNA provedene su u kvarcnim kivetama duljine optičkog puta l =1,00 cm. Titracije su provođene u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) pri 25 °C.

Fluorimetrijske titracije spojeva **94-103** provedene su dodavanjem otopine ct-DNA (c_{DNA} = 2,78×10^{-4} mol dm^{-3}) u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}). Otopine ispitivanih spojeva koncentracije c = 1×10^{-6} mol dm^{-3} za spojeve **94-98** i c = 2×10^{-6} mol dm^{-3} za spojeve **99-103** priređene su iz ishodne DMSO otopine (c = 8×10^{-4} mol dm^{-3}) razrjeđivanjem kakodilatnim puferom (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}). Emisijski fluorescencijski spektri snimani su nakon uspostavljanja ravnoteže u trajanju od 2 minute. Kod snimanja fluorescencijskih spektara širina ulazne pukotine bila je 10 nm, dok je širina izlazne pukotine bila 20 nm. Valna

duljina pobude za spojeve **94**-**98** je bila λ_{ex} = 320 nm, dok je za spojeve **99**-**103** bila λ_{ex} = 410 nm. Fluorimetrijske titracije spojeva **94**-**98** provela je Antonija Husak.

Iz podataka dobivenih fluorimetrijskim titracijama pomoću Scatchardove jednadžbe prilagođene za nelinearnu regresiju (McGhee, von Hippel)[315–317] (11) izračunate su konstante stabilnosti K_s i vrijednosti omjera n kad je to bilo moguće izračunati. Za jednostavniju usporedbu sve K_s vrijednosti su izračunate za fiksni n = 0,3.

$$F = \varepsilon_{\text{kompleks}} \cdot cK + \varepsilon_{\text{spoj}} \cdot \left(c_{\text{spoj}} - cK\right) + \varepsilon_{\text{DNA}} \cdot (n \cdot c_{\text{DNA}} - cK) \quad (11)$$

$$cK = \frac{n \cdot c_{\text{DNA}} + c_{\text{spoj}} + \frac{1}{K_S} - \sqrt{\left(n \cdot c_{\text{DNA}} + c_{\text{spoj}} + \frac{1}{K_S}\right)^2 - 4 \cdot n \cdot c_{\text{DNA}} \cdot c_{\text{spoj}}}}{2} \quad (12)$$

$$n = \frac{c_{\text{vezani spoj}}}{c_{\text{DNA}}} \quad (13) \qquad \varepsilon_{\text{kompleks}} = \frac{F_{\text{kompleks}}}{c_{\text{spoj}}} \quad (14) \qquad \varepsilon_{\text{spoj}} = \frac{F_{\text{spoj}}}{c_{\text{spoj}}} \quad (15)$$

F	intenzitet fluorescencije
$\varepsilon_{\text{kompleks}}$	molarni apsorpcijski koeficijent kompleksa DNA - spoj (ligand)
$\varepsilon_{\text{spoj}}$	molarni apsorpcijski koeficijent spoja (liganda)
ε_{DNA}	molarni apsorpcijski koeficijent DNA
c_{spoj}	koncentracija spoja (liganda)
c_{DNA}	koncentracija DNA
$c_{\text{vezani spoj}}$	koncentracija vezanog spoja (liganda)
K_s	konstanta stabilnosti kompleksa DNA - spoj (ligand)

3.14. Laserska pulsna fotoliza (LFP)

LFP mjerenja provedena su na instrumentu za lasersku pulsnu fotolizu (*engl. laser flash photolysis*, LFP) na Institutu Ruđer Bošković. Instrument se sastoji od Edinburgh Instruments spektrometra LP980, a za pobudu se koristi Qsmart Q450 Quantel YAG laser s mogućnošću generiranja harmonika frekvencije λ_{exc} = 266 ili 355 nm. Energija pulsa podešena je na 20 mJ. Otopine spojeva **33**, **37**, **94** i **99** u acetonitrilu ili smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) prije mjerenja su propuhivane argonom ili kisikom u trajanju od 15 min. Apsorbancije pri 266 nm su bile oko 0,3 – 0,4 ($c \approx (5 – 7) \times 10^{-5}$ mol dm^{-3}). Za mjerenja

su korištene statičke kivete, a otopina je često ponovno pripravljana kako bi se spriječilo nastajanje tranzijentnih vrsta iz fotoprodukata. LFP mjerenja proveo je dr. sc. Nikola Basarić.

3.15. Brojenje pojedinačnih fotona (SPC)

Sva mjerenja brojenja pojedinačnih fotona (*engl. single photon counting*, SPC) provedena su na Institute of Physical and Theoretical Chemistry, Technical University Graz. Korištena je PicoQuant PDL 267 nm pulsna LED dioda uz frekvenciju pobude od 5 MHz i Becker&Hickl SPC 630 MCA karticu. Detektor R5600A-U04 (Hamamatsu) sa 4096 kanala hlađen je Peltierovim hladnjakom na 15 °C. IRF ovog uređaja iznosi 800 ps. Odziv fluorescencije filtriran je kroz WG320 filter. Opadanje intenziteta fluorescencije analizirano je softverom PicoQuant FluoFit V4.66. Otopine ispitivanih spojeva **33** i **37** koncentracija $c = 2\times10^{-6}$ mol dm^{-3} u acetonitrilu, smjesama otapala acetonitril - voda (4:1) i acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (pH = 7,0, $c = 0{,}1$ mol dm^{-3}) priređene su razrjeđivanjem iz ishodne acetonitrilne otopine ($c = 6\times10^{-4}$ mol dm^{-3}). Prije mjerenja otopine su propuhivane dušikom ili argonom kroz 15 min.

3.16. CD spektropolarimetrija

CD titracije ct-DNA sa spojevima **94**, **98**, **99** i **103** provedene su u kvarcnim kivetama duljine optičkog puta l =1,00 cm. Titracije su provođene u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}). CD spektri snimljeni su pri sobnoj temperaturi pri brzini skeniranja od 200 nm min^{-1}, u prosjeku od 3 akumulacije spektra.

CD titracije spojeva **94** i **98** provedene su dodavanjem otopina spojeva u acetonitrilu početnih koncentracija 2×10^{-2} mol dm^{-3} u otopinu ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) koncentracije $c_{DNA} = 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}. CD titracije spojeva **94** i **98** provela je Antonija Husak.

CD titracije spojeva **99** i **103** provedene su dodavanjem otopina spojeva u acetonitrilu početnih koncentracija 2×10^{-3} mol dm^{-3} u otopinu ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) koncentracije $c_{DNA} = 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}.

3.17. Termalna denaturacija DNA

Eksperimenti termalne denaturacije DNA u svrhu određivanje temperature mekšanja DNA (T_m) provedeni su na Agilent Varian Cary 100 spektrofotometru.

U svrhu provedbe eksperimenta na podseriji fenolnih homobifunkcionalnih spojeva **14**, **16**, **18** i **20**-**22** pripremljene su otopine u DMSO ($c = 2\times10^{-2}$ mol dm^{-3}). Ishodna koncentracija ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) koja je korištena za mjerenja bila je $c_{DNA} = 1{,}1\times10^{-3}$ mol dm^{-3}, dok je otopina kalijevog fluorida u smjesi kakodilatnog pufera (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) i DMSO (8:2) bila $c_{KF} = 0{,}2$ mol dm^{-3}. Otopine ct-DNA (20 μL), spojeva **16**, **18** i **20**-**22** (10 μL) i KF (20 μL) inkubirane su 3 sata. 40 μL otopine razrijeđeno je kakodilatnim puferom (ct-DNA ($c = 1{,}76\times10^{-5}$ mol dm^{-3})), **16**, **18** i **20**-**22** ($c = 1{,}60\times10^{-4}$ mol dm^{-3}) te je mjerena ovisnost apsorbancije pri 260 nm o temperaturi. Vrijednosti ΔT_m dobivene su oduzimanjem vrijednosti T_m ct-DNA od T_m kompleksa ispitivanog spoja s ds-DNA. Pogreška u ΔT_m iznosi ± 0,5 ° C.

U svrhu provedbe eksperimenta termalne denaturacije ct-DNA na 1,8-naftalimid-naftolnoj podseriji, pripremljene su otopine spojeva **94** i **98** u DMSO ($c = 2\times10^{-2}$ mol dm^{-3}). Ishodna koncentracija ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) koja je korištena za mjerenja bila je $c_{DNA} = 1{,}10\times10^{-3}$ mol dm^{-3}. Za provedbu mjerenja pripremljena su dva seta otopina u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) ($c_{DNA} \approx 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}). Jedan set otopina prije mjerenja osvjetljavan je u Luzchem reaktoru (8×8 W lampe, 350 nm, 5 min), a drugi je držan u mraku. Otopinama je mjerena ovisnost apsorbancije pri 260 nm o temperaturi. Eksperimenti termalne denaturacije ct-DNA sa spojevima iz 4-dietilamin-1,8-naftalimidne podserije provedeni su na jednak način. Otopine spojeva **99** i **103** pripremljene su otapanjem u DMSO ($c = 1\times10^{-3}$ mol dm^{-3}), a ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}), $c_{DNA} = 2{,}50\times10^{-3}$ mol dm^{-3}. Za provedbu mjerenja pripremljena su dva seta otopina u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, $c = 0{,}05$ mol dm^{-3}) ($c_{DNA} \approx 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}). Jedan set otopina prije mjerenja osvjetljavan je u Luzchem reaktoru (8×8 W lampe, 350 nm, 5 min), a drugi je držan u mraku. Otopinama je mjerena ovisnost apsorbancije pri 260 nm o temperaturi. Vrijednosti ΔT_m dobivene su oduzimanjem vrijednosti T_m ct-DNA od T_m kompleksa ispitivanog spoja s ds-DNA. Pogreške u ΔT_m iznose ± 0,5 ° C. Eksperimente termalne denaturacije DNA za spojeve **14**, **16**, **18**, **20**-**22**, **94** i **98** je provela Antonija Husak.

3.18. Križno povezivanje DNA

In vitro istraživanja mogućnosti križnog povezivanja lanaca molekule DNA provedena su u Laboratoriju za eksperimentalnu terapiju Instituta Ruđer Bošković (dr. sc. Katja Ester).

Plazmidna CMV beta DNA (2 μg μL^{-1}) u PBS puferu (pH = 7,4, c = 0,01 mol dm^{-3}) je pomiješana s otopinom spojeva **14**, **16**, **18** i **20-22** u DMSO (0,1 mol dm^{-3}) uz dodatak KF u vodi (0,2 mol dm^{-3}). Nakon 18 h inkubacije, uzorci su dodani puferu za elektroforezu (NaOH (50 mmol dm^{-3}), EDTA (1 mmol dm^{-3}), 3% ficoll i 0,02 % bromfenol plavo) te su naneseni na 1 % agarozni gel. Elektroforetsko odvajanje provedeno je pri konstantnom naponu od 30 V u horizontalnom elektroforeznom sustavu (BIO-RAD, USA) tijekom 5 h. Kao pozitivna kontrola za križno povezivanje lanaca, plazmidna DNA je tretirana otopinom psoralena u DMSO (20 μM) te je osvjetljavana u Luzchem reaktoru (6×8 W lampe, 300 nm, 5 min). Vizualizacija gela nakon bojanja etidijevim bromidom (γ = 1 μg cm^{-3}) provedena je UV svjetlom (254 nm).

Plazmidna CMV beta DNA (1 μg μL^{-1}) u PBS puferu (pH = 7,4, c = 0,01 mol dm^{-3}) je pomiješana s otopinom spojeva **33-37** u DMSO (0,5 mmol dm^{-3}). Smjese su podijeljene na dva dijela – jedan dio je pomiješan s puferom za elektroforezu, dok je drugi dio prvo osvjetljavan u Luzchem reaktoru (8×8 W lampe, 350 nm, 30 min). Plazmidna DNA je osvjetljavana i bez dodatka spojeva pri jednakim uvjetima kao kontrola. Kao pozitivna kontrola za križno povezivanje lanaca plazmidna DNA je tretirana otopinom psoralena u DMSO (20 μmol dm^{-3}) te je osvjetljavana u Luzchem reaktoru pri jednakim uvjetima kao i testirani spojevi. Nakon osvjetljavanja, uzorci su dodani puferu za elektroforezu (NaOH (50 mmol dm^{-3}), EDTA (1 mmol dm^{-3}), 3% ficoll i 0,02 % bromfenol plavo) te su nanešeni na 1 % agarozni gel. Elektroforetsko odvajanje je provedeno pri konstantnom naponu od 30 V u horizontalnom elektroforeznom sustavu (BIO-RAD, USA) tijekom 5 h. Vizualizacija gela nakon bojanja etidijevim bromidom (γ = 1 μg cm^{-3}) provedena je UV svjetlom (254 nm).

3.19. Antiproliferativna ispitivanja

Sva antiproliferativna ispitivana provedena su u Laboratoriju za eksperimentalnu terapiju Instituta Ruđer Bošković (dr. sc. Katja Ester, dr. sc. Lidija Uzelac, Patricija Benčić).

Homobifunkcionalnim fenolnim spojevima **16**, **18** i **20-22** ispitana je *in vitro* antiproliferativna aktivnost na dvije stanične linije humanih karcinoma: MCF-7 (adenokarcinom dojke) i SUM159 (pleomorfni karcinom dojke). Stanice su podijeljene u dvije

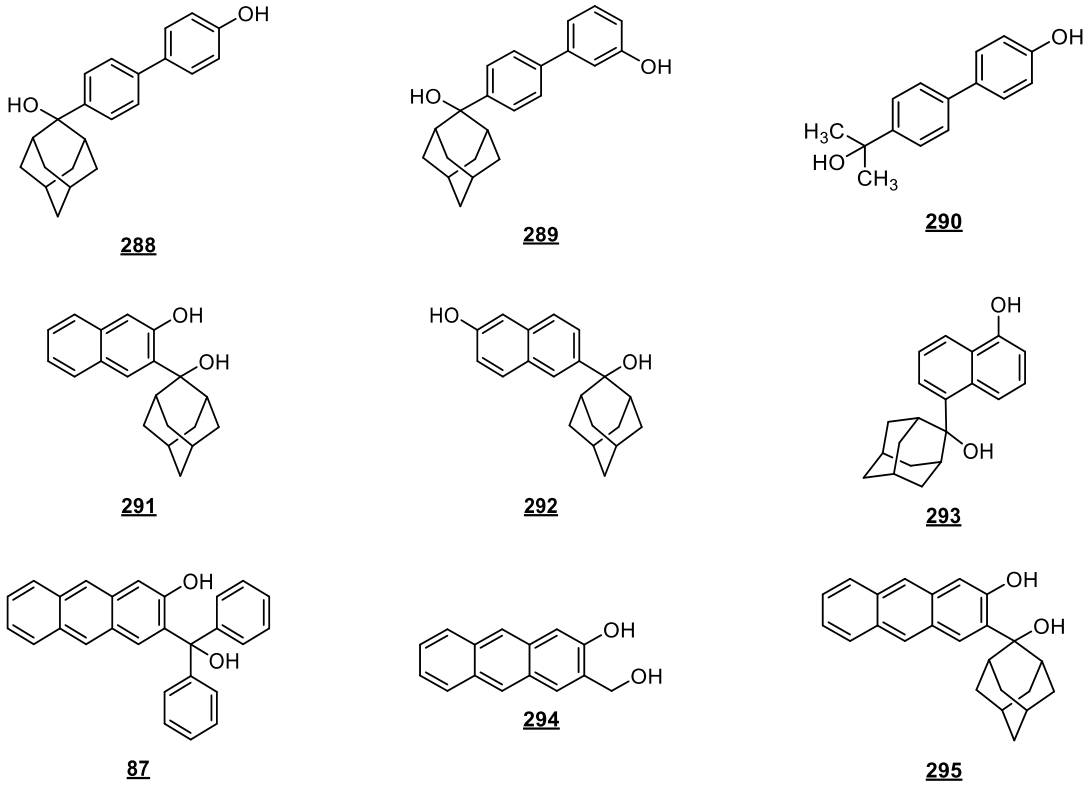
skupine – stanice tretirane spojevima **16**, **18** i **20**-**22** i kalijevim fluoridom, te stanice koje su tretirane samo spojevima **16**, **18** i **20**-**22**. Kako bi se odredila netoksična koncentracija kalijevog fluorida za stanice, prije provedbe ispitivanja antiproliferativne aktivnosti proveden je MTT test istih staničnih linija inkubiran otopinama kalijevog fluorida različitih koncentracija. Određena je sigurna koncentracija c = 1 mmol dm^{-3}. Iako je navedena koncentracija imala mali učinak na SUM159 stanice, korištena je u daljnjim eksperimentima. Da bi se omogućio prolazak spojeva kroz staničnu membranu, stanice su prije dodatka otopine kalijevog fluorida (1 mmol dm^{-3}) inkubirane dva sata sa spojevima **16**, **18** i **20**-**22**. 72 sata nakon dodatka kalijevog fluorida proveden je MTT test.[318,319] Aktivnosti su izražene kao IC_{50} (koncentracija koja uzrokuje 50 % inhibicije rasta stanica). Antiproliferativna aktivnost na jednak način ispitana je i za monofunkcionalni spoj **14**.

Homobifunkcionalnim naftolnim spojevima **33**-**37** i homobifunkcionalnim antrolnim spojevima **38** i **39** ispitana je *in vitro* antiproliferativna aktivnost na tri stanične linije humanih karcinoma: MCF-7 (adenokarcinom dojke), SUM159 (pleomorfni karcinom dojke) i NCI-H1299 (karcinom pluća). Stanice su podijeljene u dvije skupine – stanice inkubirane spojevima i držane u mraku, te stanice inkubirane spojevima i osvjetljavane (6×8 W lampe; 350 nm, 5 min za spojeve **33**-**37**; 420 nm, 10 min za spojeve **38** i **39**) 4 h nakon dodatka spojeva, 24 h i 48 h nakon prvog osvjetljavanja. Nakon 72 sata od posljednjeg osvjetljavanja stanica proveden je MTT test.[318,319] Aktivnosti su izražene kao IC_{50} (koncentracija koja uzrokuje 50 % inhibicije rasta stanica).

Heterobifunkcionalnim spojevima **94**-**98** i **99**-**103** ispitana je *in vitro* antiproliferativna aktivnost na dvije stanične linije humanih karcinoma: MCF-7 (adenokarcinom dojke) i H460 (karcinom pluća). Stanice su podijeljene u dvije skupine – stanice inkubirane spojevima **94**-**98** i **99**-**103** i držane u mraku, te stanice inkubirane spojevima **94**-**98** i **99**-**103** i osvjetljavane (6×8 W lampe, 350 nm, 5 min) 4 h nakon dodatka spojeva, 24 h i 48 h nakon prvog osvjetljavanja. Nakon 72 sata od posljednjeg osvjetljavanja stanica proveden je MTT test.[318,319] Aktivnosti su izražene kao IC_{50}.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

Obzirom da je mogućnost alkiliranja djelovanjem QM pokazana na različitim biomakromolekulama, cilj istraživanja u okviru doktorske disertacije je prirediti, izolirati i okarakterizirati nove prekursore QM kao fotoinducibline alkilirajuće reagense. Dosadašnja istraživanja u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju IRB-a provedena su na nizu derivata hidroksibifenila **288**-**290**,[20,21] naftola **291**-**293**[22] i antrola **87**, **294**, **295**[23,320] koji pokazuju povećanu antiproliferativnu aktivnost na humanim staničnim linijama karcinoma pri osvjetljavanju, što se pripisuje mogućnosti fotokemijskog generiranja QM. Derivati **87**, **288**-**295** prikazani su na slici 38.

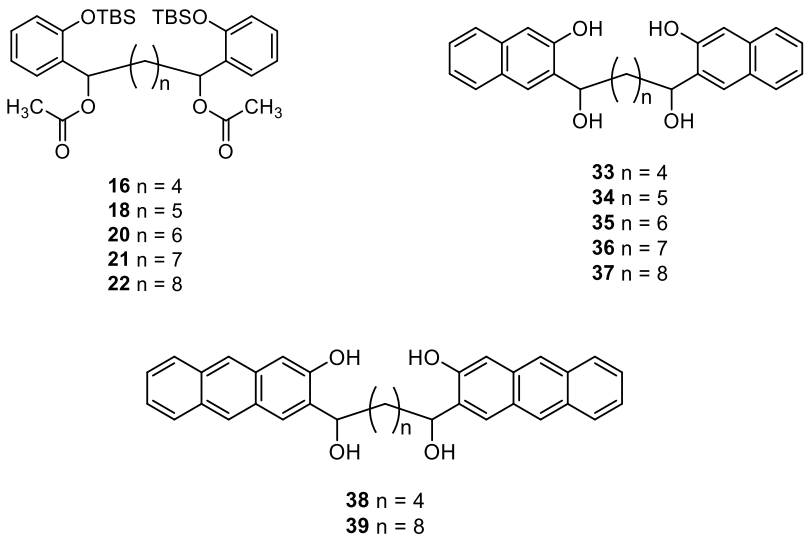


Slika 38. Strukturne formule derivata hidroksibifenila **288**-**290**,[20,21] naftola **291**-**293**[22] i antrola **87**, **294**,[321] **295**[23,320] sintetiziranih u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju IRB-a

Od svih ispitanih supstitucijskih uzoraka naftalena, najbolja antiproliferativna svojstva pri osvjetljavanju svjetlom valne duljine 300 nm pokazao je 2,3-disupstituirani naftalenski derivat **291** koji bez osvjetljavanja ne pokazuje antiproliferativnu aktivnost, dok uz osvjetljavanje ima

izraženu antiproliferativnu aktivnost na MCF-7 staničnoj liniji karcinoma (IC_{50} = 5 ± 1 μmol dm^{-3}).[22] Kako bi molekule prekursora QM posjedovale apsorpcijski maksimum na valnoj duljini većoj od 350 nm, pripremljeni su 2,3-disupstituirani derivati antracena te je ispitana njihova fotokemijska reaktivnost i antiproliferativna aktivnost na humanim staničnim linijama karcinoma.[23] Antrolni derivat **87** pokazuju povećanu antiproliferativnu aktivnost na staničnim linijama humanih karcinoma uz osvjetljavanje svjetlom valne duljine 420 nm (IC_{50} = 2,0 ± 0,4 μmol dm^{-3} (HCT 116); 2,0 ± 0,1 μmol dm^{-3} (MCF-7) i 2,0 ± 0,2 μmol dm^{-3} (H 460)).[23] Zanimljivim se pokazao i spoj **294** koji uz osvjetljavanje svjetlom valne duljine 420 nm daje QM, što je potvrđeno LFP-om. Spoj **294** pokazao je selektivnost i pojačanu antiproliferativnu aktivnost prema ispitanim staničnim linijama humanih karcinoma, posebno prema modelu matičnih stanica raka (CSC) uz osvjetljavanje svjetlom valne duljine 420 nm (IC_{50} = 1,0 ± 0,4 μmol dm^{-3} (HMLEshGFP); IC_{50} = 1 ± 1 μmol dm^{-3} (HMLEshEcad)).[321]

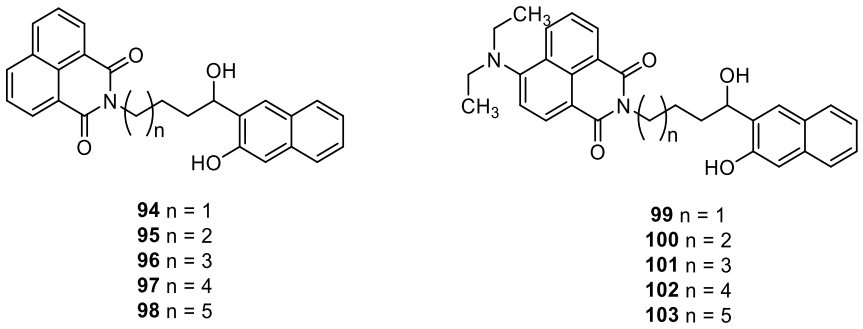
Dosad opisani i pripremljeni QM prekursori nisu posjedovali dvije QM prekursorske podjedinice stoga su s molekulom DNA mogli reagirati samo kao alkilirajući reagensi, a reakcije križnog povezivanja lanaca molekule DNA nisu bile moguće. Jedan od ciljeva istraživanja u okviru doktorske disertacije bila je priprava fotoinducibilnih alkilirajućih reagensa kao potencijalnih spojeva za križno povezivanje lanaca molekule DNA. Pripremljene su tri podserije homobifunkcionalnih spojeva, građene od dvije fenolne, naftolne i antrolne QM prekursorske podjedinice povezane fleksibilnim alkilnim lancem. Spojevi koji posjeduju benzensku jezgru kao QM prekursorsku podjedinicu služe za studiranje reakcija fluoridom induciranog generiranja bis-QM, dok spojeve s naftalenskom i antracenskom jezgrom karakteriziraju vrpce u apsorpcijskim spektrima oko 300 nm ili u području većih valnih duljina. S obzirom na apsorpcijski maksimum, svojstvo naftolnih i antrolnih homobifunkcionalnih spojeva otvara mogućnosti fotolitičkog generiranja bis-QM u biološkim sustavima. Ciljne homobifunkcionalne molekule prikazane su na slici 39.



Slika 39. Strukturne formule homobifunkcionalnih ciljnih molekula

Dodatkom fluorida u fenolnoj podseriji homobifunkcionalnih spojeva nastaju QM. Za navedene spojeve ispitana je *in vitro* aktivnost na molekuli DNA te antiproliferativna aktivnost na humanim staničnim linijama karcinoma. Na ovoj podseriji spojeva fotokemijska ispitivanja nisu provedena jer je valna duljina pobude oko 250 nm, te iz tog razloga fotokemijska pobuda fenolnih homobifunkcionalnih spojeva nije primjenjiva u biološkim sustavima. Fotokemijska reaktivnost naftolnih i antrolnih homobifunkcionalnih spojeva ispitana je u reakcijama fotosolvolize. Za naftolnu podseriju spojeva određeni su kvantni prinosi dehidratacije te je studiran mehanizam fotokemijske reakcije preparativnim osvjetljavanjima, fluorescencijskom spektroskopijom i laserskom pulsnom fotolizom (LFP). Nadalje, na naftolnoj i antrolnoj podseriji provedena su antiproliferativna ispitivanja sa i bez osvjetljavanja, kao i studije interakcija s molekulom DNA.

Osim homobifunkcionalnih spojeva pripremljene su dvije podserije heterobifunkcionalnih spojeva čije su strukture prikazane na slici 40. Heterobifunkcionalni spojevi u svojoj strukturi posjeduju naftolnu QM prekursorsku jedinicu i naftalimidnu jezgru kao DNA interkalacijsku podjedinicu,[29,252,253] međusobno povezane fleksibilnim, alkilnim lancem. Svrha naftalimidne podjedinice u heterobifunkcionalnim spojevima je da molekulu prekursora QM dovede što bliže mjestu gdje se treba dogoditi reakcija alkilacije nakon što se fotolitički generira QM, kao što je opisano u radu Rokite i suradnika.[18,24,76] Drugim riječima, naftalimid ima ulogu svojevrsnog „sidra“ za molekulu DNA.



94 n = 1
95 n = 2
96 n = 3
97 n = 4
98 n = 5

99 n = 1
100 n = 2
101 n = 3
102 n = 4
103 n = 5

Slika 40. Strukturne formule heterobifunkcionalnih ciljnih molekula

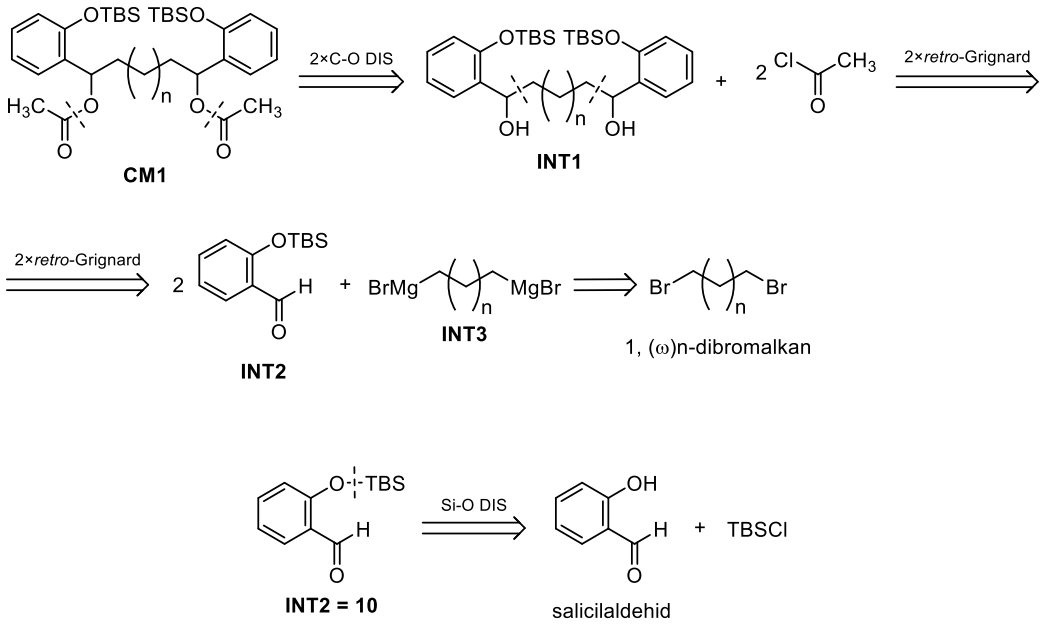
Heterobifunkcionalnim spojevima ispitana je fotokemijska reaktivnost, određeni su kvantni prinosi dehidratacije te su provedene reakcije fotosolvolize, fluorescencijska mjerenja i studija LFP-om. Nadalje, na heterobifunkcionalnoj podseriji spojeva provedena su antiproliferativna ispitivanja sa i bez osvjetljavanja, kao i studije interakcija s molekulom DNA.

4.1. Retrosintetska analiza ciljnih molekula

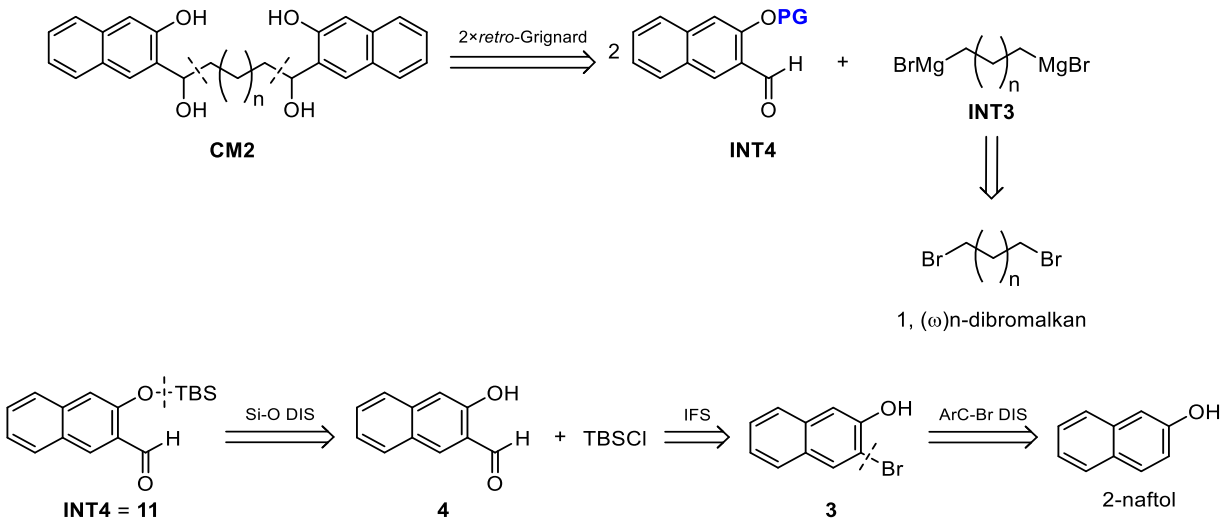
4.1.1. Retrosintetska analiza homobifunkcionalnih spojeva

Retrosintetska analiza ciljnih homobifunkcionalnih spojeva prikazana je na shemama 64-66. *Retro*-Grignardovom diskonekcijom ciljnih molekula **CM1-CM3** nastaju bifunkcionalni organometalni reagensi **INT3** i odgovarajući *O*-zaštićeni karbaldehidi **INT2**, **INT4** i **INT5**. Kako 2-hidroksi-karbaldehidi naftalena **INT4** i antracena **INT5** nisu komercijalno dostupni, također je provedena njihova retrosintetska analiza do jednostavnijih, jeftinijih, komercijalno dostupnih reagensa. Kao zaštita fenolne –OH skupine odabrana je *tert*-butildimetilsililna (TBS) zaštita. Navedena zaštitna skupina nudi niz prednosti naspram ostalih –OH zaštitnih skupina. Poznato je da su TBS-eteri stabilni u uvjetima organometalnih reakcija te se vrlo lako i u blagim reakcijskim uvjetima mogu ukloniti djelovanjem fluoridnih iona.[322] Kao početni materijal za sintezu *O*-zaštićenog karbaldehida naftalena korišten je 2-naftol koji je kroz nekoliko sintetskih koraka preveden u TBS-*O*-zaštićeni karbaldehid naftalena. Zbog vrlo malog broja literaturnih navoda za pripravu 2,3-disupstituiranih antracenskih derivata, provedena je i optimizirana zahtjevna, višestupanjska sinteza iz jeftinog i komercijalno dostupnog 2-aminoantrakinona, koji je kroz nekoliko sintetskih koraka preveden u TBS-*O*-zaštićeni karbaldehid antracena. Nakon provedene retrosintetske analize ciljnih homobifunkcionalnih spojeva, odabrana sinteza je

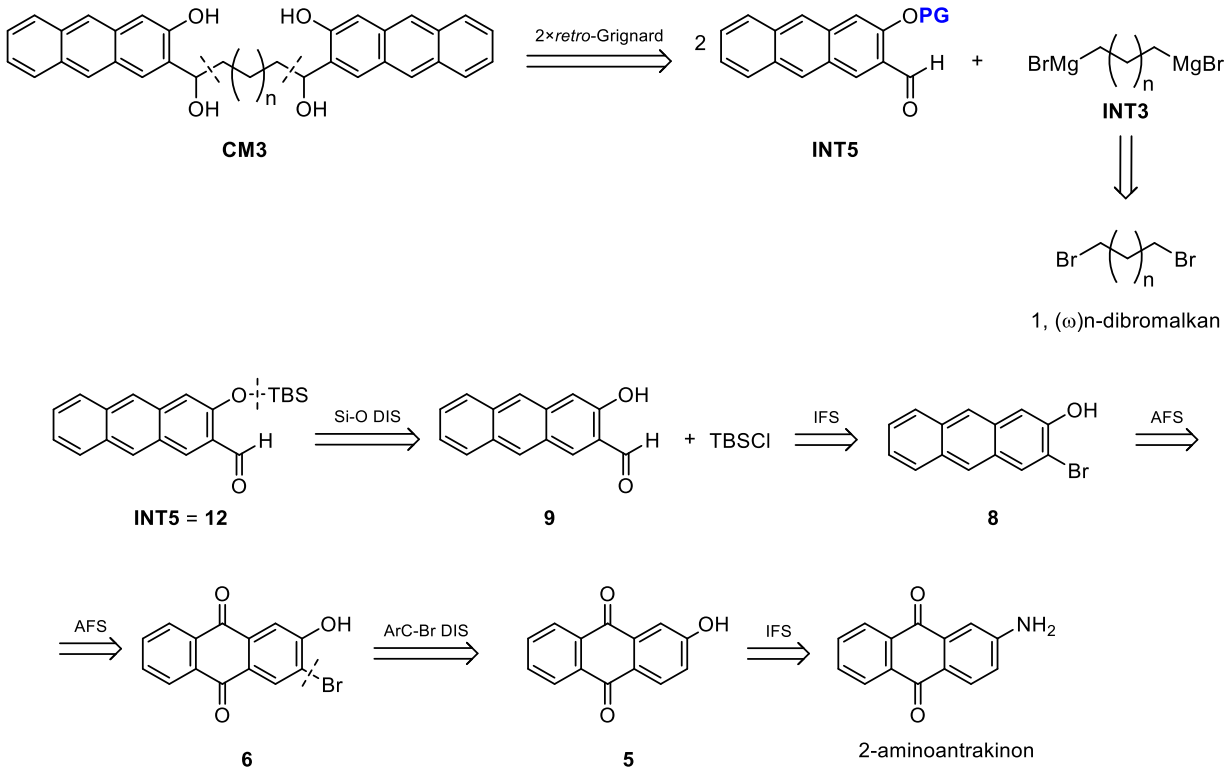
reakcija odgovarajućeg di-Grignardovog reagensa s *O*-zaštićenim salicilaldehidom, odnosno odgovarajućim *O*-zaštićenim karbaldehidima naftalena i antracena. Di-Grignardovi reagensi pripremljeni su reakcijom iz komercijalno dostupnih dibromalkana i magnezija.[323]



Shema 64. Retrosintetska analiza fenolnih homobifunkcionalnih spojeva



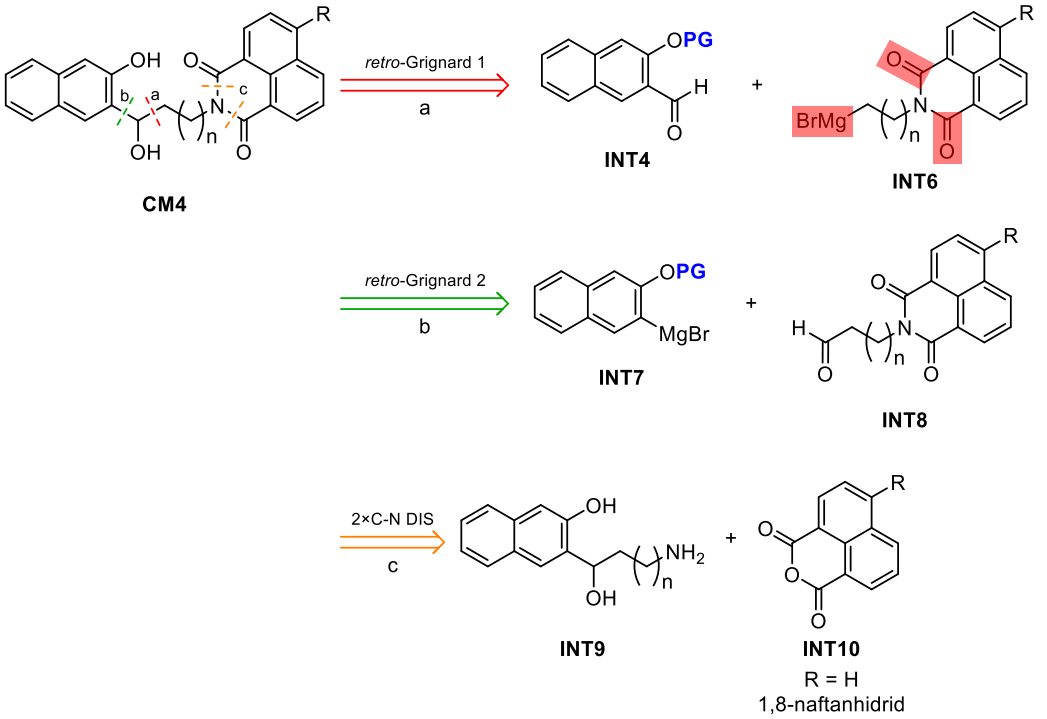
Shema 65. Retrosintetska analiza naftolnih homobifunkcionalnih spojeva



Shema 66. Retrosintetska analiza antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

4.1.2. Retrosintetska analiza heterobifunkcionalnih spojeva

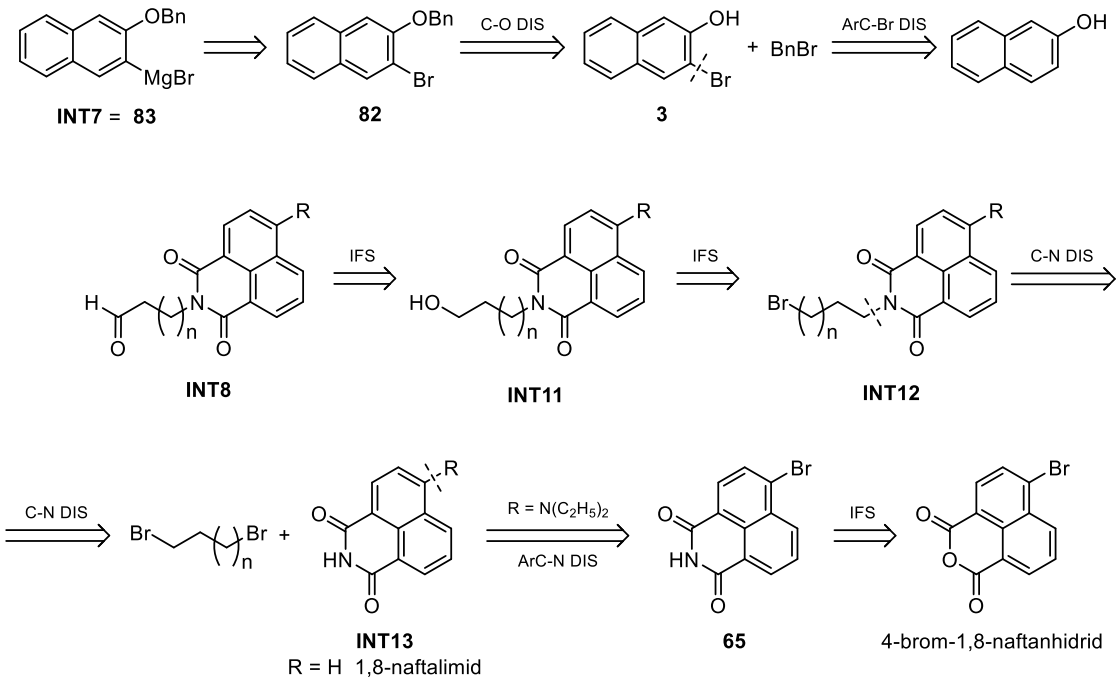
Za razliku od homobifunkcionalnih spojeva, retrosintetska analiza heterobifunkcionalnih spojeva je složenija i moguće ju je provesti na nekoliko načina. Mogućnosti retrosintetske analize ciljnih heterobifunkcionalnih spojeva prikazane su na shemi 67. Na heterobifunkcionalnim spojevima moguće je diskonektirati dvije α C–C veze do ugljikova atoma koji nosi alkoholnu –OH skupinu. U slučaju *retro*-Grignardove diskonekcije (a) dobivaju se **INT4** i **INT6**. Obzirom da ciljne molekule posjeduju imidnu skupinu, *retro*-Grignardova diskonekcija (a) uz nastanak **INT6** nije povoljna, iako je na ftalimidnom supstratu opisana sinteza preko cink-bakar organometalnih reagensa.[324] Druga, povoljnija *retro*-Grignardova diskonekcija C–C veze je diskonekcija (b) uz nastanak **INT7** i **INT8**. Osim *retro*-Grignardovih diskonekcija, jedna od mogućih opcija je i diskonekcija imida (c) pri čemu nastaje amino-alkohol **INT9** i anhidrid **INT10**.



Shema 67. Moguće retrosintetske analize ciljnih heterobifunkcionalnih spojeva

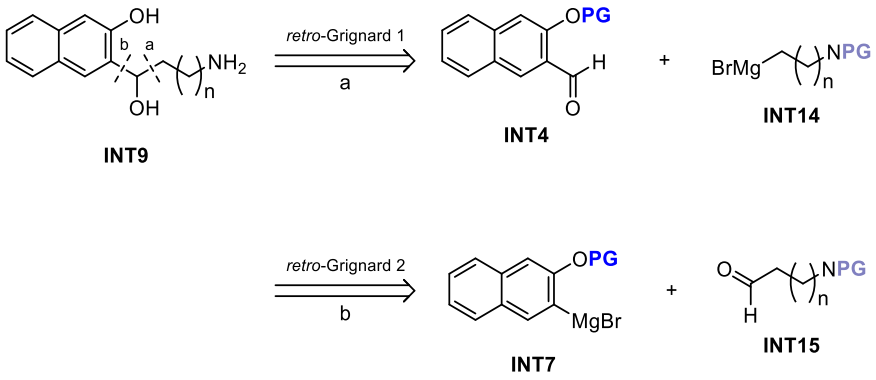
Budući da retrosintetskom analizom nisu nastala maksimalna pojednostavljenja molekula, ciljne molekule prve generacije (intermedijere) potrebno je dodatno retrosintetski analizirati. Retrosintetske analize **INT7, INT8** i **INT9** prikazane su na shemama 68 i 69.

Sintetski ekvivalent **INT7** je *O*-benzil Grignardov reagens **83** čija je sinteza literaturno opisana.[22] **INT8** retrosintetski je rastavljen do komercijalno dostupnog 1,8-naftalimida, odnosno 4-brom-1,8-naftanhidrida u slučaju 4-supstituiranih ciljnih molekula.

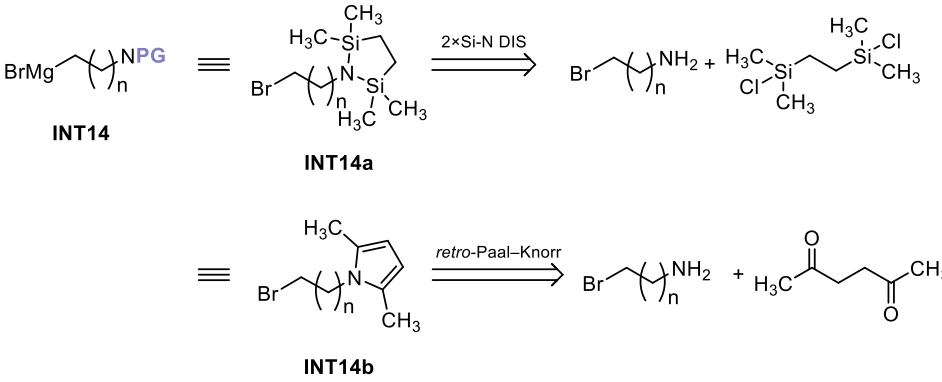


Shema 68. Retrosintetska analiza intermedijera dobivenih *retro*-Grignardovom diskonekcijom heterobifunkcionalnih spojeva

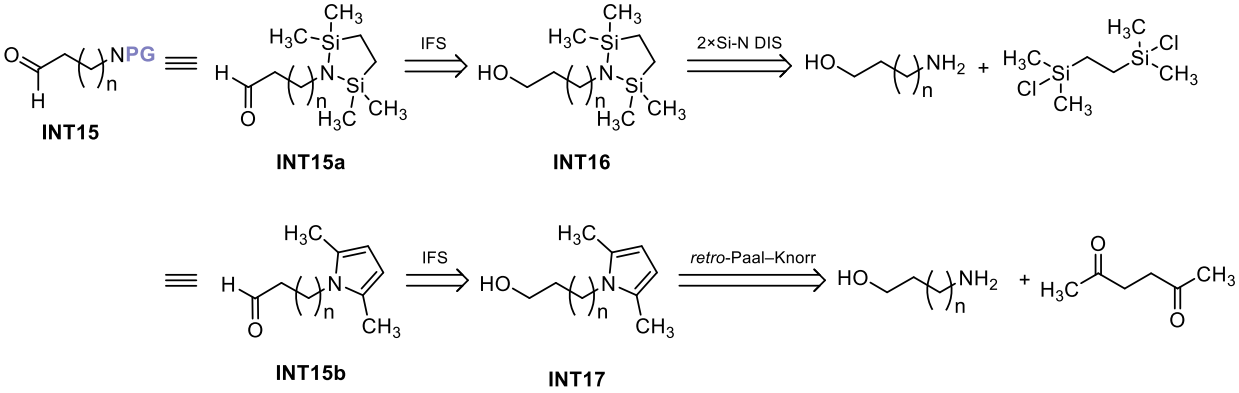
Daljnja retrosintetska analiza amino-alkohola **INT9** *retro*-Grignardovom diskonekcijom daje ω-bromalkil-amin **INT14** i aldehid **INT4** koji je ranije retrosintetski rastavljen. Drugom mogućom *retro*-Grignardovom diskonekcijom nastaju bromid **INT7** koji je ranije retrosintetski analiziran i amino-aldehid **INT15**. Kod **INT14** i **INT15** izbor zaštitne skupine primarnog amina od presudne je važnosti jer su rijetke *N*-zaštitne skupine koje su stabilne u uvjetima organometalnih (Grignardovih) reakcija. Uzimajući u obzir stabilnost u Grignardovoj reakciji, moguće su dvije zaštitne skupine – tetrametildisililazaciklopentanska **INT14a** i **INT15a**[325] i 2,5-dimetilpirolna **INT14b** i **INT15b**.[326,327] **INT14** i **INT15** također su retrosintetski rastavljeni do komercijalno dostupnih reagensa što je prikazano na shemama 70 i 71.



Shema 69. Retrosintetska analiza intermedijera **INT9**



Shema 70. Retrosintetska analiza intermedijera **INT14**



Shema 71. Retrosintetska analiza intermedijera **INT15**

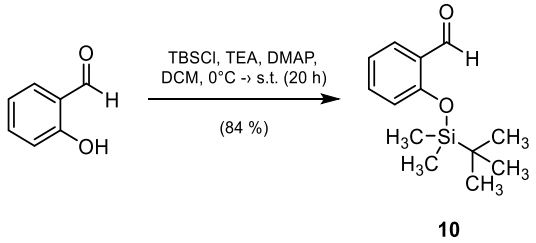
Vodeći se *retro*-Grignardovom diskonekcijom (b) koja je prikazana na shemi 67, provedena je i optimizirana višestupanjska sinteza ω-formilalkil-1,8-naftalimida i 4-supstituiranog analoga iz komercijalno dostupnih 1,8-naftalimida odnosno 4-brom-1,8-naftanhidrida. Također, kao drugi građevni blok za provedbu konvergentne sinteze ciljnih heterobifunkcionalnih spojeva pripremljen je derivat naftalena **82** koji je preveden u odgovarajući Grignardov reagens **83**.

4.2. Priprava prekursora za sintezu homobifunkcionalnih spojeva

4.2.1. Priprava *O*-zaštićenog karbaldehida benzena **10** i naftalena **11**

Ključni korak u pripravi sve tri podserije homobifunkcionalnih spojeva je Grignardova reakcija. Kako bi se spriječile neželjene reakcije Grignardovog reagensa i fenolne –OH skupine, potrebno je zaštititi –OH skupinu. Zbog blagih reakcijskih uvjeta uvođenja i uklanjanja odabrana je *tert*-butildimetilsililna (TBS) zaštitna skupina. Komercijalno dostupan

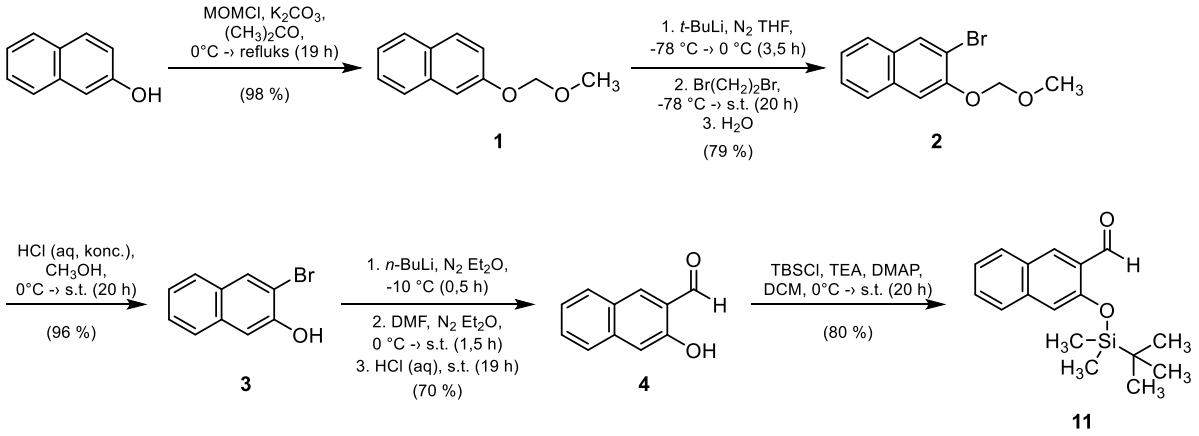
salicilaldehid je u reakciji, koja je literaturno opisana,[301,302] preveden u odgovarajući TBS-*O*-zaštićeni spoj **10**.



Shema 72. Priprava *O*-zaštićenog salicilaldehida **10**

Postupak uvođenja sililne zaštitne skupine na salicilaldehid prikazan je na shemi 72.[301,302] S obzirom na dobar prinos reakcije (84 %), jednaki reakcijski uvjeti za uvođenje TBS-zaštitne skupine primijenjeni su i u pripravi *O*-zaštićenih karbaldehida naftalena i antracena.

Sintetski postupak priprave *O*-zaštićenog karbaldehida naftalena **11** prikazan na shemi 73 nešto je složeniji i kreće iz jeftinog, komercijalno dostupnog 2-naftola.

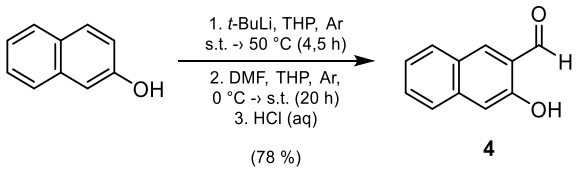


Shema 73. Priprava *O*-zaštićenog naftalen karbaldehida **11**

Iako je 3-brom-2-naftol (**3**) komercijalno dostupan reagens, zbog skupoće te većih količina potrebnih za pripravu svih 2,3-disupstituiranih derivata naftalena, odlučeno je da se navedeni spoj pripremi iz jeftinog, komercijalno dostupnog 2-naftola. Priprava bromida **3** opisana je u patentnom postupku,[292] te je uz male preinake u načinu čišćenja sinteza spoja **3** uspješno provedena. Postupak priprave bromida **3** proveden je u tri reakcijska koraka. U prvom koraku pripremljen je MOM-derivat **1**. Dvije su uloge MOM-skupine – prva uloga je zaštita –OH skupine, a druga je usmjereno *o*-litijiranje naftalena. Iz literature[328–330] je poznato da je MOM-

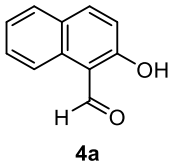
skupina jak *o*-usmjeravajući supstituent za reakcije litijiranja aromatskih spojeva. Navedena svojstva MOM-skupine su iskorištena te je iz MOM-derivata **1** *o*-litijiranjem i bromiranjem s 1,2-dibrometanom pripremljen spoj **2**. Djelovanjem klorovodične kiseline na spoj **2** dolazi do uklanjanja MOM-skupine pri čemu nastaje bromid **3**. Ukupni prinos za tri reakcijska koraka priprave bromida **3** je zadovoljavajući i iznosi 74 %, a cjelokupna sinteza lako je provediva. U sljedećem koraku metalacijskom reakcijom sa suviškom *n*-butil-litija bromid **3** je preveden u bislitijirani spoj koji nakon reakcije s DMF-om i hidrolize daje karbaldehid **4**.

Osim iz bromida **3**, priprava karbaldehida **4** provedena je reakcijom formiliranja prema postupku opisanom u literaturi.[296] Navedeni postupak priprave iz komercijalno dostupnog 2-naftola prikazan je na shemi 74, a uključuje reakciju 2-naftola sa suviškom *tert*-butil-litija u suhom tetrahidropiranu. Nakon reakcije nastalog bislitijiranog spoja s DMF-om i hidrolize, nastali karbaldehid **4** kromatografski je pročišćen.



Shema 74. Priprava karbaldehida **4** u jednom koraku[296]

Iako je čistoća frakcija nakon kromatografskog pročišćavanja provjerena TLC-om (SiO_2, cikloheksan-DCM (1:1)), a spoja **4** UPLC/MS-UV-om (Dodatak 8.2, Prilog 111), uvidom u spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) (Dodatak 8.1, Prilog 5) utvrđena je prisutnost regioizomera **4a** (slika 41) u iznosu od oko 10 %.

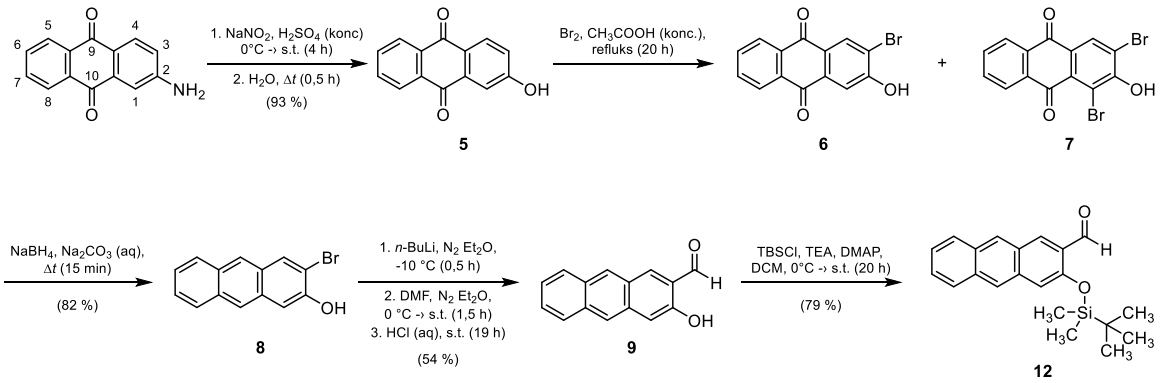


Slika 41. Nusprodukt reakcije formiliranja 2-naftola, 2-hidroksi naftalen-1-karbaldehid (**4a**)

Kako bi se izbjegle komplikacije u vidu odvajanja regioizomera u sljedećim stupnjevima sinteze, veće količine karbaldehida **4** pripremljene su isključivo reakcijom formilacije bromida **3**. Posljednji reakcijski korak priprave *O*-zaštićenog karbaldehida **11** je uvođenje TBS-zaštitne skupine na hidroksilnu skupinu karbaldehida **4**. Reakcija je provedena analogno pripravi *O*-zaštićenog salicilaldehida. Prinos reakcije je zadovoljavajući (80 %), a pripremljeni spoj **11** do sada nije opisan u literaturi.

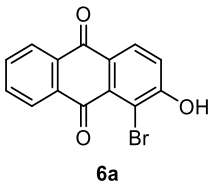
4.2.2. Priprava *O*-zaštićenog karbaldehida antracena **12**

Kao što je navedeno, zbog vrlo malog broja literaturnih navoda za pripravu 2,3-disupstituiranih antracenskih derivata, višestupanjsku sintezu karbaldehida **12** iz jeftinog, komercijalno dostupnog 2-aminoantrakinona bilo je potrebno optimizirati.[331] Priprava spoja **12** nizom reakcija iz 2-aminoantrakinona prikazana je na shemi 75.



Shema 75. Priprava *O*-zaštićenog antracen karbaldehida **12**

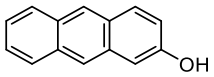
U prvom koraku, koji je literaturno opisan,[297] 2-aminoantrakinon preveden je u diazonijevu sol te je reakcijom hidrolize diazonijeve soli pripremljen 2-hidroksiantrakinon (**5**). Navedena reakcija je reproducibilna i odvija se uz visoka iskorištenja (> 90 %), a dobiveni sirovi produkt **5** je bez dodatnog čišćenja korišten u sljedećem reakcijskom koraku. Smjesa bromida **6** i dibromida **7** pripremljena je refluksiranjem spoja **5** sa suviškom broma u koncentriranoj octenoj kiselini. U svrhu karakterizacije, dio sirovog produkta je kromatografski pročišćen, te su spojevi **6** i **7** okarakterizirani spektroskopijom NMR. Osim bromida **6** i dibromida **7** reakcijom bromiranja nastaje i regioizomer **6a** (slika 42) koji je također okarakteriziran spektroskopijom NMR. Omjer nastalih bromiranih derivata **6**, **6a** i **7** u sirovom produktu vidljiv je u UPLC-MS/UV kromatogramu (Dodatak 8.2, Prilog 112).



Slika 42. Struktura 1-brom-2-hidroksiantrakinona (**6a**), nusprodukta bromiranja antrakinona **5**

Sljedeći korak u sintezi ciljnog karbaldehida **12** je redukcija karbonilnih skupina 9,10-antrakinona. Navedeni stupanj sinteze predstavljao je najveći problem jer je kod

literaturno opisanih reakcijskih uvjeta na antrakinonskim derivatima[297,332–336] dolazilo do različitih neželjenih reakcija. Optimizacijom uvjeta redukcija smjese spojeva **6** i **7** provedena je u vodenoj otopini natrijevog karbonata djelovanjem natrijevog tetrahidridoborata. Utvrđeno je da uz redukciju dolazi i do selektivnog debromiranja položaja 1 na dibromidu **7**, pri čemu nastaje produkt **8**.[331] Kako sirova smjesa, dobivena bromiranjem antrakinona, sadrži malu količinu bromida **6a**, njegovom redukcijom nastaje 2-antrol (**8a**) (slika 43) koji je kromatografski odvojen od željenog spoja **8**. Mogućnost redukcije smjese antrakinona **6** i **7** u antracenski produkt **8** uvelike je pojednostavila sintetski put jer su izbjegnuti problemi kontrole reakcije bromiranja u smislu selektivnog nastanka monobromida **6**. Također, kromatografsko razdvajanje **6** i **7** nije potrebno što je velika prednost i nudi mogućnost provođenja reakcije na većoj skali.



8a

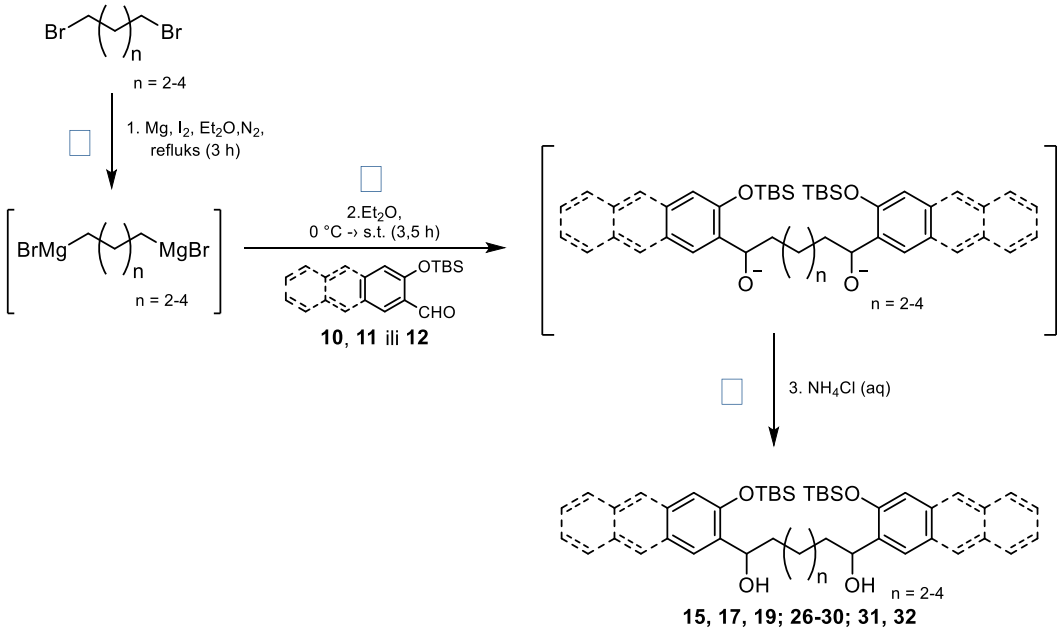
Slika 43. Struktura 2-antrola (**8a**), nusprodukta redukcije

U sljedećem koraku, kao i u slučaju pripreme karbaldehida naftalena, reakcijom bromida **8** sa suviškom *n*-butil-litija nastaje bislitijirani spoj koji nakon reakcije s DMF-om i hidrolize nastalog imina u kiselom mediju daje antracenski karbaldehid **9**. U posljednjem reakcijskom stupnju –OH skupina antracenskog karbaldehida **9** zaštićena je TBS-zaštitnom skupinom pri čemu je izoliran produkt **12** u zadovoljavajućem iskorištenju (79 %). Eventualne nečistoće prisutne u uzorku u ovom reakcijskom stupnju su potpuno uklonjene kromatografskim pročišćavanjem. Kao i u slučaju karbaldehida naftalena **11**, spoj **12** do sada nije opisan u literaturi.

4.3. Homobifunkcionalni spojevi

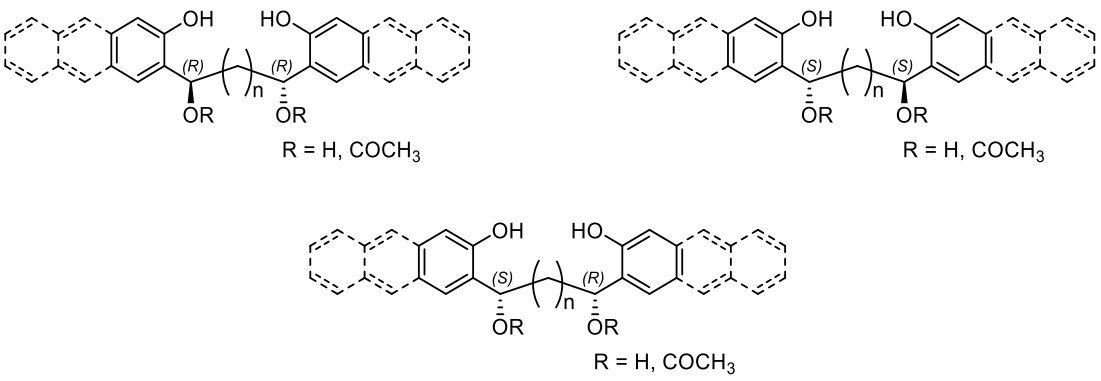
Priprava homobifunkcionalnih spojeva temelji se na dvostrukoj Grignardovoj reakciji *O*-zaštićenih karbaldehida s di-Grignardovim reagensima koji su pripremljeni reakcijom 1,ω-dibromalkana i magnezija. Grignardove reakcije provedene su u dietil-eteru, a sastoje se od tri reakcijska koraka kao što je prikazano na shemi 76. Prvi korak (①) je priprava di-Grignardovog reagensa reakcijom 1,ω-dibromalkana i magnezija. Nakon što je Grignardov reagens pripravljen, u reakcijsku smjesu se u drugom koraku (②) uz hlađenje dokapa otopina

TBS-*O*-zaštićenog karbaldehida benzena **10**, naftalena **11** ili antracena **12**. Posljednji korak (③) je hidroliza nastalog adicijskog intermedijera djelovanjem blago kisele vodene otopine amonijevog klorida nakon čega slijedi izolacija i kromatografsko pročišćavanje.



Shema 76. Shema priprave homobifunkcionalnih spojeva

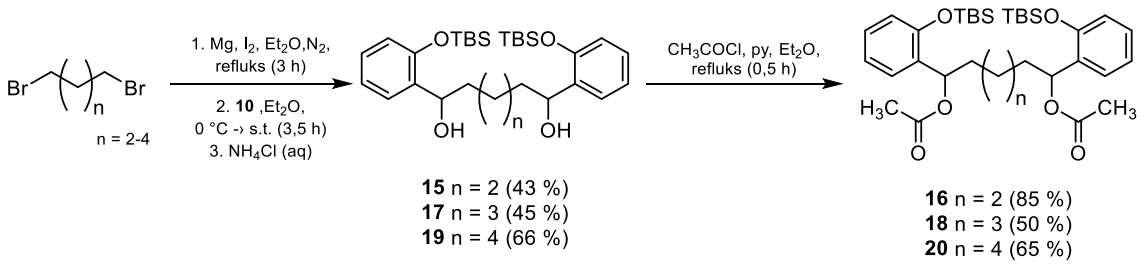
Podserija fenolnih homobifunkcionalnih spojeva acetatni su esteri, stoga su nakon Grignardove reakcije nastali alkoholi esterificirani djelovanjem acetil-klorida. U slučaju naftolnih i antrolnih homobifunkcionalnih spojeva zadnji stupanj priprave je uklanjanje TBS-*O*-zaštitnih skupina djelovanjem tetrabutilamonijevog fluorida (TBAF). Valja napomenuti da di-Grignardovom reakcijom dolazi do stvaranja dvaju stereogenih centara te kao produkt nastaje smjesa dva enantiomera (*RR*, *SS*) i *meso*-spoj (*SR*) koji nisu odvajani. Stereoizomeri homobifunkcionalnih spojeva prikazani su na slici 44.



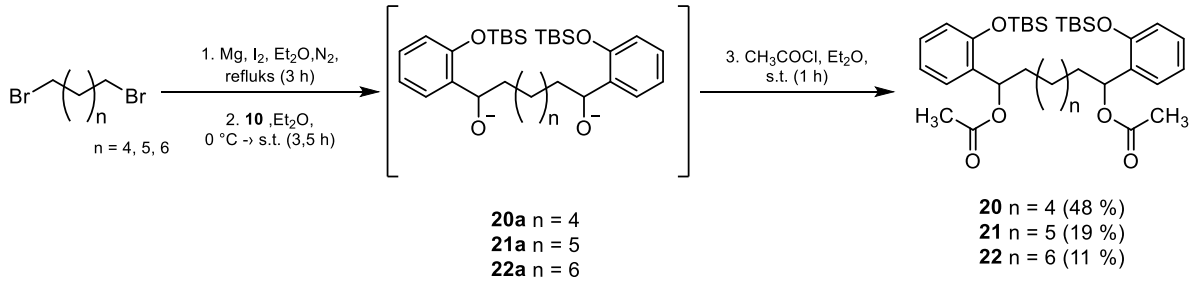
Slika 44. Strukturne formule mogućih stereoizomera homobifunkcionalnih spojeva

4.3.1. Priprava fenolnih homobifunkcionalnih spojeva **16**, **18** i **20**-**22**

Fenolni homobifunkcionalni spojevi dobiveni su reakcijom karbaldehida **10** s pripremljenim di-Grignardovim reagensima nakon koje slijedi reakcija esterifikacije s acetil-kloridom (shema 77). Reakcijom di-Grignardovog reagensa s karbaldehidom **10** nastaje alkoksidni intermedijer. Ukoliko se u reakcijsku smjesu nakon Grignardove reakcije doda vodena otopina amonijevog klorida, kao produkti nastaju alkoholi **15**, **17** i **19**. S obzirom da su fenolne ciljne molekule esteri octene kiseline, nakon čišćenja i izolacije alkoholi **15**, **17** i **19** su esterificirani djelovanjem acetil-klorida uz piridin kao bazu pri čemu su izolirani ciljni homobifunkcionalni spojevi **16**, **18** i **20**. Iskorištenja reakcija priprave alkohola **15**, **17** i **19** variraju (43 – 66 %), dok reakcije esterifikacije imaju iskorištenja 50 – 85 %. Ukoliko se alkoksidni intermedijer nastao reakcijom di-Grignardovog reagensa i karbaldehida **10** umjesto vodenom otopinom amonijevog klorida tretira suviškom acetil-klorida, tada kao produkti nastaju diacetati odnosno željeni homobifunkcionalni spojevi. Osim acetil-kloridom, alkoksidni intermedijer tretiran je anhidridom octene kiseline, međutim, nastanak željenih acetata nije uočen. Reakcijom alkoksidnog intermedijera s acetil-kloridom u jednom stupnju („*one-pot*“) pripremljeni su homobifunkcionalni spojevi **20**, **21** i **22**. „O*ne-pot*“ postupkom postignuto je bolje iskorištenje reakcije te je izbjegnut jedan korak izolacije i čišćenja što je velika prednost kod sinteze. Priprava željenih homobifunkcionalnih spojeva uz izolaciju alkohola prikazana je na shemi 77, dok je priprava u jednom stupnju („*one-pot*“) prikazana na shemi 78.

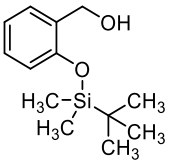


Shema 77. Priprava fenolnih homobifunkcionalnih spojeva



Shema 78. Priprema fenolnih homobifunkcionalnih spojeva „*one-pot*“ reakcijom

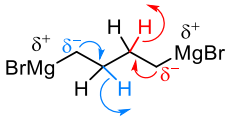
Prilikom optimizacije reakcijskih uvjeta priprave homobifunkcionalnih spojeva uočeno je da, korištenjem THF kao otapala, dolazi do značajnije reakcije redukcije karbaldehida pri čemu kao produkt nastaje alkohol **10a** (slika 45).



10a

Slika 45. Strukturna formula spoja **10a**, nusprodukta Grignardove reakcije

Redukcija karbaldehida **10** u dietil-eteru kao otapalu je smanjena, no potpuno izbjegavanje nastanka produkta **10a** nije postignuto. Iz literature[337] je poznato da reakcije prijenosa β-hidrida kompetiraju s Grignardovom reakcijom ukoliko je pristup karbonilnoj skupini sterički ometan.[337,338] Redukcija karbaldehida posebno je izražena u reakciji s 1,4-di-Grignardovim reagensom **15a** koji sadrži najreaktivnije H-atome u β-položaju te je stoga prijenos hidrida na karbonilnu skupinu posebno olakšan (slika 46).

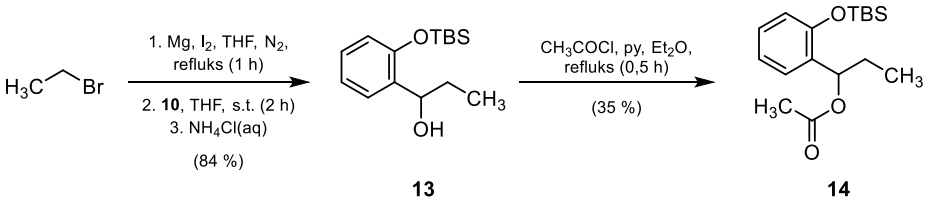


15a

Slika 46. Struktura i prikaz reaktivnih β-H atoma u di-Grignardovom reagensu **15a**

Uz homobifunkcionalne fenolne derivate, pripremljen je i modelni spoj **14** koji sadrži samo jednu QM prekursorsku podjedinicu, a sinteza je prikazana na shemi 79. Alkohol **13** pripremljen je reakcijom Grignardovog reagensa, etil-magnezijevog bromida i karbaldehida **10** u THF-u. Esterifikacijom alkohola **13** s acetil-kloridom pripremljen je spoj **14**. Spoj **13** je korišten u reakcijama optimizacije esterificiranja alkohola, dok je spoj **14** korišten u modelnoj

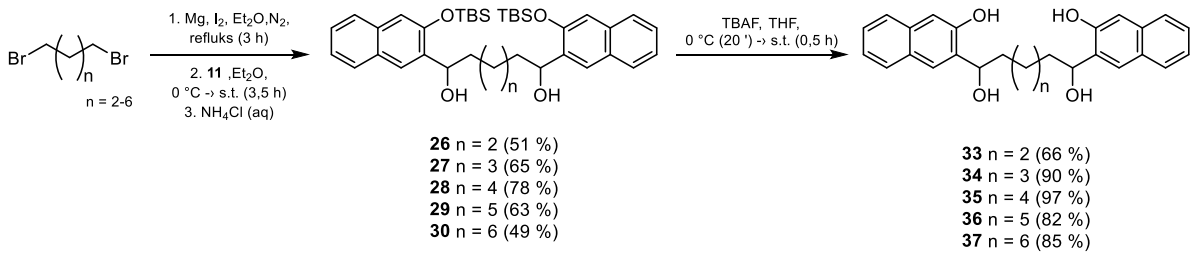
reakciji fluoridima induciranog generiranja QM. Spoj **14** je korišten i kao modelni spoj u biološkim istraživanjima.



Shema 79. Priprema modelnog spoja **14**

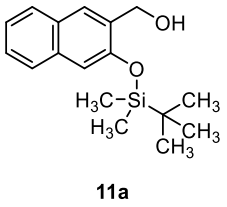
4.3.2. Priprava naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37**

Kao i kod priprave fenolnih homobifunkcionalnih spojeva, priprava naftolne podserije spojeva temelji se na reakciji di-Grignardovog reagensa sa zaštićenim karbaldehidom naftalena **11**. Reakcije su provođene u suhom dietil-eteru u inertnoj atmosferi, a sinteza homobifunkcionalnih spojeva je prikazana na shemi 80.



Shema 80. Priprema naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

Redukcija aldehida, uz nastanak **11a**, koja se odvija paralelno s Grignardovom rekacijom glavni je razlog slabijeg prinosa Grignardove reakcije. Struktura nusprodukta **11a** prikazana je na slici 47.



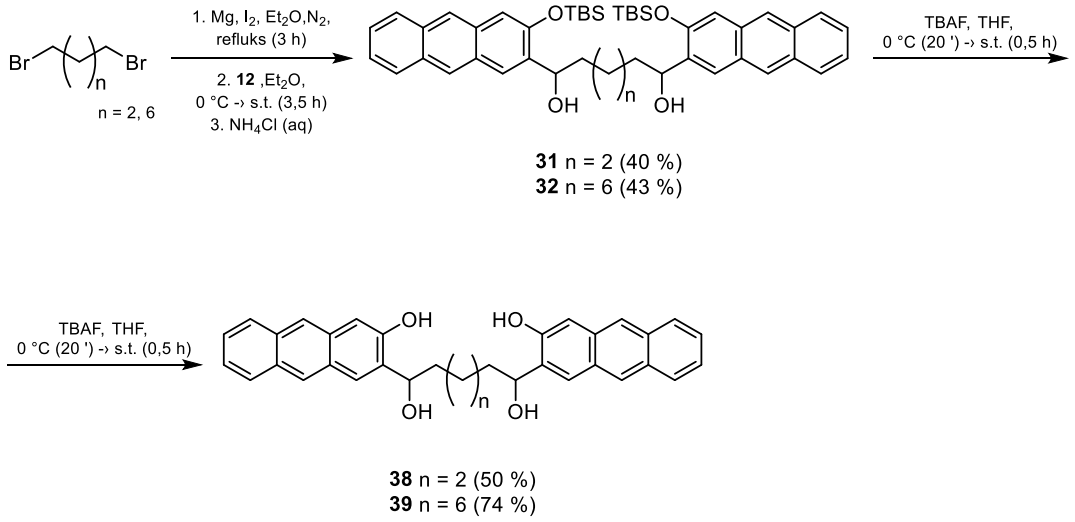
Slika 47. Strukturna formula nusprodukta **11a** nastalog u Grignardovim reakcijama

Kako bi se pripravili fotoinducibilni naftolni bis-QM prekursori, nakon provedene Grignardove reakcije i izolacije produkata TBS-zaštitne skupine uklonjene su djelovanjem TBAF u THF-u.

Navedena metoda uklanjanja vrlo je blaga te ne zahtjeva posebne reakcijske uvjete. Iako je u literaturi[339,340] opisano da se uklanjanje TBS zaštite najčešće provodi pri sobnoj temperaturi, kako bi se izbjegle eventualne neželjene reakcije, reakcija je provođena na oko 0 °C. Uklanjanjem TBS-zaštitne skupine pripremljeni su naftolni homobifunkcionalni spojevi **33-37**, a iskorištenja reakcija zadovoljavajuća su i iznose 66 – 97 %. Spojevi **33-37** do sada nisu opisani u literaturi.

4.3.3. Priprava antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39**

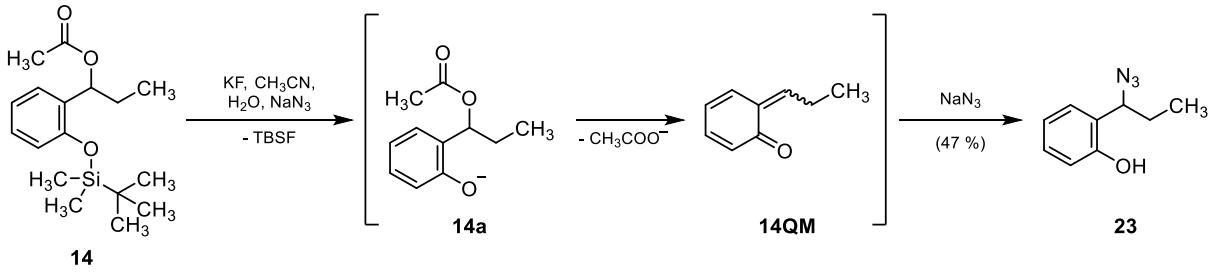
Antrolni homobifunkcionalni spojevi pripremljeni su reakcijom di-Grignardovih reagensa i karbaldehida **12**. Iako je topljivost antracenskog karbaldehida **12** bolja u THF-u, Grignardove reakcije priprave spojeva **31** i **32** provedene su u dietil-eteru kako bi se suzbila redukcija karbonilne skupine. Iskorištenja Grignardovih reakcija kod pripreme spojeva iz antrolne podserije iznose 40 – 43 %, a sintetski put prikazan je na shemi 81. Relativno lošija iskorištenja posljedica su mnoštva sporednih, neželjenih reakcija koje su se odvijale paralelno s Grignardovom reakcijom. Nakon provedene izolacije i kromatografskog pročišćavanja alkohola **31** i **32** uklonjene su TBS-zaštitne skupine djelovanjem TBAF kako bi se pripravili ciljni antrolni homobifunkcionalni spojevi. S obzirom na lošiju topljivost nastalih antrola **38** i **39**, njihova izolacija i čišćenje puno su jednostavniji od čišćenja ostalih finalnih spojeva te uključuju samo pranje etil-acetatom i dietil-eterom. Iskorištenja reakcija uklanjanja TBS-zaštitnih skupina zadovoljavajuća su i iznose 50 – 74 %.



Shema 81. Priprema antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

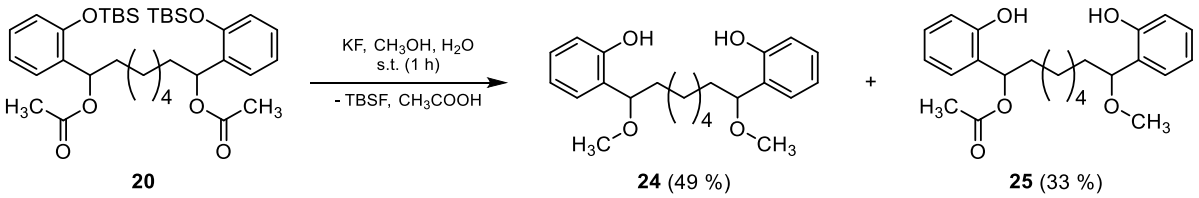
4.4. Generiranje QM inicirano fluoridima

Rokita i suradnici[11,18,24,35,75–77] razvili su metodu generiranja QM iniciranu fluoridnim ionima. Naime, djelovanjem fluoridnih iona na TBS-*O*-zaštićene fenolne derivate dolazi do reakcije cijepanja Si–O veze koju prati spontana eliminacija izlazne skupine u *ortho*-benzilnom položaju. Navedeni slijed reakcija dovodi do generiranja QM (vidi shemu 18. u 2.1.3.). Fenolna podserija homobifunkcionalnih spojeva, kao i modelni spoj **14**, sadrže TBS-*O*-zaštićeni fenol i izlaznu skupinu u *ortho*-benzilnom položaju što omogućuje fluoridom inducirano generiranje QM. Dodatkom vodene otopine kalijevog fluorida u otopinu koja sadrži spoj **14** dolazi do uklanjanja TBS-zaštitne skupine uz spontanu eliminaciju acetata iz *ortho*-benzilnog položaja pri čemu nastaje **14QM**. Jedna od posrednih metoda dokaza nastanka QM su reakcije „hvatanja“ QM s nukleofilima te izolacija nastalih adukata. Poznato je da je azidni anion dobar reagens koji reagira s QM vrlo brzo. Na primjer, konstanta brzine reakcije za adamantanski derivat iznosi $k = (3{,}7 \pm 0{,}5)\times10^6$ dm^3 mol^{-1} s^{-1}.[22] Stoga je nastanak **14QM** posredno dokazan izolacijom adukta **23** (shema 82). Adukt **23** okarakteriziran je spektroskopijom NMR, a uočeno je da u odsutnosti kalijevog fluorida adukt **23** ne nastaje te da je spoj **14** stabilan u vodenoj otopini koja sadrži natrijev azid.



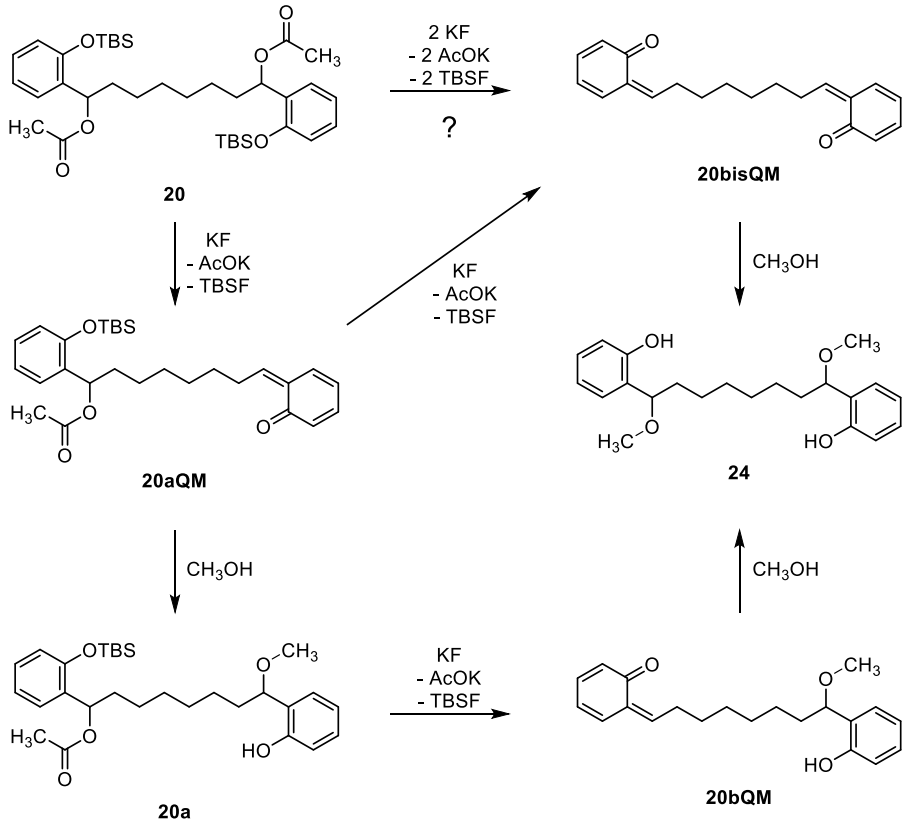
Shema 82. Fluoridom inducirano generiranje QM na modelnom spoju **14** i nastanak azidnog adukta **23**

Kako bi se dokazala mogućnost nastajanja QM na fenolnoj homobifunkcionalnoj seriji, provedena je metanoliza spoja **20** inicirana kalijevim fluoridom (shema 83). Nakon obrade izolirani su i spektroskopski okarakterizirani spojevi **24** i **25**.



Shema 83. Metanoliza spoja **20** inicirana kalijevim fluoridom

Izolacijom produkata **24** i **25** dobivenih iz spoja **20** posredno je pokazana mogućnost nastajanja QM, međutim nastanak bis-QM (tipa **20bisQM**) na ovaj način nije potvrđen. Naime, fluoridom inducirano desililiranje uz nastanak QM vjerojatno se odvija postupno pri čemu prvo nastaje **20aQM** kao što je prikazano na shemi 84. Takav monofunkcionalni QM **20aQM** može dalje reagirati u dvjema kompetitivnim reakcijama – solvolizi uz nastanak **20a** i sekundarnoj eliminaciji uz nastanak **20bisQM**. Koncentracija **20bisQM** stoga je određena omjerom odgovarajućih konstanti brzine reakcije i koncentracija [F^-] *vs* [CH_3OH]. Produkt **20a** u daljnjem koraku F-induciranom eliminacijom može generirati **20bQM**. Na kraju kao konačni produkt reakcije nastaje **24**, a kako je spoj **24** pri danim reakcijskim uvjetima nereaktivan, njegovu izolaciju je moguće lako provesti.



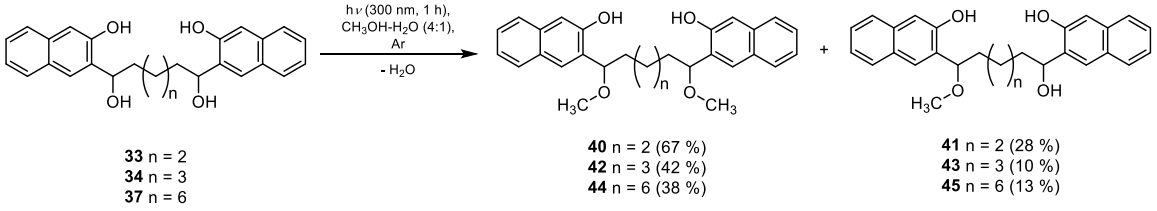
Shema 84. Mogući putevi reakcija nastanaka i hidrolize QM iz spoja **20**

Prilikom ispitivanja mogućnosti križnog povezivanja lanaca molekule DNA fenolnim homobifunkcionalnim spojevima **16**, **18** i **20**-**22** pokazano je da navedeni spojevi ne posjeduju očekivanu aktivnost (vidi 4.6.1 i 4.6.2). Reakcijski putevi prikazani na shemi 84 mogu objasniti nemogućnost križnog povezivanja lanaca molekule DNA. Naime, križno povezivanje lanaca molekule DNA moguće je samo ako se stvara **20bisQM** ili ako **20aQM** reagira brže s DNA nego li se hidrolizira odnosno solvolizira uz nastanak **20a**. Iako je iz hidroliziranog (solvoliziranog) produkta **20a** moguće generiranje **20bQM**, navedeni spoj može samo alkilirati DNA, ali ne i križno povezati.

4.5. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva naftolnih i antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

4.5.1. Fotometanoliza naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33**, **34** i **37**

S obzirom na poznatu fotokemijsku reaktivnost 2,3-disupstituiranih naftola[137] koja uključuje nastanak QM, provedene su preparativne fotometanolize naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33**, **34** i **37** u smjesi otapala metanol - voda (4:1) (shema 85). Pretpostavka je bila da će fotokemijski generirani QM u reakciji (fotosolvolizi) s metanolom stvoriti metanolne adukte. Fotometanolizama spojeva **33**, **34** i **37** uz osvjetljavanje svjetlom valne duljine 300 nm u trajanju od 1 sata postignute su konverzije ≥ 97 %. Fotoprodukti su izolirani preparativnom HPLC-MS/UV metodom, a prinosi izoliranih fotoprodukata iznose 51 – 95 %. Sastav fotosmjese prije izolacije analiziran je UPLC-MS/UV-om (Dodatak 8.2.3). Prema UPLC-MS/UV kromatogramu uočeno je da fotolizom spoja **37** osim fotoprodukata **44** i **45** nastaje još nekoliko fotoprodukata (≈ 20 %) koji nisu izolirani.



Shema 85. Fotometanoliza naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

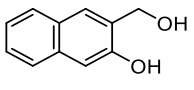
4.5.2. Kvantni prinosi reakcija fotometanolize spojeva **33-37**

Kvantni prinosi reakcija fotometanolize naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** su određeni u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Kao aktinometar je korišten kalijev jodid - kalijev jodat (Φ_{254} = 0,74).[311] Dobiveni kvantni prinosi fotometanolize odnose se na fotokemijsku reakciju nastajanja eterskog (monometoksi) produkta. Vrijednosti kvantnih prinosa prikazane u tablici 4 su srednje vrijednost dvaju mjerenja.

Tablica 4. Kvantni prinosi reakcija fotometanolize spoja **11b** i naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Kalijev jodid - kalijev jodat je korišten kao aktinometar (Φ_{254} = 0,74)[311]

SPOJ	Φ
11b	0,04 ± 0,01
33	0,05 ± 0,01
34	0,05 ± 0,02
35	0,04 ± 0,01
36	0,04 ± 0,01
37	0,04 ± 0,01

Osim spojevima **33-37** određen je i kvantni prinos fotometanolize spoju **11b** te iznosi Φ (**11b**) = 0,04 ± 0,01. Usporedbom vrijednosti dobivenog kvantnog prinosa za spoj **11b** s vrijednostima kvantnih prinosa spojeva **33-37** vidljivo je da kvantni prinos reakcije fotometanolize spojeva **33-37** ne ovisi o broju naftalenskih jezgara, kao ni o duljini alkilne poveznice između njih. Navedeni rezultat sugerira da dodatni kromofor u molekuli ne utječe na fotokemijsku reaktivnost prvog kromofora.

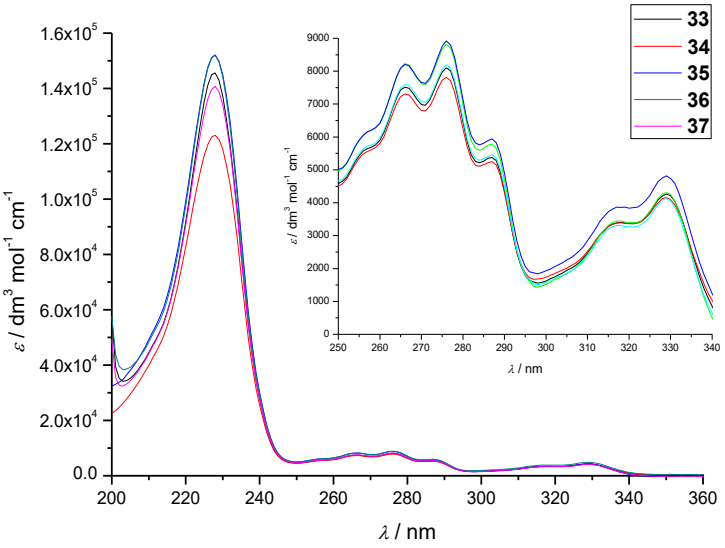


11b

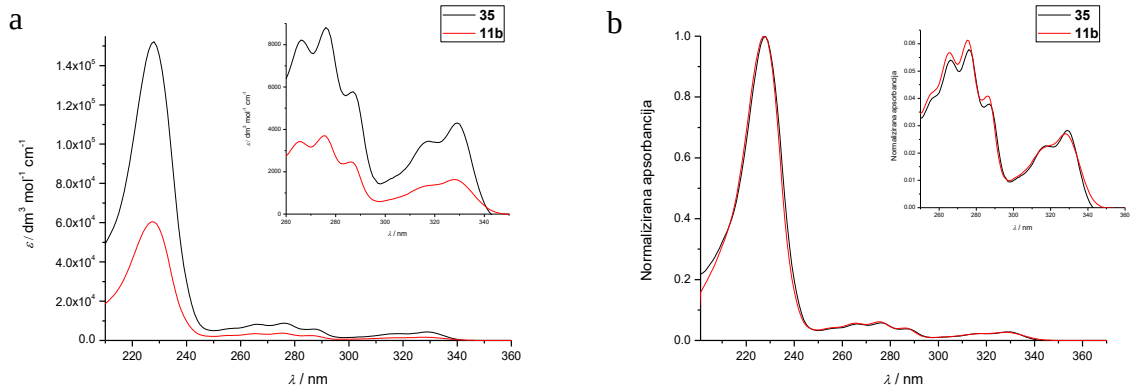
Slika 48. Struktura spoja **11b**

4.5.3. UV apsorpcijski spektri i fluorescencijska mjerenja spojeva **33-37**

Apsorpcijski spektri naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** snimljeni su u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Apsorpcijski spektar naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** karakteriziraju tipični apsorpcijski maksimumi kromofora 2-naftola na oko 220, 270 i 330 nm. Na vrijednosti UV-vis apsorpcijskih maksimuma spojeva **33-37** ne utječe duljina alkilne poveznice (slika 49). Izgled apsorpcijskih spektara spojeva **33-37**, koji se gotovo potpuno preklapaju, sugerira da dva kromofora u molekuli nisu u intramolekulskim interakcijama u osnovnom stanju. Nadalje, na temelju usporedbe UV-vis spektra spojeva **35 i 11b** (slika 50) uočava se da se uvođenjem dodatnog kromofora u molekulu apsorptivnost povećava, dok savršeno preklapanje normaliziranih spektara ukazuje da dva kromofora vjerojatno ne stvaraju intra- ili intermolekulske agregate uzrokovane π - π interakcijama.

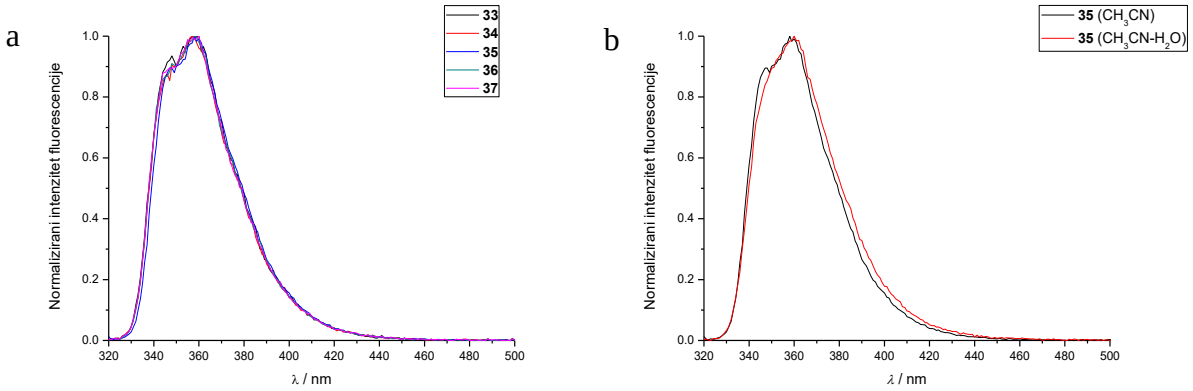


Slika 49. Apsorpcijski spektri naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** u smjesi otapala metanol - voda (4:1)



Slika 50. (a) Apsorpcijski spektri i (b) normalizirani apsorpcijski spektri spojeva **35** i **11b** u smjesi otapala metanol - voda (4:1)

Iz literature[341] je poznato da se reakcije prijenosa protona i generiranje QM iz naftolnih derivata događaju iz singletnog pobuđenog stanja zbog povećane kiselosti naftola u S_1 ($pK_a^* = 2,8$).[341,342] Kako bi se dobio uvid u svojstva i reaktivnost spojeva **33-37** u singletnom pobuđenom stanju, provedena su fluorescencijska mjerenja u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (3:1) gdje se očekuju razlike uslijed povećane kiselosti S_1 stanja. Naftolne –OH skupine se u pobuđenom stanju mogu deprotonirati uz prijenos protona na molekule vode te dolazi do nastanka odgovarajućeg naftolata u pobuđenom stanju. U čistom acetonitrilu ne može doći do deprotoniranja naftola obzirom da čisti acetonitril nema sposobnost solvatacije protona.[342–344] Deprotoniranje naftola u pobuđenom stanju (ESPT) vodi do tipične dualne fluorescencije gdje jedna vrpca u fluorescencijskom spektru pripada naftolu, dok druga vrpca pripada naftolatu. Međutim, fluorescencijske spektre spojeva **33-37** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda karakteriziraju maksimumi emisije na 358 nm, a normalizirani spektri za ta dva sustava otapala dobro se preklapaju (slika 51). Kvantni prinosi fluorescencije za homobifunkcionalne spojeve **33-37** u acetonitrilu iznose oko 0,24 (tablica 5). Dobivena vrijednost sugerira da kvantni prinosi fluorescencije ne ovise o duljini alkilne poveznice, iako bi se to moglo očekivati na temelju poznatog ponašanja dikromofornih sustava koji podliježu polarnim otapalom potpomognutoj polarizaciji u S_1.[345] Dobro preklapanje normaliziranih spektara u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda je iznenađujuće jer očekivana dualna fluorescencija nije vidljiva. Vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije, koje su jednake za oba sustava korištenih otapala, ukazuju da se naftolni homobifunkcionalni spojevi **33-37** u S_1 stanju ne deprotoniraju i da u pobuđenom stanju ne dolazi do interakcije dvaju kromofora.

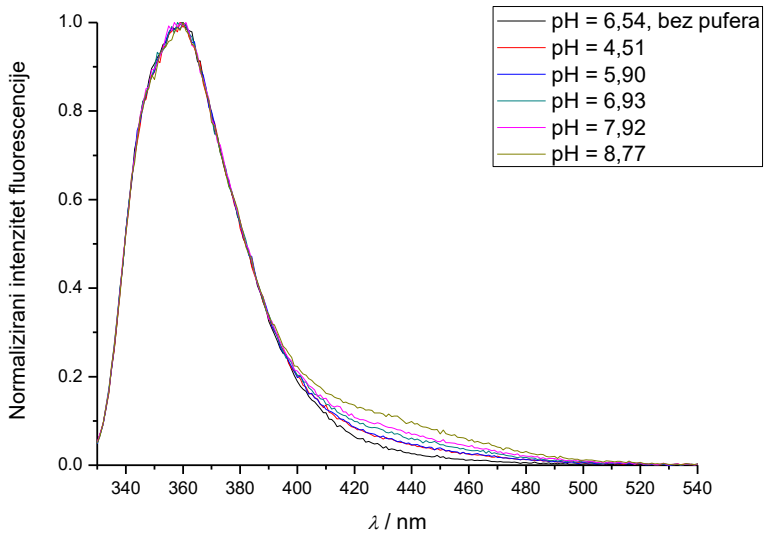


Slika 51. (a) Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** u acetonitrilu, (b) preklopljeni emisijski fluorescencijski spektri spoja **35** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (3:1) snimljeni pri 25 °C uz valnu duljinu pobude 310 nm

Tablica 5. Kvantni prinosi fluorescencije naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (3:1). Otopina kinin-sulfata u sumpornoj kiselini (c = 0,5 mol dm^{-3}) korištena je kao standard (Φ_R = 0,546)[312]

SPOJ	***Φ* (CH_3CN)**	***Φ* (CH_3CN-H_2O) (3:1)**
33	0,27 ± 0,03	0,27 ± 0,03
34	0,24 ± 0,03	0,26 ± 0,02
35	0,22 ± 0,03	0,25 ± 0,02
36	0,25 ± 0,03	0,27 ± 0,03
37	0,24 ± 0,02	0,25 ± 0,02

Kako dobiveni emisijski fluorescencijski spektri za naftolne homobifunkcionalne spojeve u prisutnosti vode ne ukazuju na deprotoniranje u pobuđenom stanju, snimljeni su fluorescencijski spektri spoja **33** u smjesi otapala acetonitrila i fosfatnog pufera (1:1). Mjerenja su provedena u području pH 4 – 8 kako bi se provjerilo dolazi li do deprotoniranja pri većoj pH vrijednosti. Iz dobivenih fluorescencijskih spektara (slika 52) vidljiva je vrlo slaba vrpca („rame“) koja pripada naftolatu nastalom deprotoniranjem u pobuđenom stanju, a pojavljuje se tek na pH vrijednostima većim od 6,9.



Slika 52. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri spoja **33** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (c_{pufer} = 50 mmol dm^{-3}) snimljeni pri 25 °C uz valnu duljinu pobude 320 nm

Prema dobivenom rezultatu mjerenja (slika 52) čini se da je kiselost naftola u pobuđenom stanju kod spojeva **33**-**37** neznatno veća od kiselosti u osnovnom stanju. Na temelju razlika položaja maksimuma u fluorescencijskom spektru za naftol i naftolat te na temelju Försterovog ciklusa procijenjena vrijednost pK_a^* iznosi oko 0. Nedostatak jasne dualne fluorescencije je posljedica smanjene učinkovitosti deprotoniranja u pobuđenom stanju koja je u kompeticiji sa SB-CS. Iz literature[345] je poznato da u dikromofornim sustavima pri pobudi jednog kromofora može doći do fotoinduciranog cijepanja simetrije (SB - *symmetry breaking*) razdvajanjem naboja (CS - *charge separation*). Tom prilikom nastaje par radikal-kationa ($M^{\bullet+}$) i radikal-aniona ($M^{\bullet-}$).[345] Pojava SB-CS u dikromofornim sustavima može se detektirati mjerenjem tranzijentnih apsorpcijskih spektara. Kako se vrpce apsorpcijskih spektara nastalih $M^{\bullet+}$ i $M^{\bullet-}$ vrsta najčešće preklapaju ili imaju različite intenzitete, njihovo međusobno razlikovanje i prepoznavanje često nije moguće.[345] Razlike u iznosima kvantnih prinosa fluorescencije za dikromoforne sustave u polarnim i nepolarnim otapalima mogu upućivati na postojanje dodatnog neradijativnog puta relaksacije u polarnim otapalima, s mogućnošću SB-CS. Iz tablice 5 je vidljivo da razlike u iznosima kvantnih prinosa fluorescencije u acetonitrilu i smjesi s vodom nisu značajne, odnosno da ne dolazi do deprotoniranja naftola u pobuđenom stanju. Navedeno opažanje je vjerojatno

posljedica kompeticije reakcija deprotoniranja i SB-CS, pri čemu nastaju radikal-kationi i radikal-anioni na što upućuju i rezultati LFP mjerenja (4.5.5).

4.5.4. Brojenje pojedinačnih fotona (SPC) spojeva **33** i **37**

SPC (*single photon counting*) mjerenja za spoj **33** i **37** provedena su u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (pH = 7,0, c = 0,1 mol dm^{-3}), a dobiveni rezultati prikazani su u tablici 6.

Tablica 6. SPC-om određena vremena života singletnog pobuđenog stanja za spojeve **33** i **37** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (pH = 7,0, c = 0,1 mol dm^{-3})

SPOJ	τ **(CH_3CN) / ns**	τ **(CH_3CN - pufer) / ns**
33	7,0 ± 0,3	4,9 ± 0,4 (naftolat) 2,1 ± 0,2 (naftol)*
37	6,7 ± 0,3	4,5 ± 0,4 (naftolat) 3,0 ± 0,3 (naftol)*

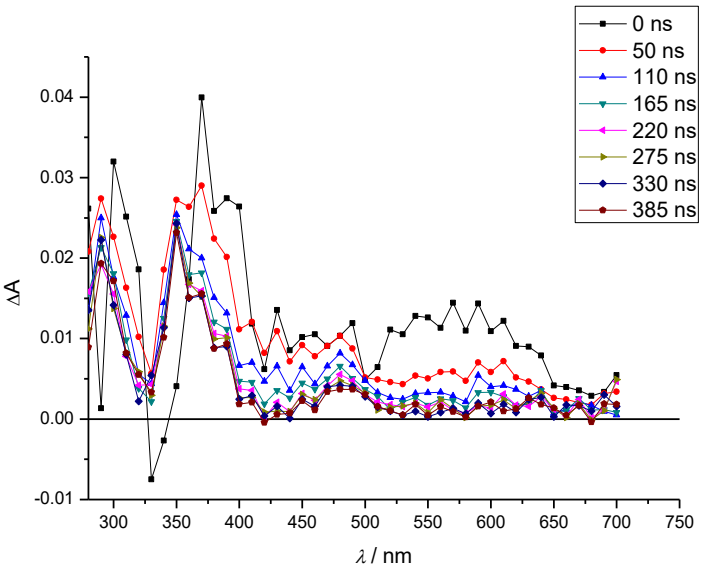
*Uz detekciju fluorescencije na λ > 410 nm gdje emitira naftolat, ovo vrijeme nestajanja ima negativni predeksponencijalni faktor (Dodatak 8.7.1, izraz 16), na temelju čega je pripisano vremenu života singletnog pobuđenog stanja naftola

Opadanje intenziteta fluorescencije acetonitrilnih otopina spojeva **33** i **37** može se opisati kao monoeksponencijalna funkcija, a vrijeme života singleta je $\tau \approx 7$ ns (Dodatak 8.7.1, Prilog 194). Mjerenja pokazuju da vrijeme života singletnog pobuđenog stanja nije ovisno o duljini alkilne poveznice između dvaju kromofora, što je u skladu s mjerenjima kvantnog prinosa fluorescencije naftolnih homobifunkcionalnih spojeva. U prisutnosti fosfatnog pufera (pH = 7,0, c = 0,1 mol dm^{-3}) opadanje intenziteta fluorescencije opisuje se kao suma dvije eksponencijalne funkcije što se može pripisati fluorescenciji naftola i naftolata. Za asignaciju vremena života u puferiranim otopinama ključna je detekcija na većim valnim duljinama (> 410 nm) gdje emitira naftolat, pri čemu jedan predeksponencijalni faktor ima negativan predznak što ukazuje na nastajanje čestice (naftolata) u singletnom pobuđenom stanju (Dodatak 8.7.1, Prilog 195). Dakle, SPC mjerenja su potvrdila da u pobuđenom stanju dolazi do deprotoniranja naftola, odnosno, vrlo slaba vrpca („rame“) koja se javlja u fluorescencijskom spektru spoja **33** na 400 – 500 nm pripada emisiji nastalog naftolata u pobuđenom stanju.

4.5.5. LFP mjerenja spojeva **33** i **37**

LFP (*laser flash photolysis*) mjerenja za spojeve **33** i **37** provedena su u acetonitrilu ili smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) gdje su se očekivale razlike zbog mogućnosti deprotoniranja naftola samo u vodenom mediju. Nadalje, mjerenja su provedena u otopinama koje su propuhane argonom ili kisikom gdje su se očekivale razlike uslijed reakcije radikala, radikal-aniona ili gašenja tripletnih pobuđenih stanja kisikom, dok radikal-kationi, kationi i QM s kisikom ne reagiraju.

LFP mjerenjima spoja **33** u acetonitrilu detektirane su čestice koje apsorbiraju u vidljivom dijelu spektra s kratkim vremenom života; s maksimumom na oko 450 nm τ_{Ar} = 320 ± 20 ns, dok je na 550 nm detektiran još kraće-živući tranzijent, τ_{Ar} = 54 ± 1 ns. Tranzijent s apsorpcijom na oko 450 nm se gasi kisikom τ_{O_2} = 130 ± 10 ns, dok se onaj koji apsorbira na 550 nm ne gasi kisikom τ_{O_2} = 48 ± 1 ns. Na temelju gašenja s kisikom i usporedbom s literaturom,[346] tranzijenti su pripisani naftolnom radikal-kationu i radikal-anionu. Nadalje, u argonom i kisikom propuhanoj otopini s većim vremenskim odmakom od laserskog pulsa detektiran je još jedan dugo-živući tranzijent koji ima maksimum apsorpcije na 350 nm. Spomenuti tranzijent pripisuje se QM, a asignacija je temeljena na usporedbi s objavljenim spektrima.[111]



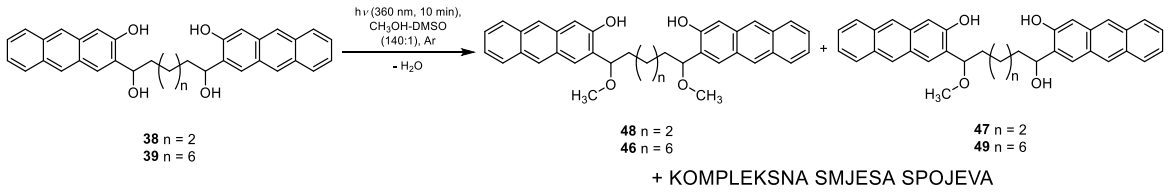
Slika 53. Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom propuhane acetonitrilne otopine spoja **33** (c = 5,05×10^{-5} mol dm^{-3})

Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom propuhane acetonitrilne otopine spoja **33** prikazani su na slici 53. U prisutnosti fosfatnog pufera (vodeni medij), tranzijentni spektri su slični (Dodatak 8.8.1), ali kinetika nestajanja čestica malo se razlikuje. Naime, radikal-kationi se u vodenom mediju deprotoniraju,[346] dok se radikal-anioni protoniraju te su im vremena života kraća. Međutim, u vremenskoj skali u milisekundama vidljiva je prisutnost QM s apsorpcijskim maksimumom na oko 350 nm i vremenom života oko 2,5 ms. Asignacija QM dodatno je potvrđena eksperimentom gašenja natrijevim azidom. U prisutnosti azida detektirano je kraće vrijeme života QM, međutim, zbog vrlo slabog intenziteta signala prava ovisnost konstante brzine reakcije za nestajanje QM o koncentraciji gasioca (Stern-Volmerova kinetika) nije dobivena. Stoga je konstanta brzine reakcije QM s azidom procijenjena na oko $k_{\mathrm{q\ NaN_3}} \approx 4\times10^5$ dm^3 mol^{-1} s^{-1}, što je u skladu s literaturnim[22,111] navodima.

Slični rezultati LFP mjerenja dobiveni su i za spoj **37**. U acetonitrilu su detektirane čestice koje apsorbiraju u vidljivom dijelu spektra s kratkim vremenom života. Tranzijent s apsorpcijom na oko 470 nm gasi se kisikom $\tau_{\mathrm{O_2}} \approx 11 \pm 1$ ns, dok se tranzijentna vrsta s apsorpcijom na 350 nm ne gasi kisikom $\tau_{\mathrm{O_2}} \approx 900 \pm 100$ μs. Prema literaturnim navodima,[346] tranzijentna vrsta na 350 nm pripisuje se QM, dok se tranzijentna vrsta na oko 470 nm pripisuje radikal-anionu.

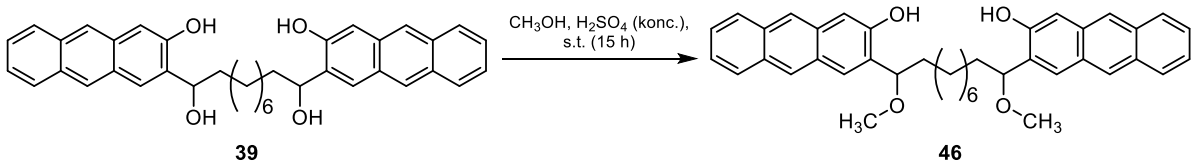
4.5.6. Fotometanoliza antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39**

Reakcije fotometanolize antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39** provedene su u metanolu uz dodatak male količine DMSO-a kao ko-otapala (shema 86). Nakon 10 minuta osvjetljavanja svjetlom valne duljine 350 nm nastaje kompleksna smjesa produkata čiji je sastav analiziran UPLC-MS/UV-om (Dodatak 8.2.4, Prilog 130 i Prilog 131). Prema UPLC-MS/UV kromatogramu u vrlo kompleksnoj smjesi spojeva primijećeni su signali neizreagiranog početnog materijala, kao i signali s *m/z* koji odgovaraju monometoksi **47** i **49** i dimetoksi **48** i **46** fotoproduktima. Nastanak metilnih etera **46**-**49** upućuje da se fotometanolize spojeva **38** i **39** vjerojatno odvijaju uz fotodehidratacije preko QM. Osim fotodehidratacije, dolazi do niza drugih fotokemijskih reakcija što se očituje nastankom kompleksne smjese produkata. Prema UPLC-MS/UV konverzija u produkte fotodehidratacije kod spoja **38** je oko 4 %, dok konverzija u ostale fotoprodukte iznosi oko 65 %. Kod spoja **39** konverzija u produkte fotodehidratacije iznosi oko 9 %, dok konverzija u ostale fotoprodukte iznosi oko 33 %. S obzirom na složenost nastalih fotosmjesa, preparativna osvjetljavanja spojeva **38** i **39** nisu provedena.



Shema 86. Fotometanoliza antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

U svrhu karakterizacije, dimetoksi-produkt **46** je pripravljen termički (shema 87). Metanolna suspenzija antrolnog spoja **39** tretirana je sumpornom kiselina te je nakon obrade dimetoksi-produkt **46** izoliran preparativnim HPLC-MS/UV-om te je spektroskopski okarakteriziran.



Shema 87. Priprava produkta **46** kiselo-kataliziranom reakcijom

Usporedbom UPLC-MS/UV kromatograma izoliranog etera **46** s UPLC-MS/UV kromatogramom sirove fotosmjese spoja **39**, na temelju retencijskog vremena i *m/z* utvrđeno je da spoj **46** nastaje i u fotokemijskoj reakciji što je posredna potvrda generiranja QM.

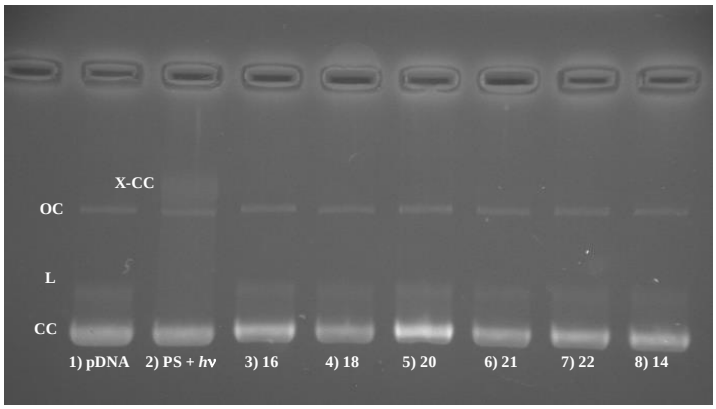
4.6. Biološka ispitivanja homobifunkcionalnih spojeva

4.6.1. Križno povezivanje DNA

4.6.1.1. Alkalna agarozna gel-elektroforeza

Nakon što je izolacijom adukata **23**, **24** i **25** pokazano da fluoridom inducirano desililiranje uzrokuje nastanak QM, ispitana je sposobnost križnog povezivanja lanaca DNA. QM iz homobifunkcionalnih fenolnih spojeva **16**, **18** i **20**-**22** generirani su fluoridom induciranim desililiranjem. Također, ispitan je i utjecaj QM generiranog desililiranjem iz spoja **14**, međutim zbog strukturnih karakteristika nastali QM može samo alkilirati DNA, ali ne i križno povezati lance. Plazmidna DNA pomiješana je sa spojevima **14**, **16**, **18** i **20**-**22** uz dodatak kalijevog fluorida te je nakon 18 h inkubacije provedena alkalna agarozna gel-elektroforeza. Kao pozitivna kontrola korišten je psoralen (PS) za kojeg je literaturno[1,347–349] poznato da fotokemijskom aktivacijom uzrokuje križno povezivanje lanaca DNA. U tu svrhu pCMV beta

DNA je osvjetljena (5 min, 300 nm) u prisutnosti psoralena te je provedena alkalna agarozna gel-elektroforeza. Dobiveni elektroferogram prikazan je na slici 54.

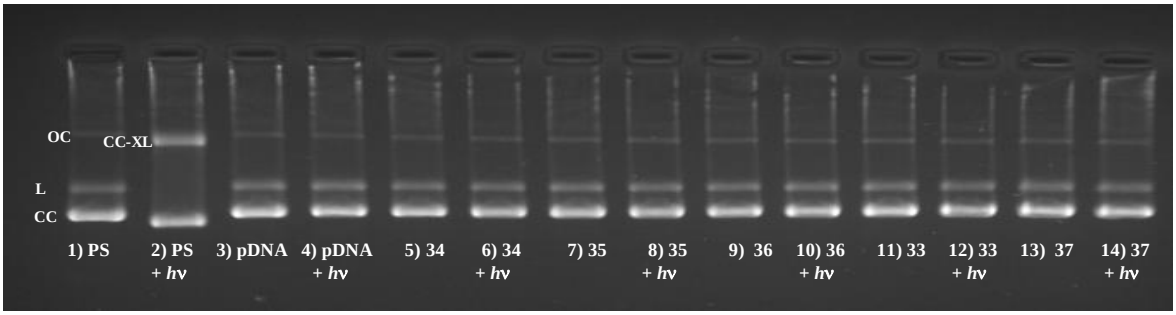


Slika 54. Elektroferogram dobiven alkalnom agaroznom gel-elektroforezom. pCMV beta DNA (2 μg μL^{-1}) u PBS puferu (pH = 7,4, c = 0,01 mol dm^{-3}) je pomiješana sa spojevima **14**, **16**, **18** i **20**-**22** (1 mmol dm^{-3}) uz dodatak KF (200 mmol dm^{-3}). Nakon 18 h inkubacije, uzorci su naneseni na agarozni gel te je provedeno elektroforetsko razdvajanje kroz 5 h. Jažice s lijeva na desno: 1) pDNA, 2) DNA + psoralen (PS) (20 μmol dm^{-3}) + *hv* (5 min na 300 nm), 3) **16**, 4) **18**, 5) **20**, 6) **21**, 7) **22**, 8) **14**. CC - zatvorena cirkularna DNA, OC - otvorena cirkularna DNA, L - linearna DNA, X-CC - križno povezana cirkularna DNA

Iz dobivenog elektroferograma (slika 54) vidljiva je mogućnost interlančanog križnog povezivanja lanaca plazmidne DNA psoralenom što se očituje kao vrpca X-CC. Kod spojeva **14**, **16**, **18** i **20**-**22** nikakve X-vrpce i nikakva razlika u elektroforetskoj pokretljivosti u usporedbi s kontrolnom DNA nisu zapaženi. Navedena nemogućnost križnog povezivanja lanaca molekule DNA spojevima **16**, **18** i **20**-**22** može se objasniti pomoću reakcijskih puteva generiranja QM iz fenolnih homobifunkcionalnih spojeva kao što je ranije prikazano na shemi 84. Naime, križno povezivanje lanaca molekule DNA moguće je samo ako se formira **20bisQM** ili ako **20aQM** reagira brže s DNA nego li se hidrolizira u **20a**.

Za razliku od fenolnih homobifunkcionalnih spojeva kod kojih dodatak fluoridnih iona ireverzibilno vodi ka uništenju aktivne supstance, naftolni homobifunkcionalni spojevi **33**-**37** stvaraju QM u fotokemijskoj reakciji. Ukoliko nastali QM reagira s vodom (solvolizira se) dobiva se aktivna supstanca koja može ponovno reagirati u fotokemijskoj reakciji i stvarati QM. Zbog navedene reverzibilnosti, očekuje se da će naftolni homobifunkcionalni spojevi **33**-**37** uz fotokemijsku pobudu pokazivati veću aktivnost u križnom povezivanju lanaca DNA od ispitanih fenolnih spojeva. pCMV beta DNA pomiješana je sa spojevima **33**-**37** te je smjesa

podijeljena na dva dijela. Jedan dio smjese nije osvjetljen i korišten je kako bi se ispitao učinak spojeva na DNA bez generiranja QM. Drugi dio smjese DNA i spojeva osvjetljavan je 30 min na 350 nm pri čemu se očekuje generiranje QM i/ili bis-QM koji mogu alkilirati i križno povezati lance DNA. Uz to sama plazmidna DNA osvjetljena je pri istim uvjetima (30 min, 350 nm) kako bi se ispitao utjecaj osvjetljavanja na pDNA. Kao pozitivna kontrola za križno povezivanje lanaca DNA korišten je psoralen (PS),[1,347–349] te je pDNA u prisutnosti PS osvjetljavana pri jednakim uvjetima kao i ispitivani spojevi. Dobiveni elektroferogram prikazan je na slici 55.



Slika 55. Elektroferogram dobiven alkalnom agaroznom gel-elektroforezom. pCMV beta DNA (1 μg μL^{-1}) u PBS puferu (pH = 7,4, c = 0,01 mol dm^{-3}) pomiješana je s psoralenom (20 μmol dm^{-3}) i spojevima **33**-**37** (500 μmol dm^{-3}) te podijeljena na dva dijela. Jedan dio osvjetljavan je 30 min na 350 nm, dok je drugi dio bez osvjetljavanja nanesen na agarozni gel. Elektroforetsko razdvajanje provedeno je kroz 5 h. Jažice s lijeva na desno: 1) psoralen (PS), 2) PS + $h\nu$, 3) DNA, 4) DNA+ $h\nu$, 5) **34**, 6) **34** + $h\nu$, 7) **35**, 8) **35** + $h\nu$, 9) **36**, 10) **36** + $h\nu$, 11) **33**, 12) **33** + $h\nu$, 13) **37**, 14) **37** + $h\nu$. CC - zatvorena cirkularna DNA, OC - otvorena cirkularna DNA, L - linearna DNA, X-CC - križno povezana cirkularna DNA

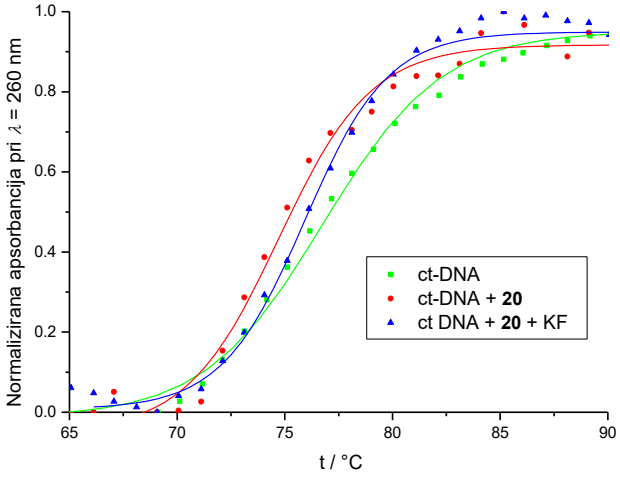
Iz dobivenog elektroferograma (slika 55) kod smjese DNA i psoralena koja je osvjetljena jasno je vidljiva vrpca čija elektroforetska pokretljivost odgovara interlančano križno povezanoj plazmidnoj DNA (CC-XL). Kod neozračenog uzorka psoralen-pDNA vrpca nije vidljiva, što je očekivano, jer bez osvjetljavanja ne može doći do križnog povezivanja lanaca DNA. Kod svih ostalih uzoraka (osvjetljenih i neosvjetljenih) ne javlja se nikakva razlika u elektroforetskoj pokretljivosti u usporedbi s kontrolnom DNA. Također, kod osvjetljene (30 min, 350 nm) pDNA bez spojeva ne postoje nikakve dodatne vrpce koje bi ukazivale da primijenjeno osvjetljavanje uzrokuje promjene na DNA. Dobiveni negativni rezultat je iznenađujući, međutim ne znači nužno da do križnog povezivanja lanaca molekule DNA ne dolazi. Naime,

alkalna elektroforeza dosta je gruba metoda za određivanje križnog povezivanja lanaca molekule DNA pa ako do križnog povezivanja dolazi u manjem postotku, navedena aktivnost neće biti vidljiva. Točniji rezultati možda bi se mogli dobiti korištenjem osjetljivijih metoda za određivanje križnog povezivanja lanaca DNA (primjerice upotreba ^{32}P obilježene DNA).[75]

4.6.1.2. Termalna denaturacija DNA

Zagrijavanje vodenih otopina dvolančanih polinukleotida dovodi do cijepanja vodikovih veza između lanaca i njihovog razdvajanja. Iz literature[258] poznato je da spojevi koji se vežu na DNA uzrokuju promjenu stabilnosti DNA što se očituje kao povećanje ili smanjenje temperature mekšanja molekule DNA (T_m).[258] Temperatura mekšanja DNA definirana je kao temperatura pri kojoj je polovica molekula DNA u obliku dvostruke zavojnice (ds-DNA), a druga polovica u jednolančanom obliku (ss-DNA).[350] Za određivanje temperature mekšanja najčešće se koristi UV spektroskopija gdje se razdvajanje lanaca prati mjerenjem rezultirajućeg hiperkromnog efekta (najčešće pri 260 nm) u ovisnosti o temperaturi otopine.

Obzirom da vezanje spojeva na DNA uzrokuje promjenu stabilnosti molekule DNA, očekivano je da kovalentno vezanje, a posebno križno povezivanje lanaca DNA, uzrokuje promjene u temperaturi mekšanja molekule DNA. Ispitan je utjecaj QM generiranih iz fenolnih homobifunkcionalnih spojeva **18** i **20**-**22** u prisutnosti kalijevog fluorida na promjenu T_m. Mjerena je ovisnost apsorbancije molekule DNA o temperaturi pri 260 nm (Dodatak 8.6.1). Poteškoća koja se javlja tijekom mjerenja je slaba topljivost spojeva **18** i **20**-**22** u kakodilatnom puferu; stoga su mjerenja provedena uz dodatak DMSO (10 % ili 20 % za spoj **20**). Kod mjernih uvjeta T_m za ct-DNA iznosi T_m = 75,1 ± 0,5 °C. Dodatak spojeva **18** i **20**-**22**, samih ili u kombinaciji s kalijevim fluoridom, ne utječe značajno na promjenu T_m te su promjene unutar pogreške metode (± 0,5 °C), kao što je prikazano na slici 56. Navedeno opažanje upućuje da se reakcije alkilacije ili križnog povezivanja lanaca DNA događaju ili s niskom učinkovitošću, ostavljajući veliku količinu slobodne DNA dostupne za denaturaciju, ili se uopće ne događaju.



Slika 56. Normalizirana ovisnost apsorbancije (260 nm) ct-DNA o temperaturi. ct-DNA ($1{,}76\times10^{-5}$ mol dm^{-3}), ct-DNA u prisutnosti **20** ($1{,}6\times10^{-3}$ mol dm^{-3}) i ct-DNA u prisutnosti **20** ($1{,}6\times10^{-3}$ mol dm^{-3}) i KF nakon 3 sata inkubacije. Eksperiment je proveden u smjesi kakodilatnog pufera (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) i DMSO (8:2)

4.6.2. Antiproliferativna ispitivanja fenolnih homobifunkcionalnih spojeva **16**, **18** i **20**-**22**

Iako eksperimenti alkalne agarozne gel-elektroforeze i termalne denaturacije DNA nisu dali jednoznačan zaključak jesu li QM generirani iz spojeva **18** i **20**-**22** sposobni alkilirati odnosno križno povezati lance molekule DNA, odlučeno je ispitati utjecaj fenolnih homobifunkcionalnih spojeva na stanične linije humanih karcinoma. Navedeno ispitivanje provedeno je jer je poznato da čak i niska učinkovitost križnog povezivanja lanaca DNA može imati mjerljiv biološki utjecaj na proliferaciju stanica. *In vitro* antiproliferativna aktivnost QM generiranih fluoridom induciranim desililiranjem iz homobifunkcionalnih fenolnih spojeva **16**, **18** i **20**-**22** ispitana je na dvije stanične linije humanih karcinoma: MCF-7 i SUM159. Stanice su podijeljene u dvije skupine – stanice tretirane spojevima **16**, **18** i **20**-**22** te kalijevim fluoridom, te stanice koje su tretirane samo sa spojevima **16**, **18** i **20**-**22**. Također, provedena je inkubacija stanica s monofunkcionalnim spojem **14** sa i bez dodatka kalijevog fluorida. Nakon 72 sata inkubacije proveden je MTT test. Dobivene aktivnosti, izražene kao IC_{50} (koncentracija koja uzrokuje 50 % inhibicije rasta stanica) prikazane su u tablici 7.

Tablica 7. IC_{50} vrijednosti (μmol dm^{-3}) za spojeve **14**, **16**, **18** i **20-22**

	SUM159		**MCF-7**	
SPOJ	bez F^-	s F^- (1mM)	bez F^-	s F^- (1mM)
16	>100	>100	>100	>100
18	>100	>100	>100	>100
20	>100	>100	>100	>100
21	>100	>100	>100	77 ± 27
22	>100	>100	>100	>100
14	>100	63,5 ± 0,6	>100	24 ± 2

Prema rezultatima MTT testa, jedino je spoj **14** nakon aktivacije kalijevim fluoridom imao umjerenu antiproliferativnu aktivnost na MCF-7 staničnoj liniji. Također, pojačana citotoksičnost primijećena je nakon aktivacije spoja **14** kalijevim fluoridom na staničnoj liniji SUM159, međutim taj učinak se može pripisati toksičnosti kalijevog fluorida prema SUM159 staničnoj liniji. Malo poboljšanje citotoksičnosti opaženo je na MCF-7 staničnoj liniji nakon aktivacije spoja **21** kalijevim fluoridom. Provedeno ispitivanje pokazalo je da homobifunkcionalni spojevi **16**, **18** i **20-22** u prisutnosti kalijevog fluorida ne pokazuju citotoksičnost na ispitanim staničnim linijama humanih karcinoma. Iako se QM mogu generirati, njihova sposobnost alkiliranja najvjerojatnije nije dovoljna da bi se očitovala kao antiproliferativna aktivnost. Također, izostanak antiproliferativne aktivnosti moguće je povezati s nemogućnošću alkiliranja molekule DNA kao i generiranja bis-QM.

4.6.3. Antiproliferativna ispitivanja naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37**

Bez obzira na negativan rezultat dobiven alkalnom gel-elektroforezom, koji se može pripisati robusnosti metode, odlučeno je ispitati *in vitro* antiproliferativnu aktivnost naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37**. Istraživanje je provedeno na tri stanične linije humanih karcinoma: MCF-7, SUM159 i NCI-H1299. Stanice su inkubirane spojevima i držane u mraku ili osvjetljavane (6×8 W lampe, 350 nm, 3×5 min). Nakon 72 sata od posljednjeg osvjetljavanja stanica proveden je MTT test. Aktivnosti su izražene kao IC_{50} i prikazane su u tablici 8.

Tablica 8. IC_{50} vrijednosti (μmol dm^{-3}) za naftolne homobifunkcionalne spojeve **33-37**

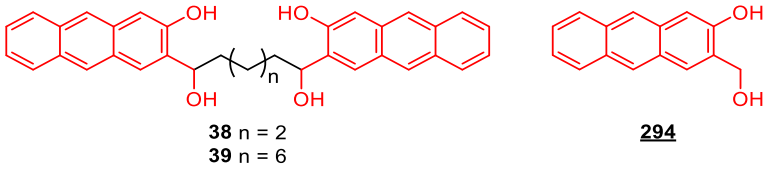
	H1299		**SUM159**		**MCF-7**	
SPOJ	bez *h*ν	s *h*ν	bez *h*ν	s *h*ν	bez *h*ν	s *h*ν
33	14,7 ± 0,7	3 ± 2	13,9 ± 0,5	1,79 ± 0,01	13 ± 2	2,1 ± 0,5
34	15,3 ± 0,3	9 ± 4	14,84 ± 0,02	5 ± 1	14,5 ± 0,7	12 ± 1
35	16,0 ± 0,3	7 ± 5	15,74 ± 0,05	4,1 ± 0,4	15 ± 1	7 ± 5
36	11,72 ± 0,03	5 ± 1	7 ± 2	3,5 ± 0,3	1,4 ± 0,4	3,2 ± 0,5
37	15 ± 3	13 ± 1	10 ± 4	4,4 ± 0,3	13 ± 4	4 ± 1
psoralen	>100	< 0,01	>100	< 0,01	3 ± 3	< 0,01

Prema vrijednostima dobivenim MTT testom, vidljivo je da ispitani spojevi **33-37** pokazuju antiproliferativnu aktivnost u mikromolarnim koncentracijama čak i bez osvjetljavanja, međutim, aktivnost im se povećava uz osvjetljavanje. Najznačajnije povećanje aktivnosti uz osvjetljavanje pokazuju spojevi **33** i **34** na SUM159 staničnoj liniji. S obzirom da je preparativnom fotometanolizom posredno, a LFP mjerenjima i neposredno dokazan nastanak QM, povećana antiproliferativna aktivnost možda se može pripisati mogućnosti fotokemijskog generiranja QM.

4.6.4. Antiproliferativna ispitivanja antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39**

U priješnjem istraživanju[321] pokazano je da monofunkcionalni antracenski spoj **294** bez osvjetljavanja ne pokazuje antiproliferativnu aktivnost (nije toksičan) na HCT116, H460 i MCF-7 staničnim linijama, dok uz osvjetljavanje na 420 nm ima značajnu antiproliferativnu aktivnost.[321] Iz navedenog razloga očekuje se zanimljiva antiproliferativna aktivnost antrolnih bifunkcionalnih spojeva **38** i **39**. Naime spojevi **38** i **39** sadrže dva antracenska spoja **294** povezana alkilnom poveznicom (slika 57). Osim mogućnosti stvaranja QM, za spoj **294** u preparativnim fotokemijskim eksperimentima provedenim u otopinama zasićenim kisikom pokazana je i mogućnost stvaranja singletnog kisika, što je posljedica djelovanja spoja **294** kao fotosenzibilizatora. Kako se reakcija generiranja singletnog kisika odvija s niskim kvantnim prinosom, može se pretpostaviti da singletni kisik malo pridonosi ukupnom povećanju

antiproliferativne aktivnosti te stoga fotogenerirani QM ima glavnu ulogu u povećanju antiproliferativne aktivnosti[321]



38 n = 2
39 n = 6

294

Slika 57. Strukturne formule antrolnih homobifunkcionalnih spojeva **38** i **39** i monofunkcionalnog spoja **294** čija je antiproliferativna aktivnost ranije opisana[321]

Spojevima **38** i **39** ispitana je antiproliferativna aktivnost na tri stanične linije humanih karcinoma: MCF-7, SUM159 i NCI-H1299. Stanice su inkubirane spojevima i držane u mraku ili osvjetljavane (6×8 W lampe, 420 nm, 3×10 min). Nakon 72 sata od posljednjeg osvjetljavanja stanica proveden je MTT test. Aktivnosti izražene kao IC_{50} prikazane su u tablici 9.

Tablica 9. IC_{50} vrijednosti (μmol dm^{-3}) za antrolne homobifunkcionalne spojeve **38** i **39**

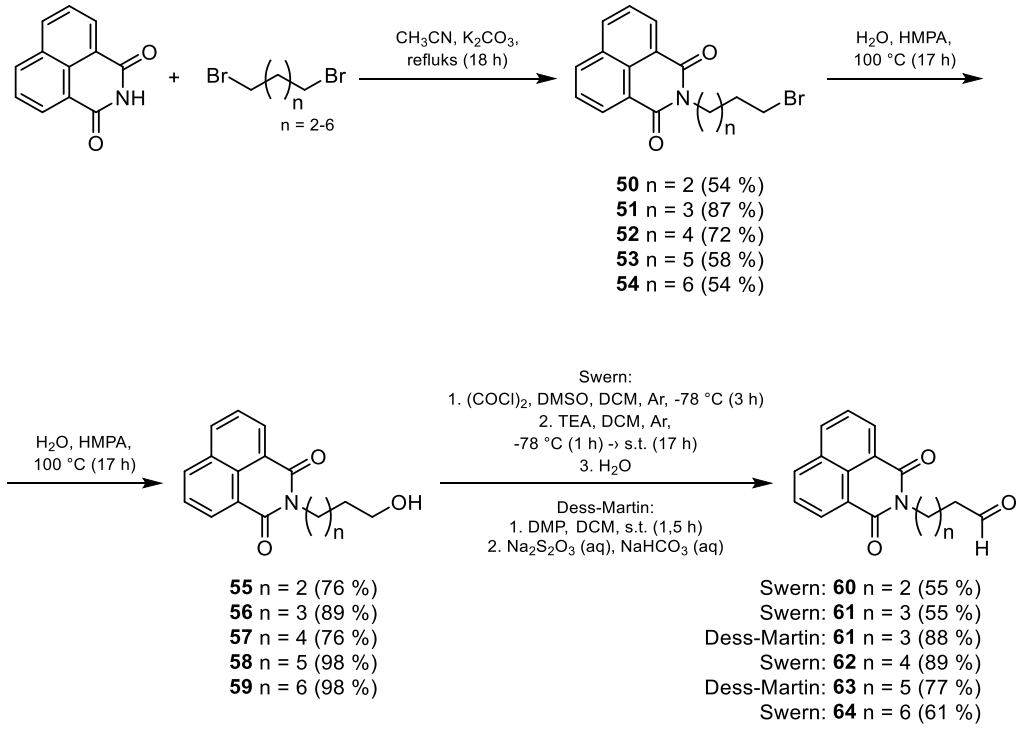
	H1299		**SUM159**		**MCF-7**	
SPOJ	bez *hν*	s *hν*	bez *hν*	s *hν*	bez *hν*	s *hν*
38	23 ± 12	0,7 ± 0,6	15 ± 6	0,19 ± 0,04	17 ± 5	1 ± 1
39	40 ± 27	3 ± 2	9 ± 2	1,6 ± 0,4	3 ± 3	2 ± 1

Kod spojeva u antrolnoj homobifunkcionalnoj seriji **38** i **39**, prema rezultatu MTT testa antiproliferativna aktivnost je pojačana osvjetljavanjem (λ_{max} = 420 nm). Iako spojevi posjeduju antiproliferativnu aktivnost i bez osvjetljavanja, ona je čak 10 – 100 puta pojačana osvjetljavanjem. Povećana antiproliferativna aktivnost posebno je uočljiva kod spoja **39** na H1299 staničnoj liniji. S obzirom na mnoštvo spojeva koji nastaju fotokemijskom reakcijom, što je pokazano u reakciji solvolize (metanolize), upitno je možemo li aktivnost spojeva **38** i **39** pripisati samo djelovanju QM ili su za antiproliferativnu aktivnost odgovorni i nastali fotoprodukti. Također, važno je napomenuti da je na primjeru spoja **294** konfokalnom mikroskopijom pokazano da navedeni spoj ne ulazi u jezgru stanice, već se lokalizira u citoplazmi.[321] Povlačeći analogiju sa spojem **294**, molekulu DNA vjerojatno ne možemo smatrati ciljnom molekulom djelovanja spojeva **38** i **39**. Vrlo vjerojatno spojevi **38** i **39** u fotokemijskim reakcijama stvaraju QM i druge fotokemijske produkte koji reagiraju s

proteinima prisutnim u citoplazmi što se u konačnici očituje kao povećana antiproliferativna aktivnost.

4.7. Priprava 1,8-naftalimidnih prekursora za Grignardovu reakciju

Konvergentni sintetski put priprave obje podserije heterobifunkcionalnih spojeva sastoji se od dva dijela. Prvi dio je priprava *O*-zaštićenog-3-bromnaftola čija je sinteza literaturno opisana (shema 90).[22,292] Drugi dio konvergentne sinteze, u slučaju prve podserije heterobifunkcionalnih spojeva, priprava je aldehida **60**-**64** prikazana na shemi 88, a sastoji se od tri reakcijska koraka. Prvi korak je *N*-alkilacija komercijalno dostupnog 1,8-naftalimida s 1,ω-alkil-dibromidima, nakon koje slijedi supstitucija bromida u hidroksilnu skupinu i na kraju oksidacija u aldehid. Aldehidi **60**-**64** koriste se kao prekursori u Grignardovim reakcijama.



Shema 88. Priprava *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida

Prvi korak sinteze aldehida **60**-**64** su reakcije *N*-alkilacije 1,8-naftalimida. Navedene reakcije literaturno[303] su opisane, te su uz male modifikacije pripremljeni bromidi **50**-**54**, koji su svi, osim spoja **53**, opisani u literaturi.[303]

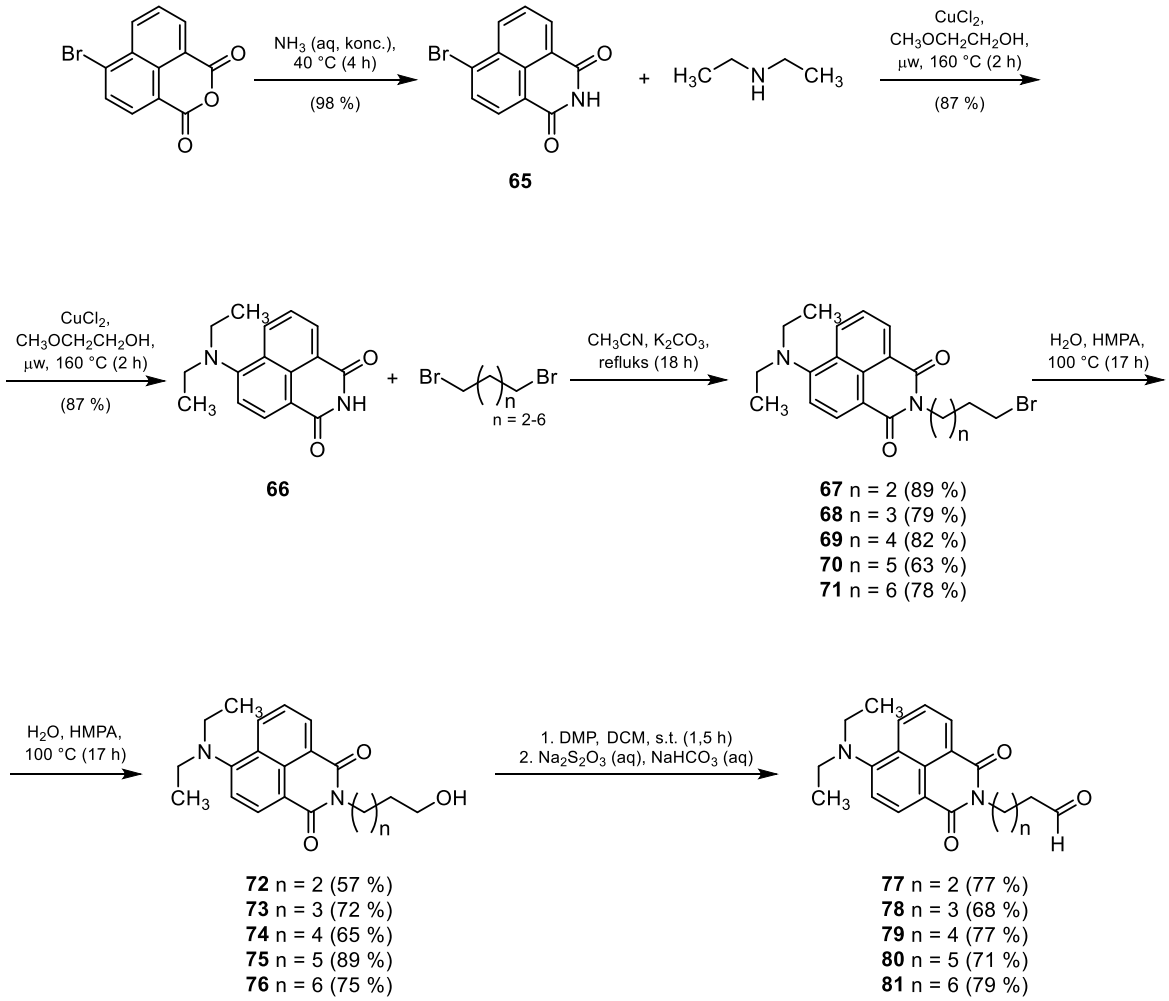
Sljedeći korak u sintezi, supstitucija bromida u hidroksilnu skupinu na *N*-alkilbromid-1,8-naftalimidnom supstratu, nije literaturno opisana. U literaturi je pronađen jednostavan postupak

provođenja reakcije supstitucije –Br u –OH na derivatima ftalimida. Naime, u patentu[351] je navedeno da zagrijavanjem smjese ftalimidnih *N*-alkilbromida i vode u HMPA kao otapalu dolazi do supstitucije –Br u –OH. Vodeći se time, bromidi **50**-**54** prevedeni su u odgovarajuće alkohole **55**-**59**. Reakcije supstitucije provedene su s vrlo dobrim prinosima (76 – 98 %). Alkoholi **58** i **59** do sada nisu literaturno opisani. S obzirom da su u reakciji korišteni samo voda i HMPA, obrada reakcije bila je vrlo jednostavna. Zbog dobre topljivosti HMPA u organskim otapalima često nakon ekstrakcije u organskom sloju zaostaju veće količine HMPA. Jednostavnim „pranjem" ekstrakta razrijeđenom klorovodičnom kiselinom (1 mol dm^{-3}) i vodenom otopinom litijevog klorida (5 %) moguće je ukloniti čak i tragove HMPA te kromatografsko čišćenje spojeva nije potrebno. Alkoholi **55**-**59** su zatim u posljednjem stupnju priprave oksidirani u odgovarajuće aldehide.

Reakcije oksidacije alkohola u aldehid na *N*-alkilhidroksi-1,8-naftalimidnom supstratu do sada nisu literaturno opisane te je reakcije bilo potrebno osmisliti i optimizirati. U literaturi je pronađeno nekoliko načina oksidacije alkohola u aldehid na *N*-hidroksialkil ftalimidnom supstratu.[352–356] Pokušana je reakcija Parikh-Doeringove oksidacije[356] (DMSO, SO_3×piridin) alkohola **57**, međutim konverzija u produkt bila je manja od 6 %. Iz navedenog razloga, isprobana je Swernova oksidacija.[354] Nakon optimizacije reakcijskih uvjeta, alkoholi **55**-**57** i **59** su prevedeni u odgovarajuće aldehide **60**-**62** i **64**. Prinosi navedenih reakcija bili su zadovoljavajući (55 – 89 %), no provođenje Swernove reakcije zahtjeva niske temperature (–78 °C), rad u inertnoj, suhoj atmosferi, a uz to je reakcija dugotrajna. Također, reakcija zahtjeva dosta opreza prilikom obrade obzirom da je jedan od produkata reakcije dimetil-sulfid koji je vrlo neugodnog mirisa. Kako bi se izbjeglo provođenje Swernove reakcije, provedena je i optimizirana reakcija oksidacije alkohola **56** djelovanjem Dess-Martinovog perjodinana (DMP).[355] DMP je hipervalentni spoj joda koji nudi selektivnu i vrlo blagu metodu oksidacije alkohola u aldehide ili ketone.[357] Oksidacija se najčešće provodi u diklormetanu ili kloroformu pri sobnoj temperaturi, a reakcije obično završe nakon jednog do dva sata. Reakcija oksidacije alkohola **56** u svrhu priprave aldehida **61** provedena je Swernovom oksidacijom i Dess-Martinovom oksidacijom. Prinos Dess-Martinove oksidacije bio je 88 %, dok je Swernove bio 55 %. S obzirom na elegantnost metode i utrošak vremena, ali i bolji prinos, za pripravu aldehida u podseriji 4-supstituiranih-1,8-naftalimida korištena je samo Dess-Martinova oksidacija. Pripremljeni aldehidi **60**-**64** spektroskopski su okarakterizirani te su korišteni u sljedećem stupnju reakcije. Spojevi **61**-**64** do sada nisu opisani u literaturi.

4.8. Priprava 4-dietilamin - 1,8-naftalimidnih prekursora za Grignardovu reakciju

Sinteza druge podserije heterobifunkcionalnih spojeva zahtjeva pripravu 4-dietilamin-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida **77**-**81** (shema 89). Sinteza navedenih prekursora kao i većina međuprodukata u sintezi do sada nije opisana u literaturi. Iako se retrosintetski heterobifunkcionalne podserije znatno ne razlikuju, uvođenje dietilamina kao supstituenta na 1,8-naftalimidnu jezgru komplicira provođenje sinteze. Sinteza spojeva **77**-**81** prikazana je na shemi 89, a sastoji se od pet reakcijskih koraka. Sinteza kreće od komercijalno dostupnog 4-brom-1,8-naftanhidrida koji se u prvom koraku prevodi u odgovarajući imid **65**. Nakon toga slijedi nukleofilna aromatska supstitucija broma u dietilamin. Treći korak je *N*-alkilacija imidnog dušika na spoju **66** s 1,ω-alkil-dibromidima, koju slijedi supstitucija bromida u hidroksilnu skupinu i na kraju oksidacija alkohola u aldehid.



Shema 89. Priprava 4-dietilamin-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida

Prvi korak u sintezi aldehida **77-81**, prevođenje komercijalno dostupnog anhidrida u imid **65**, opisan je na nekoliko različitih načina u literaturi.[281,308,358,359] Odlučili smo sintezu provesti zagrijavanjem suspenzije anhidrida u koncentriranoj vodenoj otopini amonijaka na 40 °C do potpune konverzije u imid **65**.[308] Prinos reakcije je izvrstan (98 %) te je nastali produkt **65** korišten u daljnjoj sintezi.

Drugi korak sinteze uključuje nukleofilnu aromatsku supstituciju bromida u dietilamin. Navedena reakcija na sličnim supstratima opisana je u nekoliko radova.[360–362] Kombiniranjem eksperimentalnih navoda iz referenci,[360–362] priprava spoja je provedena optimiziranom reakcijom koja uključuje mikrovalno-potpomognutu sintezu uz bakrov(II) klorid kao katalizator. Prilikom optimizacije uočeno je da klasično zagrijavanje reakcijske smjese koja se sastoji od dietilamina, imida **65** i 2-metoksietanola pri 120 °C (u zatvorenom sustavu) kroz 2 h ne daje željeni produkt niti u tragovima. Dodatkom bakrovog(II) klorida nastanak produkta je uočen, a povećanje temperature i korištenje mikrovalnog zračenja dovodi do potpune konverzije imida **65** u spoj **66**. Nakon kromatografskog pročišćavanja, spoj **66** spektroskopski je okarakteriziran, a iskorištenje reakcije je iznosilo 87 %.

Alkilacija imidnog dušika 4-dietilamin-1,8-naftalimida (**66**) opisana je literaturi.[363] Kako su *N*-alkilacije imida ranije provedene na nesupstituiranom 1,8-naftalimidu, odlučeno je na jednak način provesti i *N*-alkilacije spoja **66**. Reakcije alkilacije provedene su u acetonitrilu i za razliku od 1,8-naftalimidne podserije zahtijevale su kromatografsko pročišćavanje. Reakcijama su pripravljeni bromidi **67-71** u zadovoljavajućim iskorištenjima (63 – 89 %). Spojevi su spektroskopski okarakterizirani i korišteni u sljedećem reakcijskom stupnju. Svi bromidi osim spoja **69** do sada nisu opisani u literaturi.

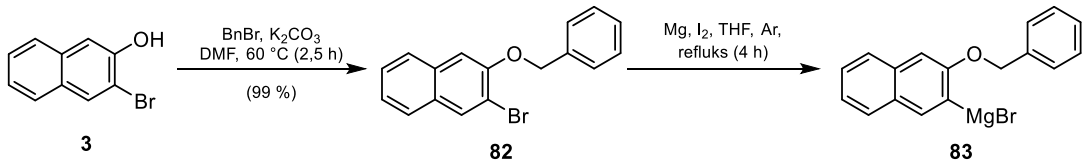
Četvrti korak u pripravi prekursora za Grignardovu reakciju je supstitucija –Br u –OH. Navedena reakcija provedena je na jednak način kao i priprava derivata **55-59**. S obzirom da je HMPA korištena kao otapalo, a produkti posjeduju bazičan dušikov atom (dietilamin), pranje organskog sloja nakon provedene ekstrakcije otopinom klorovodične kiseline nije bilo moguće (spoj zajedno s HMPA prelazi u vodeni, kiseli sloj). Bilo je nekoliko neuspješnih pokušaja uklanjanja HMPA iz spoja. Problem je riješen tako da je otopina spoja nanesena na stupac C18 silikagela koji je potom u nekoliko navrata ispran toplom vodom. Alkoholi **72-76** sa stupca C18 silikagela eluirani su metanolom nakon čega su kromatografski pročišćeni. Iskorištenje supstitucije kod priprave alkohola **72-76** iznosilo je 57 – 89 %. Alkoholi **72-76** spektroskopski su okarakterizirani. Spojevi **72-76** do sada nisu opisani u literaturi.

Posljednji korak priprave prekursora Grignardove reakcije je oksidacija alkohola u aldehid. Optimizacija oksidacije provedena je na 1,8-naftalimidnoj podseriji, stoga je korištenjem Dess-Martinovog perjodinana provedena priprava aldehida **77**-**81** uz zadovoljavajući prinos (68 – 79 %). Spojevi **77**-**81** spektroskopski su okarakterizirani, a aldehidi **77**-**81** do sada nisu opisani u literaturi.

4.9. Priprava heterobifunkcionalnih derivata Grignardovom reakcijom

Nakon provedenih sinteza prekursora, *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida i 4-dietilamin-*N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimida provedene su Grignardove reakcije s odgovarajućim Grignardovim reagensom pri čemu su pripremljeni spojevi koji u posljednjem koraku *O*-deprotekcijom daju ciljne heterobifunkcionalne molekule. Valja napomenuti kako je karbonilna skupina enantiotopna, Grignardovom reakcijom nastaje novi kiralni centar odnosno enantiomerni par. Enantiomeri heterobifunkcionalnih spojeva nisu odvajani.

Kako bi se pripravio Grignardov reagens, potrebno je zaštititi hidroksilnu skupinu bromida **3**. Iako postoji cijeli niz *O*-zaštitnih skupina koje su stabilne u uvjetima Grignardovih reakcija,[322] kao zaštita odabrana je benzilna (Bn) zaštitna skupina. Razlozi zato su njeno lako uvođenje Williamsonovom sintezom i lako uklanjanje (hidrogenoliza). Priprava Grignardovog reagensa **83**[22] prikazana je na shemi 90.

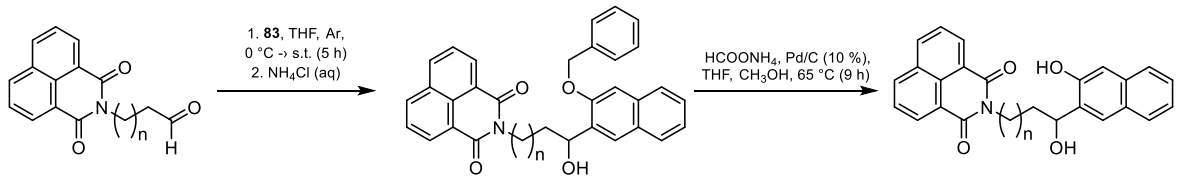


3 **82** **83**

Shema 90. Priprava Grignardovog reagensa **83**

Williamsonovom sintezom iz bromida **3** uz benzil-bromid u prisutnosti kalijevog karbonata kao baze pripravljen je benzilni derivat **82** u vrlo visokom prinosu (99 %) te je korišten u sljedećem reakcijskom koraku priprave Grignardovog reagensa **83**. Kako bi se postigla potpuna konverzija, reakcija nastanka Grignardovog reagensa praćena je UPLC-MS/UV-om (Dodatak 8.2.5). Optimalno vrijeme miješanja na temperaturi refluksa otopine bromida **3** u THF-u s magnezijem je 3,5 – 4 sata. Pripremljena otopina Grignardovog reagensa **83** u THF-u korištena je isti dan u reakcijama s aldehidima. Grignardove reakcije na supstratima sličnim aldehidima

60-**64** do sada nisu literaturno opisane, stoga je bilo potrebno optimizirati reakcijske uvjete. Slične Grignardove reakcije provedene su na *N*-alkilformil-ftalimidima.[352,364,365]



60 n = 2
61 n = 3
62 n = 4
63 n = 5
64 n = 6

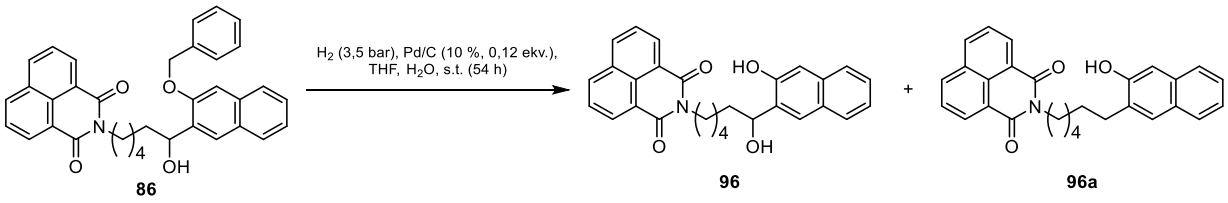
84 n = 2 (22 %)
85 n = 3 (21 %)
86 n = 4 (40 %)
87 n = 5 (27 %)
88 n = 6 (28 %)

94 n = 2 (39 %)
95 n = 3 (46 %)
96 n = 4 (58 %)
97 n = 5 (33 %)
98 n = 6 (15 %)

Shema 91. Priprava heterobifunkcionalnih spojeva **94**-**98**

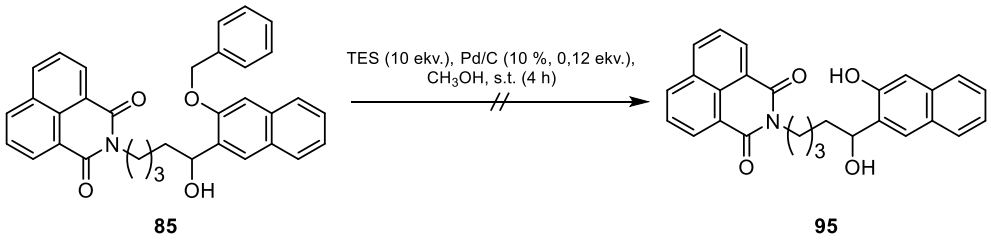
Kombiniranjem reakcijskih uvjeta iz literature,[352,364,365] reakcije priprave prve podserije heterobifunkcionalnih spojeva provedene su u inertnoj atmosferi i suhom THF-u kao otapalu (shema 91). Zbog mogućnosti reakcije imidnih skupina s Grignardovim reagensom,[366–370] prilikom dodatka Grignardovog reagensa reakcijske smjese su hlađene na oko 0 °C, a također su izbjegavani veliki suvišci dodanog Grignardovog reagensa što je postignuto razrjeđenjem i sporim dokapavanjem. Grignardov reagens je dodan u malom suvišku (0,1 – 0,3 ekvivalenata s obzirom na aldehid) jer je uočeno da u reakcijskoj smjesi zaostaje neizreagirani aldehid. Reakcijom Grignardovog reagensa **83** i aldehida **60**-**64** nakon izolacije dobiveni su alkoholi **84**-**88** uz prinose 21 – 40 %. Posljednji korak sinteze, s ciljem priprave heterobifunkcionalnih spojeva, je uklanjanje *O*-zaštitne benzilne skupine. U literaturi je opisan cijeli niz reakcija cijepanja benzilnih etera.[322] Najkorištenije metode uklanjanja benzilne zaštitne skupine su hidrogenolize uz katalizatore kao što je paladij na ugljenu,[22,371,372] paladijev(II) acetat[373] ili paladijev(II) hidroksid.[374] Osim klasične hidrogenolize, uklanjanje benzilnih etera moguće je paladijem kataliziranom transfer hidrogenolizom pri čemu se kao izvor vodika koriste cikloheksen,[375,376] trietilsilan[377] ili amonijev formijat.[378,379] Navedene metode su blagi postupci uklanjanja benzilnih etera što je pogodno s obzirom na složenost strukture supstrata **84**-**88** s kojih se uklanja benzilna skupina. U literaturi se za uklanjanje benzilne zaštitne skupine, također navodi primjena ozona[380] ili bromovodične kiseline u ionskoj tekućini,[381] međutim navedene metode nisu razmatrane. S ciljem optimizacije uklanjanja benzilne zaštitne skupine, proveden je niz eksperimenata. Pokušaj uklanjanja benzilne zaštitne skupine hidrogenolizom uz Pd/C prema opisanom postupku[22] ne daje željeni produkt. Nakon 48 h u reakcijskoj smjesi primijećen je samo početni spoj **85**. Reakcija uklanjanja ponovno je provedena na spoju **86**, ali

uz veću količinu katalizatora (Pd/C, 10 %, 0,12 ekv.) i bez „trovanja“ katalizatora piridinom; kao otapalo korištena je smjesa otapala THF - H_2O (100:1) (shema 92).



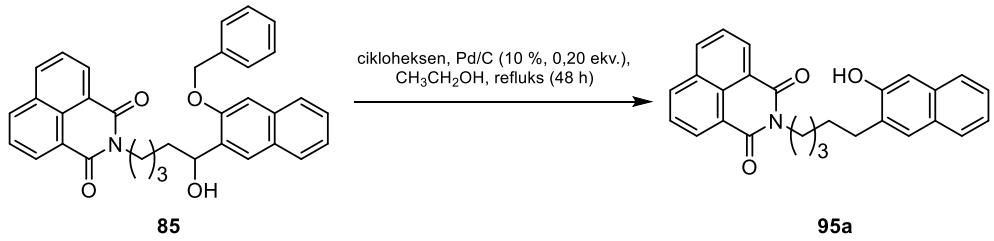
Shema 92. Pokušaj uklanjanja benzilne zaštitne skupine hidrogenolizom uz Pd/C (10%, 0,12 ekv.)

Prema UPLC-MS/UV analizi nakon 6 sati hidriranja, omjer **86** : **96** : **96a** u reakcijskoj smjesi je bio 3,8 : 1 : 1,8, a nakon 54 sata hidriranja 1 : 1,4 : 1,3. S obzirom da i nakon 54 sata hidriranja u reakcijskoj smjesi postoji znatna količina neizreagiranog početnog materijala, a uz produkt **96** u jednakoj količini nastaje i nusprodukt **96a**, uklanjanje benzilne zaštitne skupine klasičnom hidrogenolizom odbačeno je kao metoda priprave ciljnih molekula. Iz navedenog razloga, pokušane su metode paladijem katalizirane transfer hidrogenolize.[375–379] Prema opisanom postupku[377] u kojem autori navode da *in situ* generirani vodik dobiven reakcijom trietilsilana (TES) i paladija kao katalizatora rezultira brzom i učinkovitom metodom uklanjanja benzilne zaštitne skupine u blagim, neutralnim uvjetima. Reakcija uklanjanja benzilne zaštitne skupine uz TES i Pd/C kao katalizator prikazana je na shemi 93, a provedena je prema modificiranom propisu.[377] Konverzija početnog spoja **85** u željeni produkt **95** nije uočena.



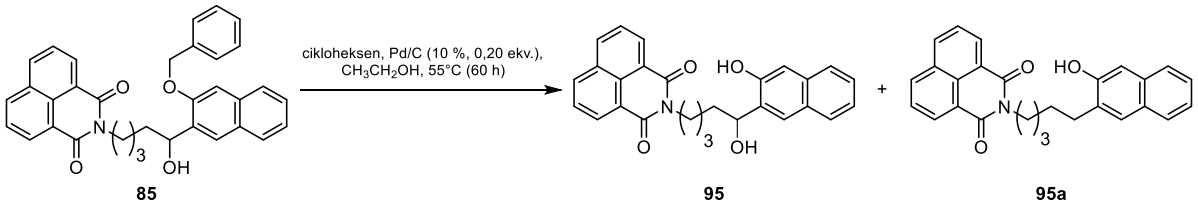
Shema 93. Pokušaj uklanjanja benzilne zaštitne skupine transfer hidrogenolizom uz trietilsilan (TES)

Također, provedene su reakcije prema literaturi[375,376] u kojoj autori navode upotrebu cikloheksena kao donora vodika u reakcijama uklanjanja benzilne zaštitne skupine s naftolnih supstrata[375] kao i s aminokiselina (tirozina) u peptidnoj sintezi.[376] Reakcija uklanjanja benzilne zaštite transfer hidrogenolizom uz cikloheksen kao izvor vodika prikazana je na shemi 94.



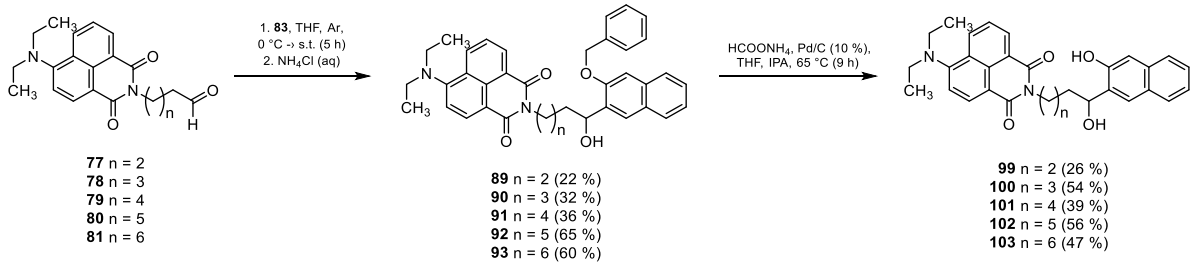
Shema 94. Pokušaj uklanjanja benzilne zaštitne skupine transfer hidrogenolizom uz cikloheksen

Nakon 2 sata refluksa, konverzija početnog spoja **85** u produkt **95** nije uočena te nastaje jedino spoj **95a**. Potpuna konverzija benzilnog etera **85** u spoj **95a** završena je nakon 48 h miješanja na temperaturi refluksa, a spoj **95a** je izoliran i spektroskopski okarakteriziran. Reakcija je ponovljena uz variranje temperature. Ukoliko se reakcijska smjesa grije na 40 °C kroz 16 sati, nastanak produkta **95** ili spoja **95a** nije uočen, međutim ukoliko se temperatura povisi na 55 °C nakon 15 sati nastaje željeni produkt **95** i spoj **95a** (shema 95).



Shema 95. Pokušaj uklanjanja benzilne zaštitne skupine transfer hidrogenolizom uz cikloheksen pri 55 °C

Prema UPLC-MS/UV analizi nakon 60 sati zagrijavanja na 55 °C, omjer **85** : **95** : **95a** u reakcijskoj smjesi je bio 1,3 : 1 : 1,8. Obzirom da konverzija početnog spoja **85** nije niti nakon 60 sati potpuna, a kao glavni produkt nastaje spoj **95a**, uklanjanje benzilne zaštitne skupine transfer hidrogenolizom uz cikloheksen odbačeno je kao metoda priprave ciljnih molekula. Zbog problema koji su se javili prilikom uklanjanja benzilne zaštitne skupine, razmatrane su i druge zaštitne skupine kao što su 4-metoksibenzilna (PMB-*O*), *tert*-butildimetilsililna (TBS-*O*) i metoksimetilna (MOM-*O*). Uklanjanje benzilne-zaštitne skupine paladijem kataliziranom transfer hidrogenolizom uz amonijev formijat[378] pokazalo se dobrim rješenjem te je uz male preinake prema opisanoj metodi[378] benzilna-zaštitna skupina uspješno uklonjena. Reakcije priprave prve podserije heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** provedene su uz iskorištenja 15 – 58 %. Spojevi **94-98** spektroskopski su okarakterizirani i korišteni u daljnim istraživanjima.



Shema 96. Priprava heterobifunkcionalnih spojeva **99-103**

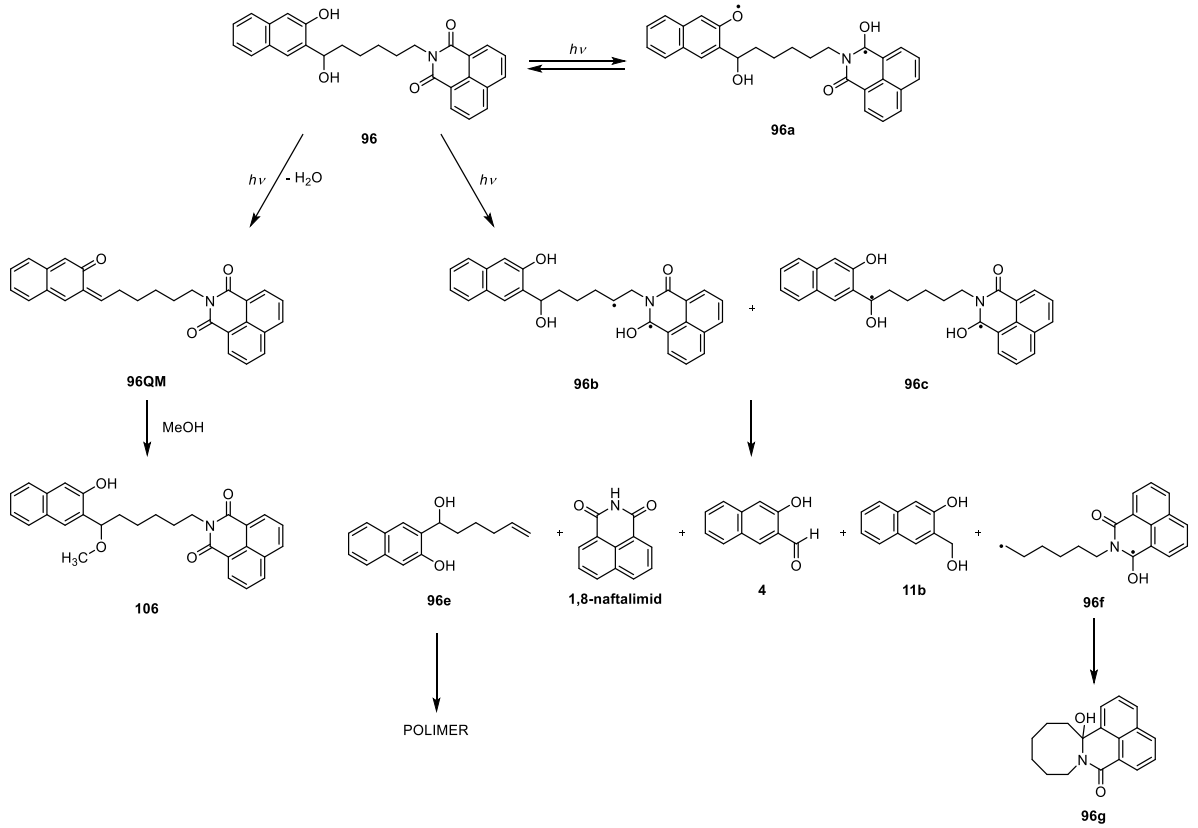
Kako je većina reakcijskih uvjeta bila optimizirana prilikom sinteze prve podserije heterobifunkcionalnih spojeva, priprava druge podserije heterobifunkcionalnih spojeva bila je znatno jednostavnija. Aldehidi **77-81** su u reakciji s Grignardovim reagensom **83** prevedeni u odgovarajuće alkohole **89-93**. Prinosi reakcija priprave spojeva **89-93** iznose 22 – 65 %. Posljednji korak sinteze je uklanjanje *O*-zaštitne skupine. U ovom reakcijskom koraku javlja se problem, naime, prilikom provedbe reakcije pri jednakim reakcijskim uvjetima kao i kod pripreme spojeva **94-98** uočeno je da uz korištenje jednake količine katalizatora (Pd/C) ne dolazi do nastanka željenih produkata. Navedeno opažanje najvjerojatnije je posljedica „trovanja“ paladija[382,383] spojem s obzirom da spojevi posjeduju dietilamino-skupine. Zbog navedenog razloga, korištena je veća količina paladija kao katalizatora. Reakcijama transfer hidrogenolize, koje su prikazane na shemi 96 pripremljeni su heterobifunkcionalni spojevi **99-103** uz iskorištenja 26 – 56 %. Spojevi **99-103** spektroskopski su okarakterizirani i korišteni u daljnim istraživanjima.

4.10. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva heterobifunkcionalnih spojeva

4.10.1. Fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva **94-98**

Obzirom da su reakcije generiranja QM fotodehidratacijom na naftolnom sustavu literaturno opisane,[384] s ciljem proučavanja reaktivnosti heterobifunkcionalnih spojeva provedene su reakcije fotosolvolize u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Preliminarna ispitivanja fotometanolize heterobifunkcionalnih spojeva provedena su na dvije različite valne duljine – λ = 254 nm i λ_{max} = 350 nm. Nakon 60 minuta osvjetljavanja pri obje valne duljine iz prekursora **96** u otopini metanol - voda (4:1) UPLC/MS-UV metodom dokazan je nastanak metoksi produkta **106** u malim količinama (1 – 2 %) (Dodatak 8.2.9). S obzirom da je efikasnost

fotometanolize bila veća pri 350 nm, reakcija preparativne fotometanolize spoja **96** provedena je uz osvjetljavanje pri 350 nm. Nakon osvjetljavanja, preparativnom HPLC-MS/UV-om su izolirane frakcije koje su i dalje sadržavale smjese produkata, a koje su potom analizirane UPLC-MS/UV-om i spektroskopijom NMR. Na temelju spektara NMR i MS ustanovljeno je da osim očekivanog eterskog produkta dolazi do odcjepljenja naftalimidnog dijela molekule što je vidljivo u UPLC-MS/UV kromatogramu (t_R (1,8-naftalimid) = 0,72 min, m/z = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,05). Poznato je da naftalimidi mogu reagirati u fotokemijskim reakcijama prijenosa atoma vodika[385] te je na temelju literature, spektara NMR i MS predložen mogući reakcijski mehanizam fotodegradacije spoja **96** (shema 97).



Shema 97. Pretpostavljeni mehanizam fotometanolize i fragmentacije spoja **96**

Kako je spoj **96** sastavljen od dva kromofora, naftalimida i naftola, za očekivati je da će sastav fotokemijske reakcijske smjese ovisiti o tome koji kromofor se pobuđuje. Veći udio fotoprodukata primijećen je pri osvjetljavanju na 350 nm. Kako bi se potvrdilo da i ostali spojevi iz prve podserije heterobifunkcionalnih spojeva fotokemijski reagiraju kao i spoj **96**, provedene su fotometanolize spojeva **94** i **98** te je UPLC-MS/UV-om potvrđeno da navedeni spojevi također daju niz fotoprodukata te da dolazi do odcjepljenja naftalimidnog dijela

molekule. Važno je napomenuti da je Freccero sa suradnicima[104] predložio reakcijski mehanizam nastajanja QM uz pobudu naftalimidnog kromofora i prijenos elektrona s fenola na naftalimid, kao što je spomenuto u literaturnom pregledu (2.1.4).[104] Na temelju dobivenih rezultata osvjetljavanja spojeva **94**, **96** i **98**, takav mehanizam nastajanja QM je također vjerojatan. Naime, zanimljiva je činjenica da pobuda na 350 nm gdje apsorbira naftalimidni dio molekule (vidi 4.10.4) također vodi do nastajanja metoksi-etera, što je neizravan dokaz generiranja QM.

S obzirom da fotometanolizom heterobifunkcionalnih spojeva nastaje niz fotoprodukata koje je teško međusobno odvojiti i izolirati, u svrhu karakterizacije priprava etera **104-108** provedena je i termički. Metanolne otopine spojeva **94-98** tretirane su sumpornom kiselinom, a nakon obrade reakcijskih smjesa eterski produkti **104-108** izolirani su preparativnim TLC-om te su spektroskopski okarakterizirani. Usporedbom UPLC-MS/UV kromatograma izoliranih etera **104-108** s UPLC-MS/UV kromatogramima sirovih fotosmjesa na temelju retencijskih vremena i *m/z* utvrđeno je da spojevi **104**, **106** i **108** nastaju u fotokemijskim reakcijama, ali u niskim prinosima (≈ 1 – 2 %). Dobiveni rezultat neizravan je dokaz mogućnosti generiranja QM iz heterobifunkcionalnih spojeva.

4.10.2. Kvantni prinosi reakcije fotometanolize spojeva **94-98**

Kvantni prinosi reakcija fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** određeni su u smjesi otapala metanol - voda (4:1) uz pobudu na 254 nm. Kao aktinometar korišten je kalijev jodid - kalijev jodat (Φ_{254} = 0,74).[311] Sastav osvjetljavanih otopina analiziran je UPLC-MS/UV-om. S obzirom da fotoreakcijom heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** nastaje više fotoprodukata, određivan je kvantni prinos nestajanja reaktanta metodom dodatka standarda (metanolna otopina dietil-ftalata). Vrijednosti kvantnih prinosa prikazane u tablici 10 srednje su vrijednosti dvaju mjerenja. Valja napomenuti da su mjerenja kvantnih prinosa provedena uz pobudu na 254 nm zbog mogućnosti korištenja monokromatskog izvora svjetla. Uz pobudu na 350 nm kvantni prinosi reakcije nestajanja reaktanta (fotometanolize) bili bi veći.

Tablica 10. Kvantni prinosi reakcije fotometanolize heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Kalijev jodid - kalijev jodat je korišten kao aktinometar (Φ_{254} = 0,74)[311]

SPOJ	$\Phi \times 10^5$
94	3,0 ± 0,3
95	2,6 ± 0,8
96	2,8 ± 0,5
97	3,5 ± 0,9
98	3,6 ± 0,8

Iako su kvantni prinosi reakcije fotometanolize vrlo mali, vidljiv je trend vrlo blagog porasta kvantnog prinosa (uz iznimku za spoj **94**) povećanjem duljine alkilne poveznice. Najmanji kvantni prinos ima spoj **95**, dok najveći kvantni prinos ima spoj **98**. Navedeno opažanje moglo bi objasniti biološku aktivnost heterobifunkcionalnih spojeva. Naime, u ispitivanjima antiproliferativne aktivnosti na staničnim linijama humanih karcinoma pokazano je da spoj **98** uz osvjetljavanje pri 300 nm ima najveću antiproliferativnu aktivnost.

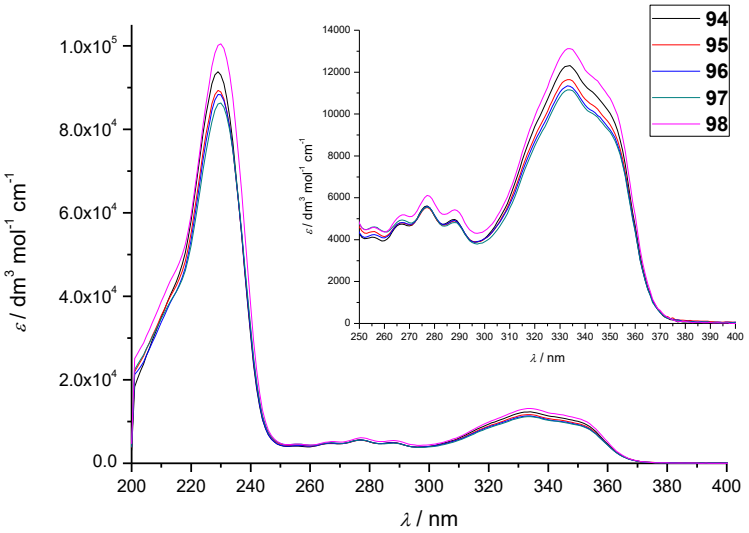
4.10.3. Fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva **99-103**

Da bi se ispitala fotokemijska reaktivnost heterobifunkcionalnih spojeva **99-103**, provedene su reakcije fotosolvolize u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Preliminarna ispitivanja fotometanolize provedena su na spoju **101** na četiri različite valne duljine – λ = 254 nm, λ_{max} = 300 nm, λ_{max} = 350 nm i λ_{max} = 420 nm. Nakon 60 – 120 minuta osvjetljavanja prekursora **101** u smjesi otapala metanol - voda (4:1), UPLC/MS-UV metodom kod osvjetljavanja pri 254 nm, 300 nm i 350 nm dokazan je nastanak metoksi produkta **111** u vrlo malim količinama (< 1 – 1,5 %) (Dodatak 8.2.9). Kod osvjetljavanja pri λ_{max} = 420 nm nastanak spoja **111** nije uočen ni u tragovima. S obzirom na fotokemijsku nereaktivnost, reakcije preparativne fotometanolize nisu provedene. Također, kvantni prinosi reakcije fotometanolize na podseriji spojeva **99-103** nisu određeni. S obzirom na vrlo slabu fotokemijsku reaktivnost spojeva **99-103**, eterski produkti **109-113** pripremljeni su termički. Nakon izolacije, spojevi su spektroskopski okarakterizirani. Usporedba kromatogramskih retencijskih vremena UPLC-MS/UV analize

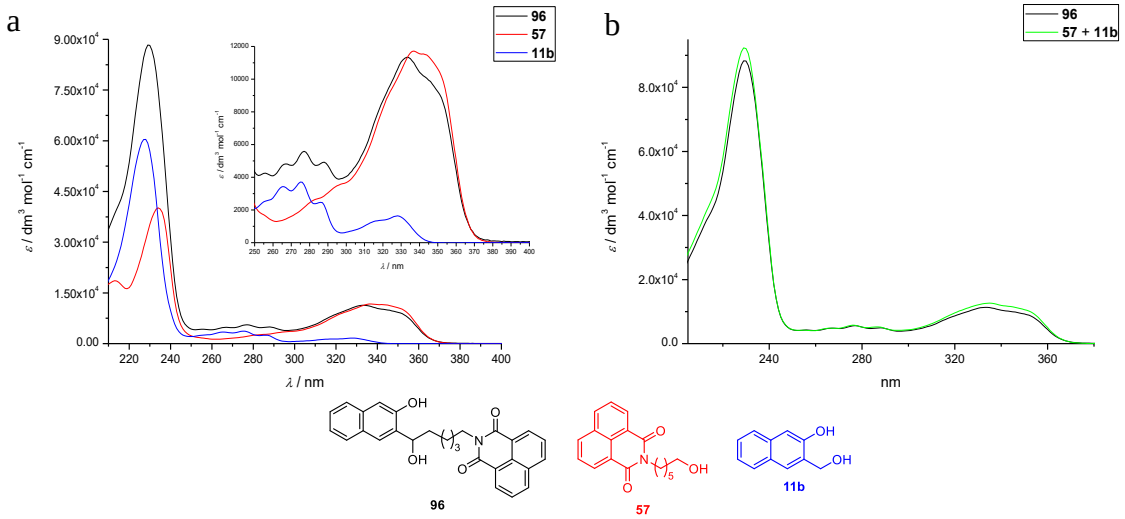
pripravljenog etera **111** i UPLC-MS/UV kromatograma sirove fotokemijske smjese spoja **101** omogućila je potvrdu na temelju retencijskog vremena i *m/z* da do fotometanolize, uz nastanak QM kao intermedijera dolazi, ali vrlo neučinkovito.

4.10.4. UV apsorpcijski spektri i fluorescencijska mjerenja spojeva **94-98**

Apsorpcijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** snimljeni su u smjesi otapala metanol - voda (4:1). Apsorpcijske spektre spojeva **94-98** karakteriziraju tri apsorpcijske vrpce na oko 230, 275 i 330 nm. Kako se radi o molekulama s dva različita kromofora, kako bi se dobio bolji uvid o njihovim spektroskopskim svojstvima, uspoređeni su apsorpcijski spektar spoja **96** s apsorpcijskim spektrima naftola **11b** i naftalimida **57** (slika 59). Na temelju apsorpcijskih spektara prikazanih na slici 58 čini se da dva kromofora u spojevima **94-98** ne stupaju u interakciju u osnovnom stanju jer apsorpcijski spektar spoja **96** izgleda kao zbroj apsorpcijskih spektara zasebnih kromofora, odnosno zbroj spektara spojeva **57** i **11b** što je vidljivo na slici 59 b. Važno je napomenuti da se kod fotoliza uz korištenje lampi koje imaju maksimum na oko 350 nm pobuđuje samo naftalimidni dio molekule (ε_{350} (**57**) = 10625 dm^3 mol^{-1} cm^{-1}), dok se na 254 nm gotovo podjednako pobuđuju oba kromofora (ε_{254} (**11b**)= 2414 dm^3 mol^{-1} cm^{-1}, ε_{254} (**57**) = 1761 dm^3 mol^{-1} cm^{-1}). Naime, zanimljiva je činjenica da pobuda na 350 nm, gdje apsorbira naftalimidni dio molekule, također vodi do nastajanja metoksi-etera (neizravan dokaz generiranja QM). Navedeno opažanje u skladu je s mehanizmom kojeg je predložio Freccero sa suradnicima (Shema 25).[104]

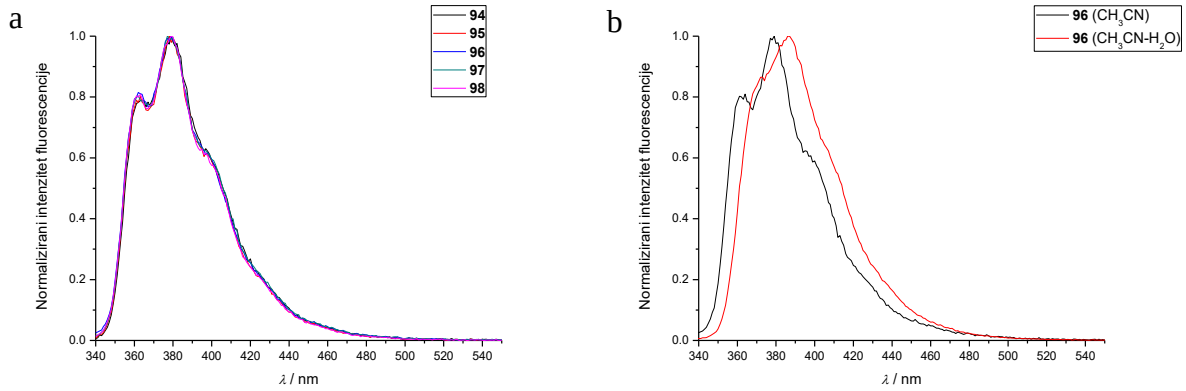


Slika 58. Apsorpcijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **94**-**98** u smjesi otapala metanol - voda (4:1)



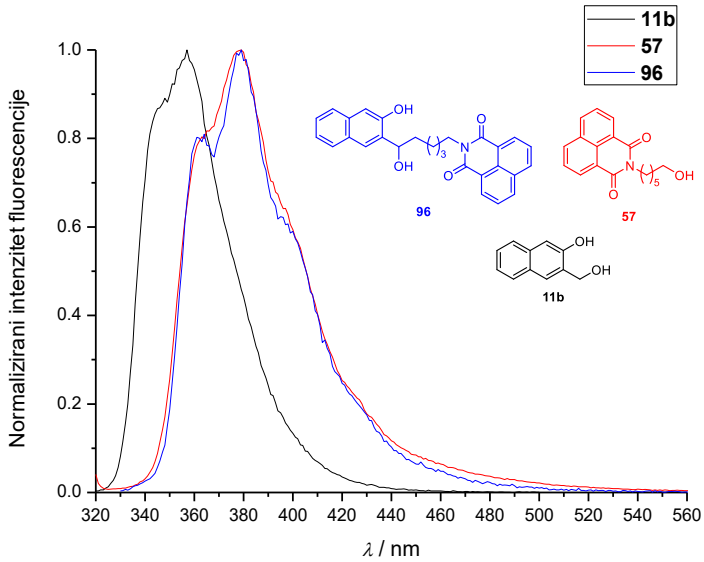
Slika 59. (a) Apsorpcijski spektri spojeva **96**, **57** i **11b** i (b) zbrojeni apsorpcijski spektri spojeva **57** i **11b** preklopljeni s apsorpcijskim spektrom spoja **96** u smjesi otapala metanol - voda (4:1)

Kao što je navedeno kod homobifunkcionalnih spojeva, reakcije fotosolvolize koje se događaju preko QM intermedijera odvijaju se preko singletnog pobuđenog stanja.[21,45,386–391] Kako bi se dobio uvid u svojstva i reaktivnost heterobifunkcionalnih spojeva u singletnom pobuđenom stanju, provedena su fluorescencijska mjerenja; snimljeni su fluorescencijski spektri spojeva **94**-**98** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1).



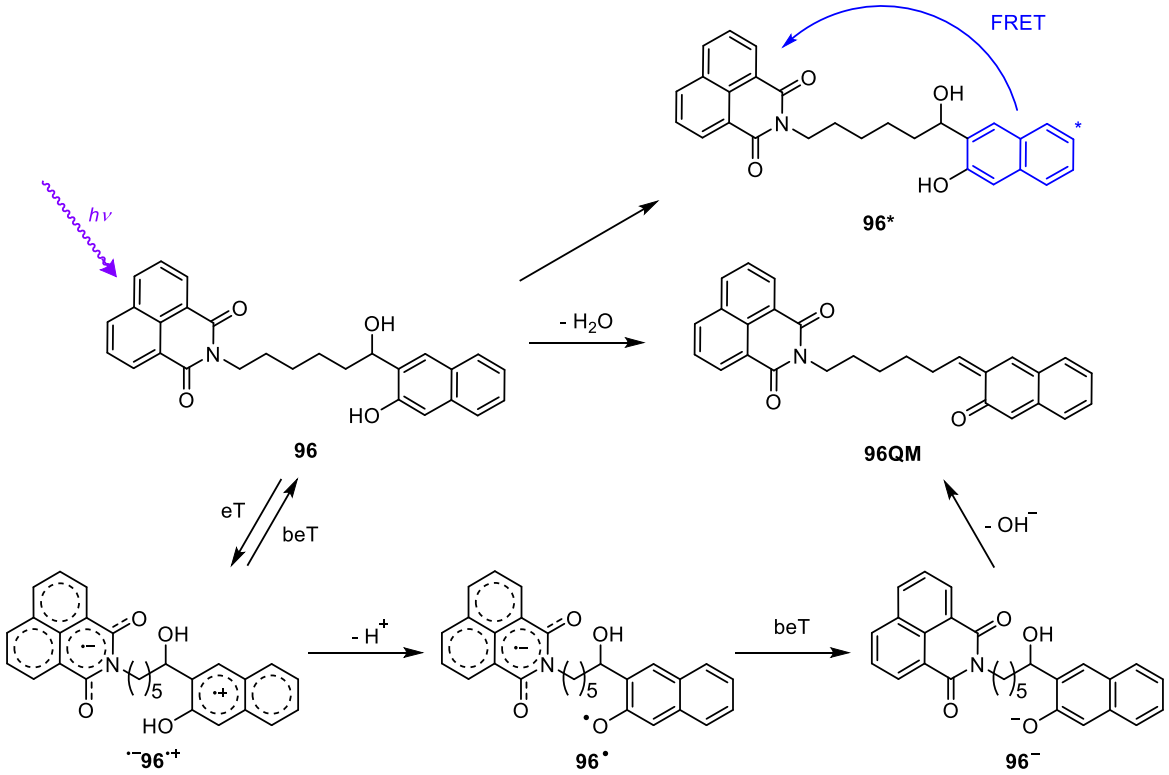
Slika 60. (a) Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** u acetonitrilu, (b) preklopljeni emisijski fluorescencijski spektri spoja **96** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) snimljeni pri 25 °C uz valnu duljinu pobude 320 nm

Emisijske fluorescencijske spektre spojeva **94-98** u acetonitrilu (slika 60 a) karakterizira emisijski maksimum na 379 nm, kao i izražena vibronska struktura. U smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) dolazi do blagog batokromnog pomaka maksimuma vrpce na 386 nm, a vibronska struktura je manje izražena što je karakteristično za spektre snimane u polarnim, protičnim otapalima (slika 60 b). U spektrima snimljenim u smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) ne javljaju se nikakve dodatne vrpce koje bi pripadale naftolatu nastalom deprotoniranjem u pobuđenom stanju.



Slika 61. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri spojeva **96**, **57** i **11b** u acetonitrilu snimljeni pri 25 °C. λ_{ex} = 310 nm za spojeve **11b** i **57** i λ_{ex} = 320 nm za spoj **96**

Preklapanjem emisijskih fluorescencijskih spektara spojeva **96**, **57** i **11b** snimljenih u acetonitrilu (slika 61) vidljivo je da se emisija heterobifunkcionalnih molekula događa iz naftalimidnog kromofora, a ne iz naftola što ujedno objašnjava zašto nije primijećena emisijska vrpca naftolata u protičnom otapalu. Kako heterobifunkcionalni spojevi posjeduju dva kromofora, a apsorpcijski spektar naftalimida se preklapa s emisijskim spektrom naftola, nakon pobude naftola dolazi do prijenosa energije bez zračenja s naftola na naftalimid – FRET (*engl. Förster resonance energy transfer*).



Shema 98. Mogući reakcijski putevi nakon fotoaktivacije heterobifunkcionalnih spojeva prikazan na primjeru spoja **96** (eT - prijenos elektrona, beT - povratni prijenos elektrona)

Tablica 11. Kvantni prinosi fluorescencije heterobifunkcionalnih spojeva **94-98** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). Otopina kinin-sulfata u sumpornoj kiselini (c = 0,5 mol dm^{-3}) korištena je kao standard (Φ_R = 0,546)[312]

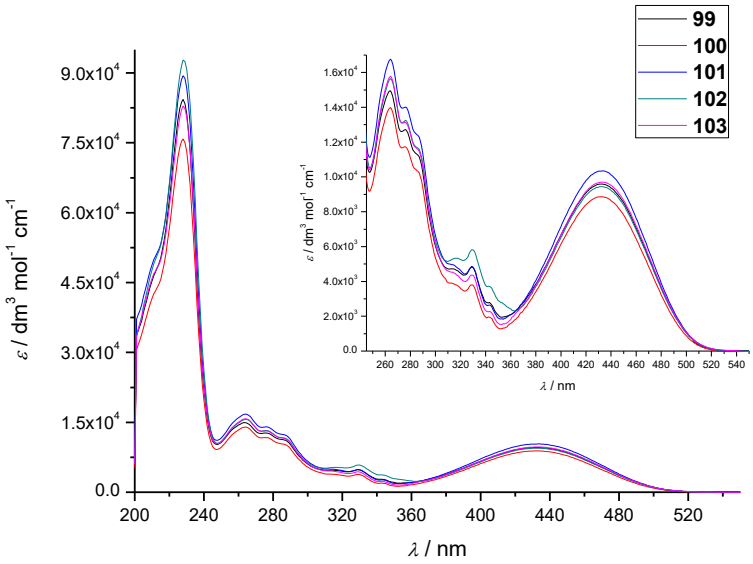
SPOJ	Φ (CH_3CN)×10^3	Φ (CH_3CN-H_2O) (4:1)×10^3
94	12 ± 1	14,3 ± 0,7
95	15 ± 2	32,6 ± 0,5
96	16 ± 2	37,4 ± 0,7
97	17 ± 2	40 ± 1
98	18 ± 2	48,2 ± 0,9

Kvantni prinosi fluorescencije u acetonitrilu su niski, što se može objasniti postojanjem relaksacijskog puta bez zračenja. Također, uočljivo je da postoji mala razlika u kvantnim prinosima fluorescencije obzirom na duljinu alkilne poveznice, tako da spoj **94** ima najmanji kvantni prinos fluorescencije, dok spoj **98** ima najveći kvantni prinos fluorescencije. Iako se radi o vrlo malim razlikama, navedeno opažanje bi se moglo protumačiti međudjelovanjem dvaju kromofora u pobuđenom stanju. Poznato je da je naftalimid dobar oksidans u pobuđenom stanju.[392] Fotoinducirani prijenos elektrona uz nastajanje naftol-radikal-kationa i naftalimid-radikal-aniona moguć je bilo pobudom naftola, bilo naftalimida. Mehanizam prijenosa elektrona (eT) prikazan na shemi 98, temeljen na mehanizmu reakcije, koji su predložili Freccero[104] i suradnici, objašnjava kako nastaju produkti metanolize pobudom naftalimidnog kromofora. Međutim, niski kvantni prinosi reakcije fotometanolize vjerojatno su posljedica učinkovitog povratnog prijenosa elektrona (beT), bržeg no što je prijenos protona kojim nastaje tranzijentna čestica **96**$^{\bullet}$. Kako navedeni prijenos elektrona ovisi o udaljenosti donora i akceptora, razlike u kvantnom prinosu fluorescencije mogle bi biti posljedica navedenog prijenosa elektrona. Ukoliko se usporede vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda vidljivo je da su kvantni prinosi veći u vodenom mediju. Razlog tome može biti što dodatkom vode može doći do stvaranja vodikovih veza između molekula vode i molekula spojeva. Navedena pojava je česta kod imidnih kromofora kojima se mijenjaju fotofizička svojstva dodatkom protičnih otapala, a spojevi često imaju veći kvantni prinos fluorescencije u protičnom otapalu.[393] Također, kao i u čistom acetonitrilu, u smjesi otapala acetonitril - voda ponovno se opaža trend porasta kvantnih prinosa fluorescencije

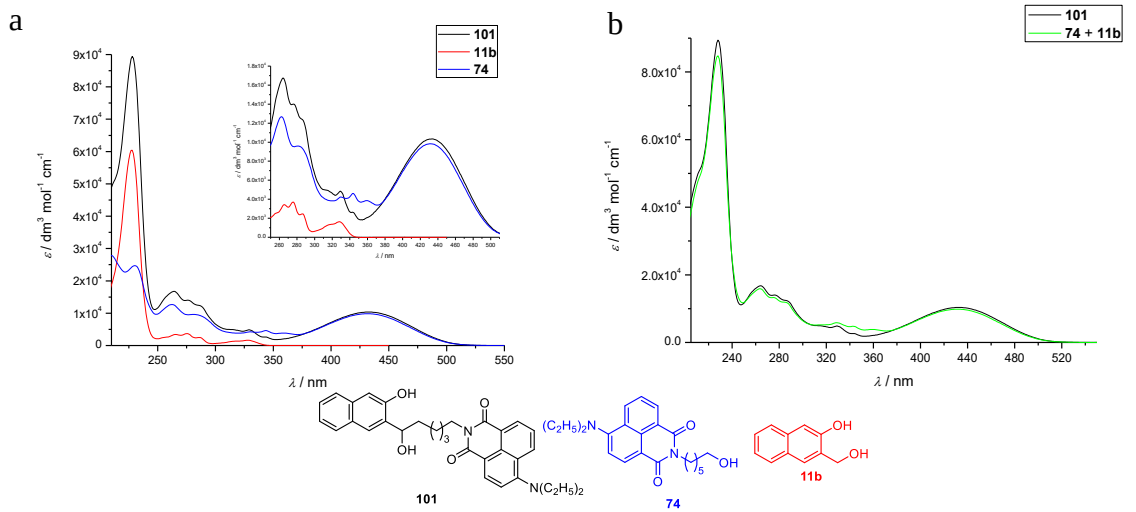
od spoja **94** s najkraćom alkilnom poveznicom prema spoju **98** s najdužom alkilnom poveznicom koji ima najveći kvantni prinos fluorescencije.

4.10.5. UV apsorpcijski spektri i fluorescencijska mjerenja spojeva **99-103**

Apsorpcijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **99-103** snimljeni su u smjesi otapala metanol - voda (4:1), a karakteriziraju ih četiri apsorpcijske vrpce na oko 230, 260, 330 i 430 nm. Vrpca na 430 nm pripisuje se naftalimidnom dijelu molekule, dok se vrpca pri 330 nm može pripisati naftolnom dijelu molekule. Kao i kod prve podserije heterobifunkcionalnih spojeva, iz apsorpcijskih spektara prikazanih na slici 62 čini se da dva kromofora u spojevima **99-103** ne stupaju u interakciju u osnovnom stanju. Na primjeru spoja **101**, vidljivo je da apsorpcijski spektar izgleda kao zbroj apsorpcijskih spektara zasebnih kromofora (**11b** i **74**) što je prikazano na slici 63.

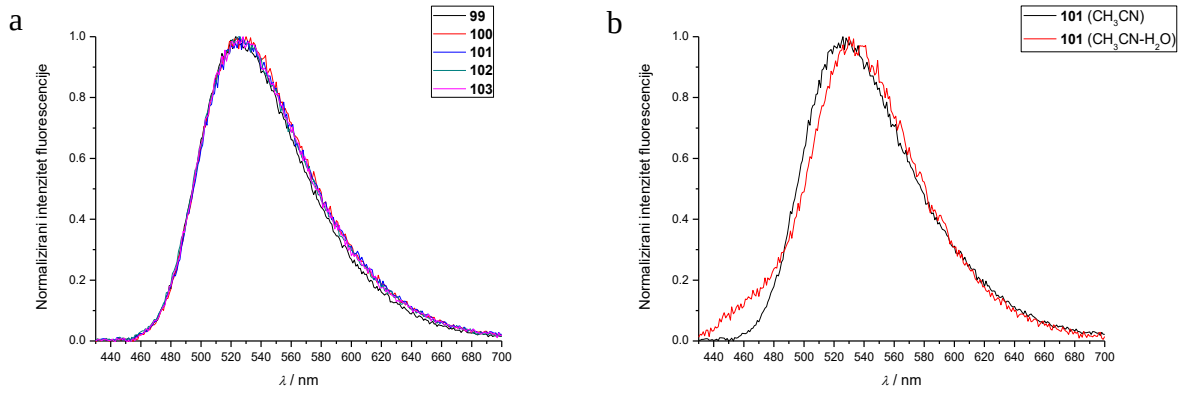


Slika 62. Apsorpcijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **99-103** u smjesi otapala metanol - voda (4:1)



Slika 63. (a) Apsorpcijski spektri spojeva **101**, **11b** i **74** i (b) zbrojeni apsorpcijski spektri spojeva **11b** i **74** preklopljeni s apsorpcijskim spektrom spoja **101** u smjesi otapala metanol - voda (4:1)

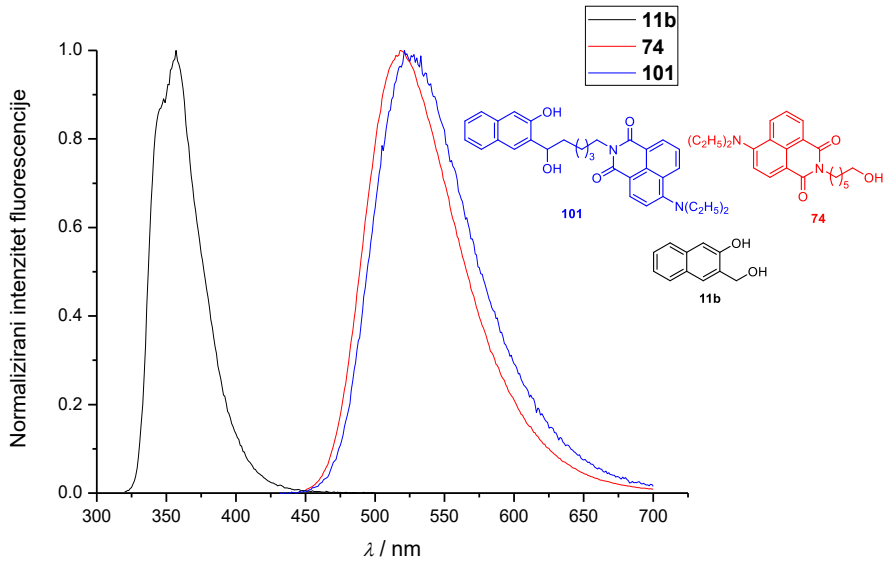
Fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **99**-**103** snimljeni su u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1).



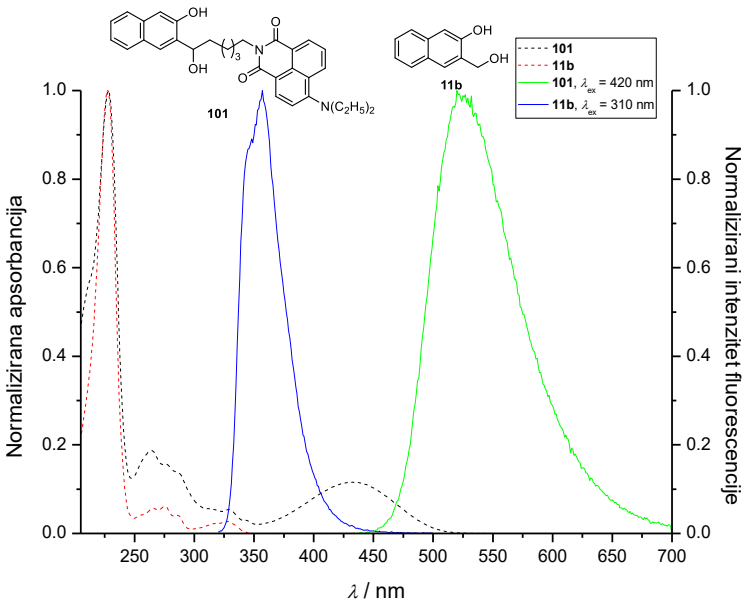
Slika 64. (a) Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **99**-**103** u acetonitrilu, (b) preklopljeni normalizirani emisijski fluorescencijski spektri spoja **101** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) snimljeni pri 25 °C uz valnu duljinu pobude 400 nm

Emisijske fluorescencijske spektre spojeva **99**-**103** u acetonitrilu karakterizira široka vrpca s maksimumom na oko 525 nm (slika 64 a). U smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) dolazi do vrlo blagog batokromnog pomaka maksimuma vrpce na 530 nm. Iz preklopljenih normaliziranih spektara snimljenih u acetonitrilu i smjesi acetonitril - voda vidi se vrlo mala

razlika u izgledima spektara (slika 64 b). U spektrima snimljenim u smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) ne javljaju se nikakve dodatne vrpce koje bi se mogle pripisati naftolatu nastalom deprotoniranjem u pobuđenom stanju. Navedeno opažanje je očekivano jer se bez obzira na valnu duljinu pobude detektira emisija samo iz naftalimidnog dijela molekule.



Slika 65. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri spojeva **101**, **74** i **11b** u acetonitrilu snimljeni pri 25 °C. λ_{ex} = 420 nm za spojeve **101** i **74** i λ_{ex} = 310 nm za spoj **11b**



Slika 66. Normalizirani emisijski fluorescencijski (—) i normalizirani apsorpcijski (- - -) spektri spojeva **101** i **11b**. Apsorpcijski spektri snimljeni su u smjesi otapala metanol - voda (4:1) pri sobnoj temperaturi. Fluorescencijski spektri snimljeni su u acetonitrilu pri 25 °C uz valne duljine pobude λ_{ex} = 420 nm za spoj **101** i λ_{ex} = 310 nm za spoj **11b**

Iz preklopljenih normaliziranih emisijskih fluorescencijskih i normaliziranih apsorpcijskih spektara spojeva **101**, **74** i **11b** (slika 65) vidljivo je izuzetno dobro preklapanje apsorpcijske vrpce amino-naftalimida s emisijskom vrpcom naftola, što ukazuje da pobudom naftola može doći do FRET-a i pobude aminonaftalimida (Dodatak 8.3.3, Prilog 182).

Tablica 12. Kvantni prinosi fluorescencije heterobifunkcionalnih spojeva **99-103** u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). Otopina akridin žuto (*acridine yellow*) u metanolu korištena je kao standard (Φ_R = 0,570)[313]

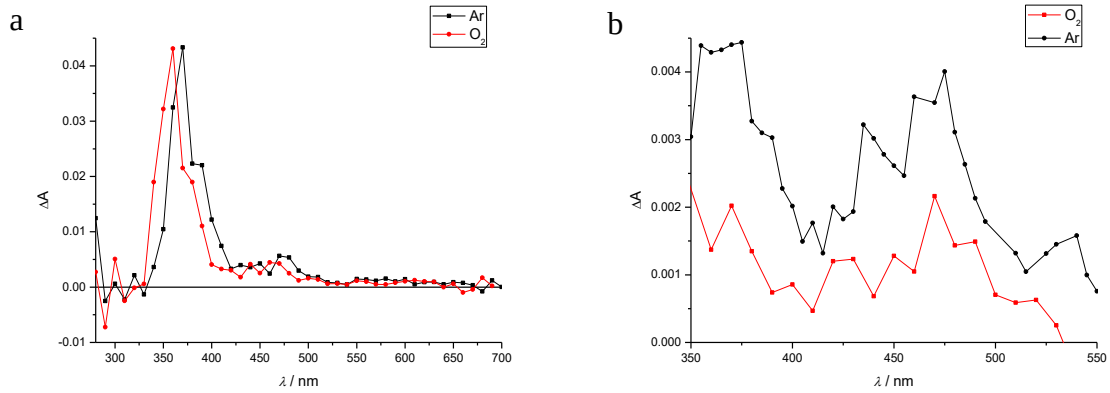
SPOJ	Φ (CH_3CN)×10^3	Φ (CH_3CN-H_2O) (4:1)×10^3
99	9,5 ± 0,4	4,4 ± 0,2
100	6,7 ± 0,1	2,86 ± 0,05
101	6,7 ± 0,1	3,61 ± 0,07
102	7,8 ± 0,1	3,12 ± 0,04
103	7,5 ± 0,2	3,89 ± 0,08

Kvantni prinosi fluorescencije za spojeve **99-103** prikazani su u tablici 12. Iznosi kvantnih prinosa u acetonitrilu su niski, što se može objasniti postojanjem neradijativnog relaksacijskog puta. Uočljivo je da postoji mala razlika u kvantnim prinosima fluorescencije obzirom na duljinu alkilne poveznice. Spoj **103** s najdužom poveznicom ima manji kvantni prinos fluorescencije, dok spoj **99** s najkraćom poveznicom ima najveći kvantni prinos fluorescencije. Navedeno opažanje moglo bi se objasniti različitom učinkovitosti FRET-a ovisno o duljini poveznice. Ukoliko se usporede vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije u acetonitrilu i smjesi otapala acetonitril - voda, za razliku od spojeva **94-98** kod kojih su kvantni prinosi veći u vodenom mediju, kod spojeva **99-103** vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije veće su u čistom acetonitrilu. Vjerojatan razlog tome je različita priroda pobuđenog stanja naftalimida. Naime, aminonaftalmidi pobudom stvaraju stanje prijenosa naboja (CT-stanje) (*charge transfer*) čiji kvantni prinos emisije jako opada u prisutnosti polarnih, protičnih otapala.[394–396] Kao i u čistom acetonitrilu, u smjesi otapala acetonitril - voda opaža se trend opadanja vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije od spoja **99** s najkraćom alkilnom poveznicom prema spoju **103** s najdužom alkilnom poveznicom. Kod ovih spojeva ne dolazi do prijenosa elektrona u pobuđenom stanju te se razlike potencijalno mogu objasniti različitom učinkovitošću FRET-a ovisno o duljini alkilne poveznice.

4.10.6. LFP mjerenja spojeva **94** i **99**

LFP (*laser flash photolysis*) mjerenja za spojeve **94** i **99** provedena su u acetonitrilu ili smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (1:1) (pH = 7,00, c = 0,05 mol dm^{-3}). Nadalje, mjerenja su provedena u otopinama koje su propuhivane argonom ili kisikom gdje su se očekivale razlike uslijed gašenja tranzijentnih vrsta.

LFP mjerenjima za spoj **94** u acetonitrilu detektirane su čestice s kratkim vremenom života. Za tranzijentnu vrstu s maksimumom apsorpcije na oko 470 nm izmjerena su vremena života τ_{Ar} = 460 ± 20 ns; τ_{zrak} = 290 ± 20 ns, $\tau_{\mathrm{O_2}}$ = 100 ± 3 ns. Također, vidljiva je vrlo slaba vrpca s maksimumom na oko 410 nm s vremena života $\tau_{\mathrm{Ar}} \approx$ 20 ns i vrpca na oko 350 nm s vrlo kratkim vremenom života (svega nekoliko ns).



Slika 67. Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom i argonom propuhane acetonitrilne otopine spoja **94** snimljeni (a) odmah nakon laserskog pulsa, (b) nakon 120 ns kašnjenja

Tranzijent s maksimumom na oko 470 nm gasi se kisikom s konstantom gašenja $k_{q\,O_2} = (8{,}7 \pm 0{,}7)\times10^8$ dm^3 mol^{-1} s^{-1} (Dodataka 8.8.2. Prilog 219) može se pripisati tripletnom pobuđenom stanju naftalimida. Tranzijentna vrsta s maksimumom na oko 410 nm vjerojatno se može pripisati radikal-anionu naftalimida što bi bilo u skladu s literaturom,[104,397] dok se vrpca na 350 nm pripisuje radikal-kationu naftola. Dakle, LFP mjerenja ukazuju na fotoinducirani prijenos elektrona s naftalimida na naftol uz nastanak radikal-iona.

Prilikom LFP mjerenja spoja **99** u acetonitrilu tranzijentne vrste nisu detektirane. Vrlo slab signal s maksimumom na oko 480 nm čije je vrijeme života $\tau \approx 10$ ns mogući je artefakt. Nemogućnost stvaranja tranzijentnih vrsta najvjerojatnije je posljedica uvođenja amino-skupine koja mijenja fotofizička svojstva molekule. Pobuđeno stanje naftalimida ima CT karakter, a kvantni prinos međusustavnog križanja se smanjuje te ne dolazi do populacije tripletnog pobuđenog stanja naftalimida. Nadalje, elektron-donorska amino-skupina sprečava prijenos elektrona s naftola na 4-amino-naftalimid.

4.11. Biološka ispitivanja heterobifunkcionalnih spojeva

4.11.1. Interakcije s molekulom DNA – termalna denaturacija DNA

Kako je u literaturi[29] navedeno da su 1,8-naftalimidi DNA interkalatori, očekuju se promjene u temperaturi mekšanja molekule DNA (T_m). Ispitan je utjecaj heterobifunkcionalnih spojeva **94**, **98**, **99** i **103** na promjenu T_m. Mjerena je ovisnost apsorbancije molekule DNA pri 260 nm o temperaturi (Dodatak 8.6.2 i 8.6.3). Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 13.

Tablica 13. Vrijednosti ΔT_m za ct-DNA uslijed vezanja spojeva **94**, **98**, **99** i **103** pri omjeru r = 0,3 u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}). Pogreška mjerenja ΔT_m = ± 0,5 °C

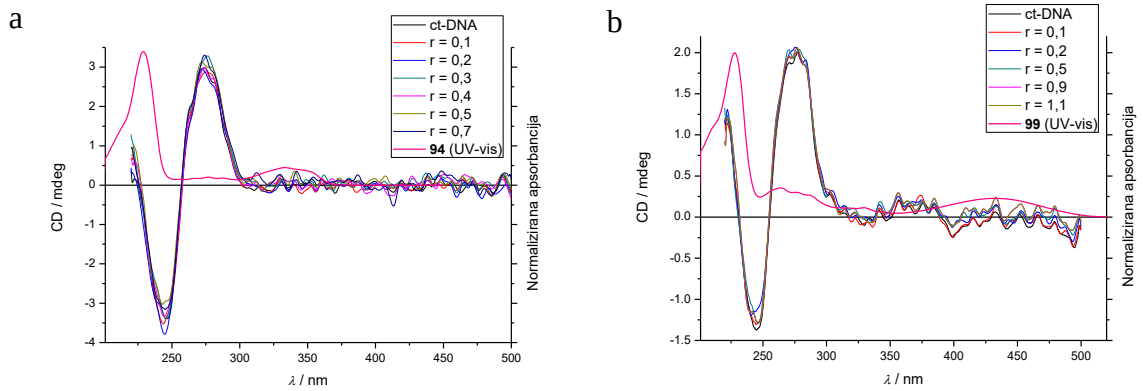
	T_m / °C	ΔT_m / °C		T_m / °C	ΔT_m / °C
ct-DNA (BEZ SPOJA)	80,1	-	ct-DNA (BEZ SPOJA)	79,7	-
94	80,1	0	**99**	80,8	1,2
94 + $h\nu$	80,1	0	**99** + $h\nu$	80,5	0,8
ct-DNA (BEZ SPOJA)	80,1	-	ct-DNA (BEZ SPOJA)	80,2	-
98	80,1	0	**103**	79,8	-0,4
98 + $h\nu$	79,1	-1,0	**103** + $h\nu$	80,5	0,3

Iz rezultata mjerenja vidljivo je da dodatak spojeva **94** i **98** ne utječe na promjenu T_m, dok kod spojeva **99** i **103** ΔT_m iznosi oko 0,5 – 1 °C, što nije značajna promjena (promjena unutar pogreške metode mjerenja je ± 0,5 °C). Također, osvjetljavanje (350 nm, 5 min) smjese spojeva i ct-DNA (r = 0,3) ne utječe na promjenu T_m DNA. Rezultat upućuje da spojevi najvjerojatnije ne interkaliraju u molekulu DNA i zbog toga ne utječu na promjenu T_m ispitivane ct-DNA.

4.11.2. Interakcije s molekulom DNA – CD spektropolarimetrija

CD spektropolarimetrija izuzetno je osjetljiva tehnika i moćan alat za proučavanje promjena u sekundarnoj strukturi i konformaciji kiralnih molekula kao što je DNA.[398–400] S obzirom da obje podserije heterobifunkcionalnih spojeva **94-103** posjeduju 1,8-naftalimidnu jezgru kao interkalatorsku podjedinicu,[29] očekivano je da će spojevi uslijed vezanja odnosno interkaliranja uzrokovati promjene u CD spektrima molekule DNA. Kako je CD spektropolarimetrija osjetljivija tehnika od određivanja temperature mekšanja, očekivale su se promjene koje bi ukazivale na eventualnu mogućnost interkaliranja u ct-DNA.

Ispitivanja nekovalentnih interakcija heterobifunkcionalnih spojeva provedena su CD titracijom otopine ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) otopinama spojeva **94**, **98**, **99** i **103** u acetonitrilu. Dobiveni CD spektri prikazani su na slici 68 i u dodatku 8.5.1.



Slika 68. CD spektri titracije ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (c_{DNA} = 3×10^{-5} mol dm^{-3}) spojevima (a) **94** (c = 2×10^{-2} mol dm^{-3}) i (b) **99** (c = 2×10^{-3} mol dm^{-3}) pri omjerima r[b]. Sa spektrima CD titracija preklopljeni su normalizirani UV-vis apsorpcijski spektri ispitivanih spojeva (a) **94** i (b) **99**

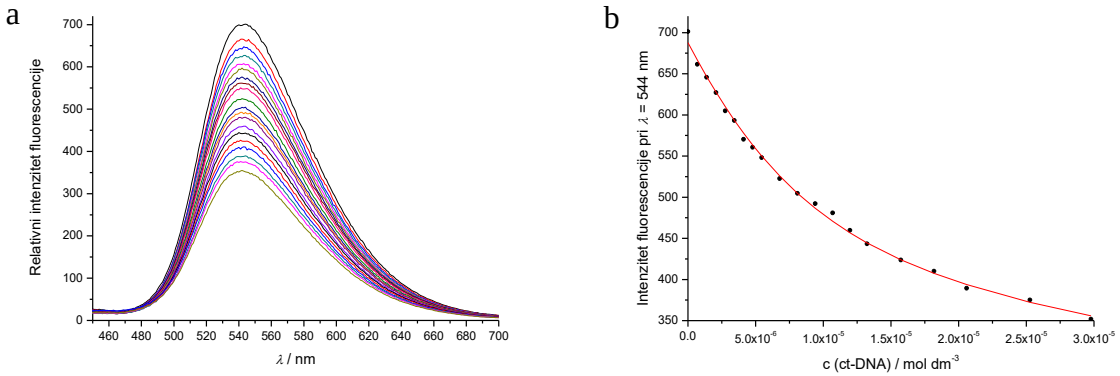
Prema dobivenim spektrima CD vidljivo je da dodatak otopine spojeva **94**, **98**, **99** i **103** u otopinu ct-DNA ne dovodi do promjena u CD spektrima. Dobiven rezultat upućuje da spojevi najvjerojatnije ne interkaliraju u molekulu DNA, te ako se i vežu, to vezanje se odvija na nespecifičan način.

4.11.3. Interakcije s molekulom DNA – fluorimetrijske titracije

Zbog osjetljivosti fluorescencijskih metoda, fluorimetrijske titracije posebno su pogodne za izučavanje nekovalentnog vezanja spojeva na DNA jer se eksperimenti mogu izvesti pri mikromolarnim i nižim koncentracijama ispitivanog spoja. Osim toga, veliko razrjeđenje omogućuje postizanje velikog suvišaka polinukleotida u odnosu na spoj (ligand), čime se osigurava vezanje spoja u preferirano vezno mjesto.

U svrhu određivanja konstante stabilnosti kompleksa (K_s) heterobifunkcionalnih spojeva s DNA, provedene su fluorimetrijske titracije spojeva **94-103** otopinom ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}). Emisijski fluorescencijski spektri snimani su nakon uspostavljanja ravnoteže u trajanju od 2 minute.

[b] $r = \frac{c_{spoj}}{c_{DNA}}$



Slika 69. (a) Promjene u emisijskom fluorescencijskom spektru i (b) promjena intenziteta fluorescencije pri λ = 544 nm kod titracije spoja **101** ($c = 2\times10^{-6}$ mol dm^{-3}) u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) s ct-DNA ($c_{DNA} = 2{,}78\times10^{-4}$ mol dm^{-3}). Valna duljina pobude 410 nm. Spektri su snimljeni pri 25 °C. Crne točke su izmjerene vrijednosti, a crvena krivlja predstavlja izračunate vrijednosti fluorescencije na temelju Scatchardove jednadžbe

Kod provedbe titracija spojeva **94-98** s ct-DNA primijećeno je (pri r[c] od 0,4 do 0,005) smanjenje intenziteta fluorescencije u iznosu od 5 do 15 % od početnog iznosa. Kako su promjene intenziteta u fluorescencijskim spektrima male iz dobivenih podataka nije bilo moguće provesti nelinearnu regresiju prema Scatchardovom modelu. Obzirom na činjenicu kako spojevi **94-98** ne utječu na promjenu temperature mekšanja ct-DNA, a kod CD titracija nema promjena u CD spektrima, dok su promjene u fluorescencijskim spektrima male, pretpostavlja se da se spojevi **94-98** ne vežu nekovalentnim interakcijama na DNA, ili ako se vežu, konstante stabilnosti su male te fluorimetrija nije dobra metoda za njihovo određivanje.

Prilikom titracije spojeva **99-103** otopinom ct-DNA dolazi do gašenja fluorescencije spojeva bez pomaka u položaju maksimuma u emisijskom spektru. Podatci dobiveni fluorimetrijskim titracijama spojeva **99-103** obrađeni su nelinearnom regresijskom analizom prema modelu Scatchardove jednadžbe (11) te su izračunate konstante stabilnosti K_s uz fiksnu vrijednost n[d] = 0,3. Nelinearna regresija rezultata mjerenja (*fitanje*) je provedena uz različite fiksirane vrijednosti n (0,1, 0,2, 0,3 i 0,4), a u konačnici je odabrana vrijednost n = 0,3 jer su uz nju

[c] $r = \frac{c_{\text{spoj}}}{c_{\text{DNA}}}$

[d] $n = \frac{c_{\text{vezani spoj}}}{c_{\text{DNA}}}$

dobivena najbolja slaganja eksperimentalnih podataka i modela ($R^2 \geq 0,99$). Vrijednost dobivenih K_s prikazane su u logaritamskoj skali u tablici 14.

Tablica 14. Konstante stabilnosti kompleksa ct-DNA i heterobifunkcionalnih spojeva **99**-**103** (greške vrijednosti logK_s su unutar reda veličine 5 %).

SPOJ	log (K_s / mol dm^{-3})
99	6,6
100	5,9
101	5,9
102	5,9
103	5,9

Izračunate konstante stabilnosti K_s iznenađujuće su velike, iako određivanjem ΔT_m i CD spektropolarimetrijom nije vidljiva stabilizacija DNA niti je utvrđen neki preferirani način vezanja (interkaliranje ili vezanje u utor). Postavlja se pitanje jesu li promjene u fluorescencijskim spektrima posljedica nastanka kompleksa s ct-DNA ili se radi o dinamičkom gašenju fluorescencije. Kako bi se utvrdilo radi li se o statičkom ili dinamičkom gašenju fluorescencije, potrebno je provesti eksperimente SPC sa spojevima u prisutnosti DNA. Ukoliko se vrijeme života pobuđenog singletnog stanja u prisutnosti DNA ne mijenja, radi se o statičkom načinu gašenja, odnosno dolazi do nastajanja kompleksa u osnovnom stanju. Također bi bilo zanimljivo provesti fluorimetrijske titracije kod kojih bi se pobuđivala naftolna podjedinica, a kao odaziv pratila učinkovitost FRET-a mjereći fluorescenciju naftalimida ovisno o koncentraciji DNA.

4.11.4. Antiproliferativna ispitivanja heterobifunkcionalnih spojeva **94**-**103**

In vitro ispitivanje antiproliferativne aktivnosti na obje podserije heterobifunkcionalnih spojeva **94**-**98** i **99**-**103** provedeno je na dvije stanične linije humanih karcinoma: MCF-7 i H460. Osim za spojeve **94**-**103**, zbog usporedbe paralelno je određena antiproliferativna aktivnost spoju **11b**. Stanice su inkubirane spojevima i držane u mraku ili osvjetljavane (6×8 W lampe, 350 nm, 3×5 min). Nakon 72 sata od posljednjeg osvjetljavanja stanica proveden je MTT test. Aktivnosti su izražene kao IC_{50} i prikazane su u tablici 15.

Tablica 15. IC_{50} vrijednosti (μmol dm^{-3}) za heterobifunkcionalne spojeve **94-103**

	H460		**MCF-7**	
SPOJ	bez *h*ν	s *h*ν	bez *h*ν	s *h*ν
94	35 ± 3	30 ± 1	12,6 ± 0,7	15,2 ± 0,9
95	47 ± 7	21 ± 3	15,1 ± 0,3	14,1 ± 0,6
96	44 ± 7	13 ± 2	13,68 ± 0,06	3,1 ± 0,1
97	55 ± 5	2,4 ± 0,5	18 ± 3	1,54 ± 0,06
98	≥ 100	1,7 ± 0,2	17 ± 9	1,45 ± 0,09
99	33 ± 5	16 ± 1	17 ± 3	12,0 ± 0,2
100	≥ 100	12 ± 2	17,0 ± 0,4	3,0 ± 0,2
101	≥ 100	3 ± 1	12 ± 7	2,0 ± 0,1
102	≥ 100	4 ± 1	7 ± 2	2,0 ± 0,5
103	≥ 100	5 ± 1	≥ 100	2,0 ± 0,2
psoralen	≥ 100	< 0,01	16 ± 6	< 0,01
11b	≥ 100	44 ± 9	25 ± 5	11,65 ± 0,08

Prema vrijednostima dobivenim MTT testom, vidljivo je da ispitani spojevi **94-97** i **99** pokazuju antiproliferativnu aktivnost na H460 staničnoj liniji u mikromolarnim koncentracijama čak i bez osvjetljavanja, međutim, aktivnost im se značajno povećava uz osvjetljavanje. Kod MCF-7 stanične linije, spojevi **94-102** pokazuju antiproliferativnu aktivnost u mikromolarnim koncentracijama čak i bez osvjetljavanja, a aktivnost im se, kao i kod H460, značajno povećava osvjetljavanjem. Vrlo su zanimljivi spojevi **98** i **100-103** koji ne pokazuju citotoksičnost bez osvjetljavanja, a uz osvjetljavanje pokazuju značajnu antiproliferativnu aktivnost. Također, rezultati MTT testa za prvu podseriju spojeva **94-98** pokazuju korelaciju između duljine alkilne poveznice i njihove aktivnosti – povećanjem broja atoma ugljika u poveznici toksičnost bez zračenja se smanjuje, dok se antiproliferativna aktivnost povećava. Važno je uočiti da spoj **11b** koji fotodehidratacijskom reakcijom može generirati QM pokazuje nižu antiproliferativnu aktivnost od spojeva **94-103**, kada je u kombinaciji s naftalimidnom podjedinicom. Potrebno je napomenuti da naftalimidni kromofor u spojevima **94-98** nakon FRET-a može međusustavnim

križanjem populirati tripletno pobuđeno stanje, što je detektirano LFP-om. U LFP eksperimentu pokazano je da se tripletno stanje gasi kisikom i tako se stvara singletni kisik, stoga se povećanje antiproliferativne aktivnosti uz osvjetljavanje kod spojeva **94-98** može pripisati nastajanju singletnog kisika. Međutim mehanizam povećanja antiproliferativne aktivnosti kod spojeva **99-103** ostaje nerazjašnjen. Jedno od mogućih objašnjenja moglo bi biti stvaranje nekovalentnih interakcija s biomakromolekulama, primjerice DNA, uslijed kojih se smanjuje učinkovitost FRET-a, te se time povećava fotokemijska reaktivnost naftolnog dijela molekule. Iako su spojevi **99-103** fotokemijski nereaktivni, njihova reaktivnost potencijalno se može povećavati vezanjem na biomakromolekule. Za objašnjenje opaženog povećanja aktivnosti važno je utvrditi vežu li se spojevi **99-103** nekovalentno na DNA. Ukoliko se ne vežu na DNA, postavlja se pitanje koji je onda mehanizam gašenja fluorescencije. Nadalje, korištenjem konfokalne mikroskopije bilo bi dobro utvrditi u kojim dijelovima stanice se lokaliziraju spojevi **99-103**. Na temelju tih podataka, te nekih dodatnih eksperimenata kao što su ispitivanja utjecaja spojeva na stanični ciklus, očekujemo da ćemo moći predložiti mehanizme povećanja antiproliferativnog djelovanja spojeva uz osvjetljavanje. Dodatni eksperimenti posebno su zanimljivi upravo za amino-naftalimidne spojeve **100-103** koji ne pokazuju citotoksičnost bez osvjetljavanja, a uz osvjetljavanje pokazuju značajnu antiproliferativnu aktivnost. Navedene molekule predlažemo kao *lead* spojeve za provođenje dodatnih istraživanja u svrhu razvoja novih antitumorskih fototerapeutika.

§ 5. ZAKLJUČAK

U okviru ove doktorske disertacije provedene su višestupanjske sinteze i izolacije dviju serija spojeva.

Homobifunkcionalni spojevi sastoje se od dvije fenolne, naftolne ili antrolne QM prekursorske podjedinice koje su međusobno povezane fleksibilnom, alkilnom poveznicom. Spojevi su pripravljeni Grignardovom reakcijom iz komercijalno dostupnih dibromalkana i TBS-*O*-zaštićenih aldehida fenola, naftola i antrola. Sinteza fenolne podserije homobifunkcionalnih spojeva provedena je na dva načina. Reakcija TBS-*O*-zaštićenog salicilaldehida s Grignardovim reagensom uz obradu acetil-kloridom („*one-pot*“) daje bolji prinos te je izbjegnut jedan korak izolacije i čišćenja što je velika prednost kod sinteze. Nastajanje QM u fenolnoj podseriji homobifunkcionalnih spojeva ostvareno je uz dodatak fluorida, a nastanak QM je dokazan na spojevima **14** i **20** što je neizravno dokazano izolacijom azidnog **23** i metanolnog **24** adukta. Nažalost, očekivano križno povezivanje lanaca DNA nije potvrđeno. Također, spojevi ne posjeduju antiproliferativnu aktivnost što je objašnjeno nemogućnošću nastajanja bifunkcionalnih QM.

Generiranje QM u naftolnoj i antrolnoj podseriji homobifunkcionalnih spojeva provedeno je fotokemijski. QM su detektirani laserskom pulsnom fotolizom (LFP), a i neizravno su potvrđeni na temelju izolacije fotoprodukata metanolize **40**-**44**. Tehnika alkalne agarozne gel-elektroforeze nije pokazala mogućnost križnog povezivanja lanaca DNA QM generiranim iz naftolnih spojeva. Povećana antiproliferativna aktivnost zbog osvjetljavanja pokazana je na staničnim linijama humanih karcinoma, što se možda može pripisati mogućnosti fotokemijskog generiranja QM. Kod antrolne podserije homobifunkcionalnih spojeva u fotokemijskoj reakciji nastaju QM, međutim reakcije nisu selektivne. Iako posjeduju antiproliferativnu aktivnost i bez osvjetljavanja, antrolni derivati pokazuju čak 10 – 100 puta veću citotoksičnost uslijed osvjetljavanja. Ostaje nejasno možemo li aktivnost antrolnih spojeva pripisati samo djelovanju QM ili su za antiproliferativnu aktivnost odgovorni neki drugi nastali intermedijeri i fotoprodukti.

Heterobifunkcionalni spojevi pripremljeni su višestupanjskom sintezom. Ključan korak u sintezi bila je reakcija Grignardovog reagensa **83** s *N*-(ω-formilalkil)-1,8-naftalimidima i 4-dietilamin-1,8-naftalimidnim analozima. Kod heterobifunkcionalnih spojeva **99**-**103** prilikom

pobude naftola dolazi do prijenosa energije bez zračenja s naftola na naftalimid – FRET, što smanjuje mogućnost generiranja QM. Nadalje, kod spojeva **94-98** (bez amino-skupine na naftalimidu), nakon pobude naftalimida dolazi do fotoinduciranog prijenosa elektrona uz nastajanje naftolnog radikal-kationa i naftalimidnog radikal-aniona koji su detektirani LFP-om. Mehanizam koji uključuje prijenosa elektrona u konačnici može dovesti do nastanka QM, ali je proces neučinkovit. Fluorimetrijskom titracijom određene su konstante stabilnosti spojeva **99-103** s ct-DNA, a dobivene vrijednosti su iznenađujuće velike obzirom da u eksperimentu termalne denaturacije DNA nije primijećena stabilizacija DNA. Nadalje, CD spektropolarimetrijskom titracijom nije pokazan preferirani način vezanja spojeva s DNA (interkaliranje ili vezanje u utor). Promjene u fluorescencijskim spektrima se potencijalno mogu pripisati dinamičkom gašenju fluorescencije, međutim potrebni su dodatni eksperimenti kako bi se to potvrdilo. Iako ne pokazuju izrazitu fotokemijsku reaktivnost, heterobifunkcionalni spojevi pokazuju veću antiproliferativnu aktivnost uslijed osvjetljavanja. Posebno su zanimljivi spojevi **99-103** iz 4-dietilamin-1,8-naftalimidne podserije koji nisu toksični, a uz osvjetljavanje pokazuju selektivnu citotoksičnost na staničnoj liniji humanog karcinoma pluća (H460). Stoga su aminonaftalimidni derivati **99-103** potencijalni *lead* spojevi u daljnjem istraživanju i razvoju novih antitumorskih fototerapeutika.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

AFS	adicija funkcijske skupine (u retrosintetskoj analizi)
ATR	prigušena totalna refleksija (*engl.attenuated total reflection*)
beT	povratni prijenos elektrona (*engl. back electron transfer*)
BINOL	1,1'-bi-2,2'-naftol
BSA	albumin goveđeg seruma (*engl. bovine serum albumin)*
CD	cirkularni dikroizam
CT	prijenosa naboja (*engl. charge transfer*)
ct-DNA	DNA iz telećeg timusa (*engl. calf tymus DNA*)
CYP	citoktom P450 monooksigenaze
DCB	1,2-diklorbenzen
DCM	diklormetan
DDQ	5,6-dicijano-2,3-diklor-1,4-benzokinon
DEP	dietil-ftalat
DIS	diskonekcija (u retrosintetskoj analizi)
DMAP	4-(*N*,*N*-dimetilamino)piridin
DMF	*N*,*N*-dimetilformamid
DMSO	dimetil-sulfoksid
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
ds-DNA	dvolančana DNA (*engl. double strand DNA)*
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina
ESIPT	intramolekulski prijenos protona u pobuđenom stanju (*engl. excited state intramolecular proton transfer*)
ESPT	prijenos protona u pobuđenom stanju (*engl. excited state proton transfer*)
eT	prijenos elektrona (*engl. electron transfer*)
FMO	flavin-monooksigenaze
FRET	Försterov prijenos rezonancijske energije bez zračenja (*engl. Förster resonance energy transfer*)
HMPA	heksametilfosforamid

HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (*engl. high performance liquid chromatography*)
HRMS	spektrometrija masa visoke rezolucije (*engl. high resolution mass spectrometry*)
IFS	interkonverzija funkcijske skupine (u retrosintetskoj analizi)
IPA	izopropanol
IR	infracrveni
LD	linearni dikroizam
LFP	laserska pulsna fotoliza (*engl. laser flash photolysis*)
MALDI	matricom potpomognuta ionizacija laserskom desorpcijom (*engl. matrix assisted laser desorption/ionisation)*
MOM	metoksimetil
MOMCl	metoksimetil-klorid
MTT	metoda kojom se kolorimetrijski određuje postotak preživjelih stanica u antiproliferativnim ispitivanjima
n-BuLi	*n*-butil-litij
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
PBS	puferirana otopina fosfatnih soli (*engl. phosphate-buffered saline*)
pDNA	plazmidna DNA
PeT	fotoinducirani prijenos elektrona (*engl. photoinduced electron transfer*)
Py	piridin
QM	kinon-metid (*engl. quinone methide*)
RNA	ribonukleinska kiselina
s.t.	sobna temperatura
SPC	brojenje pojedinačnih fotona (*engl. single photon counting*)
ss-DNA	jednolančana DNA (*engl. single strand DNA*)
TB(DM)S	*tert*-butildimetilsilil
TBAF	tetrabutilamonijev fluorid
TBSCl	*tert*-butildimetilsilil-klorid
t-BuLi	*tert*-butil-litij
TEA	trietilamin
TES	trietilsilan

TFE	2,2,2-trifluoretanol
THF	tetrahidrofuran
THP	tetrahidropiran
TLC	tankoslojna kromatografija (*engl. thin layer chromatography*)
TOF	analizator vremena leta korišten u spektrometriji masa (*engl. time of flight*)
t_R	retencijsko vrijeme
t_t	talište
UPLC	tekućinska kromatografija ultravisoke djelotvornosti (*engl. ultra performance liquid chromatography*)
UV	ultraljubičasti

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. S. R. Rajski, R. M. Williams, *Chem. Rev.* **98** (1998) 2723–2796.
2. M. Tomasz, Y. Palom, *Pharmacol. Ther.* **76** (1997) 73–87.
3. S. E. Rokita, *Quinone Methides*, John Wiley & Sons, Hoboken, 2009.
4. M. M. Toteva, J. P. Richard, *Adv. Phys. Org. Chem.* **45** (2011) 39–91.
5. N. Basarić, K. Mlinarić-Majerski, M. Kralj, *Curr. Org. Chem.* **18** (2014) 3–18.
6. E. Modica, R. Zanaletti, M. Freccero, M. Mella, *J. Org. Chem.* **66** (2001) 41–52.
7. J. L. Bolton, S. B. Turnipseed, J. A. Thompson, *Chem. Biol. Interact.* **107** (1997) 185–200.
8. P. G. McCracken, J. L. Bolton, G. R. J. Thatcher, *J. Org. Chem.* **62** (1997) 1820–1825.
9. S. Arumugam, J. Guo, N. E. Mbua, F. Friscourt, N. Lin, E. Nekongo, G.-J. Boons, V. V Popik, *Chem. Sci.* **5** (2014) 1591–1598.
10. J. Jiang, D. Zeng, S. Li, *ChemBioChem* **10** (2009) 635–638.
11. P. Pande, J. Shearer, J. Yang, W. A. Greenberg, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 6773–6779.
12. F. Doria, M. Nadai, M. Folini, M. Di Antonio, L. Germani, C. Percivalle, C. Sissi, N. Zaffaroni, S. Alcaro, A. Artese, S. N. Richter, M. Freccero, *Org. Biomol. Chem.* **10** (2012) 2798–2806.
13. C. Percivalle, F. Doria, M. Freccero, *Curr. Org. Chem.* (2014) 19–43.
14. H. Wang, *Curr. Org. Chem.* **1** (2014) 44–60.
15. S. N. Richter, S. Maggi, S. C. Mels, M. Palumbo, M. Freccero, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 13973–13979.
16. M. Freccero, *Mini-Rev. Org. Chem.* **1** (2004) 403–415.
17. P. Wang, Y. Song, L. Zhang, H. He, X. Zhou, *Curr. Med. Chem.* **12** (2005) 2893–2913.
18. H. Wang, S. E. Rokita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49** (2010) 5957–5960.
19. Y. Wang, H. Fan, K. Balakrishnan, Z. Lin, S. Cao, W. Chen, Y. Fan, Q. A. Guthrie, H. Sun, K. A. Teske, V. Gandhi, L. A. Arnold, X. Peng, *Eur. J. Med. Chem.* **133** (2017) 197–207.
20. N. Basarić, N. Cindro, D. Bobinac, L. Uzelac, K. Mlinarić-Majerski, M. Kralj, P. Wan, *Photochem. Photobiol. Sci.* **11** (2012) 381–396.
21. N. Basarić, N. Cindro, D. Bobinac, K. Mlinarić-Majerski, L. Uzelac, M. Kralj, P. Wan, *Photochem. Photobiol. Sci.* **10** (2011) 1910–1925.
22. J. Veljković, L. Uzelac, K. Molčanov, K. Mlinarić-Majerski, M. Kralj, P. Wan, N. Basarić, *J. Org. Chem.* **77** (2012) 4596–4610.

23. Đ. Škalamera, K. Mlinarić-Majerski, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, P. Wan, N. Basarić, *J. Org. Chem.* **79** (2014) 4390–4397.
24. W. F. Veldhuyzen, P. Pande, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 14005–14013.
25. C. V. Kumar, E. H. A. Punzalan, W. B. Tan, *Tetrahedron* **56** (2000) 7027–7040.
26. A. Mukherjee, W. D. Sasikala, *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* **92** (2013) 1–62.
27. M. Lv, H. Xu, *Curr Med Chem* **16** (2009) 4797–4813.
28. M. Brana, A. Ramos, *Curr. Med. Chem. Agents* **1** (2001) 237–255.
29. R. Tandon, V. Luxami, H. Kaur, N. Tandon, K. Paul, *Chem. Rec.* **17** (2017) 956–993.
30. S. Banerjee, E. B. Veale, C. M. Phelan, S. A. Murphy, G. M. Tocci, L. J. Gillespie, D. O. Frimannsson, J. M. Kelly, T. Gunnlaugsson, *Chem. Soc. Rev.* **42** (2013) 1601–1618.
31. M. Sugumaran, H. Dali, V. Semensi, *Bioorg. Chem.* **18** (1990) 144–153.
32. A. Arduini, A. Pochini, R. Ungaro, P. Domiano, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1986) 1391–1395.
33. R. Zanaletti, M. Freccero, *Chem. Commun.* (2002) 1908–1909.
34. A. Vigalok, D. Milstein, *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 7873–7874.
35. E. E. Weinert, R. Dondi, S. Colloredo-Melz, K. N. Frankenfield, C. H. Mitchell, M. Freccero, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 11940–11947.
36. H. Sugimoto, S. Nakamura, T. Ohwada, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 10088–10095.
37. G.-J. Mei, S.-L. Xu, W.-Q. Zheng, C.-Y. Bian, F. Shi, *J. Org. Chem.* **83** (2018) 1414–1421.
38. S. Kim, Y. Kitano, M. Tada, K. Chiba, *Tetrahedron Lett.* **41** (2000) 7079–7083.
39. L. Song, F. Huang, L. Guo, M.-A. Ouyang, R. Tong, *Chem. Commun.* **53** (2017) 6021–6024.
40. C. D. Cook, L. C. Butler, *J. Org. Chem.* **34** (1969) 227–229.
41. R. F. Moore, W. A. Waters, *J. Chem. Soc.* (1954) 243–246.
42. D. A. Bolon, *J. Org. Chem.* **35** (1970) 715–719.
43. D. A. Bolon, *J. Org. Chem.* **35** (1970) 3666–3670.
44. L. Diao, C. Yang, P. Wan, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 5369–5370.
45. P. Wan, B. Barker, L. Diao, M. Fischer, Y. Shi, C. Yang, *Can. J. Chem.* **74** (1996) 465–475.
46. K. Hultzsch, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.***74** (1941) 1539–1543.
47. R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **10** (1969) 5279–5282.
48. R. R. Schmidt, B. Beitzke, *Synthesis (Stuttg).* **1982** (1982) 750–752.
49. E. Dorrestijn, M. Kranenburg, M. V. Ciriano, P. Mulder, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 3012–3018.
50. E. Dorrestijn, O. J. Epema, W. B. van Scheppingen, P. Mulder, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1998) 1173–1178.
51. G. R. Sprengling, *J. Am. Chem. Soc.* **74** (1952) 2937–2940.
52. G. Decodts, M. Wakselman, M. Vilkas, *Tetrahedron* **26** (1970) 3313–3328.

53. P. D. Gardner, H. Sarrafizadeh R., R. L. Brandon, *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 5515–5515.
54. P. D. Gardner, H. S. Rafsanjani, L. Rand, *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 3364–3367.
55. S. B. Cavitt, H. Sarrafizadeh R., P. D. Gardner, *J. Org. Chem.* **27** (1962) 1211–1216.
56. A. Merijan, B. A. Shoulders, P. D. Gardner, *J. Org. Chem.* **28** (1963) 2148–2149.
57. A. Merijan, P. D. Gardner, *J. Org. Chem.* **30** (1965) 3965–3967.
58. P. F. Britt, A. C. Buchanan, M. J. Cooney, D. R. Martineau, *J. Org. Chem.* **65** (2000) 1376–1389.
59. R. R. Schmidt, I. Neumann, *Synthesis (Stuttg).* **5** (1972) 265–266.
60. T. Rosenau, W. D. Habicher, *Tetrahedron* **51** (1995) 7919–7926.
61. T. Rosenau, W. D. Habicher, *Tetrahedron Lett.* **38** (1997) 5959–5960.
62. U. Schädel, W. D. Habicher, *Synthesis (Stuttg).* **1998** (1998) 293–296.
63. T. Rosenau, W. D. Habicher, A. Potthast, P. Kosma, *Synlett* **1999** (1999) 291–294.
64. K. Chiba, J. Sonoyama, M. Tada, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1995) 1381–1382.
65. K. Chiba, Y. Yamaguchi, M. Tada, *Tetrahedron Lett.* **39** (1998) 9035–9038.
66. W. A. Sheppard, *J. Org. Chem.* **33** (1968) 3297–3306.
67. M. von Strandtmann, M. P. Cohen, J. Shavel, *J. Org. Chem.* **30** (1965) 3240–3242.
68. M. von Strandtmann, M. P. Cohen, J. Shavel, *Tetrahedron Lett.* **6** (1965) 3103–3106.
69. B. Büyükkıdan, S. Bilgiç, O. Bilgiç, *Synth. Commun.* **31** (2001) 1263–1270.
70. E. Breuer, D. Melumad, *Tetrahedron Lett.* **10** (1969) 1875–1877.
71. F. M. Dean, M. O. A. Orabi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1982) 2617–2624.
72. J. L. Bolton, H. Sevestre, B. O. Ibe, J. A. Thompson, *Chem. Res. Toxicol.* **3** (1990) 65–70.
73. Y.-L. L. Mao, V. Boekelheide, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **77** (1980) 1732–1735.
74. S. Inoue, Z. Guo Lu, *Heterocycles* **34** (1992) 1107–1117.
75. Q. Zeng, S. E. Rokita, *J. Org. Chem.* **61** (1996) 9080–9081.
76. H. Wang, M. S. Wahi, S. E. Rokita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **47** (2008) 1291–1293.
77. C. S. Rossiter, E. Modica, D. Kumar, S. E. Rokita, *Chem. Commun.* **47** (2011) 1476–1478.
78. M. Taing, H. W. Moore, *J. Org. Chem.* **61** (1996) 329–340.
79. R. W. Van De Water, T. R. R. Pettus, *Tetrahedron* **58** (2002) 5367–5405.
80. F. Liebner, P. Schmid, C. Adelwöhrer, T. Rosenau, *Tetrahedron* **63** (2007) 11817–11821.
81. R. Ranjan, A. Ranjan, *Fluoride Toxicity in Animals*, Springer, Cham, 2015.
82. D. Bethea, B. Fullmer, S. Syed, G. Seltzer, J. Tiano, C. Rischko, L. Gillespie, D. Brown, F. P. Gasparro, *J. Dermatol. Sci.* **19** (1999) 78–88.
83. J. Chen, L. Keltner, J. Christophersen, F. Zheng, M. Krouse, A. Singhal, S. Wang, *Cancer J.* **8** (2002) 154–163.
84. T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *J. Natl. Cancer Inst.* **90** (1998) 889–905.

85. M. A. M. Capella, L. S. Capella, *J. Biomed. Sci.* **10** (2003) 361–366.
86. M. E. B. Tamesis, J. G. Morelli, *Pediatr. Dermatol.* **27** (2010) 437–445.
87. O. L. Chapman, C. L. McIntosh, *J. Chem. Soc. D* (1971) 383–384.
88. A. Padwa, G. A. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **95** (1973) 6147–6149.
89. A. Padwa, A. Au, G. A. Lee, W. Owens, *J. Am. Chem. Soc.* **98** (1976) 3555–3564.
90. A. Padwa, D. Dehm, T. Oine, G. A. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **97** (1975) 1837–1845.
91. B. A. M. Oude-Alink, A. W. K. Chan, C. D. Gutsche, *J. Org. Chem.* **38** (1973) 1993–2001.
92. A. Padwa, G. A. Lee, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1972) 795–796.
93. P. Seiler, J. Wirz, *Tetrahedron Lett.* **12** (1971) 1683–1686.
94. P. Seiler, J. Wirz, *Helv. Chim. Acta* **55** (1972) 2693–2712.
95. H. Huber, C. Pascual, J. Wirz, *Helv. Chim. Acta* **55** (1972) 2712–2716.
96. Y. Chiang, A. J. Kresge, Y. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 6349–6356.
97. Y. Chiang, A. J. Kresge, Y. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 8089–8094.
98. Y. Chiang, A. J. Kresge, Y. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 717–722.
99. Y. Chiang, A. J. Kresge, Y. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 9854–9855.
100. Y. Chiang, A. J. Kresge, Y. Zhu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **5** (2003) 1039–1042.
101. K. Nakatani, N. Higashida, I. Saito, *Tetrahedron Lett.* **38** (1997) 5005–5008.
102. J. Matsumoto, M. Ishizu, R. Kawano, D. Hesaka, T. Shiragami, Y. Hayashi, T. Yamashita, M. Yasuda, *Tetrahedron* **61** (2005) 5735–5740.
103. Đ. Škalamera, C. Bohne, S. Landgraf, N. Basarić, *J. Org. Chem.* **80** (2015) 10817–10828.
104. C. Percivalle, A. La Rosa, D. Verga, F. Doria, M. Mella, M. Palumbo, M. Di Antonio, M. Freccero, *J. Org. Chem.* **76** (2011) 3096–3106.
105. M. Gomberg, *J. Am. Chem. Soc.* **35** (1913) 1035–1042.
106. T. W. Lewis, D. Y. Curtin, I. C. Paul, *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979) 5717–5725.
107. P. Wan, B. Chak, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1986) 1751–1756.
108. Đ. Škalamera, I. Antol, K. Mlinarić-Majerski, H. Vančik, D. L. Phillips, J. Ma, N. Basarić, *Chem. Eur. J.* **24** (2018) 9426–9435.
109. L. Diao, P. Wan, *Can. J. Chem.* **86** (2008) 105–118.
110. Y. Shi, P. Wan, *Can. J. Chem.* **83** (2005) 1306–1323.
111. S. Arumugam, V. V. Popik, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 11892–11899.
112. F. Doria, S. N. Richter, M. Nadai, S. Colloredo-Mels, M. Mella, M. Palumbo, M. Freccero, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 6570–6579.
113. E. Croom, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **112** (2012) 31–88.
114. D. C. Lamb, M. R. Waterman, S. L. Kelly, F. P. Guengerich, *Curr. Opin. Biotechnol.* **18** (2007) 504–512.

115. T. Dunlap, R. E. P. Chandrasena, Z. Wang, V. Sinha, Z. Wang, G. R. J. Thatcher, *Chem. Res. Toxicol.* **20** (2007) 1903–1912.
116. D. C. Thompson, J. A. Thompson, M. Sugumaran, P. Moldéus, *Chem. Biol. Interact.* **86** (1993) 129–162.
117. J. L. Bolton, N. M. Acay, V. Vukomanovic, *Chem. Res. Toxicol.* **7** (1994) 443–450.
118. S. L. Iverson, L. Q. Hu, V. Vukomanovic, J. L. Bolton, *Chem. Res. Toxicol.* **8** (1995) 537–544.
119. J. L. Bolton, G. R. J. Thatcher, *Chem. Res. Toxicol.* **21** (2008) 93–101.
120. T. L. Born, J. K. Myers, T. S. Widlanski, F. Rusnak, *J. Biol. Chem.* **270** (1995) 25651–25655.
121. D. C. Thompson, K. Perera, R. London, *Chem. Biol. Interact.* **126** (2000) 1–14.
122. Y. Sun, L. D. Dwyer-Nield, A. M. Malkinson, Y. L. Zhang, J. A. Thompson, *Chem. Biol. Interact.* **145** (2003) 41–51.
123. J. P. Kehrer, H. Witschi, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **53** (1980) 333–342.
124. G. . Williams, M. . Iatropoulos, J. Whysner, *Food Chem. Toxicol.* **37** (1999) 1027–1038.
125. J. L. Bolton, E. Comeau, V. Vukomanovic, *Chem. Biol. Interact.* **95** (1995) 279–290.
126. W. Bodell, *Carcinogenesis* **19** (1998) 437–443.
127. H.-C. Chiang, P.-L. Wang, K.-F. Huang, *J. Chinese Chem. Soc.* **30** (1983) 117–120.
128. G. R. Mallavarapu, S. Ramesh, R. S. Chandrasekhara, B. R. Rajeswara Rao, P. N. Kaul, A. K. Bhattacharya, *Flavour Fragr. J.* **10** (1995) 239–242.
129. J. B. Chakraborty, S. K. Mahato, K. Joshi, V. Shinde, S. Rakshit, N. Biswas, I. Choudhury Mukherjee, L. Mandal, D. Ganguly, A. A. Chowdhury, J. Chaudhuri, K. Paul, B. C. Pal, J. Vinayagam, C. Pal, A. Manna, P. Jaisankar, U. Chaudhuri, A. Konar, S. Roy, S. Bandyopadhyay, *Cancer Sci.* **103** (2012) 88–99.
130. M. Benedetti, A. Malnoe, A. Broillet, *Toxicology* **7** (1977) 69–83.
131. J. Bolton, *Curr. Org. Chem.* **18** (2014) 61–69.
132. P. M. Gannett, P. Iversen, T. Lawson, *Bioorg. Chem.* **18** (1990) 185–198.
133. T. Lawson, P. Gannett, *Cancer Lett.* **48** (1989) 109–113.
134. K. Bley, G. Boorman, B. Mohammad, D. McKenzie, S. Babbar, *Toxicol. Pathol.* **40** (2012) 847–873.
135. J. D. Yager, N. E. Davidson, *N. Engl. J. Med.* **354** (2006) 270–282.
136. M. Freccero, R. Gandolfi, M. Sarzi-Amadè, *J. Org. Chem.* **68** (2003) 6411–6423.
137. D. Verga, M. Nadai, F. Doria, C. Percivalle, M. Di Antonio, M. Palumbo, S. N. Richter, M. Freccero, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 14625–14637.
138. I. A. McDonald, P. L. Nyce, M. J. Jung, J. S. Sabol, *Tetrahedron Lett.* **32** (1991) 887–890.
139. D. Cabaret, S. A. Adediran, M. J. Garcia Gonzalez, R. F. Pratt, M. Wakselman, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 713–720.

140. Q. P. Wang, U. Dechert, F. Jirik, S. G. Withers, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **200** (1994) 577–583.
141. J. K. Myers, J. D. Cohen, T. S. Widlanski, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 11049–11054.
142. J. K. Stowell, T. S. Widlanski, T. G. Kutateladze, R. T. Raines, *J. Org. Chem.* **60** (1995) 6930–6936.
143. Z. V. Boskovic, M. M. Kemp, A. M. Freedy, V. S. Viswanathan, M. S. Pop, J. H. Fuller, N. M. Martinez, S. O. Figueroa Lazú, J. A. Hong, T. A. Lewis, D. Calarese, J. D. Love, A. Vetere, S. C. Almo, S. L. Schreiber, A. N. Koehler, *ACS Chem. Biol.* **11** (2016) 1844–1851.
144. R. L. Hanson, H. A. Lardy, S. M. Kupchan, *Science (80-.).* **168** (1970) 378–380.
145. J. Zhu, S. G. Withers, P. B. Reichardt, E. Treadwell, T. P. Clausen, *Biochem. J.* **332** (1998) 367–371.
146. S.-B. Hong, L. S. Mullins, H. Shim, F. M. Raushel, *Biochemistry* **36** (1997) 9022–9028.
147. P. Wang, R. Liu, X. Wu, H. Ma, X. Cao, P. Zhou, J. Zhang, X. Weng, X.-L. Zhang, J. Qi, X. Zhou, L. Weng, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 1116–1117.
148. D. Verga, S. N. Richter, M. Palumbo, R. Gandolfi, M. Freccero, *Org. Biomol. Chem.* **5** (2007) 233–235.
149. S. E. Wolkenberg, D. L. Boger, *Chem. Rev.* **102** (2002) 2477–2496.
150. K. Z. Guyton, J. A. Thompson, T. W. Kensler, *Chem. Res. Toxicol.* **6** (1993) 731–738.
151. J. L. Bolton, L. G. Valerio, J. A. Thompson, *Chem. Res. Toxicol.* **5** (1992) 816–822.
152. M. G. Boersma, J. Vervoort, H. Szymusiak, K. Lemanska, B. Tyrakowska, N. Cenas, J. Segura-Aguilar, I. M. C. M. Rietjens, *Chem. Res. Toxicol.* **13** (2000) 185–191.
153. J. L. Bolton, J. C. Y. Le Blanc, K. W. M. Siu, *Biol. Mass Spectrom.* **22** (1993) 666–668.
154. B. W. Meier, J. D. Gomez, A. Zhou, J. A. Thompson, *Chem. Res. Toxicol.* **18** (2005) 1575–1585.
155. B. W. Meier, J. D. Gomez, O. V. Kirichenko, J. A. Thompson, *Chem. Res. Toxicol.* **20** (2007) 199–207.
156. P. Martinez-Alvarado, A. Dagnino-Subiabre, I. Paris, D. Metodiewa, C. J. Welch, C. Olea-Azar, P. Caviedes, R. Caviedes, J. Segura-Aguilar, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **283** (2001) 1069–1076.
157. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th edition, W. H. Freeman and Co. New York, 2008.
158. R. A. Copeland, *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery* , John Wiley & Sons, Hoboken, 2013.
159. E. Fischer, H. Charbonneau, N. Tonks, *Science* **253** (1991) 401–406.
160. M. S. Cyert, J. Thorner, *Cell* **57** (1989) 891–893.
161. A. W. Stoker, *Mech. Dev.* **46** (1994) 201–217.

162. S. M. Kupchan, A. Karim, C. Marcks, *J. Am. Chem. Soc.* **90** (1968) 5923–5924.
163. S. M. Kupchan, A. Karim, C. Marcks, *J. Org. Chem.* **34** (1969) 3912–3918.
164. M. Paris, M. Porcelloni, M. Binaschi, D. Fattori, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 1505–1529.
165. T. A. McKinsey, *J. Mol. Cell. Cardiol.* **51** (2011) 491–496.
166. I. A. Pearl, S. F. Darling, *Phytochemistry* **10** (1971) 3161–3166.
167. L. Hedstrom, *Chem. Rev.* **102** (2002) 4501–4524.
168. J.-J. Béchet, A. Dupaix, I. Blagoeva, *Biochimie* **59** (1977) 231–239.
169. Q. Zhou, K. D. Turnbull, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 2847–2851.
170. Q. Zhou, K. D. Turnbull, *J. Org. Chem.* **66** (2001) 7072–7077.
171. B. A. Bakke, M. C. McIntosh, K. D. Turnbull, *J. Org. Chem.* **70** (2005) 4338–4345.
172. Q. Zhou, K. D. Turnbull, *J. Org. Chem.* **65** (2000) 2022–2029.
173. Y. Chiang, a J. Kresge, *Org. Biomol. Chem.* **2** (2004) 1090–1092.
174. D. J. Taatjes, G. Gaudiano, K. Resing, T. H. Koch, *J. Med. Chem.* **39** (1996) 4135–4138.
175. S. R. Angle, W. Yang, *J. Org. Chem.* **57** (1992) 1092–1097.
176. E. B. Skibo, C. Xing, *Biochemistry* **37** (1998) 15199–15213.
177. W. F. Veldhuyzen, A. J. Shallop, R. A. Jones, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 11126–11132.
178. W. F. Veldhuyzen, Y.-F. Lam, S. E. Rokita, *Chem. Res. Toxicol.* **14** (2001) 1345–1351.
179. S. E. Rokita, J. Yang, P. Pande, W. A. Greenberg, *J. Org. Chem.* **62** (1997) 3010–3012.
180. J. A. Lewis, Mark A., Graff Yoerg, Darla, Bolton, Judy L., Thompson., *Chem. Res. Toxicol.* **9** (1996) 1368–1374.
181. C. Di Valentin, M. Freccero, R. Zanaletti, M. Sarzi-Amadè, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 8366–8377.
182. M. Freccero, C. Di Valentin, M. Sarzi-Amadè, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 3544–3553.
183. O. Khdour, A. Ouyang, E. B. Skibo, *J. Org. Chem.* **63** (1998) 1893–1900.
184. M. Chatterjee, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **116** (1994) 1690–1697.
185. T. Li, Q. Zeng, S. E. Rokita, *Bioconjug. Chem.* **5** (1994) 497–500.
186. H. Kang, S.E, Rokita *Nucleic Acids Res.* **24** (1996) 3896–3902.
187. Y. Du, X. Weng, J. Huang, D. Zhang, H. Ma, D. Chen, X. Zhou, J.-F. Constant, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 4149–4153.
188. Q. Zhou, S. E. Rokita, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **100** (2003) 15452–15457.
189. D. Kumar, W. F. Veldhuyzen, Q. Zhou, S. E. Rokita, *Bioconjug. Chem.* **15** (2004) 915–922.
190. H. He, T. Tian, P. Wang, L. Wu, J. Xu, X. Zhou, X. Zhang, X. Cao, X. Wu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14** (2004) 3013–3016.
191. F. Doria, C. Percivalle, M. Freccero, *J. Org. Chem.* **77** (2012) 3615–3619.

192. M. Di Antonio, F. Doria, S. N. Richter, C. Bertipaglia, M. Mella, C. Sissi, M. Palumbo, M. Freccero, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 13132–13141.
193. M. Nadai, F. Doria, M. Di Antonio, G. Sattin, L. Germani, C. Percivalle, M. Palumbo, S. N. Richter, M. Freccero, *Biochimie* **93** (2011) 1328–1340.
194. M. Di Antonio, F. Doria, M. Mella, D. Merli, A. Profumo, M. Freccero, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 8354–8360.
195. M. Nadai, F. Doria, L. Germani, S. N. Richter, M. Freccero, *Chem. Eur. J.* **21** (2015) 2330–2334.
196. F. Fakhari, S. E. Rokita, *Nat. Commun.* **5** (2014) 5591.
197. J. A. Parrish, T. B. Fitzpatrick, L. Tanenbaum, M. A. Pathak, *N. Engl. J. Med.* **291** (1974) 1207–1211.
198. M. Gniazdowski, C. Cera, *Chem. Rev.* **96** (1996) 619–634.
199. M. Tomasz, *Chem. Biol.* **2** (1995) 575–579.
200. Y. Liu, S. E. Rokita, *Biochemistry* **51** (2012) 1020–1027.
201. E. D. Sternberg, D. Dolphin, C. Brückner, *Tetrahedron* **54** (1998) 4151–4202.
202. Y.-S. Kim, R. Song, D. Hyun Kim, M. J. Jun, Y. S. Sohn, *Bioorg. Med. Chem.* **11** (2003) 1753–1760.
203. C. K. Kwok, C. J. Merrick, *Trends Biotechnol.* **35** (2017) 997–1013.
204. L. H. Hurley, R. T. Wheelhouse, D. Sun, S. M. Kerwin, M. Salazar, O. Y. Fedoroff, F. X. Han, H. Han, E. Izbicka, D. D. Von Hoff, *Pharmacol. Ther.* **85** (2000) 141–158.
205. F. Cuenca, O. Greciano, M. Gunaratnam, S. Haider, D. Munnur, R. Nanjunda, W. D. Wilson, S. Neidle, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18** (2008) 1668–1673.
206. A. M. El-Lakany, *Nat. Prod. Sci.* **10** (2004) 59–62.
207. V. K. Bajpai, S. C. Kang, *J. Biosci.* **35** (2010) 533–538.
208. N. Kusumoto, T. Ashitani, T. Murayama, K. Ogiyama, K. Takahashi, *J. Chem. Ecol.* **36** (2010) 1381–1386.
209. Y. B. Ryu, S.-J. Park, Y. M. Kim, J.-Y. Lee, W. D. Seo, J. S. Chang, K. H. Park, M.-C. Rho, W. S. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20** (2010) 1873–1876.
210. A. C. Allison, R. Cacabelos, V. R. M. Lombardi, X. A. Álvarez, C. Vigo, *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* **25** (2001) 1341–1357.
211. J.-H. Lee, T. H. Koo, H. Yoon, H. S. Jung, H. Z. Jin, K. Lee, Y.-S. Hong, J. J. Lee, *Biochem. Pharmacol.* **72** (2006) 1311–1321.
212. S. Sreeramulu, S. L. Gande, M. Göbel, H. Schwalbe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** (2009) 5853–5855.
213. C.-C. Chen, J.-H. Wu, N.-S. Yang, J.-Y. Chang, C.-C. Kuo, S.-Y. Wang, Y.-H. Kuo, *Org. Lett.* **12** (2010) 2786–2789.

214. A. Estévez-Braun, A. G. Ravelo, E. Pérez-Sacau, J. C. Lacal, *Clin. Transl. Oncol.* **17** (2015) 74–84.
215. S. M. Oramas-Royo, H. Chávez, P. Martín-Rodríguez, L. Fernández-Pérez, A. G. Ravelo, A. Estévez-Braun, *J. Nat. Prod.* **73** (2010) 2029–2034.
216. F. P. Ruphin, R. Baholy, A. Emmanue, R. Amelie, M.-T. Martin, N. Koto-te-Nyiwa, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **3** (2013) 780–784.
217. A. G. Ravelo, A. Estevez-Braun, H. Chavez-Orellana, E. Perez-Sacau, D. Mesa-Siverio, *Curr. Top. Med. Chem.* **4** (2004) 241–265.
218. H. B. Bode, A. Zeeck, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (2000) 323–328. doi:10.1039/a908387a
219. K. B. Bahnck, S. D. Rychnovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 13177–13181.
220. Y. A. Elnakady, I. Chatterjee, M. Bischoff, M. Rohde, M. Josten, H.-G. Sahl, M. Herrmann, R. Müller, *PLoS One* **11** (2016) e0146165.
221. Smith, Amos B., Mesaros, Eugen F., Meyer, Emmanuel A., *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 5292–2299.
222. A. B. Smith, E. F. Mesaros, E. A. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 6948–6949.
223. R. Jansen, K. Gerth, H. Steinmetz, S. Reinecke, W. Kessler, A. Kirschning, R. Müller, *Chem. Eur. J.* **17** (2011) 7739–7744.
224. H. Moore, *Science* **197** (1977) 527–532.
225. W.Herz, H. Grisebach, G.W. Kirby, *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Springer, Vienna, 1979.
226. N. Danshiitsoodol, C. A. de Pinho, Y. Matoba, T. Kumagai, M. Sugiyama, *J. Mol. Biol.* **360** (2006) 398–408.
227. W. T. Bradner, *Cancer Treat. Rev.* **27** (2001) 35–50.
228. S. T. Crooke, W. T. Bradner, *Cancer Treat. Rev.* **3** (1976) 121–139.
229. A. Fujiwara, T. Hoshino, J. W. Westley, *Crit. Rev. Biotechnol.* **3** (1985) 133–157.
230. W. Priebe, *Anthracycline Antibiotics New Analogues, Methods of Delivery, and Mechanisms of Action*, ACS Symposium Series, American Chemical Society, 1995.
231. C. Tan, H. Tasaka, K.-P. Yu, M. L. Murphy, D. A. Karnofsky, *Cancer* **20** (1967) 333–353.
232. G. N. Hortobágyi, *Drugs* **54** (1997) 1–7.
233. T. H. Koch, B. L. Barthel, B. T. Kalet, D. L. Rudnicki, G. C. Post, D. J. Burkhart, *Top. Cur. Chem.* **283** (2008) Springer 141–170.
234. X. Huang, R. G. Aslanian, *Case Studies in Modern Drug Discovery and Development*, John Wiley & Sons, Hoboken, 2012.
235. F. Dufrasne, M. Gelbcke, J. Neve, R. Kiss, J.-L. Kraus, *Curr. Med. Chem.* **18** (2011) 3995–4011.
236. P. Y. Maximov, T. M. Lee, V. Craig Jordan, *Curr. Clin. Pharmacol.* **8** (2013) 135–155.

237. A. Cano, *Hum. Reprod. Update* **6** (2000) 244–254.
238. T. S. Dowers, Z.-H. Qin, G. R. J. Thatcher, J. L. Bolton, *Chem. Res. Toxicol.* **19** (2006) 1125–1137.
239. C. Miller, *Curr. Pharm. Des.* **8** (2002) 2089–2111.
240. S. Fiorucci, E. Antonelli, J. L. Burgaud, A. Morelli, *Drug Saf.* **24** (2001) 801–811.
241. N. Hulsman, J. P. Medema, C. Bos, A. Jongejan, R. Leurs, M. J. Smit, I. J. P. de Esch, D. Richel, M. Wijtmans, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 2424–2431.
242. K. Kashfi, B. Rigas, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **358** (2007) 1096–1101.
243. G. L. Plosker, D. Faulds, *Drugs* **57** (1999) 409–438.
244. K. Kassahun, P. G. Pearson, W. Tang, I. McIntosh, K. Leung, C. Elmore, D. Dean, R. Wang, G. Doss, T. A. Baillie, *Chem. Res. Toxicol.* **14** (2001) 62–70.
245. O. D. Taraschenko, W. G. Barnes, K. Herrick-Davis, Y. Yakoyama, D. L. Boyd, L. B. Hough, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **27** (2005) 161–165.
246. A. Alfirevic, T. Mills, D. Carr, B. J. Barratt, A. Jawaid, J. Sherwood, J. C. Smith, J. Tugwood, R. Hartkoorn, A. Owen, K. B. Park, M. Pirmohamed, *Pharmacogenet. Genomics* **17** (2007) 1091–1100.
247. A. Kalgutkar, D. Dalvie, J. O'Donnell, T. Taylor, D. Sahakian, *Curr. Drug Metab.* **3** (2002) 379–424.
248. H. Takakusa, H. Masumoto, H. Yukinaga, C. Makino, S. Nakayama, O. Okazaki, K. Sudo, *Drug Metab. Dispos.* **36** (2008) 1770–1779.
249. A. M. M. Antunes, M. P. Duarte, P. P. Santos, G. Gamboa da Costa, T. M. Heinze, F. A. Beland, M. M. Marques, *Chem. Res. Toxicol.* **21** (2008) 1443–1456.
250. A. Bardsley-Elliot, C. M. Perry, *Paediatr. Drugs* **2** (2000) 373–407.
251. T. Powles, D. Robinson, J. Stebbing, J. Shamash, M. Nelson, B. Gazzard, S. Mandelia, H. Møller, M. Bower, *J. Clin. Oncol.* **27** (2009) 884–890.
252. C. Avendaño, J. C. Menéndez, *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Elsevier, Amsterdam, 2015.
253. M. F. Braña, M. Cacho, A. Gradillas, B. de Pascual-Teresa, A. Ramos, *Curr. Pharm. Des.* **7** (2001) 1745–1780.
254. L. S. Lerman, *J. Mol. Biol.* **3** (1961) 18–30.
255. A. H.-J. Wang, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2** (1992) 361–368.
256. R. Martinez, L. Chacon-Garcia, *Curr. Med. Chem.* **12** (2005) 127–151.
257. A. Rescifina, C. Zagni, M. G. Varrica, V. Pistarà, A. Corsaro, *Eur. J. Med. Chem.* **74** (2014) 95–115.

258. R. Donev (ur.) *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* **92** Elsevier, Amsterdam 2013.
259. L. Biczók, P. Valat, V. Wintgens, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1** (1999) 4759–4766.
260. S.-C. Chang, B. J. Archer, R. E. Utecht, D. E. Lewis, M. M. Judy, J. L. Matthews, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **3** (1993) 555–556.
261. T. C. Chanh, D. E. Lewis, M. M. Judy, F. Sogandares-Bernal, G. R. Michalek, R. E. Utecht, H. Skiles, S.-C. Chang, J. L. Matthews, *Antiviral Res.* **25** (1994) 133–146.
262. T. C. Chanh, D. E. Lewis, J. S. Allan, F. Sogandares-Bernal, M. M. Judy, R. E. Utecht, J. L. Matthews, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **9** (1993) 891–896.
263. A. D. Andricopulo, L. A. Müller, V. Cechinel Filho, G. S. Cani, J. F. Roos, R. Corrêa, A. R. S. Santos, R. J. Nunes, R. A. Yunes, *Farm.* **55** (2000) 319–321.
264. A. M. Mattocks, O. S. Hutchison, *J. Am. Chem. Soc.* **70** (1948) 3474–3475.
265. M. Muth, V. Hoerr, M. Glaser, A. Ponte-Sucre, H. Moll, A. Stich, U. Holzgrabe, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17** (2007) 1590–1593.
266. M. Langlois, J. Soulier, V. Rampillon, C. Gallais, B. Brémont, S. Shen, D. Yang, A. Giudice, F. Sureau, *Eur. J. Med. Chem.* **29** (1994) 925–940.
267. M. Langlois, J. L. Soulier, B. Brémont, S. Shen, V. Rampillon, A. Giudice, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2** (1992) 691–694.
268. I. Berque-Bestel, J.-L. Soulier, M. Giner, L. Rivail, M. Langlois, S. Sicsic, *J. Med. Chem.* **46** (2003) 2606–2620.
269. R. Rosell, J. Carles, A. Abad, N. Ribelles, A. Barnadas, A. Benavides, M. Martín, *Invest. New Drugs* **10** (1992) 171–175.
270. M. Llombart, A. Poveda, E. Forner, C. Fernández-Martos, C. Gaspar, M. Muñoz, T. Olmos, A. Ruiz, V. Soriano, A. Benavides, M. Martin, E. Schlick, V. Guillem, *Invest. New Drugs* **10** (1992) 177–181.
271. D. H. Gesme, J. R. Jett, D. D. Schreffler, J. Q. Su, J. A. Mailliard, J. F. Foley, J. E. Krook, A. W. Maksymiuk, A. K. Hatfield, L. P. Ebbert, D. M. Pfeifle, R. F. Morton, L. K. Tschetter, P. I. Schaefer, *Cancer* **71** (1993) 2723–2726.
272. M. J. Ratain, G. Rosner, S. L. Allen, M. Costanza, D. A. Van Echo, I. C. Henderson, R. L. Schilsky, *J. Clin. Oncol.* **13** (1995) 741–747.
273. G. Kornek, M. Raderer, D. Depisch, K. Haider, B. Fazeny, C. Dittrich, W. Scheithauer, *Eur. J. Cancer* **30** (1994) 398–400.
274. C. Higano, P. Goodman, J. Craig, J. Kish, S. Rivkin, M. Wolf, E. D. Crawford, *Invest. New Drugs* **9** (1991) 361–363.

275. R. Saez, J. B. Craig, J. G. Kuhn, G. R. Weiss, J. Koeller, J. Phillips, K. Havlin, G. Harman, J. Hardy, T. J. Melink, *J. Clin. Oncol.* **7** (1989) 1351–1358.
276. Z. Tian, Z. Zhao, F. Zang, Y. Wang, C. Wang, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **138** (2014) 202–210.
277. Z.-Y. Tian, J.-H. Li, Q. Li, F.-L. Zang, Z.-H. Zhao, C.-J. Wang, *Molecules* **19** (2014) 7646–7668.
278. K. Wang, Y. Wang, X. Yan, H. Chen, G. Ma, P. Zhang, J. Li, X. Li, J. Zhang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22** (2012) 937–941.
279. R. Seliga, M. Pilatova, M. Sarissky, V. Viglasky, M. Walko, J. Mojzis, *Mol. Biol. Rep.* **40** (2013) 4129–4137.
280. K.-R. Wang, F. Qian, Q. Sun, C.-L. Ma, R.-X. Rong, Z.-R. Cao, X.-M. Wang, X.-L. Li, *Chem. Biol. Drug Des.* **87** (2016) 664–672.
281. M. Verma, V. Luxami, K. Paul, *RSC Adv.* **5** (2015) 41803–41813.
282. L. Xie, J. Cui, X. Qian, Y. Xu, J. Liu, R. Xu, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 961–967.
283. P. Quintana-Espinoza, J. García-Luis, Á. Amesty, P. Martín-Rodríguez, I. Lorenzo-Castrillejo, A. G. Ravelo, L. Fernández-Pérez, F. Machín, A. Estévez-Braun, *Bioorg. Med. Chem.* **21** (2013) 6484–6495.
284. C. A. Johnson, G. A. Hudson, L. K. E. Hardebeck, E. A. Jolley, Y. Ren, M. Lewis, B. M. Znosko, *Bioorg. Med. Chem.* **23** (2015) 3586–3591.
285. W. Zhang, X. Qian, Y. Wu, H. Ohrui, *Heterocycl. Commun.* **9** (2003) 229–234.
286. Y. Mao, K. Liu, L. Chen, X. Cao, T. Yi, *Chem. Eur. J.* **21** (2015) 16623–16630.
287. Q. Lou, L. Ji, W. Zhong, S. Li, S. Yu, Z. Li, X. Meng, *Molecules* **19** (2014) 8803–8819.
288. R.-X. Rong, Q. Sun, C.-L. Ma, B. Chen, W.-Y. Wang, Z.-A. Wang, K.-R. Wang, Z.-R. Cao, X.-L. Li, *Med. Chem. Comm.* **7** (2016) 679–685.
289. J.-H. Sun, WO9217454 (A1) - *Bis-naphthalimides containing amide and thioamide linkers as anticancer agents*, Du Pont Merck Pharma (1992).
290. M. A. Villalona-Calero, J. P. Eder, D. L. Toppmeyer, L. F. Allen, R. Fram, R. Velagapudi, M. Myers, A. Amato, K. Kagen-Hallet, B. Razvillas, D. W. Kufe, D. D. Von Hoff, E. K. Rowinsky, *J. Clin. Oncol.* **19** (2001) 857–869.
291. A. Awada, R. Thödtmann, M. J. Piccart, J. Wanders, A. H. G. J. Schrijvers, I.-M. Von Broen, A. R. Hanauske, *Eur. J. Cancer* **39** (2003) 742–747.
292. U. Naonobu, F. Taniyuki, Y. Kengo, JP2010202616 (A) - *New compound, synthetic intermediate thereof and method for producing these compounds*, Institute of Physical and Chemical Research (2010).
293. E. Kirillov, T. Roisnel, A. Razavi, J.-F. Carpentier, *Organometallics* **28** (2009) 5036–5051.
294. J. Morin, Y. Zhao, V. Snieckus, *Org. Lett.* **15** (2013) 4102–4105.

295. K.-C. Wu, Y.-S. Lin, Y.-S. Yeh, C.-Y. Chen, M. O. Ahmed, P.-T. Chou, Y.-S. Hon, *Tetrahedron* **60** (2004) 11861–11868.
296. G. Coll, J. Morey, A. Costa, J. M. Saa, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 5345–5348.
297. E. Rochlin, Z. Rappoport, *J. Org. Chem.* **68** (2003) 216–226.
298. K. Saha, N. H. Lajis, F. Abas, N. A. Naji, A. S. Hamzah, K. Shaari, *Aust. J. Chem.* **61** (2008) 821–825.
299. K. Niimi, E. Miyazaki, I. Osaka, K. Takimiya, *Synthesis (Stuttg).* **44** (2012) 2102–2106.
300. J. L. Ferrari, I. M. Hunsberger, H. S. Gutowsky, *J. Am. Chem. Soc.* **87** (1965) 1247–1255.
301. S. Kobayashi, T. Semba, T. Takahashi, S. Yoshida, K. Dai, T. Otani, T. Saito, *Tetrahedron* **65** (2009) 920–933.
302. J.-Y. Goujon, F. Zammattio, J.-M. Chrétien, I. Beaudet, *Tetrahedron* **60** (2004) 4037–4049.
303. J. Ramchander, N. Rameshwar, T. S. Reddy, G. Raju, A. R. Reddy, *J. Chem. Sci.* **126** (2014) 1063–1074.
304. S. U. Hossain, S. Sengupta, S. Bhattacharya, *Bioorg. Med. Chem.* **13** (2005) 5750–5758.
305. S. Mo, Q. Meng, S. Wan, Z. Su, H. Yan, B. Z. Tang, M. Yin, *Adv. Funct. Mater.* **27** (2017) 1701210.
306. E. J. Duncan, L. Chao-Pin, WO9513817 (A1) - *Endhothelin converting enzyme inhibitors*, Smithkline Beecham Corporation (1995).
307. D. J. Hunter, R. E. Markwell, R. W. Ward, WO9309136 (A1) - *Phosphonopeptides with Collagenase Inhibiting Activity*, Smithkline Beecham Plc. (1993).
308. Z. Jin, X.-B. Zhang, D.-X. Xie, Y.-J. Gong, J. Zhang, X. Chen, G.-L. Shen, R.-Q. Yu, *Anal. Chem.* **82** (2010) 6343–6346.
309. M. Alexiou, J. Tyman, I. Wilson, *Tetrahedron Lett.* **22** (1981) 2303–2306.
310. R. O. Rahn, *Photochem. Photobiol.* **66** (1997) 450–455.
311. S. Goldstein, J. Rabani, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **193** (2008) 50–55.
312. A. M. Brouwer, *Pure Appl. Chem.* **83** (2011) 2213–2228.
313. J. Olmsted, *J. Phys. Chem.* **83** (1979) 2581–2584.
314. C. Wohlfarth, *Optical Constants - Refractive Indices of Pure Liquids and Binary Liquid Mixtures* **47**, Springer, Berlin, 2008.
315. G. Scatchard, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51** (1949) 660–672.
316. J. D. McGhee, P. H. von Hippel, *J. Mol. Biol.* **86** (1974) 469–489.
317. J. D. McGhee, P. H. von Hippel, *J. Mol. Biol.* **103** (1976) 679.
318. T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **65** (1983) 55–63.
319. M. R. Boyd, K. D. Paull, *Drug Dev. Res.* **34** (1995) 91–109.

320. Đ. Škalamera, K. Mlinarić-Majerski, I. Martin Kleiner, M. Kralj, J. Oake, P. Wan, C. Bohne, N. Basarić, *J. Org. Chem.* **82** (2017) 6006–6021.
321. L. Uzelac, Đ. Škalamera, K. Mlinarić-Majerski, N. Basarić, M. Kralj, *Eur. J. Med. Chem.* **137** (2017) 558–574.
322. P. G. M. Wuts, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis* , John Wiley & Sons, Hoboken, 2014.
323. F. Bickelhaupt, *Pure Appl. Chem.* **58** (1986) 537–542.
324. M. C. P. Yeh, H. G. Chen, P. Knochel, *Org. Synth.* **70** (1992) 195–203.
325. S. Djuric, J. Venit, P. Magnus, *Tetrahedron Lett.* **22** (1981) 1787–1790.
326. S. P. Bruekelman, S. E. Leach, G. D. Meakins, M. D. Tirel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1984) 2801–2807.
327. J. E. Macor, B. L. Chenard, R. J. Post, *J. Org. Chem.* **59** (1994) 7496–7498.
328. R. C. Ronald, M. R. Winkle, *Tetrahedron* **39** (1983) 2031–2042.
329. M. R. Winkle, R. C. Ronald, *J. Org. Chem.* **47** (1982) 2101–2108.
330. V. Snieckus, *Chem. Rev.* **90** (1990) 879–933.
331. Đ. Škalamera, J. Veljković, L. Ptiček, M. Sambol, K. Mlinarić-Majerski, N. Basarić, *Tetrahedron* **73** (2017) 5892–5899.
332. W. Reusch, R. LeMahieu, *J. Am. Chem. Soc.* **86** (1964) 3068–3072.
333. M. Konieczny, R. G. Harvey, *J. Org. Chem.* **44** (1979) 4813–4816.
334. J. L. Hallman, R. A. Bartsch, *J. Org. Chem.* **56** (1991) 6243–6245.
335. J.-F. Lohier, K. Wright, C. Peggion, F. Formaggio, C. Toniolo, M. Wakselman, J.-P. Mazaleyrat, *Tetrahedron* **62** (2006) 6203–6213.
336. Z. Lu, S. J. Lord, H. Wang, W. E. Moerner, R. J. Twieg, *J. Org. Chem.* **71** (2006) 9651–9657.
337. E. C. Ashby, *Pure Appl. Chem.* **52** (1980) 545–569.
338. K. Maruyama, T. Katagiri, *J. Phys. Org. Chem.* **2** (1989) 205–213.
339. R. D. Crouch, *Tetrahedron* **69** (2013) 2383–2417.
340. E. W. Collington, H. Finch, I. J. Smith, *Tetrahedron Lett.* **26** (1985) 681–684.
341. V. Gold, *Advances in Physical Organic Chemistry* **12** Elsevier, Amsterdam, 1976.
342. N. Agmon, *J. Phys. Chem. A* **109** (2005) 13–35.
343. L. M. Tolbert, K. M. Solntsev, *Acc. Chem. Res.* **35** (2002) 19–27.
344. J. Lee, G. W. Robinson, S. P. Webb, L. A. Philips, J. H. Clark, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 6538–6542.
345. V. Markovic, D. Villamaina, I. Barabanov, L. M. Lawson Daku, E. Vauthey, *Angew. Chem. Int. Ed.* **50** (2011) 7596–7598.
346. T. A. Gadosy, D. Shukla, L. J. Johnston, *J. Phys. Chem. A* **103** (1999) 8834–8839.

347. D. Vare, F. Johansson, J.-O. Persson, K. Erixon, D. Jenssen, *Toxicol. Lett.* **226** (2014) 343–350.
348. J. J. Serrano-Pérez, M. Merchán, L. Serrano-Andrés, *J. Phys. Chem. B* **112** (2008) 14002–14010.
349. M. L. Smith, P. Gregory, N. F. A. Bafi-Yeboa, J. T. Arnason, *Photochem. Photobiol.* **79** (2007) 506–510.
350. P. Doty, H. Boedtker, J. R. Fresco, R. Haselkorn, M. Litt, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **45** (1959) 482–499.
351. L. Yaqiu, C. Bin, CN103570683 (A) - *Multi-substituted amine compound, as well as preparation method and use thereof*, Shanghai Institute of Materia Medica Chinese Academy of Sciences (2014).
352. M. P. Storz, G. Allegretta, B. Kirsch, M. Empting, R. W. Hartmann, *Org. Biomol. Chem.* **12** (2014) 6094–6104.
353. J. Zhang, C. Xiong, J. Ying, W. Wang, V. J. Hruby, *Org. Lett.* **5** (2003) 3115–3118.
354. M. Spallarossa, Q. Wang, R. Riva, J. Zhu, *Org. Lett.* **18** (2016) 1622–1625.
355. M. Reggelin, B. Junker, T. Heinrich, S. Slavik, P. Bühle, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 4023–4034.
356. K. Yoshikatsu, N. Shushi, K. Yoshihiko, N. Masahiro; M. Naohiro, EP2947066 (A1) - *Phenoxyalkylamine Compound*, Osaka University, KNC Laboratories Co. (2014).
357. D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **48** (1983) 4155–4156.
358. Y.-L. Luo, K. Baathulaa, V. K. Kannekanti, C.-H. Zhou, G.-X. Cai, *Sci. China Chem.* **58** (2015) 483–494.
359. Y.-Y. Zhang, J.-L. Mi, C.-H. Zhou, X.-D. Zhou, *Eur. J. Med. Chem.* **46** (2011) 4391–4402.
360. J. Ren, X. Zhao, Q. Wang, C. Ku, D. Qu, C. Chang, H. Tian, *Dye. Pigment.* **64** (2005) 179–186.
361. Z. Tian, Y. Liu, B. Tian, J. Zhang, *Res. Chem. Intermed.* **41** (2015) 1157–1169.
362. M. H. Lee, N. Park, C. Yi, J. H. Han, J. H. Hong, K. P. Kim, D. H. Kang, J. L. Sessler, C. Kang, J. S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **136** (2014) 14136–14142.
363. G. I. Nosova, D. A. Lypenko, R. Y. Smyslov, I. A. Berezin, E. V. Zhukova, E. I. Mal'tsev, A. V. Dmitriev, L. S. Litvinova, N. A. Solovskaya, O. V. Dobrokhotov, I. G. Abramov, A. V. Yakimanskii, *Polym. Sci. Ser. B* **56** (2014) 59–76.
364. A. Nash, A. Soheili, U. K. Tambar, *Org. Lett.* **15** (2013) 4770–4773.
365. M. P. Storz, C. K. Maurer, C. Zimmer, N. Wagner, C. Brengel, J. C. de Jong, S. Lucas, M. Müsken, S. Häussler, A. Steinbach, R. W. Hartmann, *J. Am. Chem. Soc.* **134** (2012) 16143–16146.
366. M. Sekiya, Y. Terao, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **19** (1971) 391–394.
367. H. Yoda, H. Morishita, M. Kudo, T. Katagiri, K. Takabe, *ChemInform* **20** (1989) 92–93.
368. W. Awad, M. Ismail, N. Kandile, *Aust. J. Chem.* **28** (1975) 1621–1625.

369. M. Ogata, H. Matsumoto, K. Tawara, *Eur. J. Med. Chem.* **16** (1981) 373–378.
370. J. P. Blinco, J. C. McMurtrie, S. E. Bottle, *European J. Org. Chem.* **2007** (2007) 4638–4641.
371. E. E. Podlesny, M. C. Kozlowski, *J. Nat. Prod.* **75** (2012) 1125–1129.
372. Z. He, G. Ye, W. Jiang, *Chem. Eur. J.* **21** (2015) 3005–3012.
373. F.-X. Felpin, E. Fouquet, *Chem. Eur. J.* **16** (2010) 12440–12445.
374. T. Ohishi, T. Kojima, T. Matsuoka, M. Shiro, H. Kotsuki, *Tetrahedron Lett.* **42** (2001) 2493–2496.
375. V. Sansanwal, H. G. Krishnamurty, *Synth. Commun.* **25** (1995) 1901–1906.
376. G. M. Anantharamaiah, K. M. Sivanandaiah, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1977) 490–491.
377. P. K. Mandal, J. S. McMurray, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 6599–6601.
378. T. Bieg, W. Szeja, *Synthesis (Stuttg).* **1985** (1985) 76–77.
379. S. Lucas, R. Heim, M. Negri, I. Antes, C. Ries, K. E. Schewe, A. Bisi, S. Gobbi, R. W. Hartmann, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 6138–6149.
380. P. Angibeaud, J. Defaye, A. Gadelle, J.-P. Utille, *Synthesis (Stuttg).* **1985** (1985) 1123–1125.
381. S. K. Boovanahalli, D. W. Kim, D. Y. Chi, *J. Org. Chem.* **69** (2004) 3340–3344.
382. E. Klemm, B. Amon, H. Redlingshöfer, G. Emig, *Catalyst Deactivation* (1999) 97–104.
383. P. Albers, J. Pietsch, S. F. Parker, *J. Mol. Catal. A Chem.* **173** (2001) 275–286.
384. A. Kulikov, S. Arumugam, V. V. Popik, *J. Org. Chem.* **73** (2008) 7611–7615.
385. J. Ma, J. Zhao, P. Yang, D. Huang, C. Zhang, Q. Li, *Chem. Commun.* **48** (2012) 9720–9722.
386. N. Basarić, I. Žabčić, K. Mlinarić-Majerski, P. Wan, *J. Org. Chem.* **75** (2010) 102–116.
387. P. Wan, D. W. Brousmiche, C. Z. Chen, J. Cole, M. Lukeman, M. Xu, *Pure Appl. Chem.* **73** (2001) 529–534.
388. N. Basarić, N. Cindro, Y. Hou, I. Žabčić, K. Mlinarić-Majerski, P. Wan, *Can. J. Chem.* **89** (2011) 221–234.
389. D. W. Brousmiche, M. Xu, M. Lukeman, P. Wan, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 12961–12970.
390. P. Wan, D. Shukla, *Chem. Rev.* **93** (1993) 571–584.
391. N. Basarić, N. Došlić, J. Ivković, Y.-H. Wang, J. Veljković, K. Mlinarić-Majerski, P. Wan, *J. Org. Chem.* **78** (2013) 1811–1823.
392. P. Kucheryavy, R. Khatmullin, E. Mirzakulova, D. Zhou, K. D. Glusac, *J. Phys. Chem. A* **115** (2011) 11606–11614.
393. V. Wintgens, P. Valat, J. Kossanyi, L. Biczok, A. Demeter, T. Bérces, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **90** (1994) 411–421.
394. T. Soujanya, R. W. Fessenden, A. Samanta, *J. Phys. Chem.* **100** (1996) 3507–3512.
395. D. E. Wetzler, C. Chesta, R. Fernández-Prini, P. F. Aramendía, *J. Phys. Chem. A* **106** (2002) 2390–2400.

396. A. Morimoito, T. Yatsuhashi, T. Shimada, L. Biczók, D. A. Tryk, H. Inoue, *J. Phys. Chem. A* **105** (2001) 10488–10496.

397. A. Demeter, L. Biczok, T. Berces, V. Wintgens, P. Valat, J. Kossanyi, *J. Phys. Chem.* **97** (1993) 3217–3224.

398. V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, A. K. Schyolkina, A. I. Poletayev, *Biopolymers* **12** (1973) 89–110.

399. G. D. Fasman, *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules*, Springer Boston, 1996.

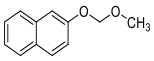
400. N. Berova, P. L. Polavarapu, K. Nakanishi, R. W. Woody (ur.) *Comprehensive Chiroptical Spectroscopy: Applications in Stereochemical Analysis of Synthetic Compounds, Natural Products, and Biomolecules*, John Wiley & Sons, Hoboken, 2012.

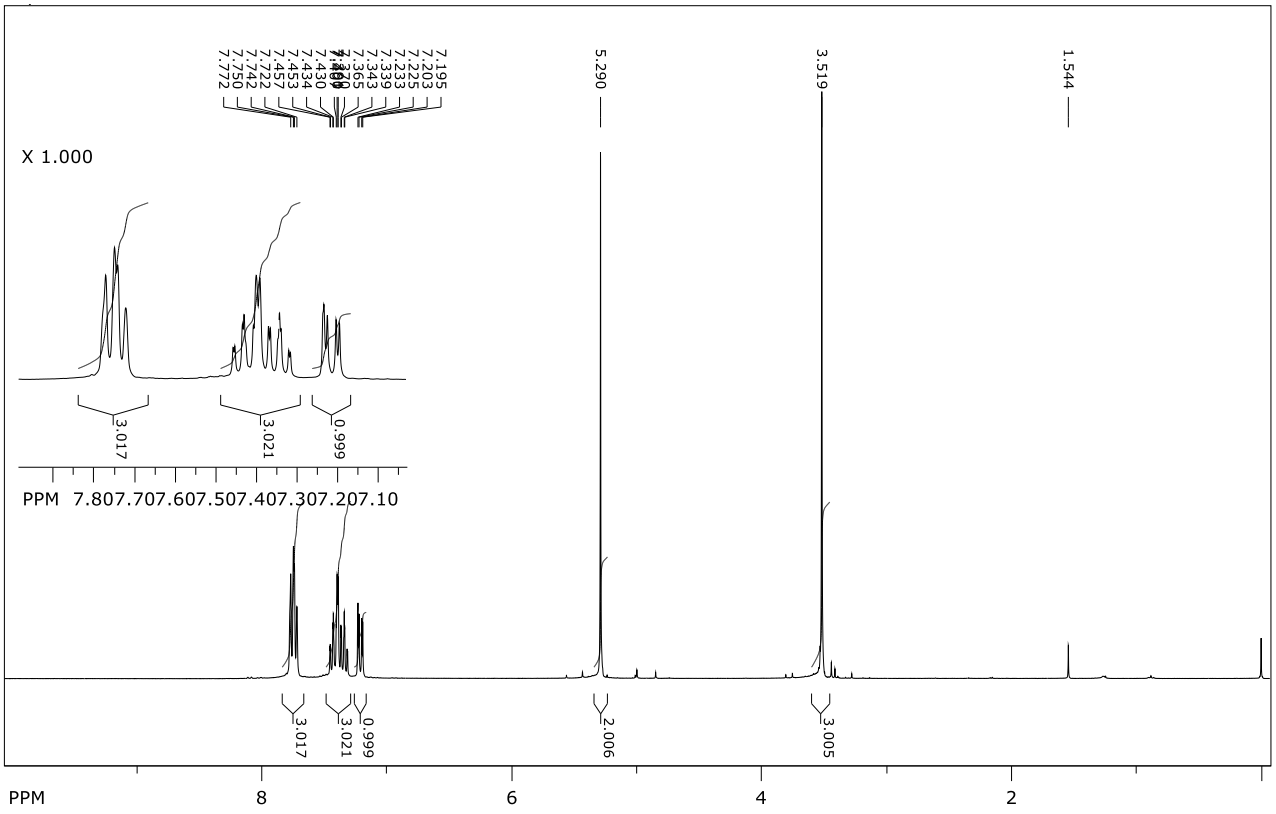
§ 8. DODATAK

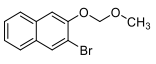
Dodatak koji prati ovu doktorsku disertaciju pohranjen je na priloženom CD-u.

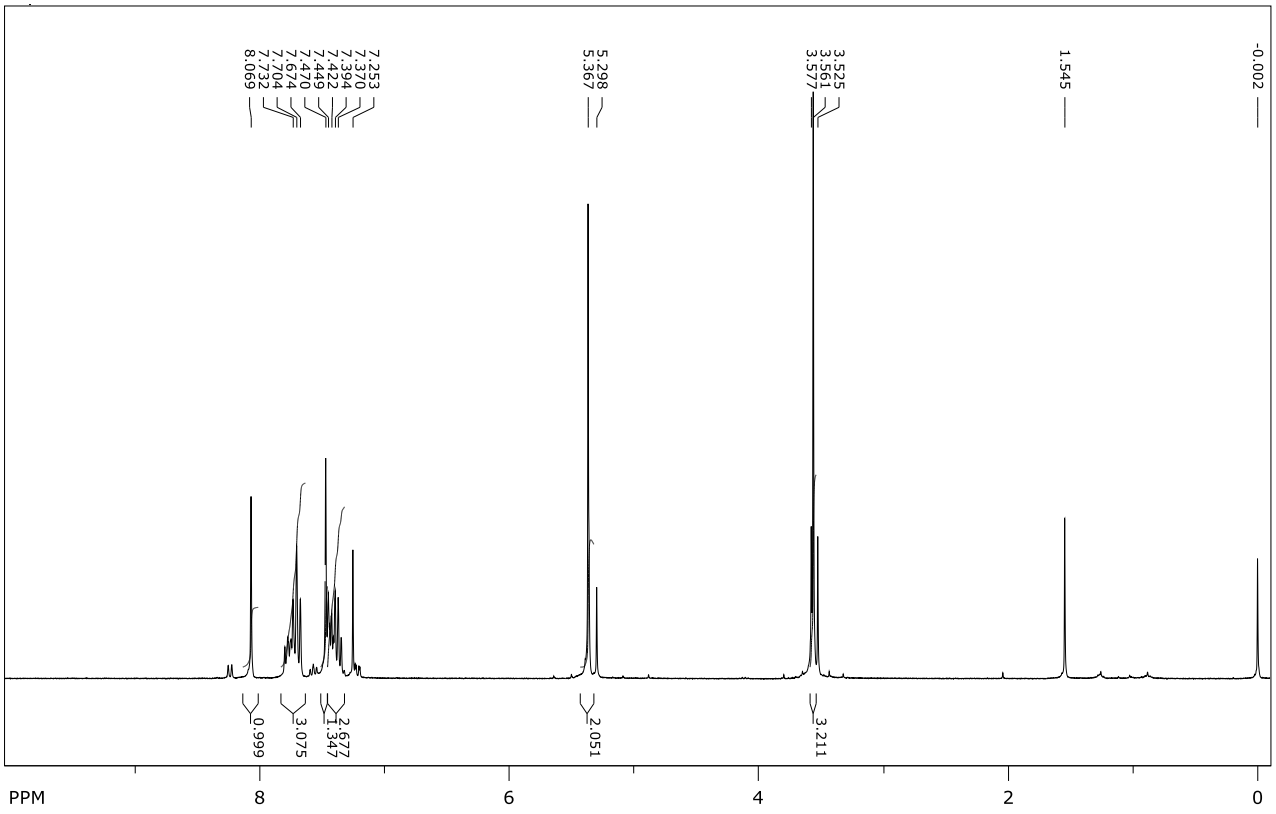
§ 8. DODATAK

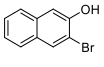
8.1. Spektri NMR

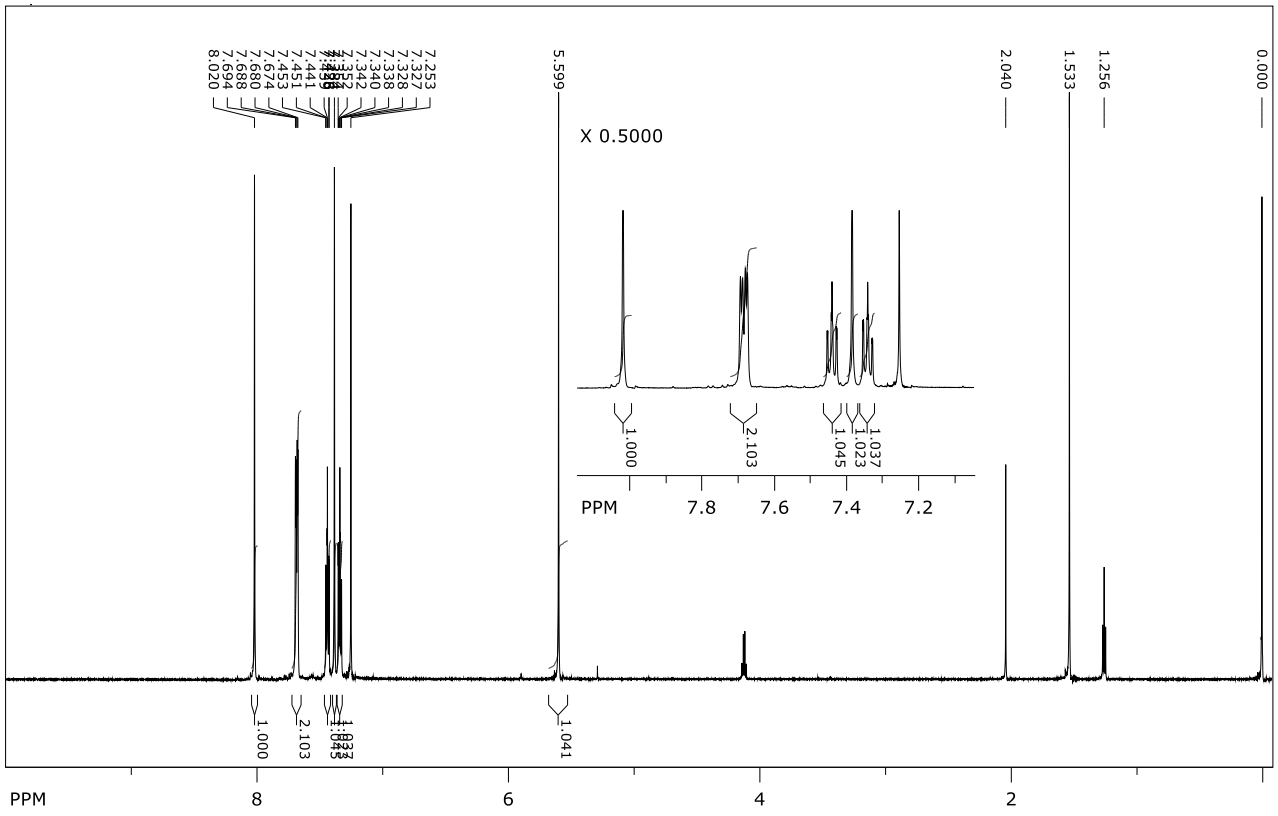
Prilog 1. Spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) spoja **1** 



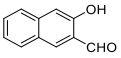
Prilog 2. Spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) spoja **2** 

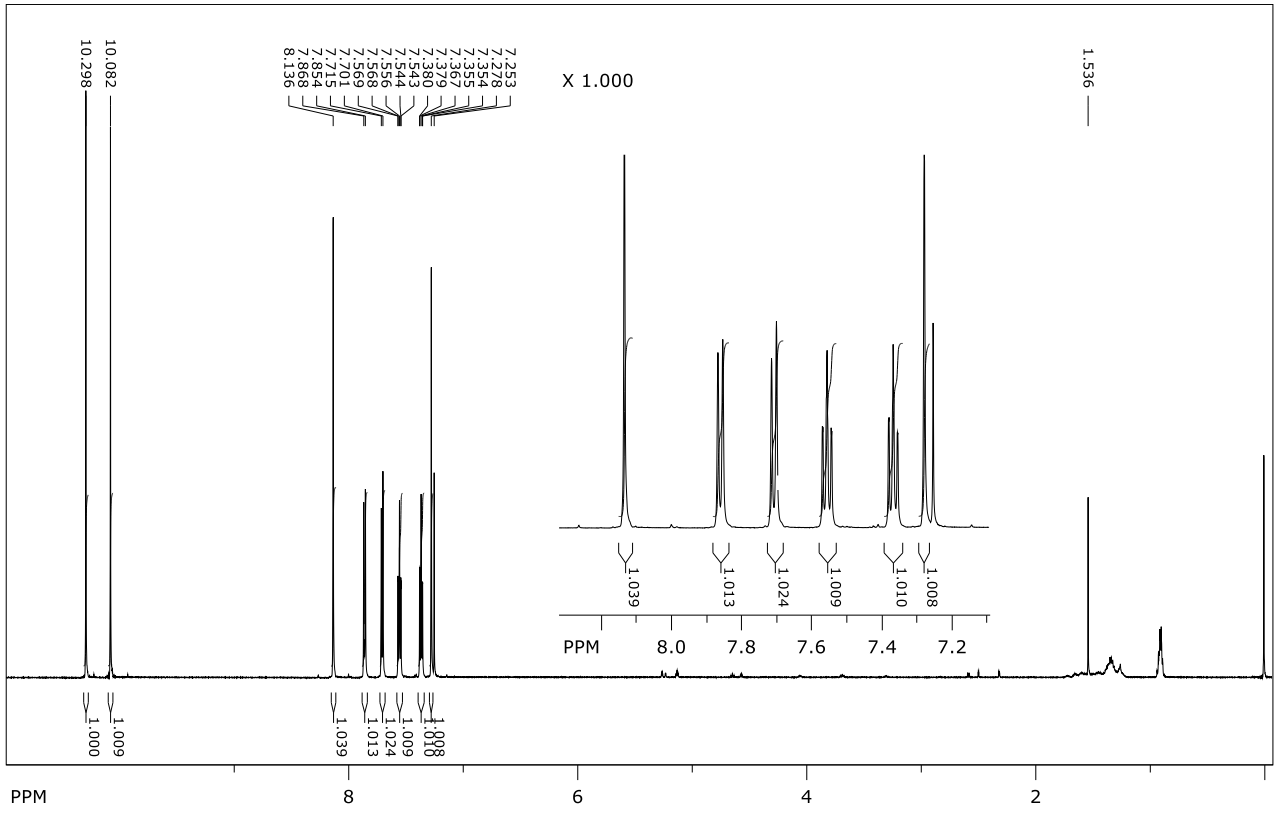


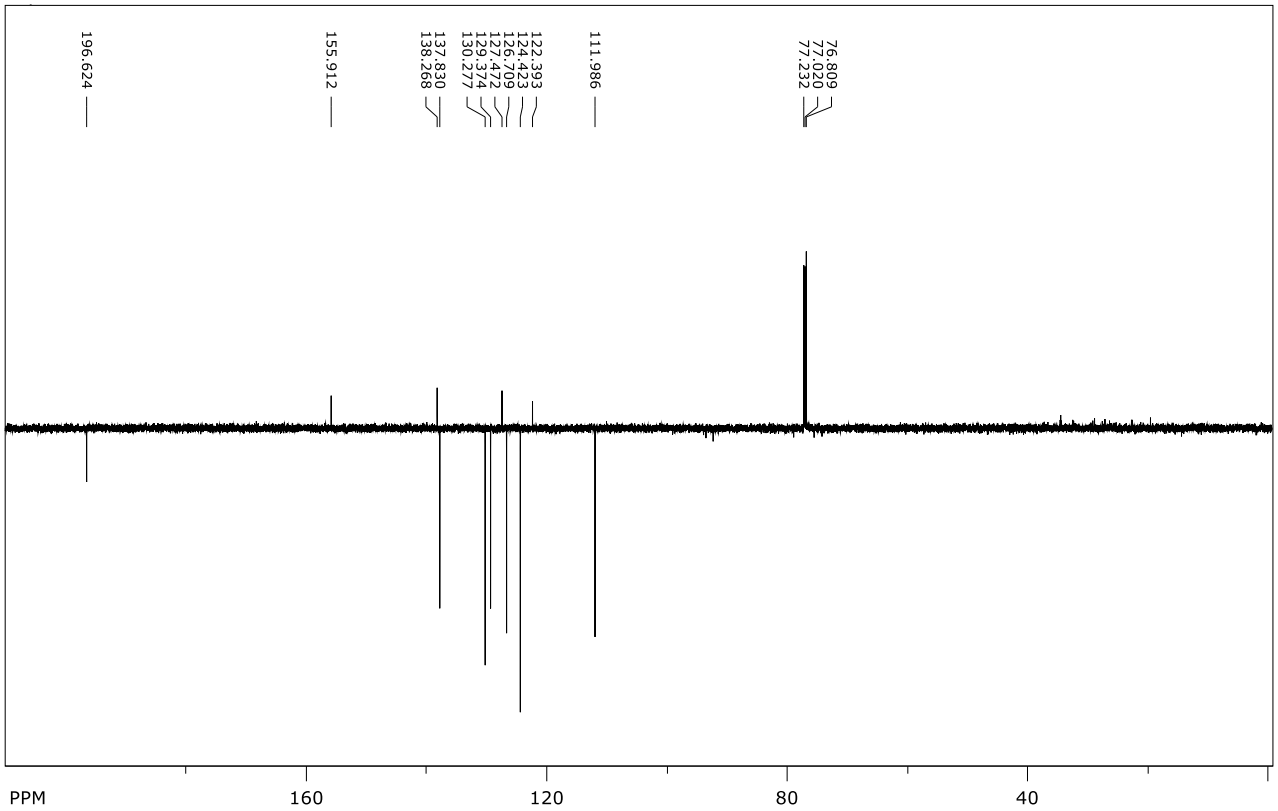
Prilog 3. Spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) spoja **3** 



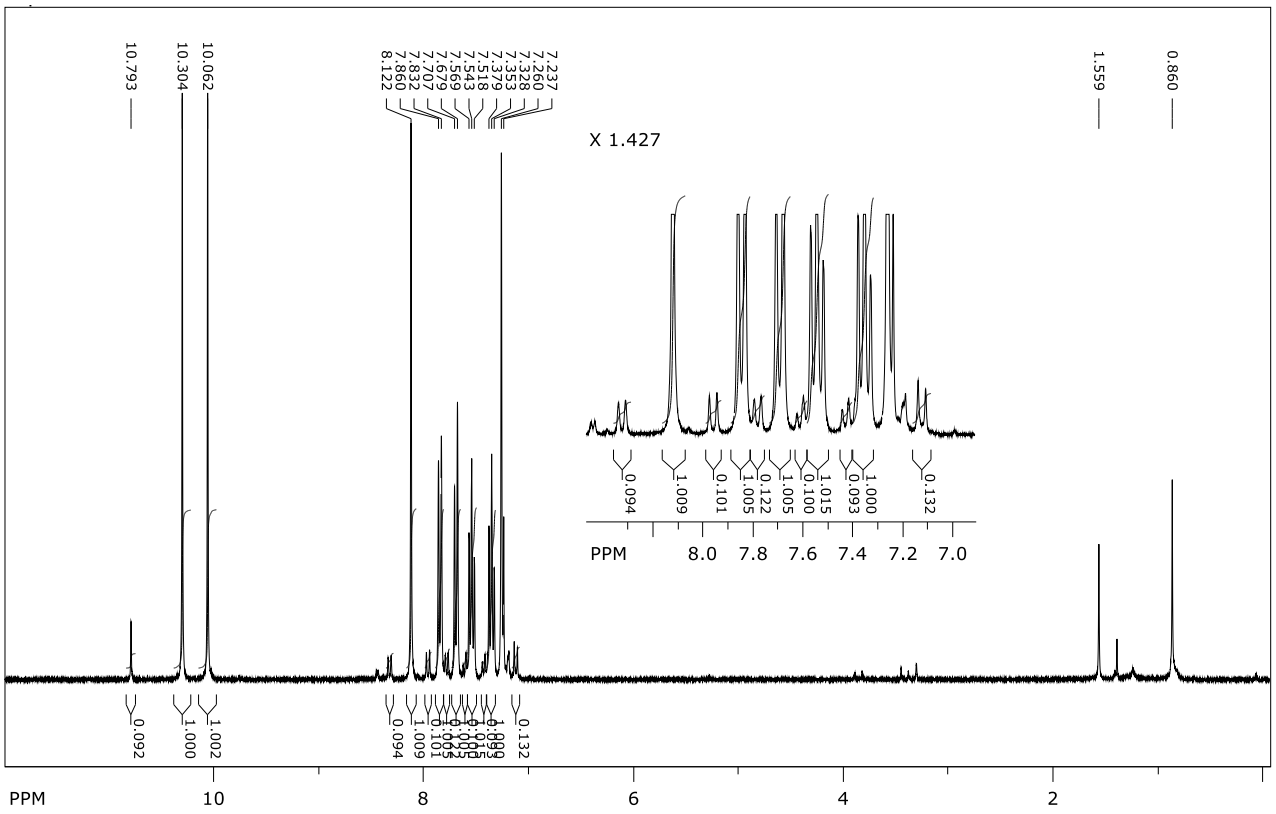
Prilog 4. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **4**



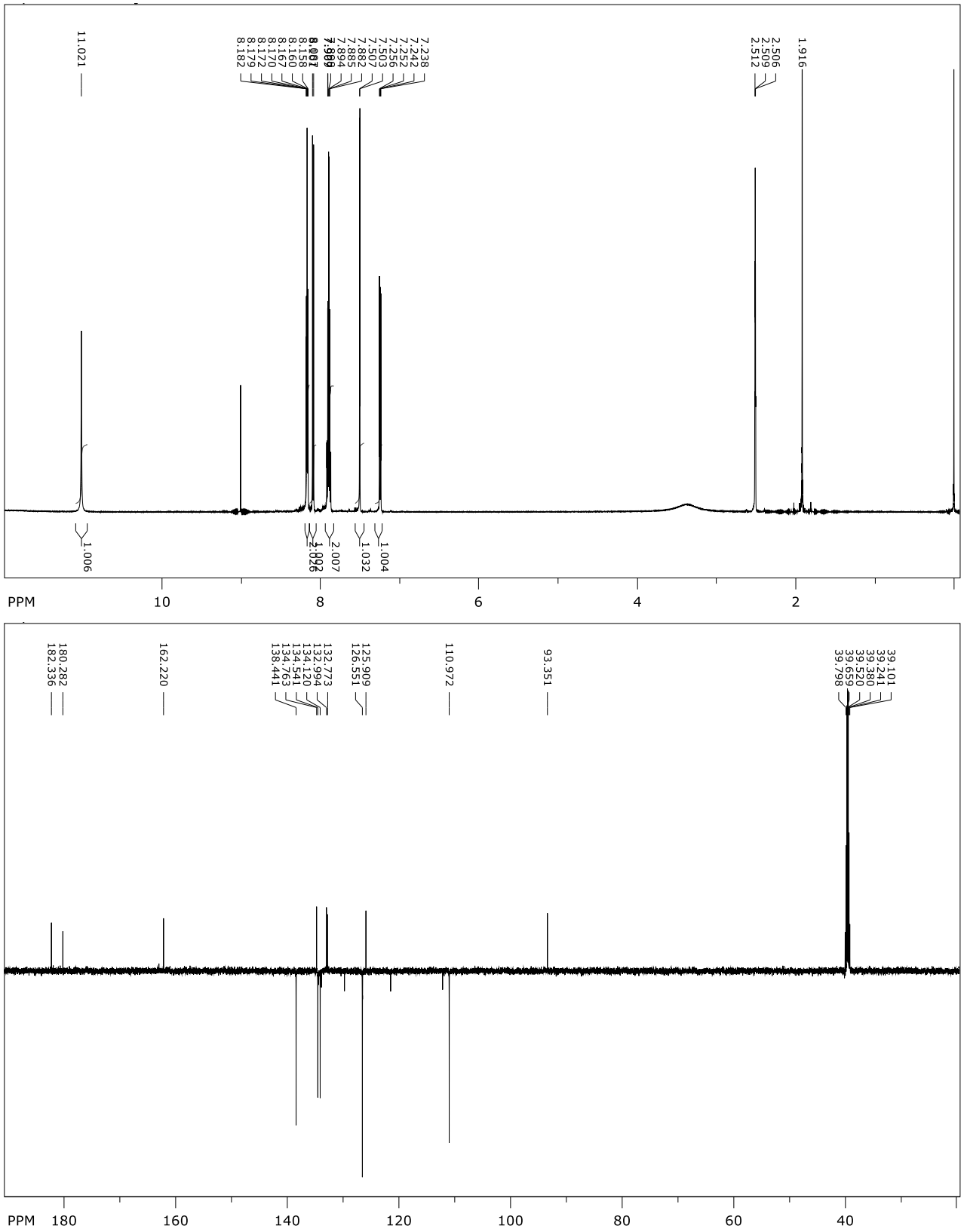




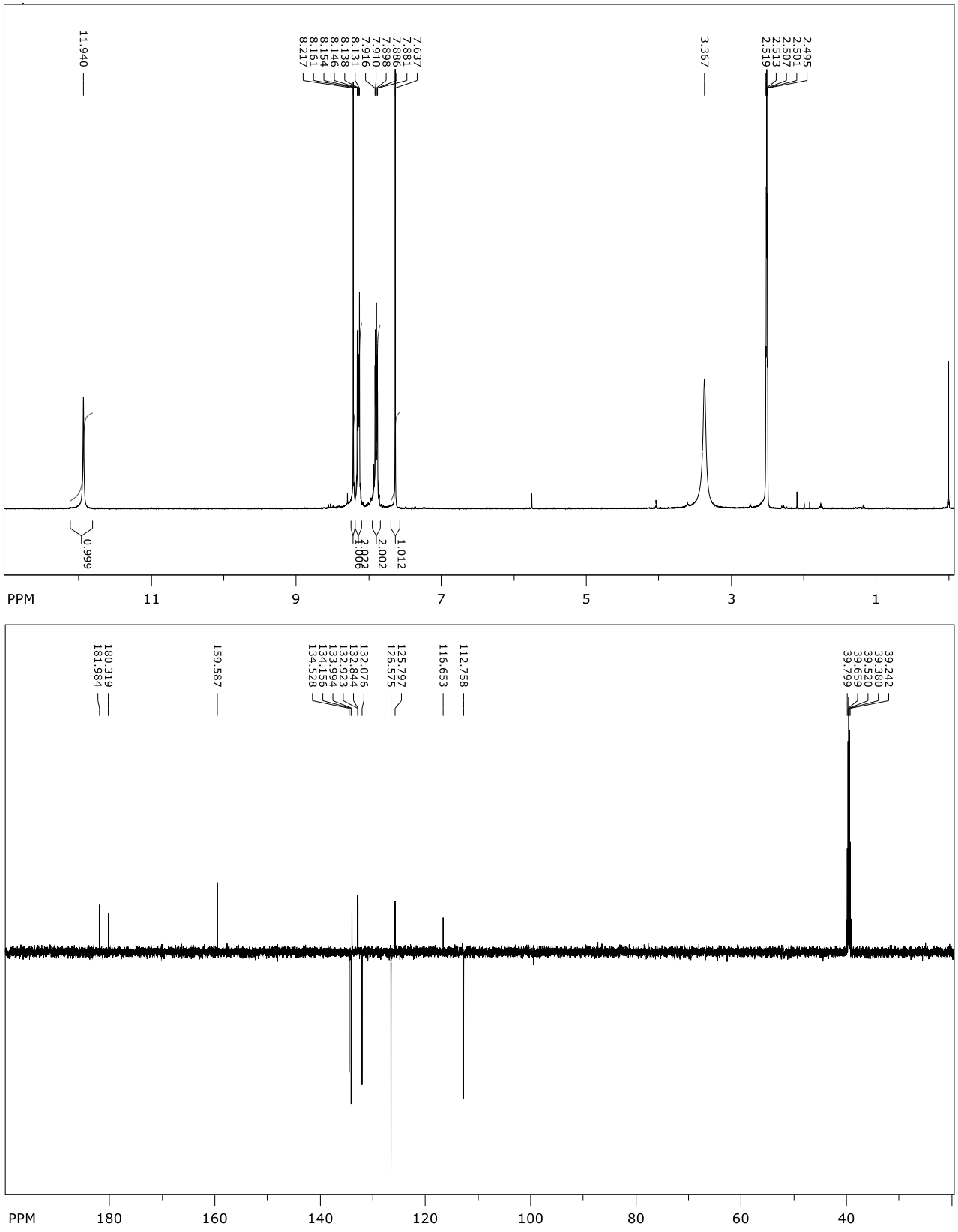
Prilog 5. Spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) smjese spoja **4** i regioizomera **4a**



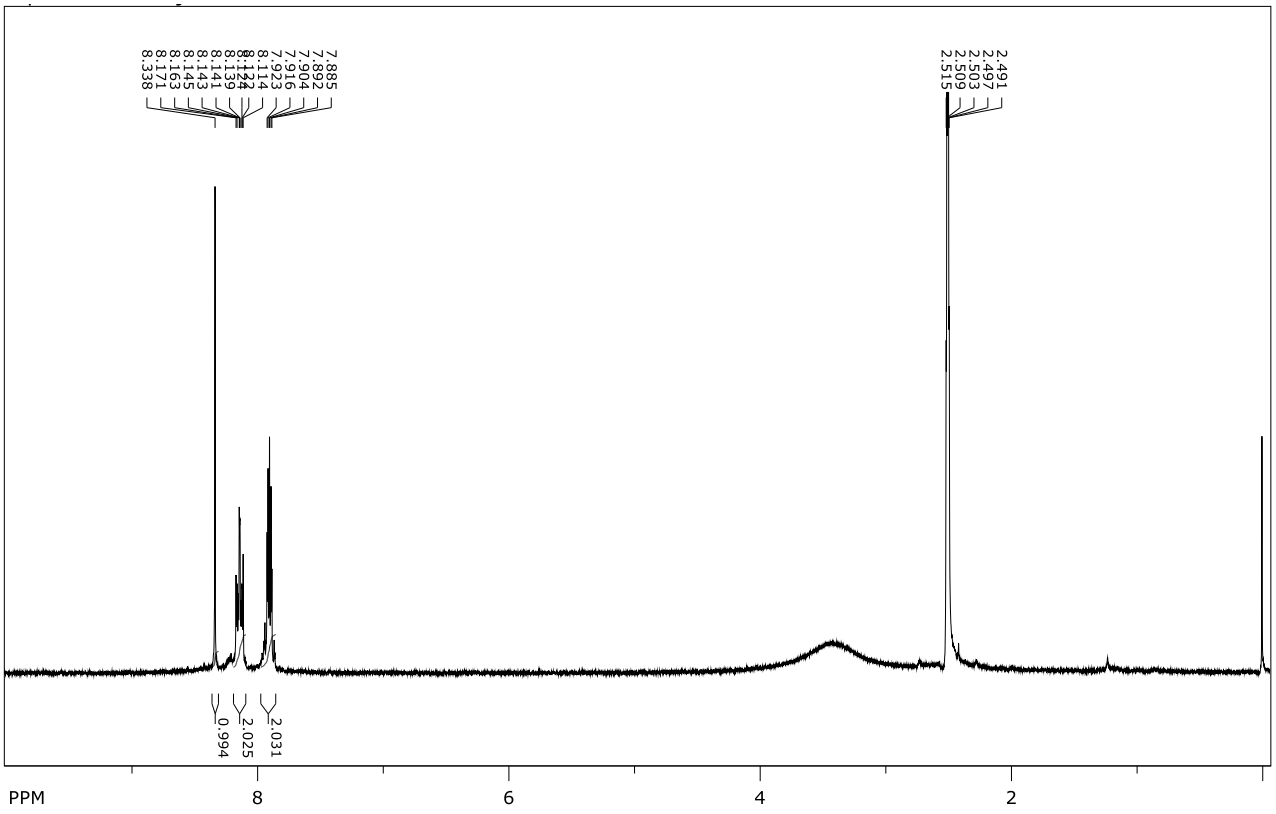
Prilog 6. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **5**



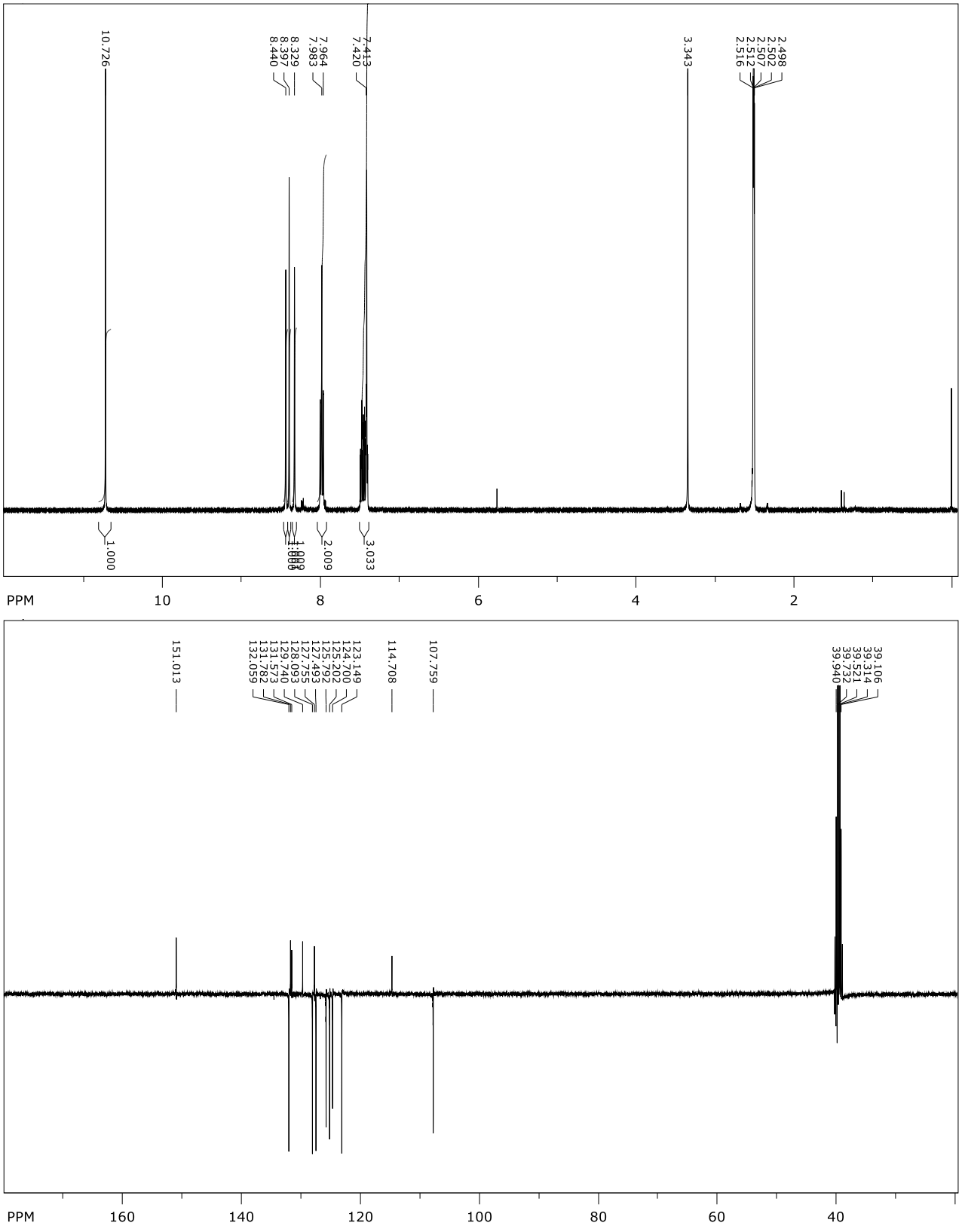
Prilog 7. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **6**



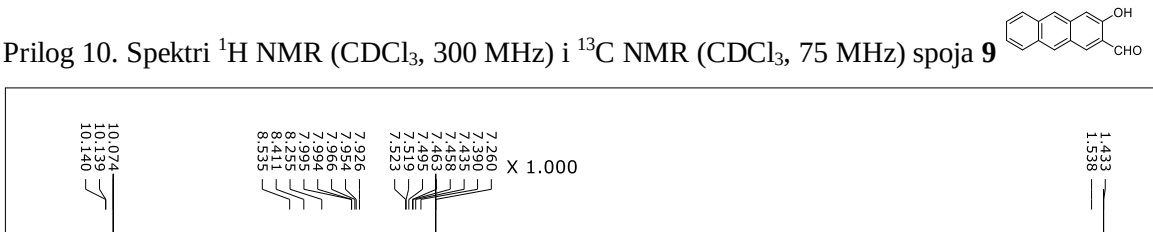
Prilog 8. Spektar ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz) spoja **7**

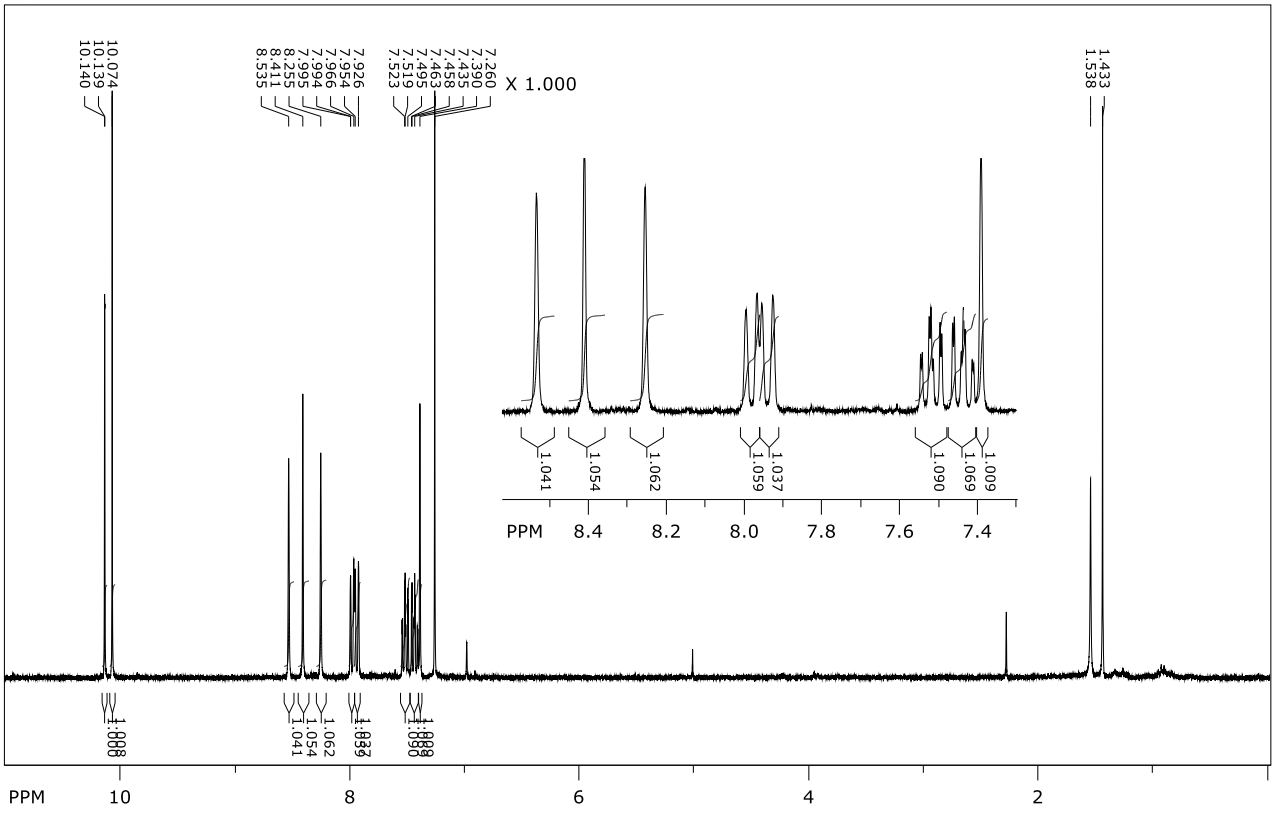


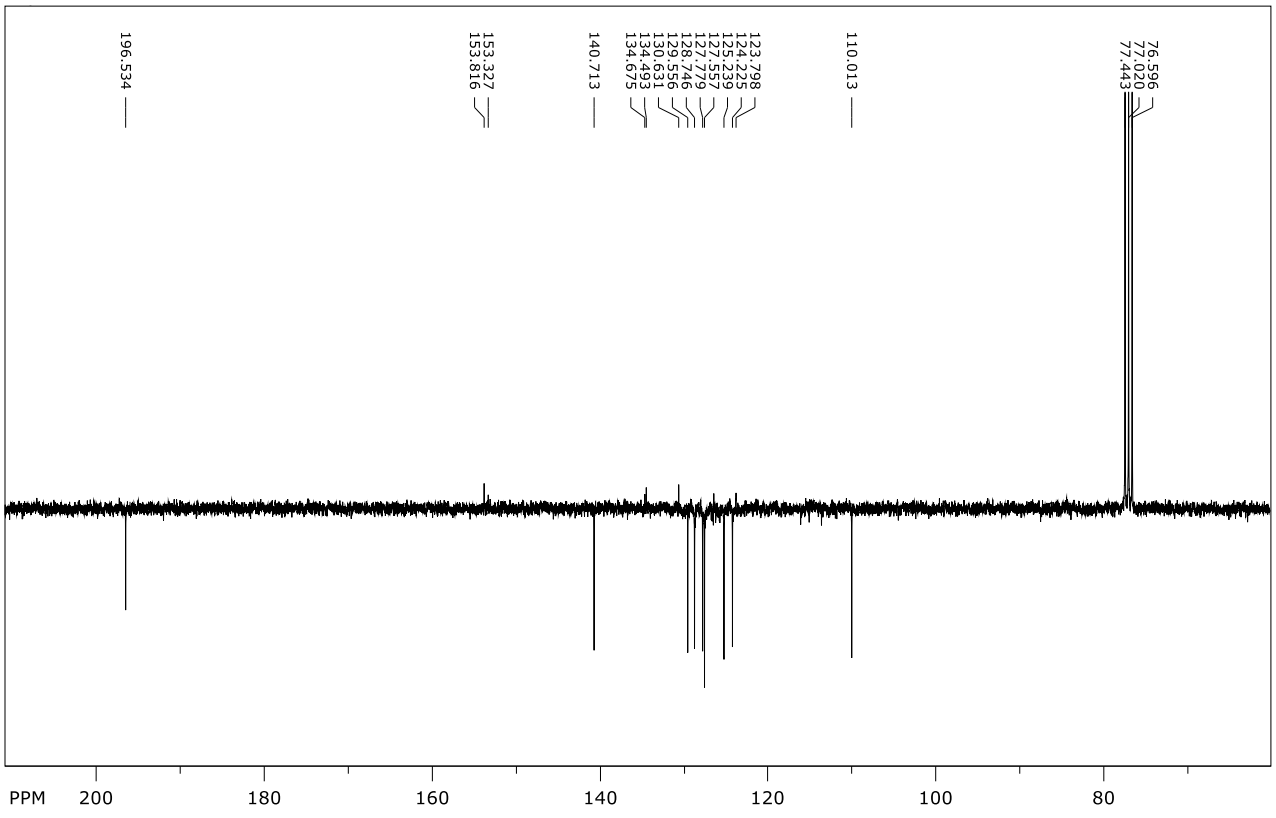
Prilog 9. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **8**



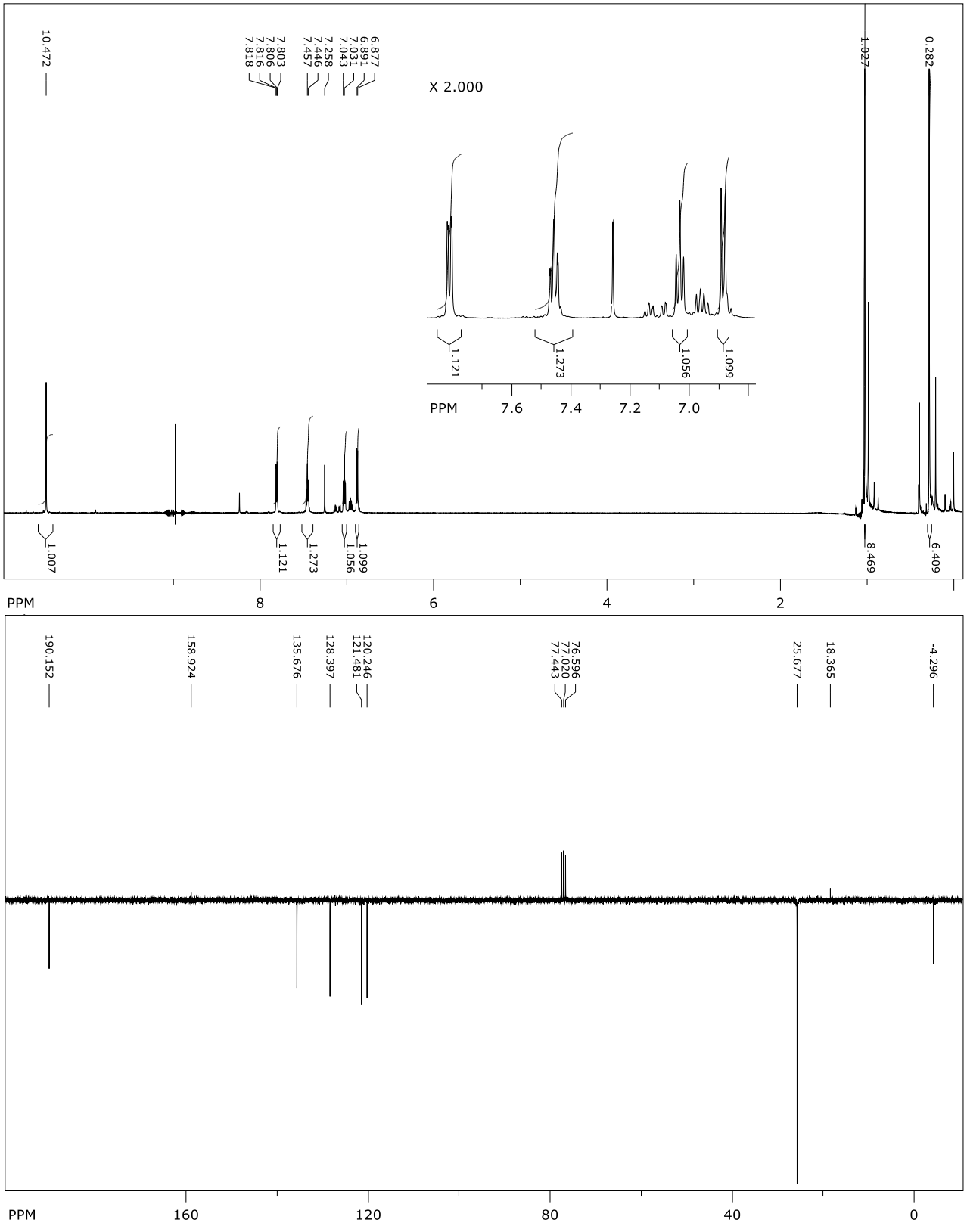
Prilog 10. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) spoja **9**



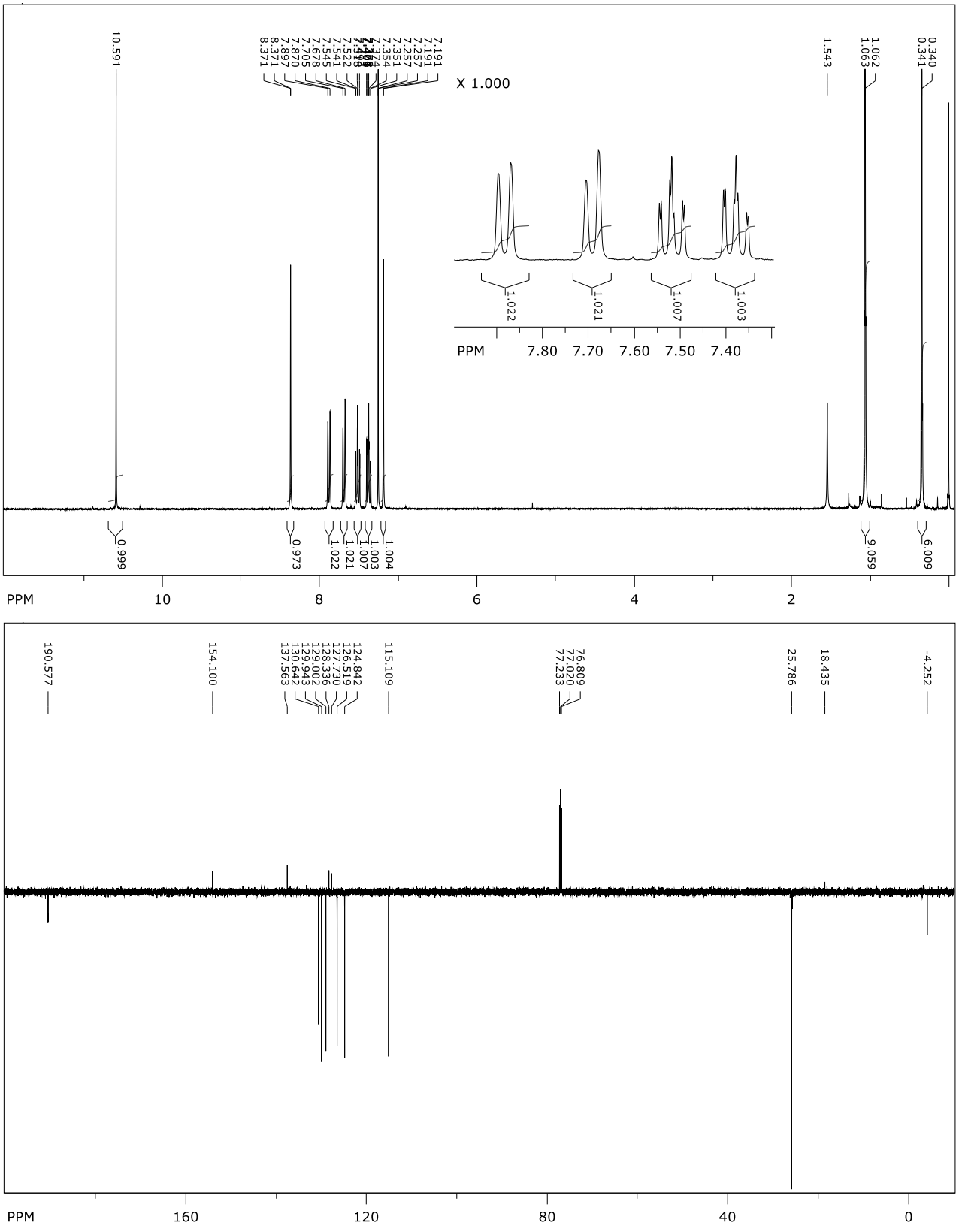




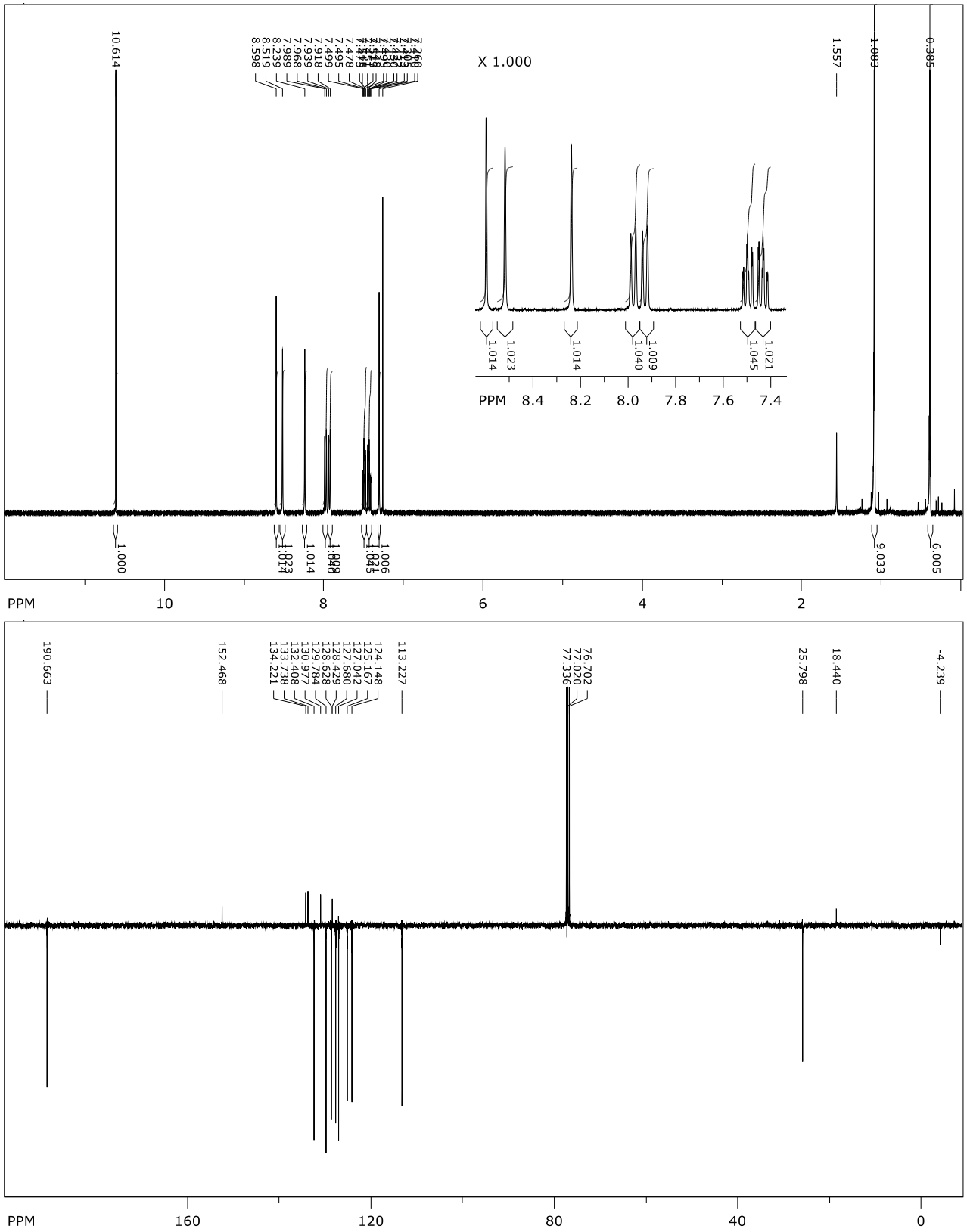
Prilog 11. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) spoja **10**

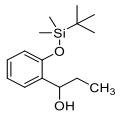


Prilog 12. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **11**

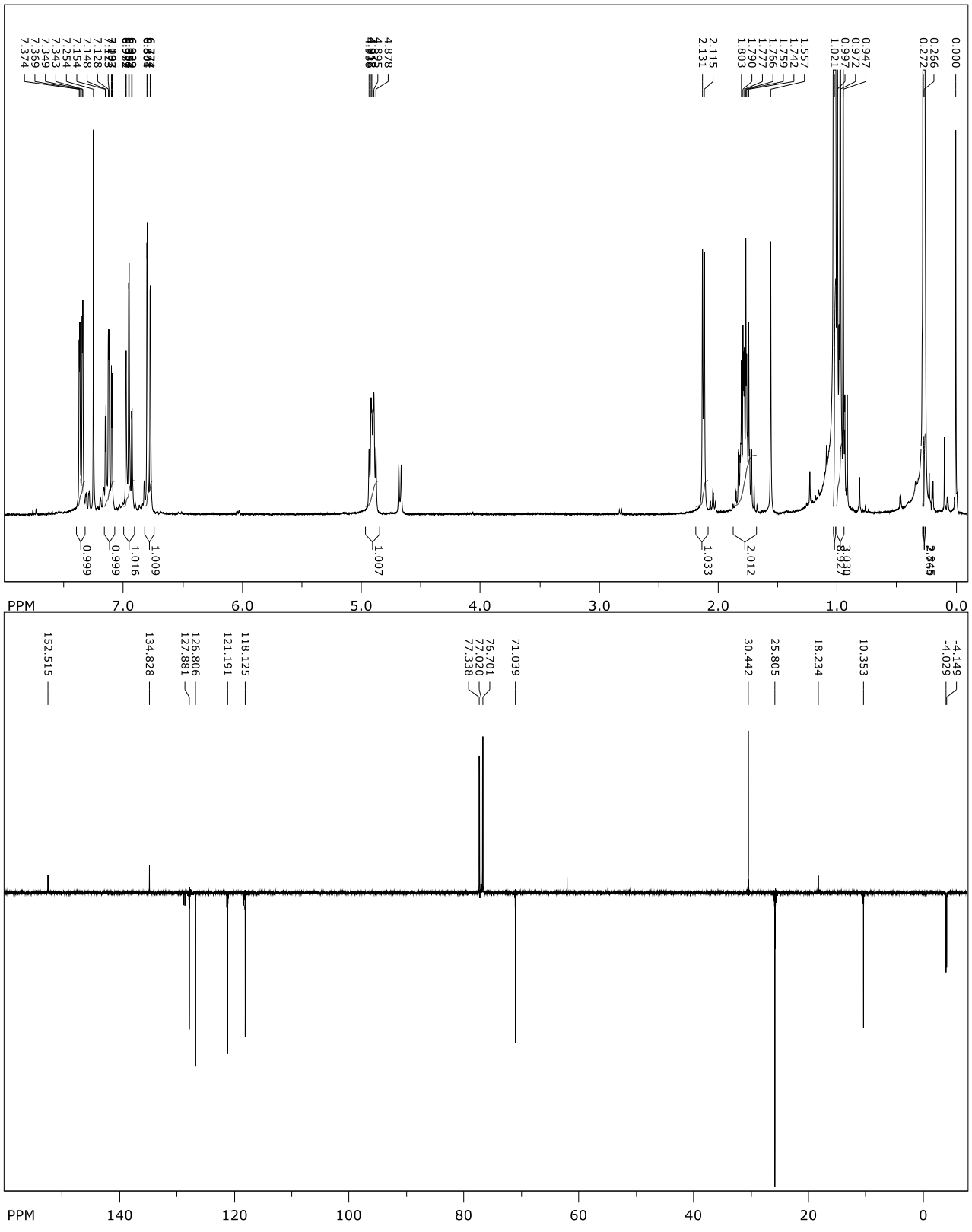


Prilog 13. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **12**

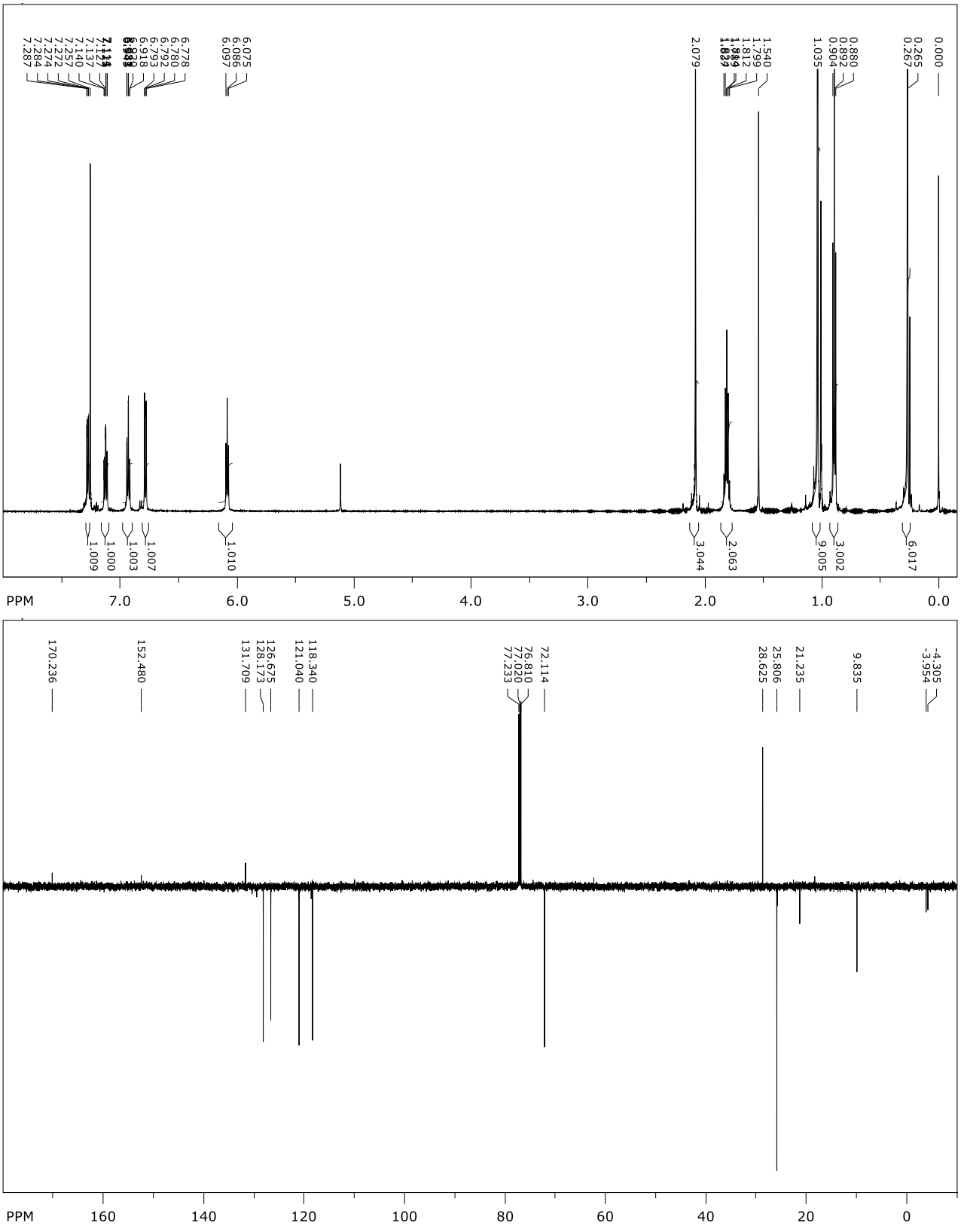


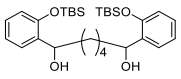


Prilog 14. Spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) spoja **13**

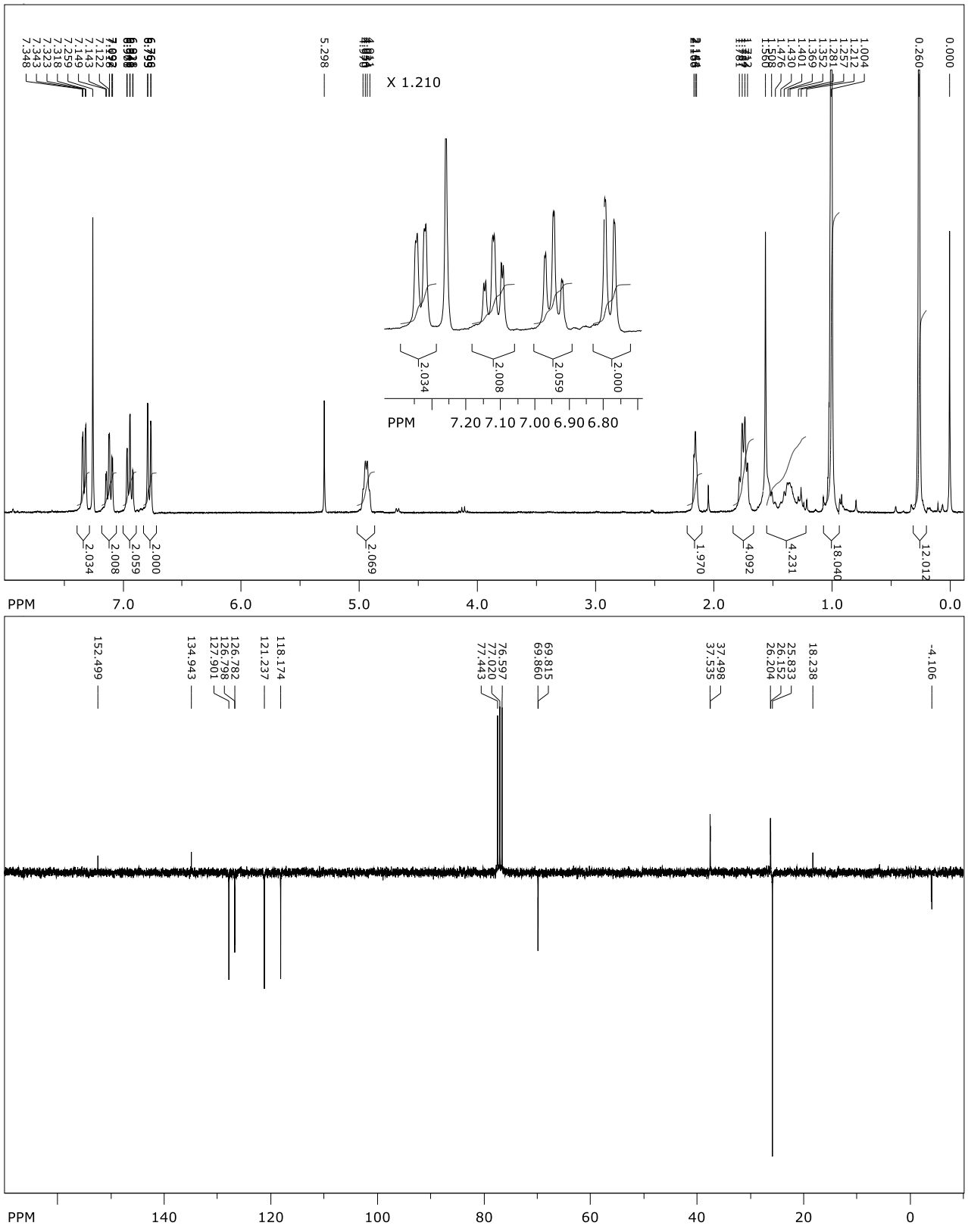


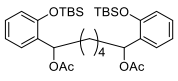
Prilog 15. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **14**



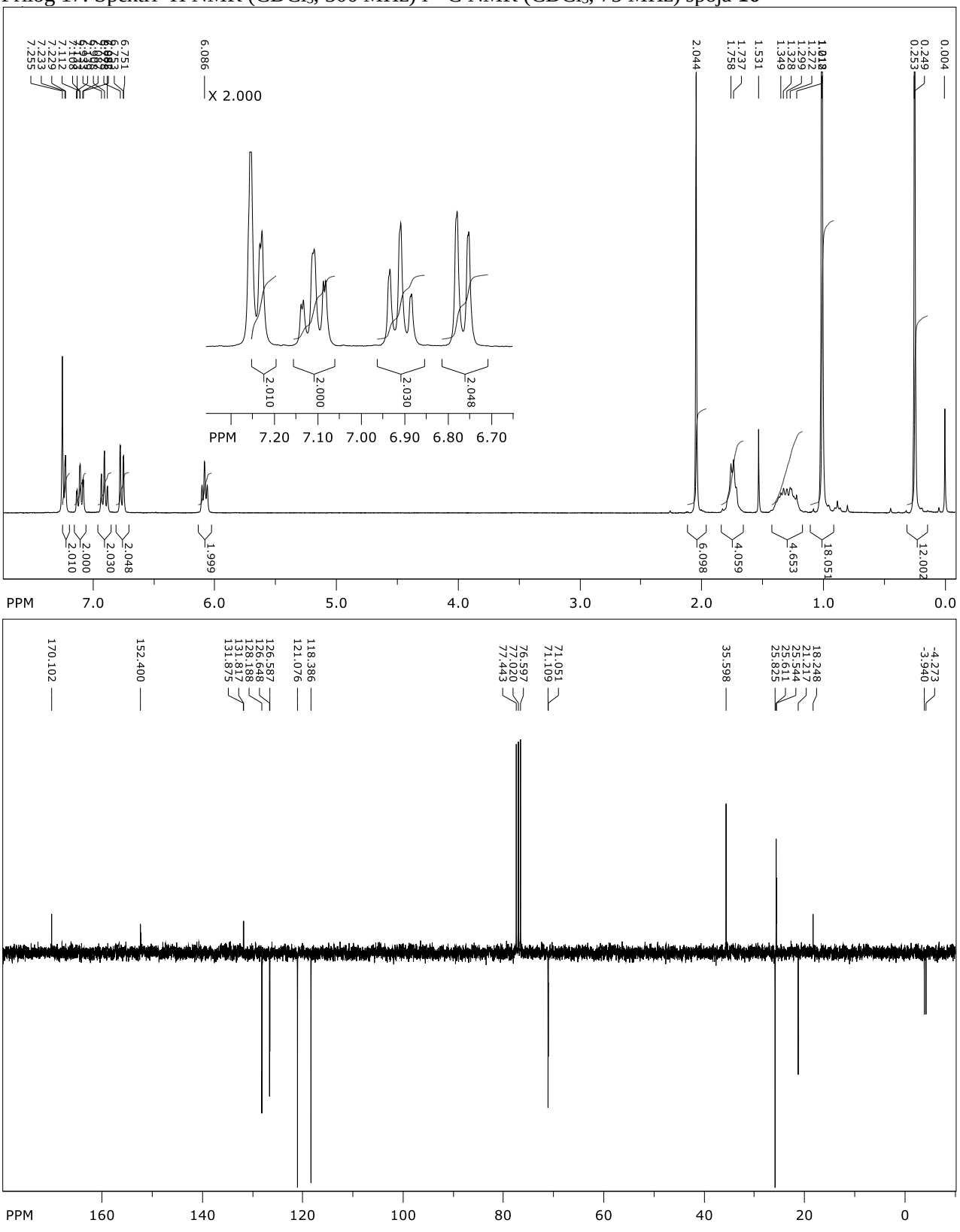


Prilog 16. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) spoja **15**

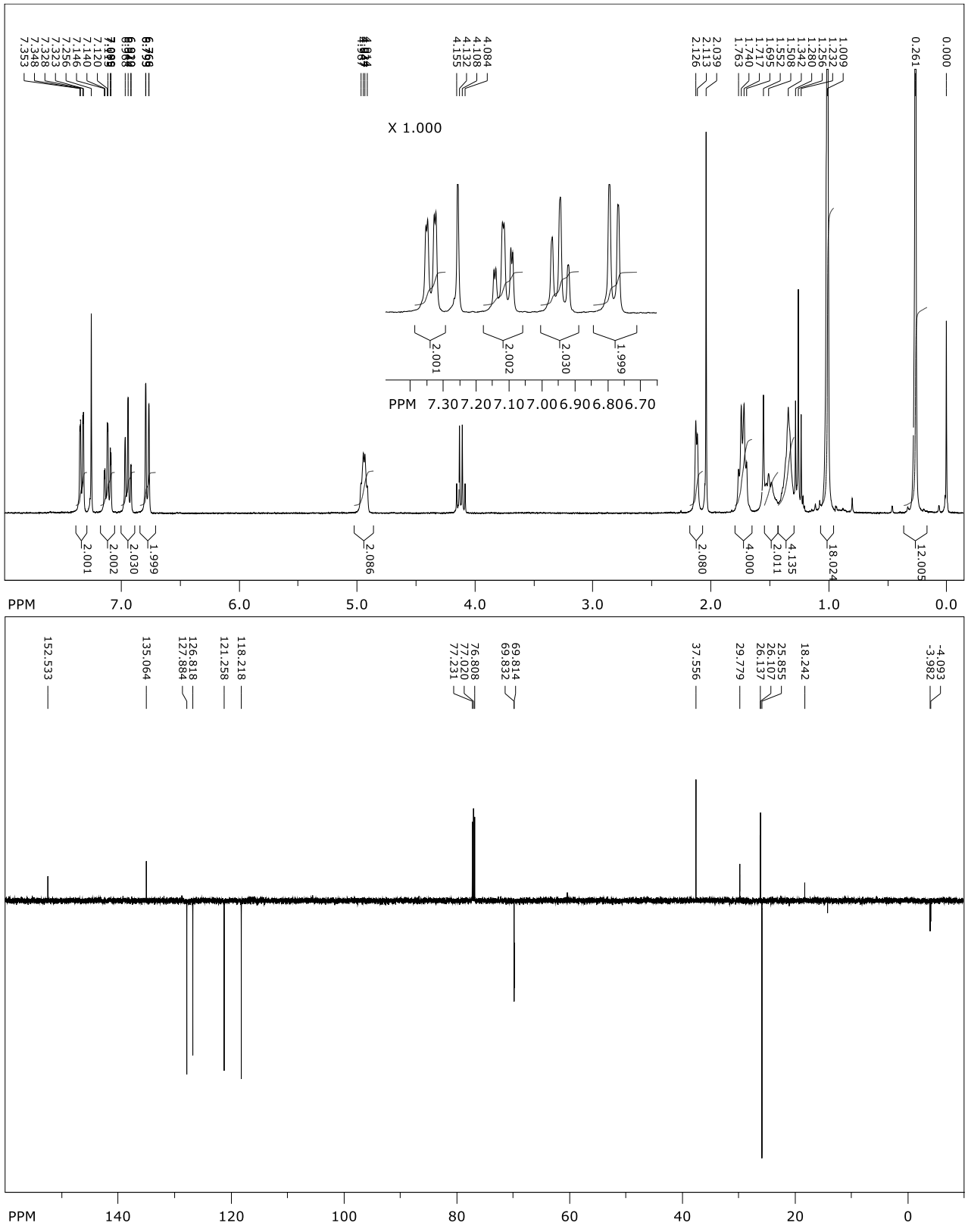




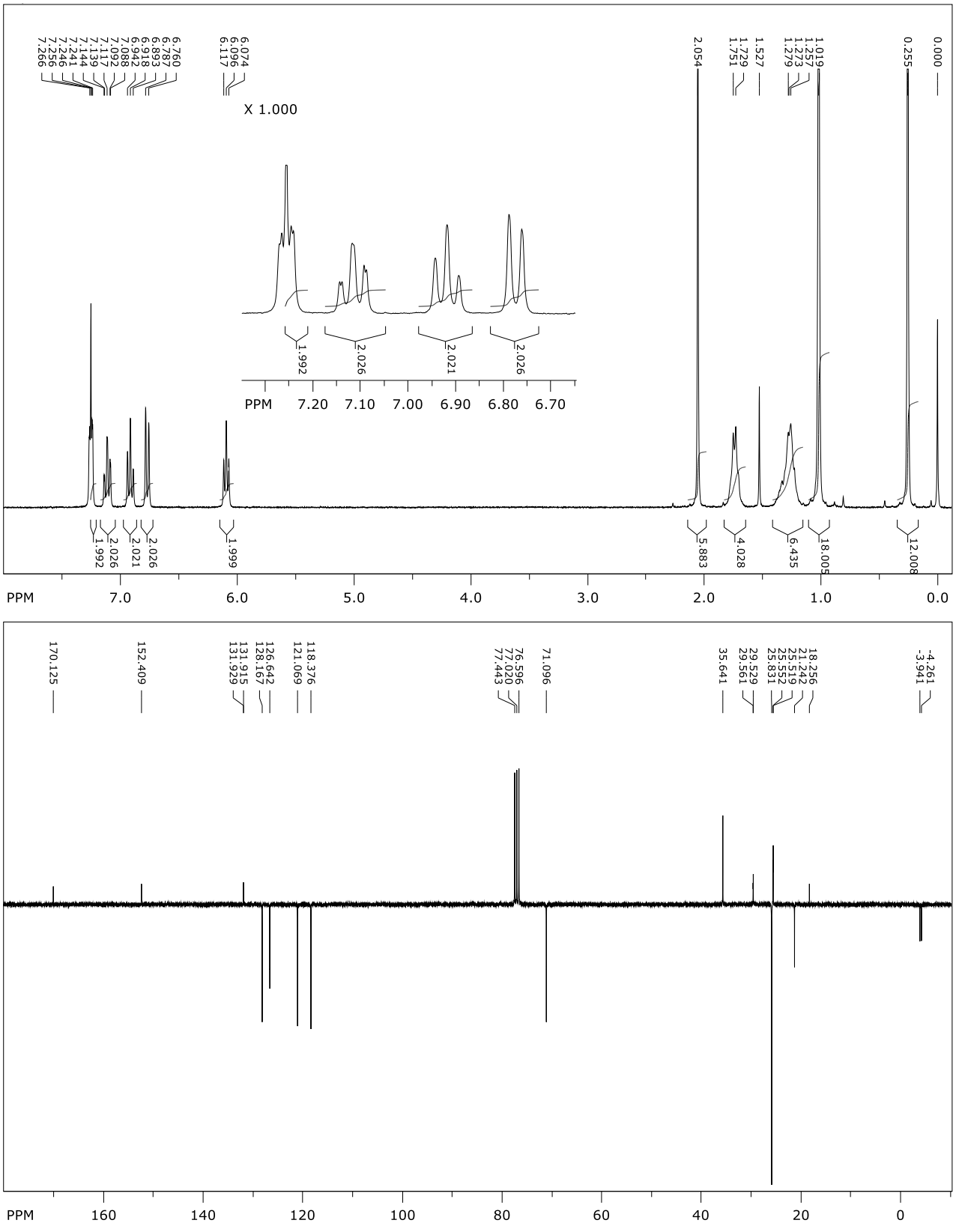
Prilog 17. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) spoja **16**



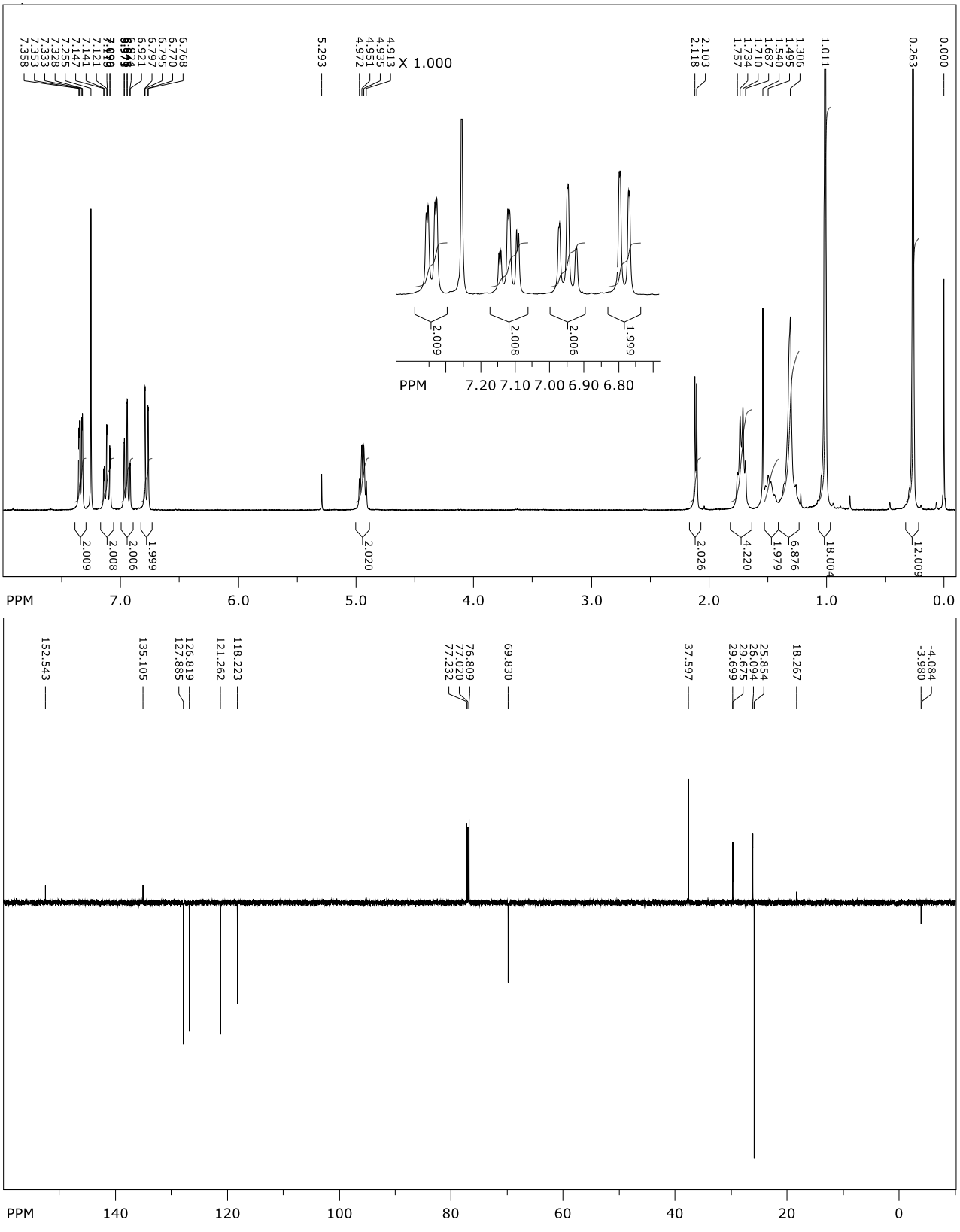
Prilog 18. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **17**



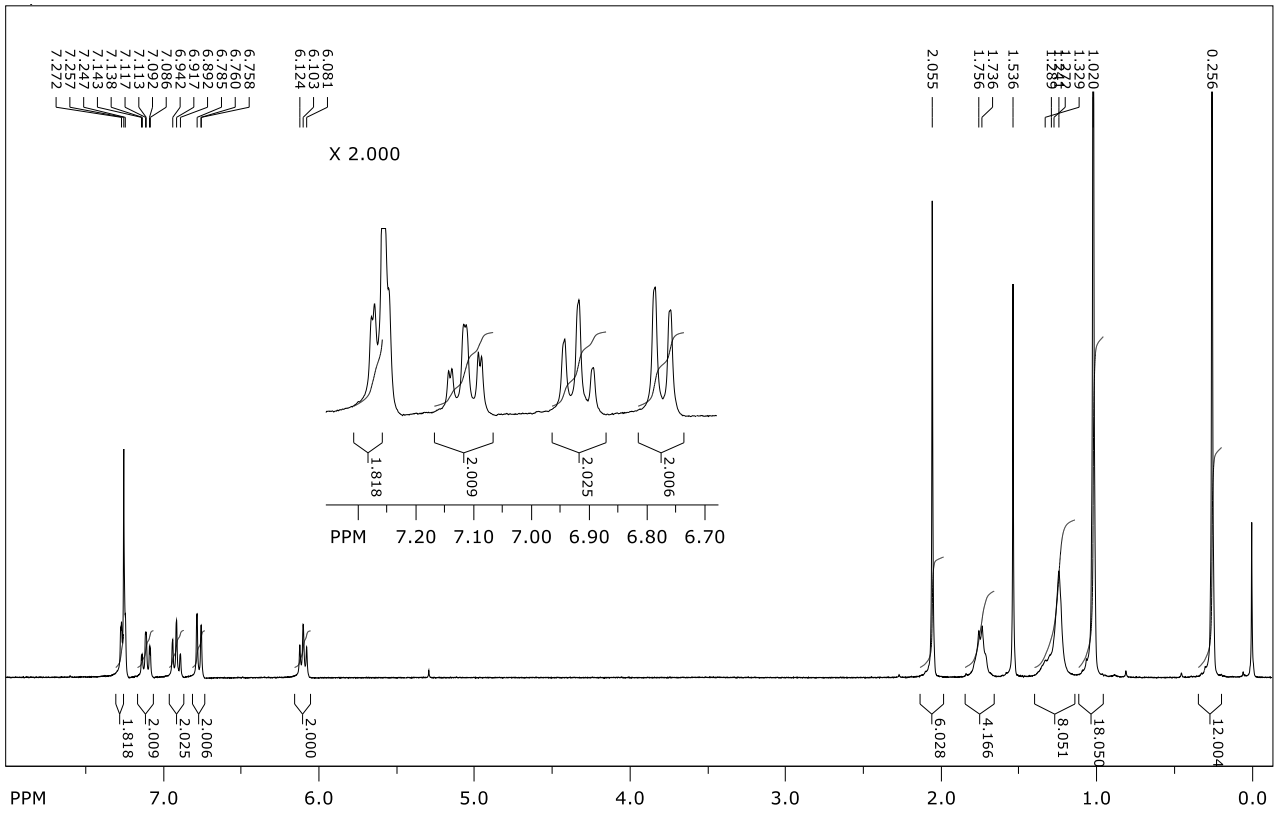
Prilog 19. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) spoja **18**

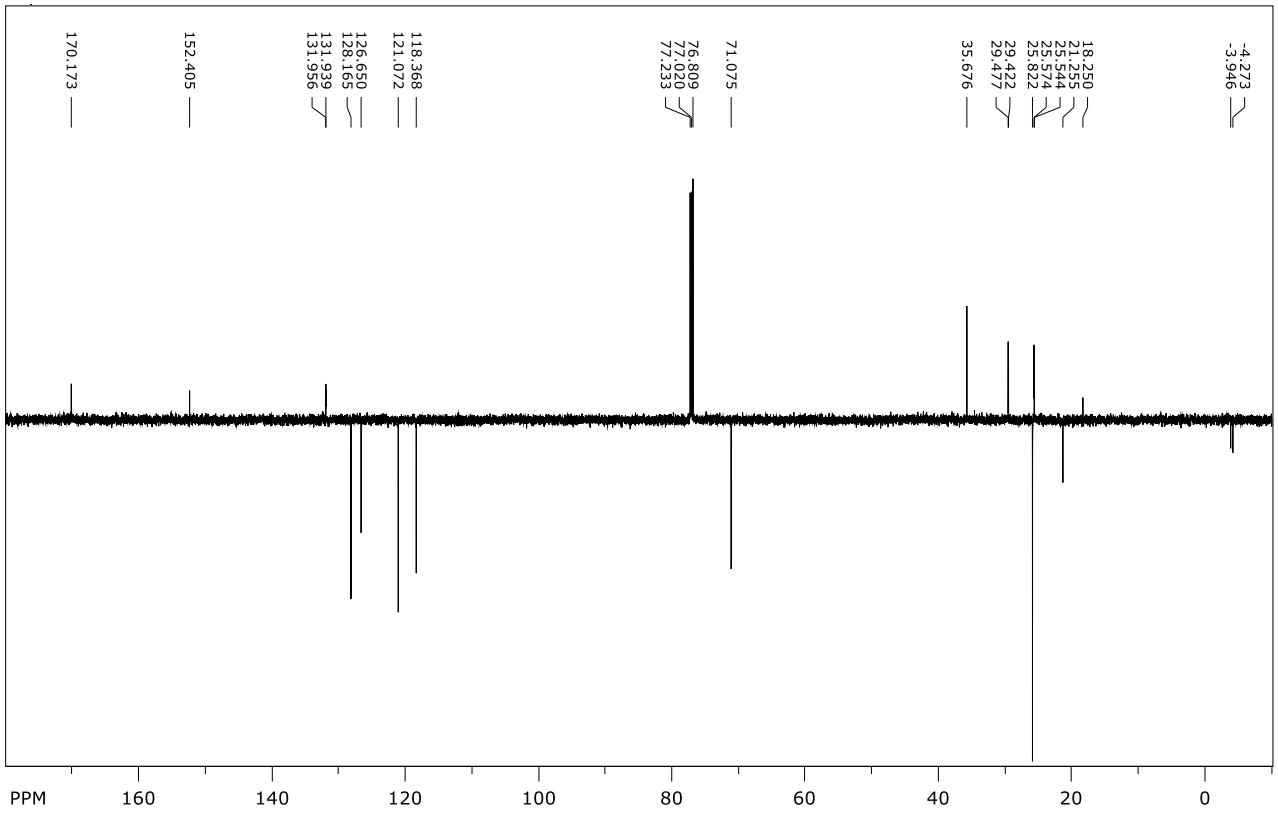


Prilog 20. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **19**

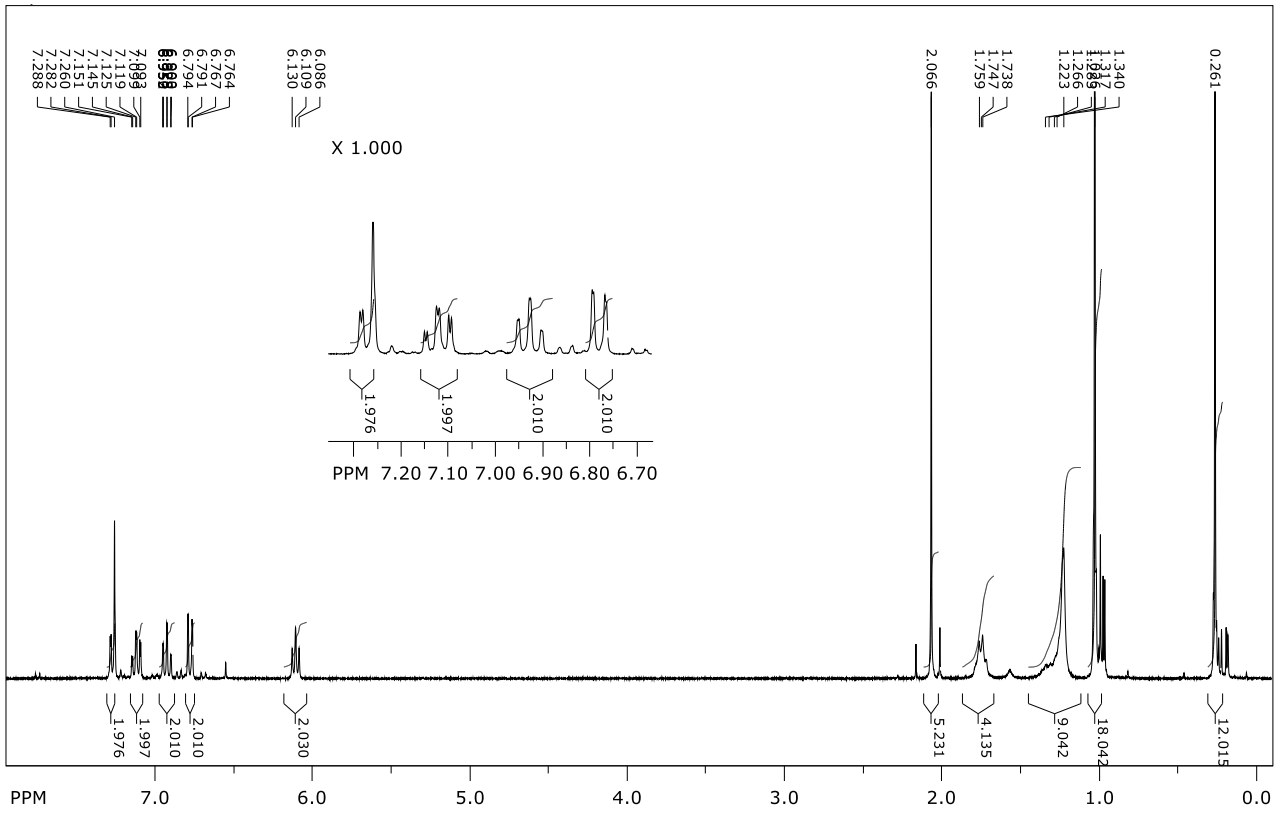


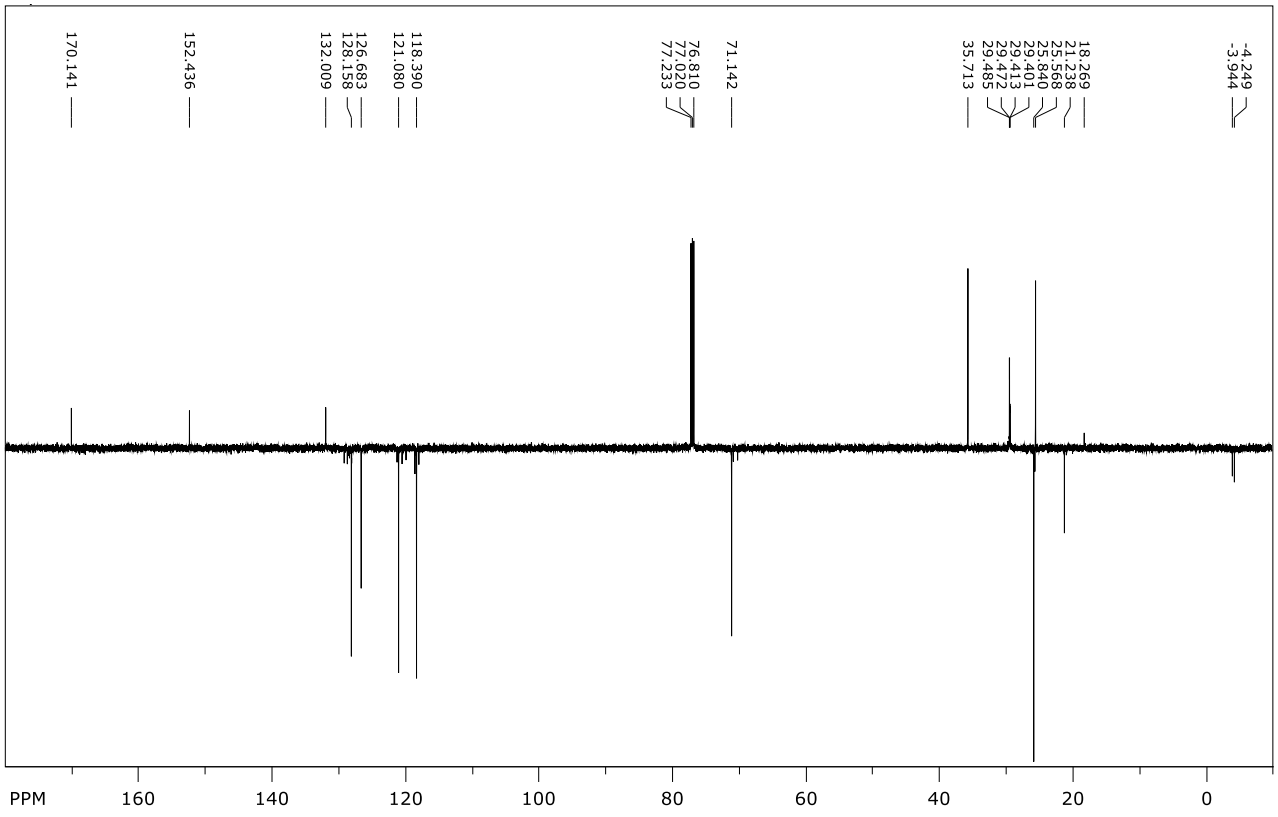
Prilog 21. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **20**



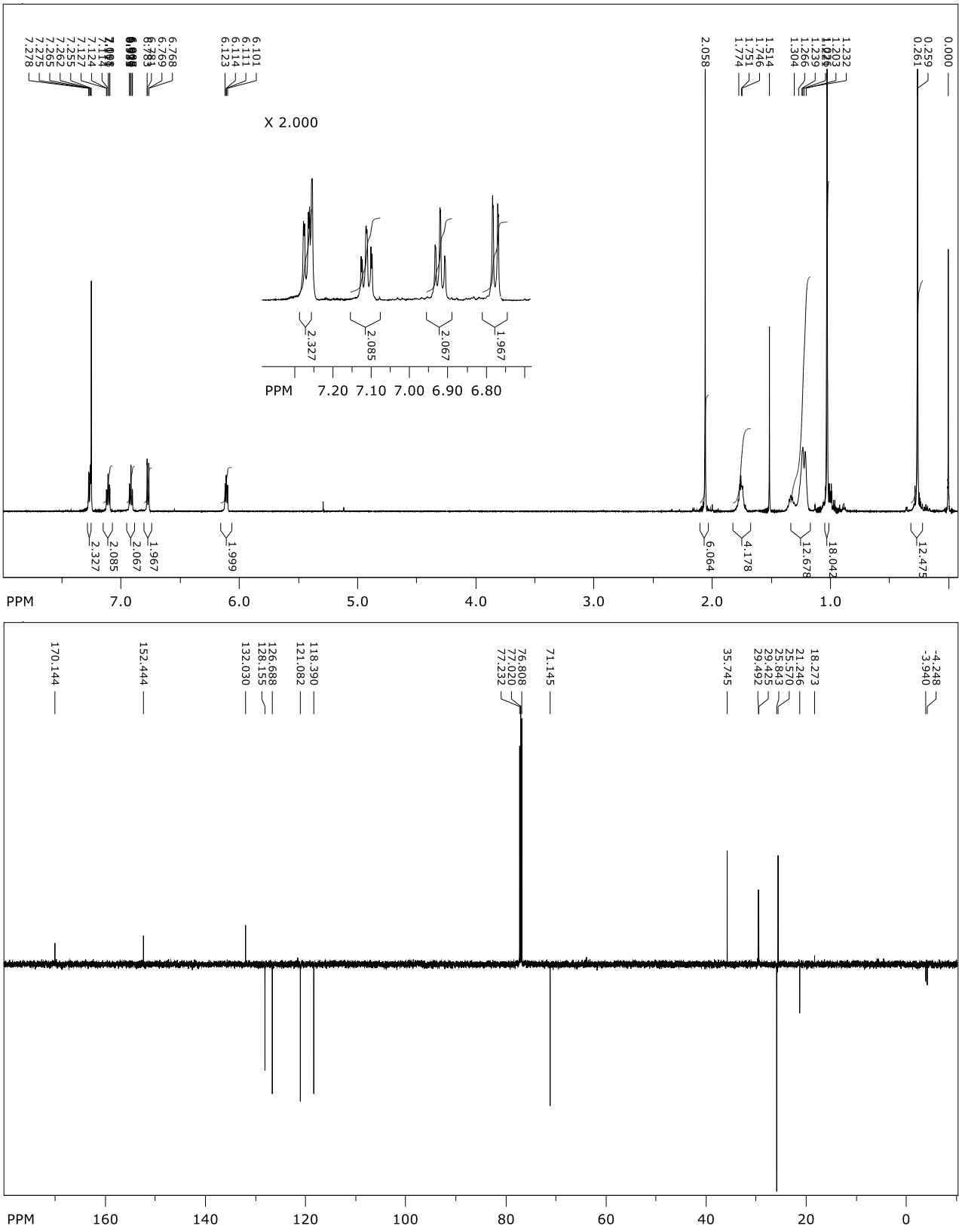


Prilog 22. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **21**

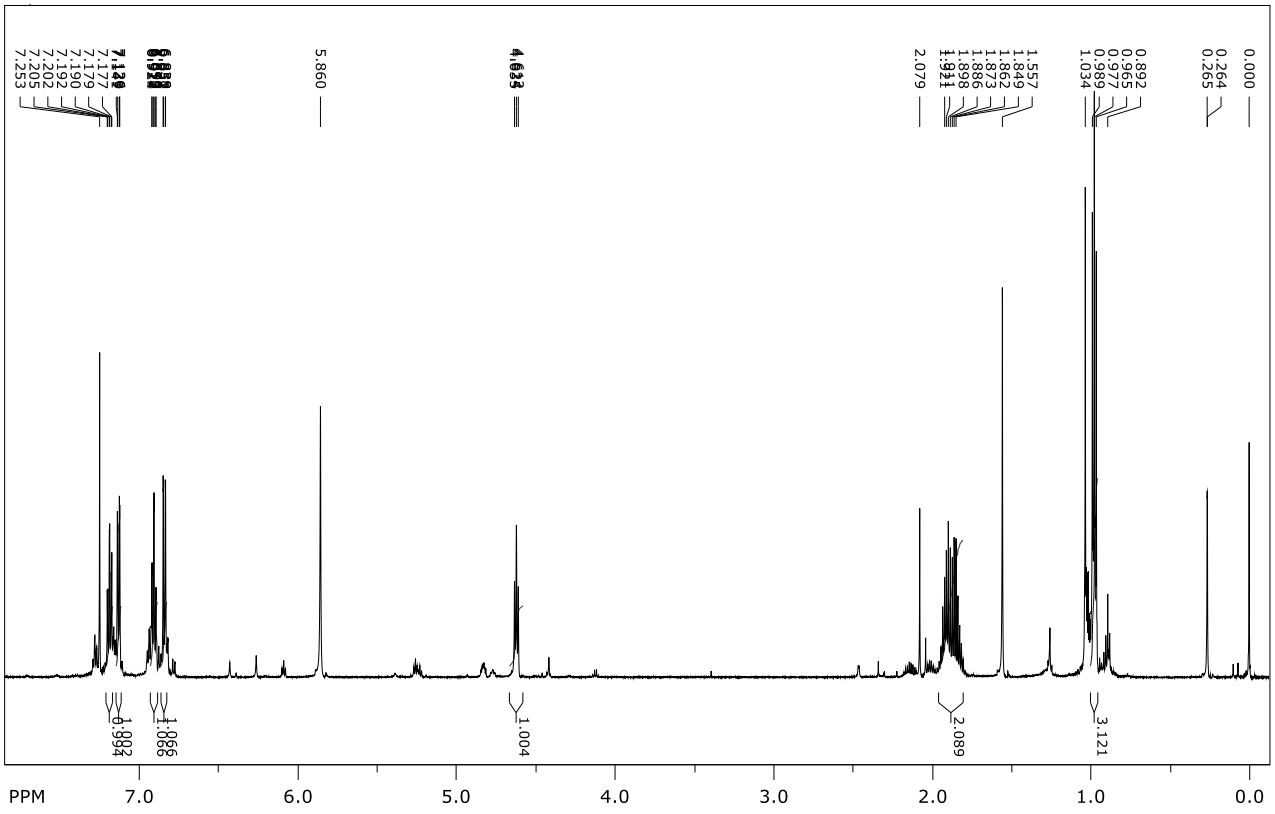




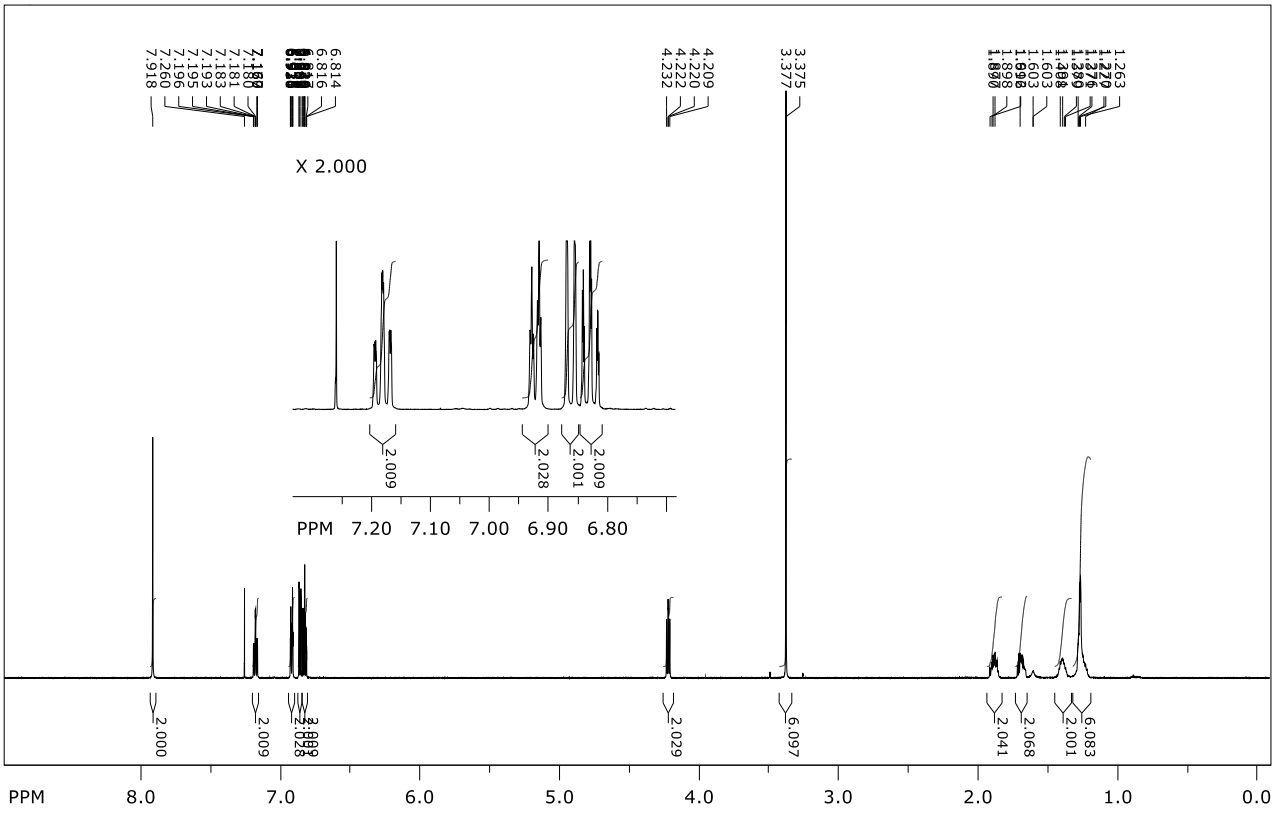
Prilog 23. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **22**

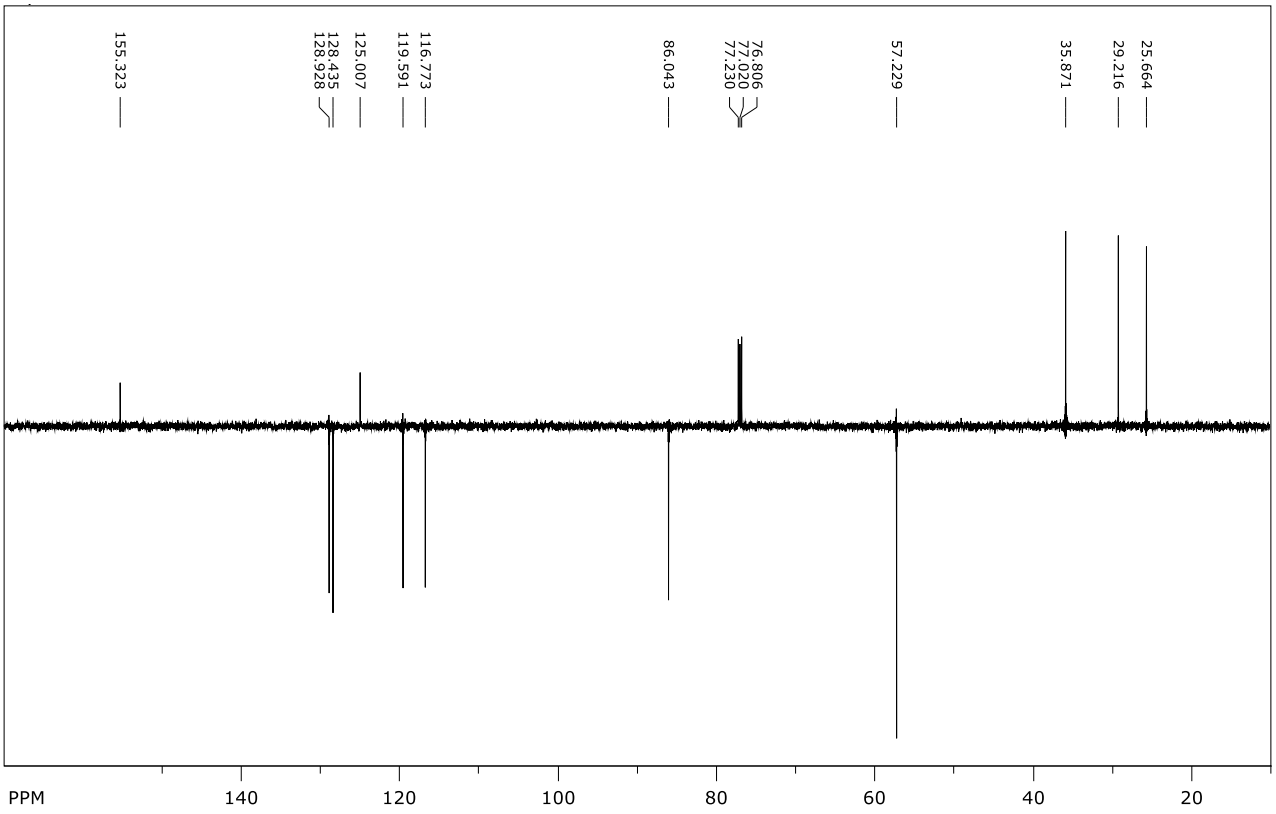


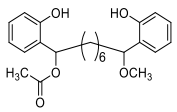
Prilog 24. Spektar ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) spoja **23**



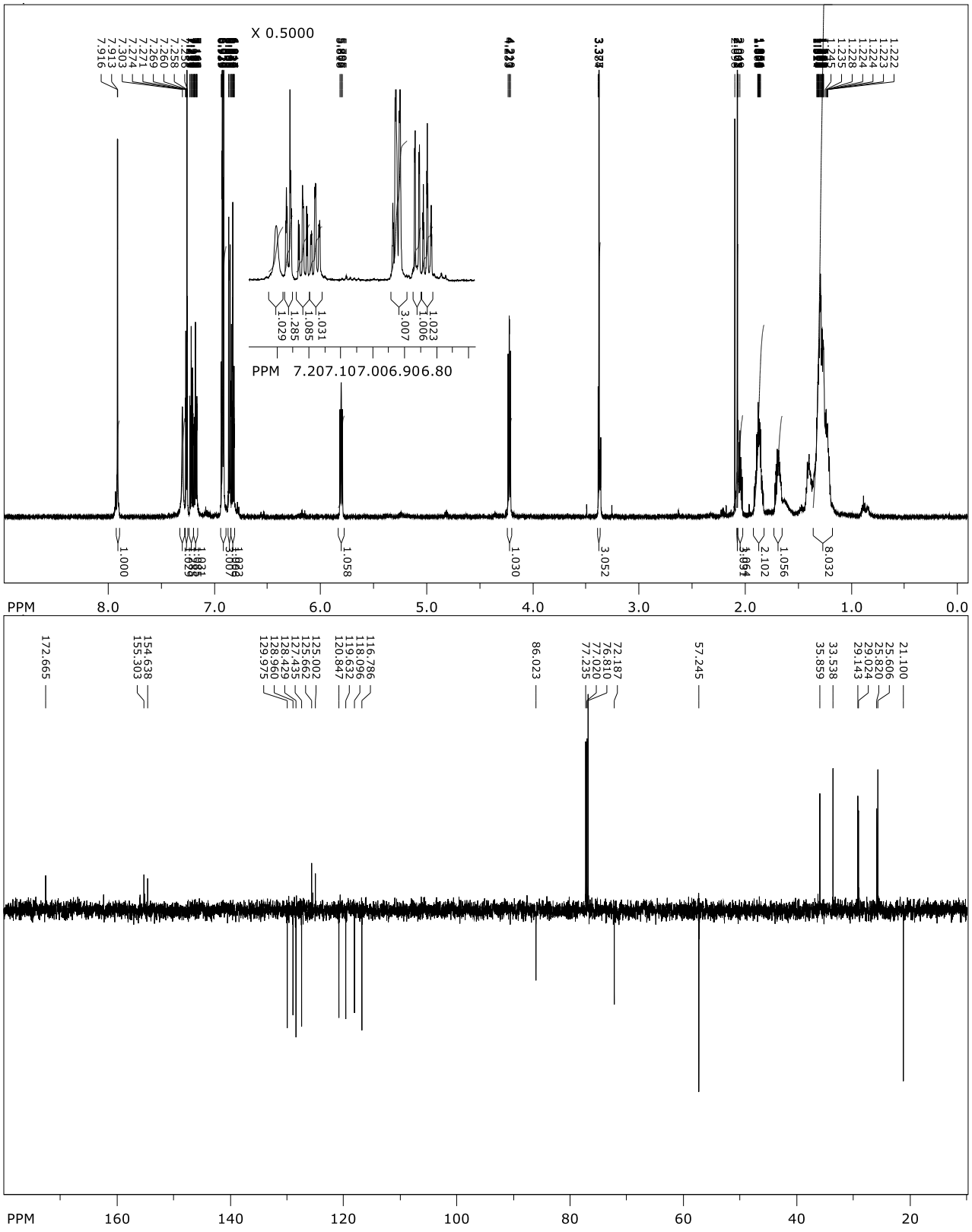
Prilog 25. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **24**



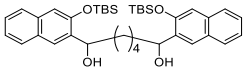


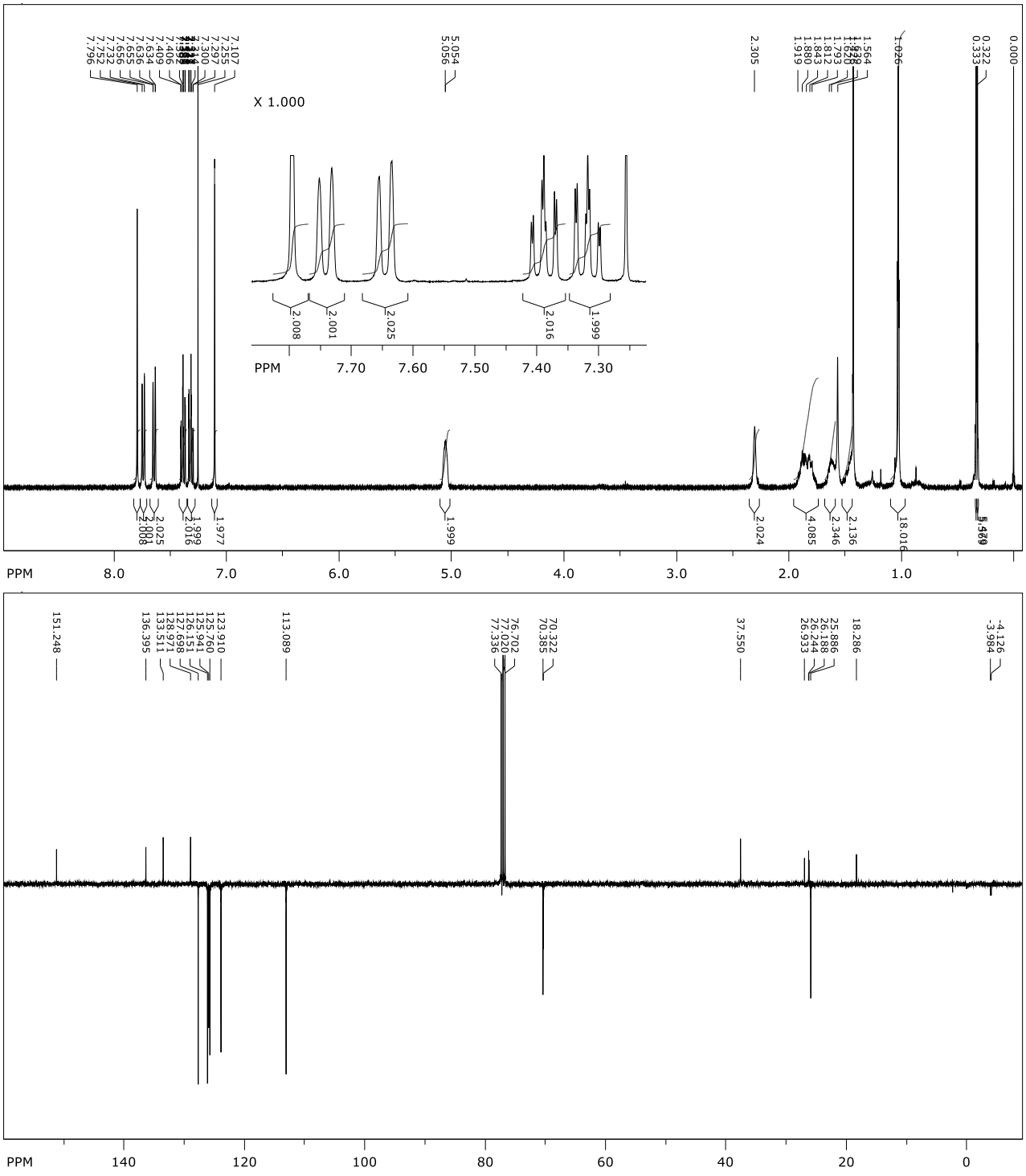


Prilog 26. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **25**

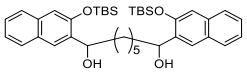


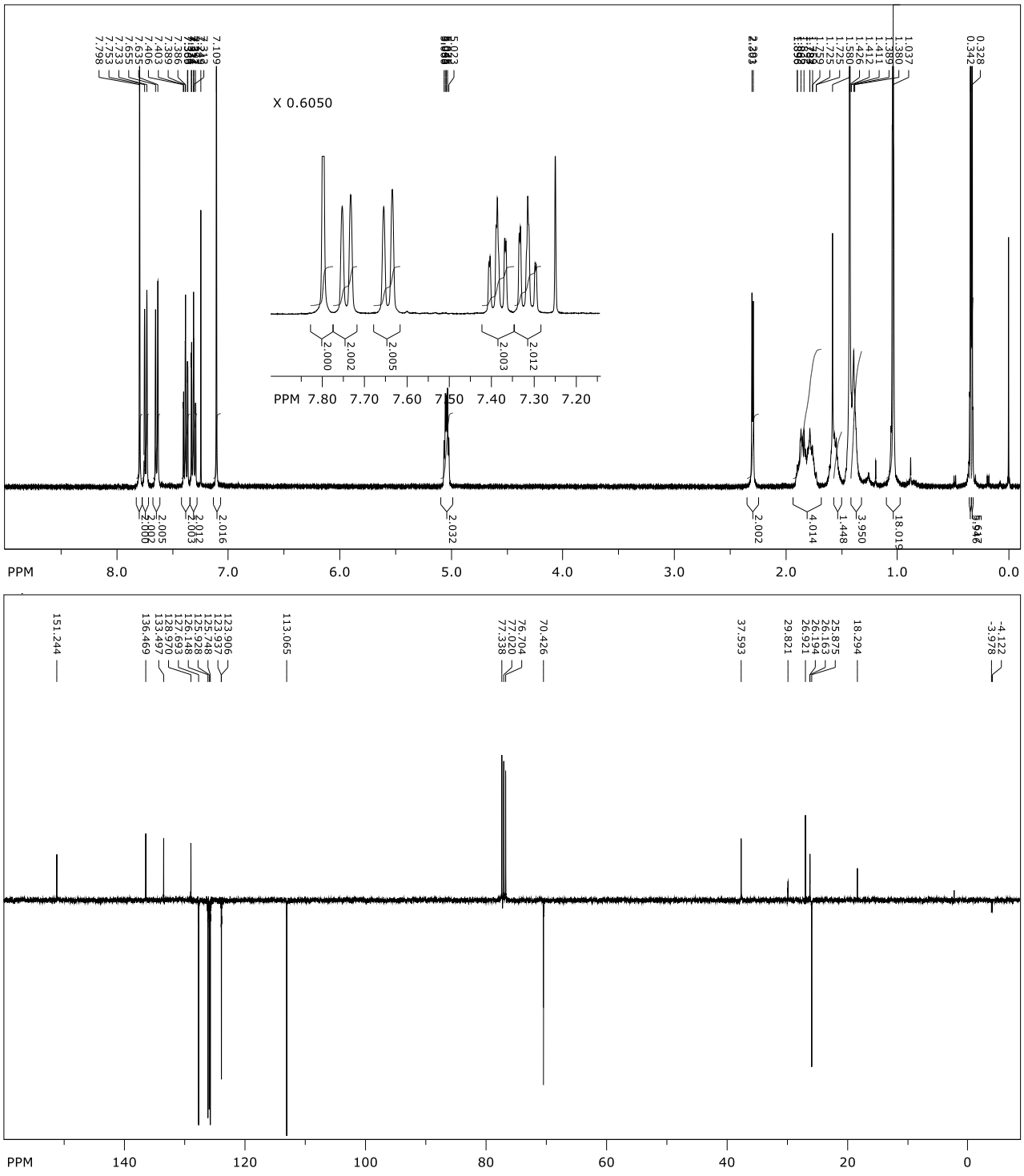
Prilog 27. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **26**



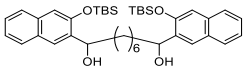


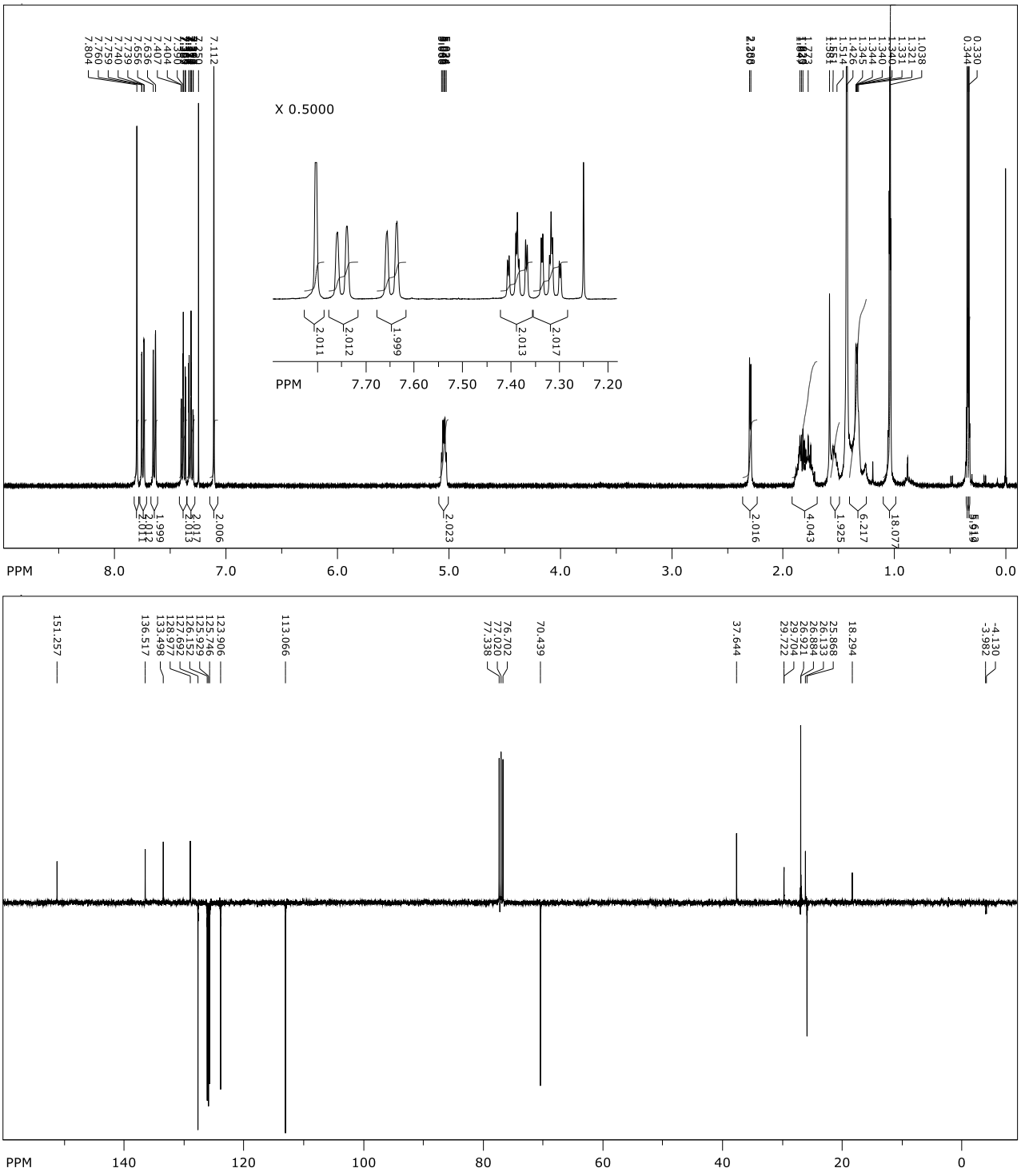
Prilog 28. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **27**



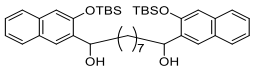


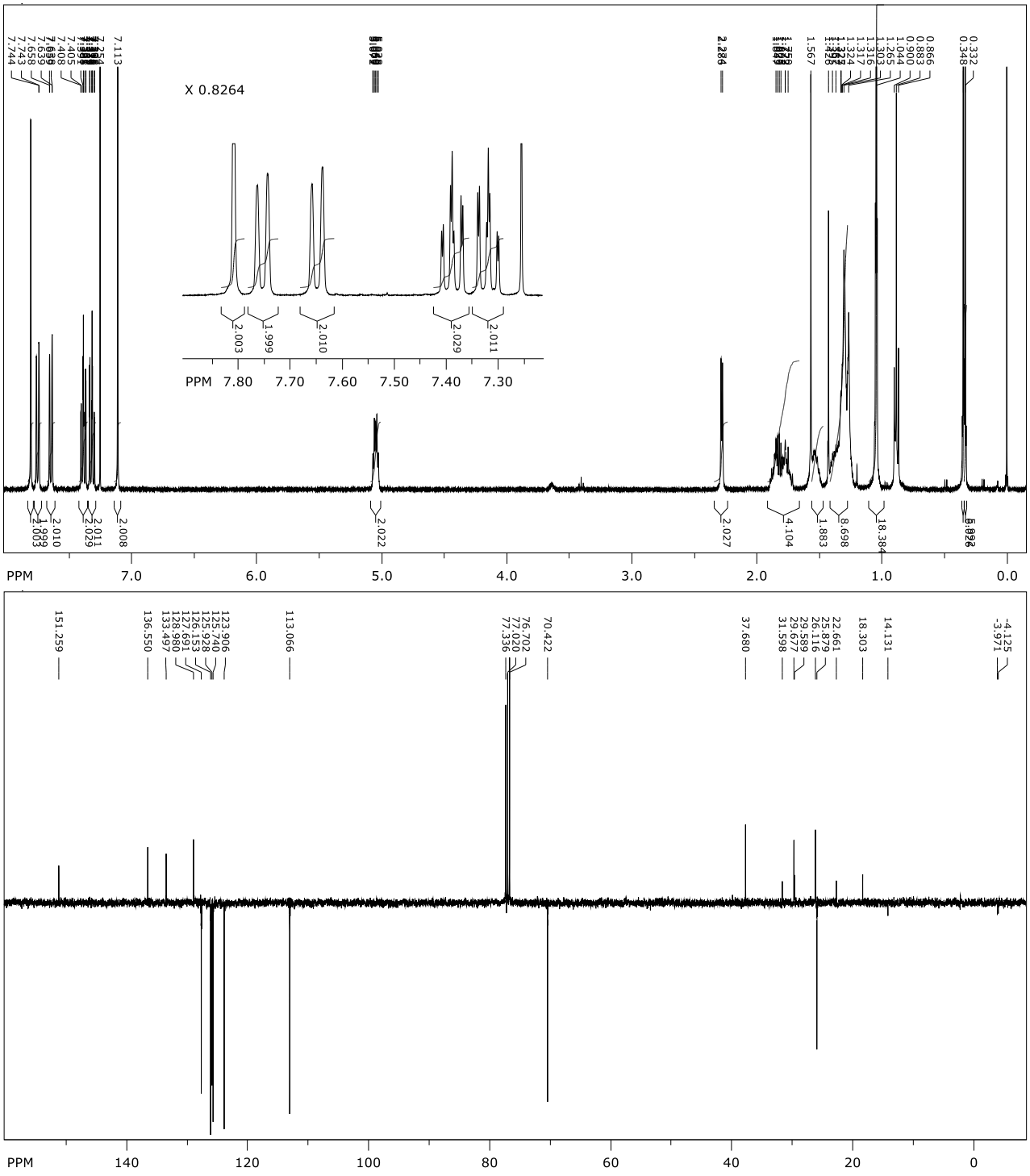
Prilog 29. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **28**



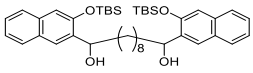


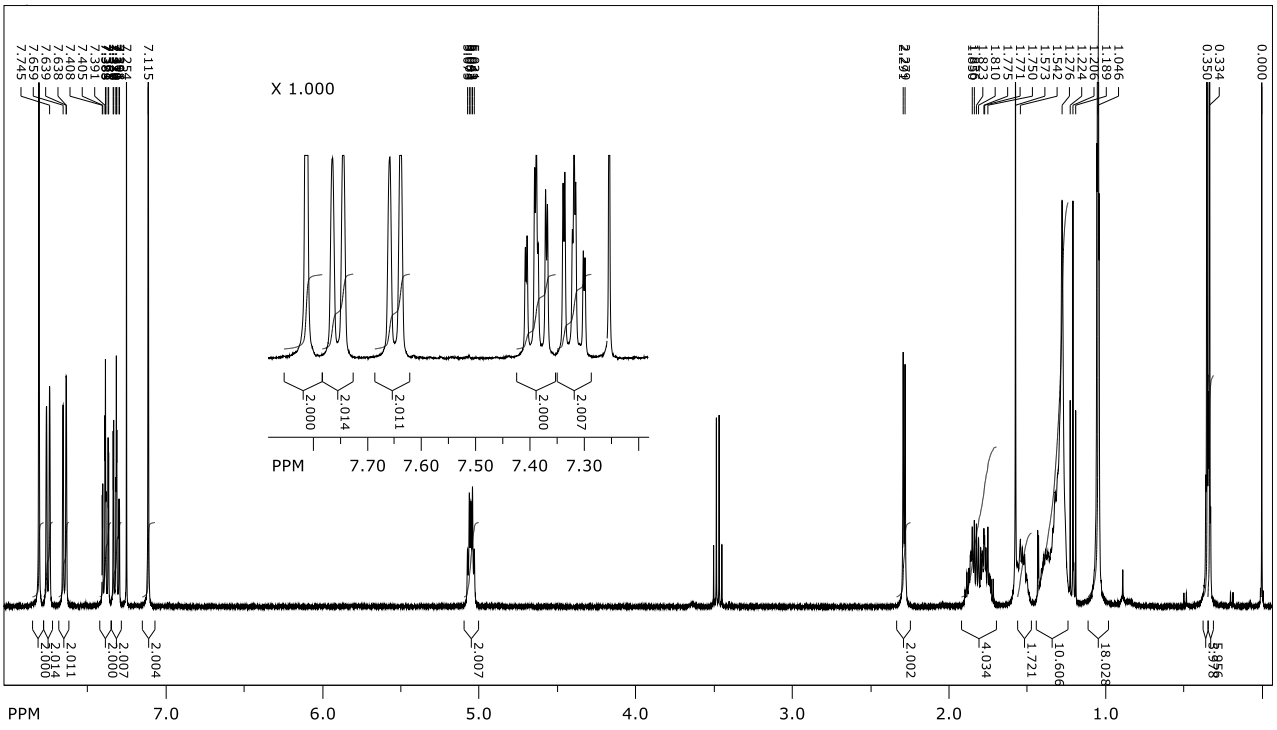
Prilog 30. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **29**

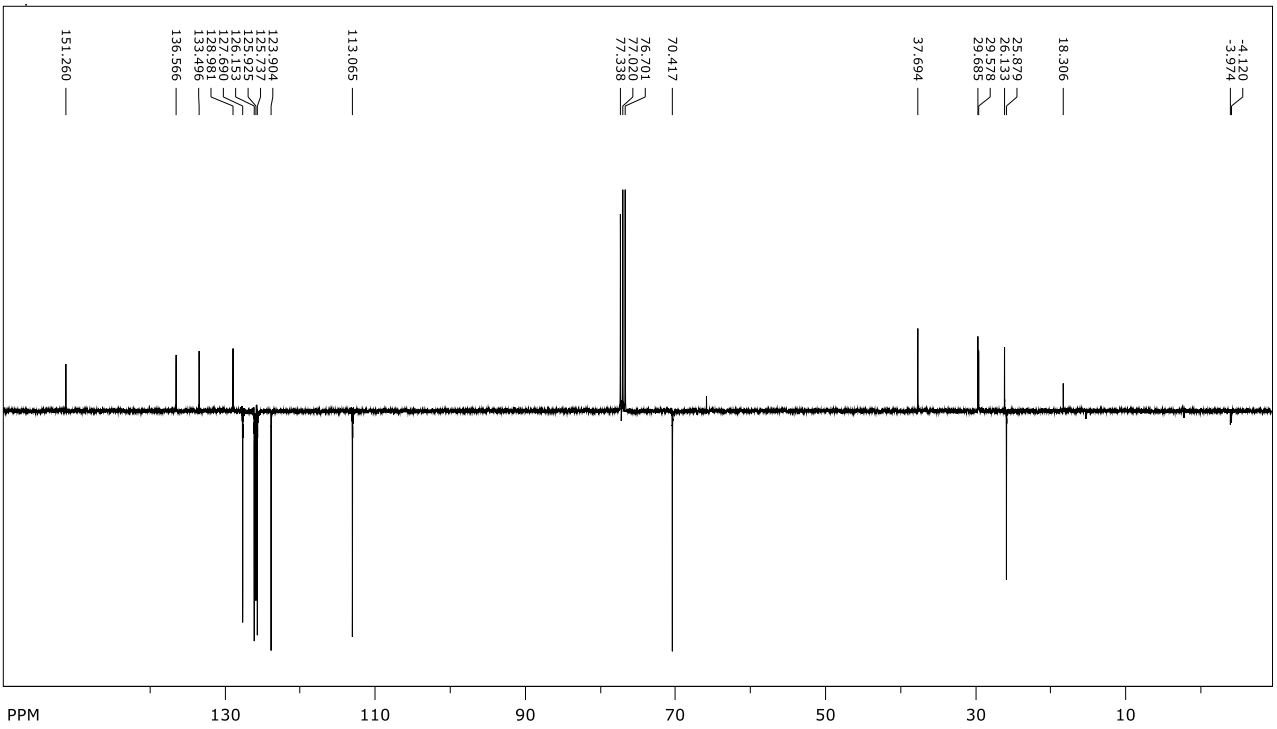




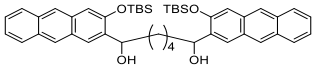
Prilog 31. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **30**

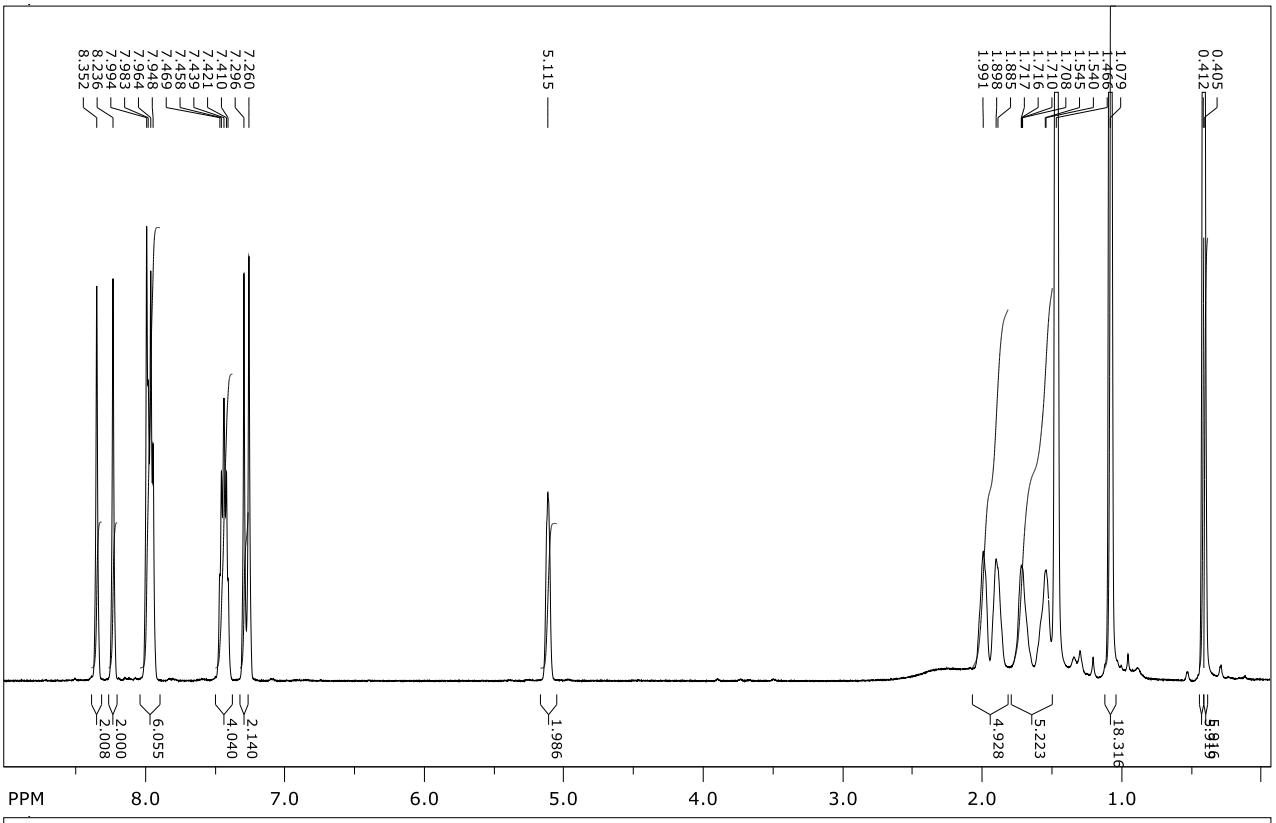


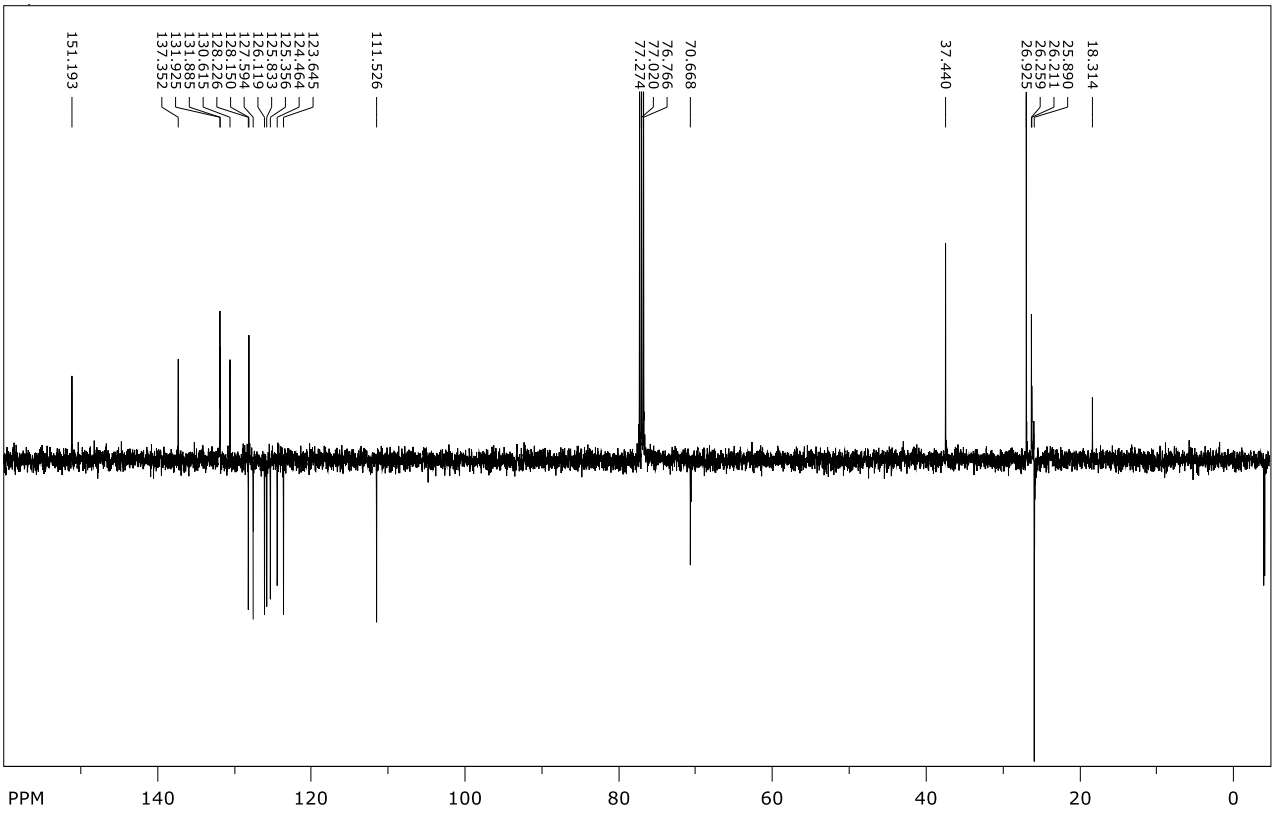




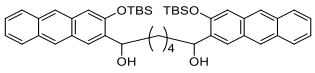
Prilog 32. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **31**

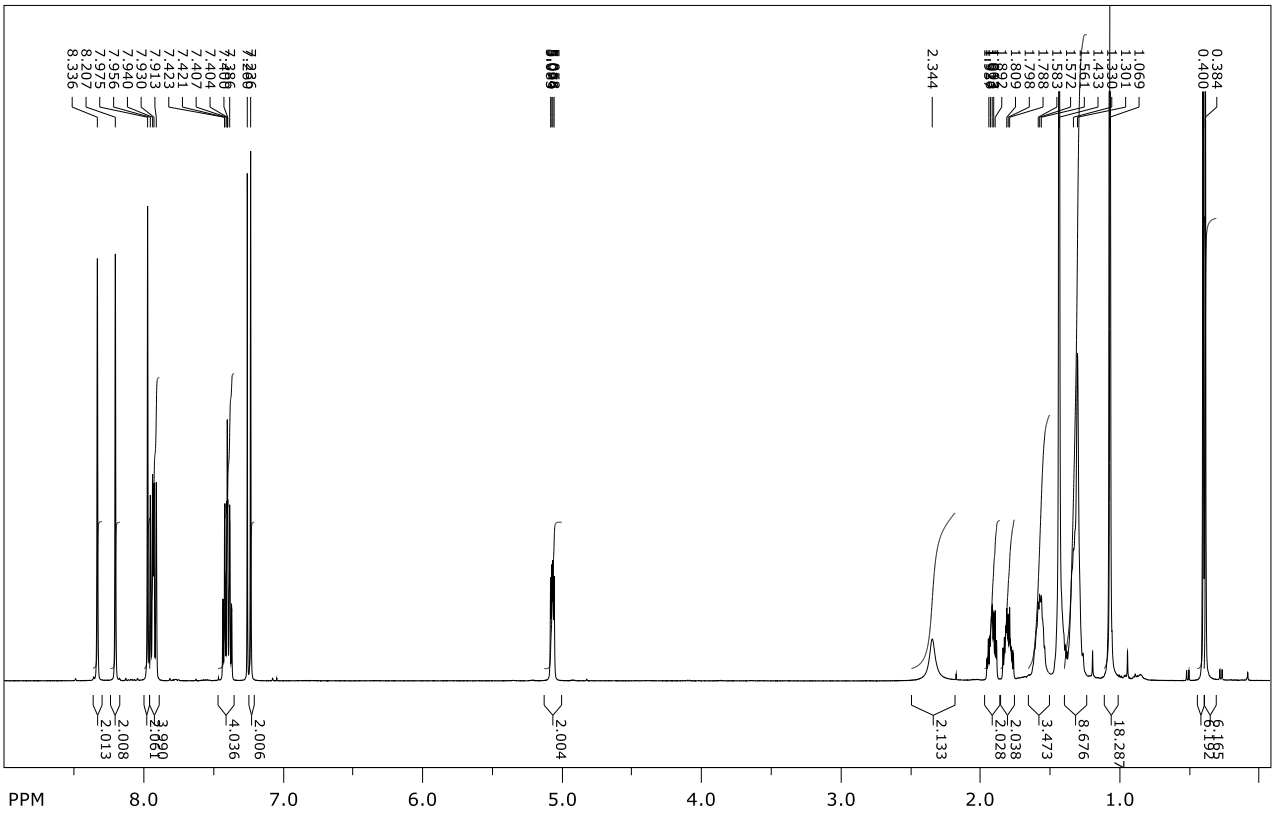


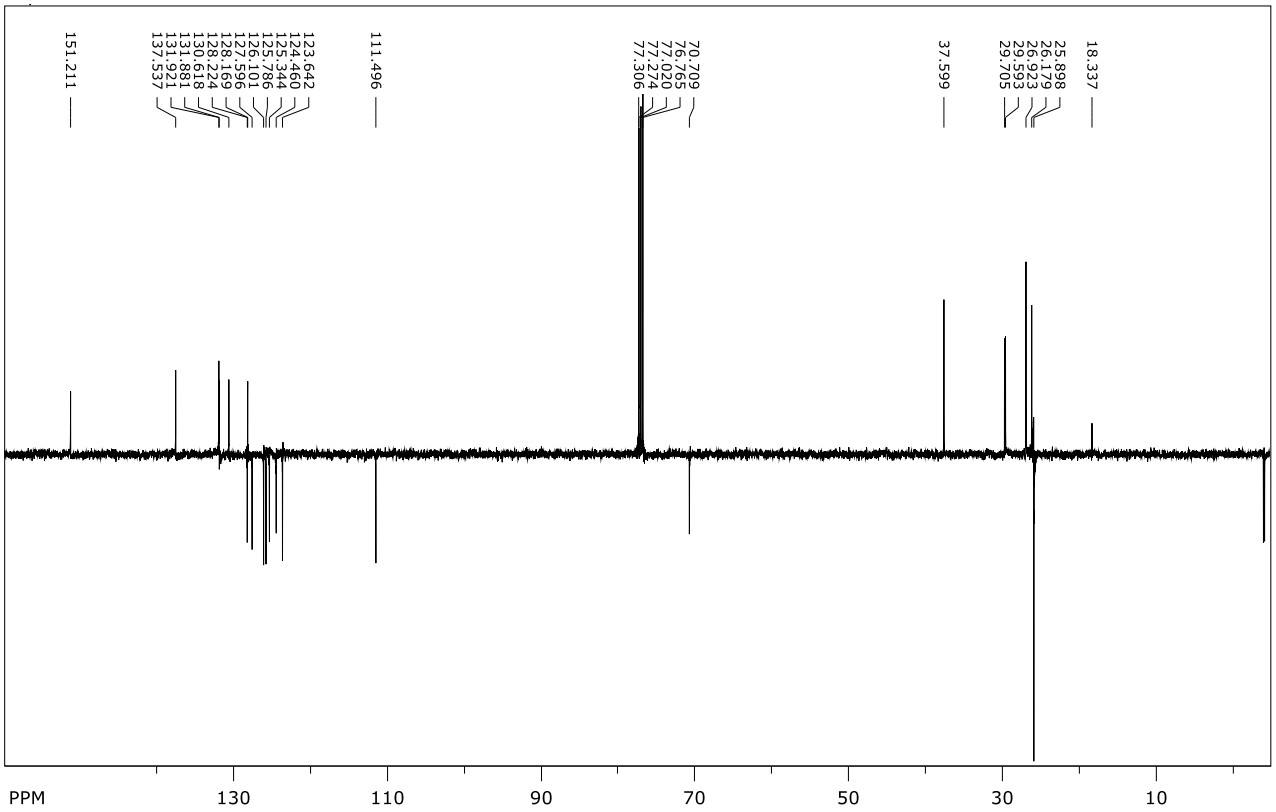




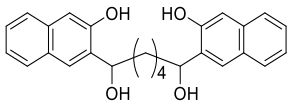
Prilog 33. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **32**

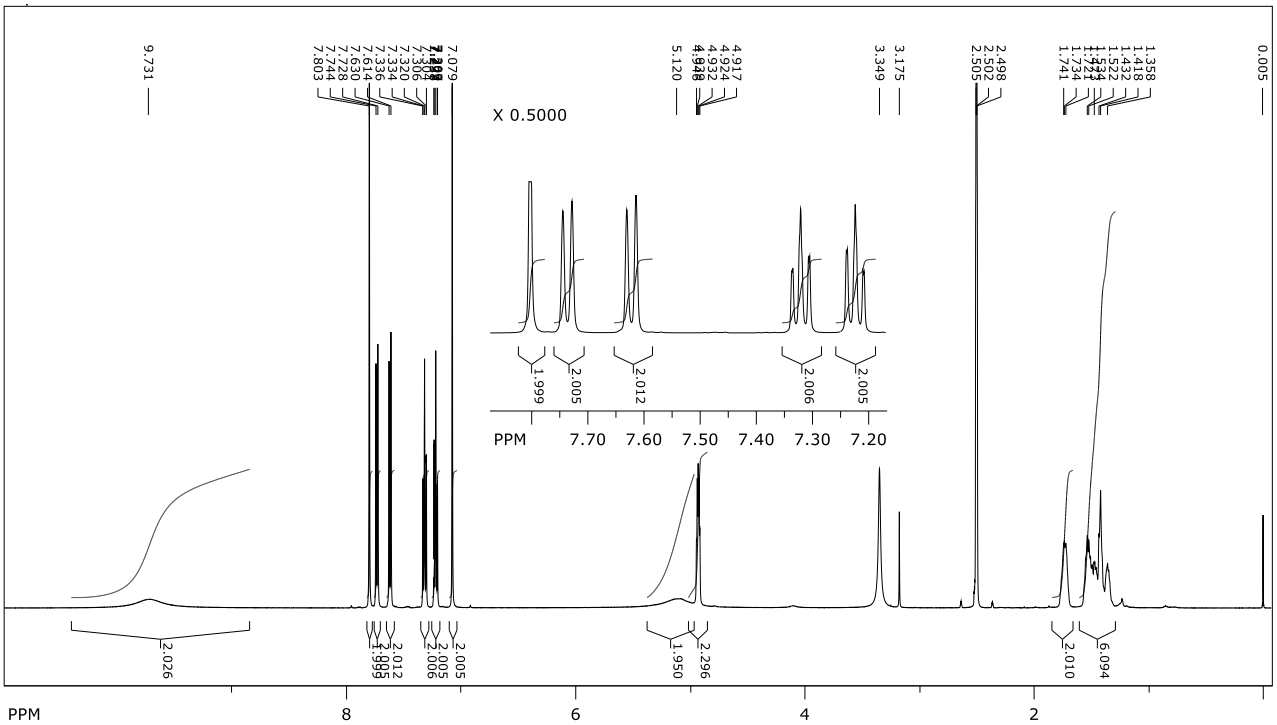


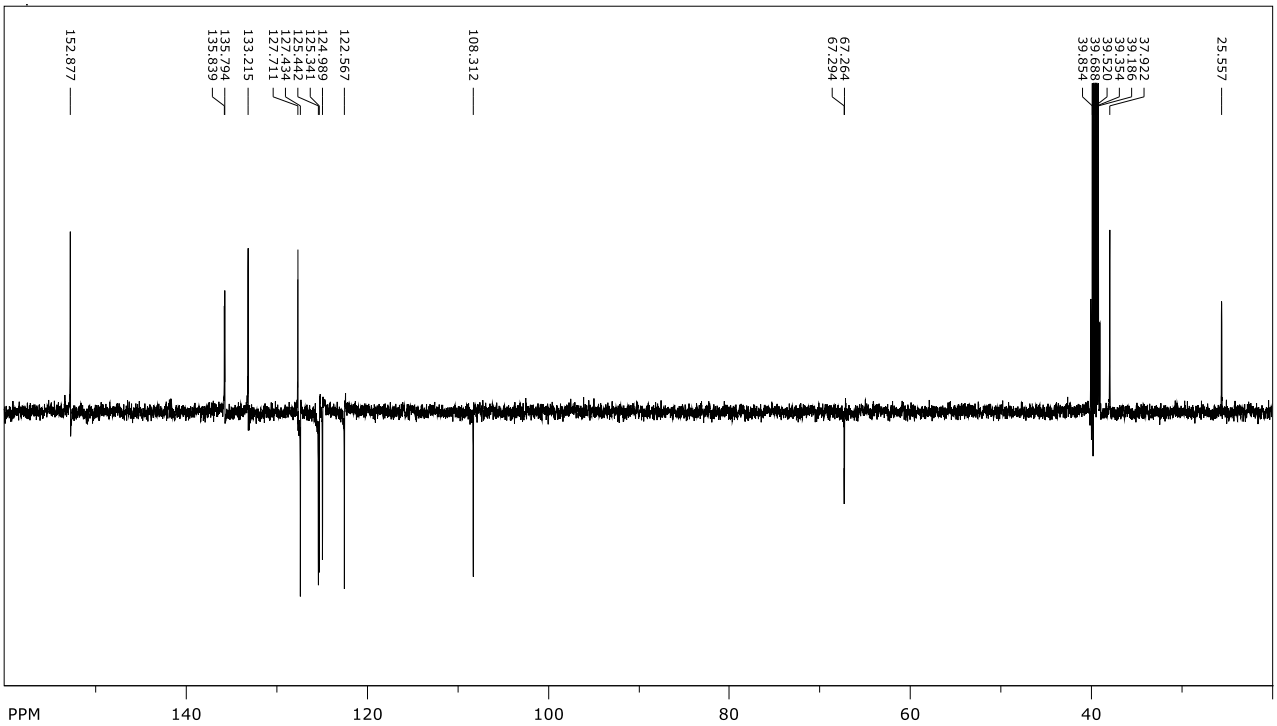




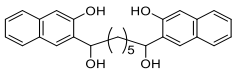
Prilog 34. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 125 MHz) spoja **33**

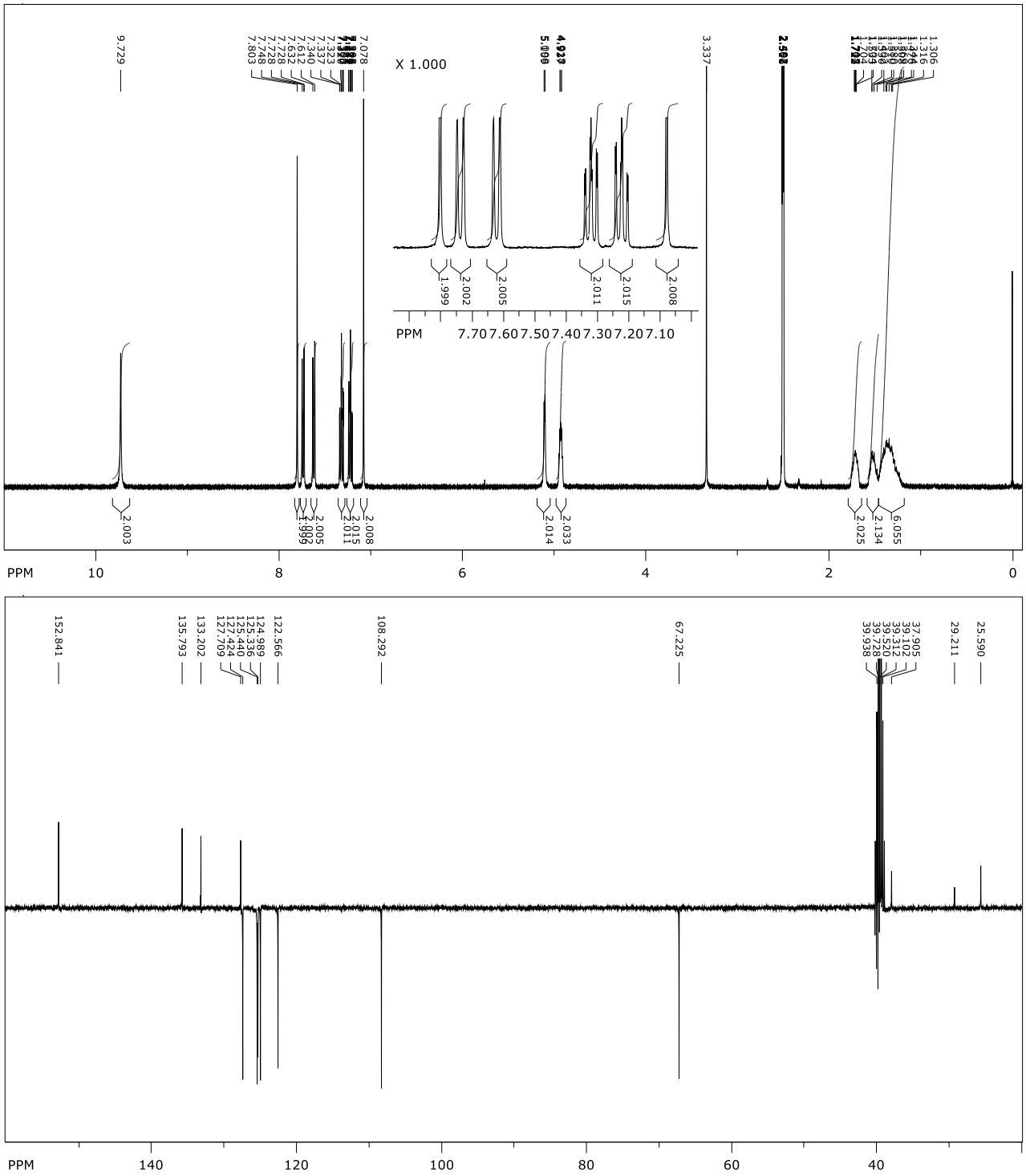




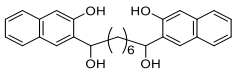


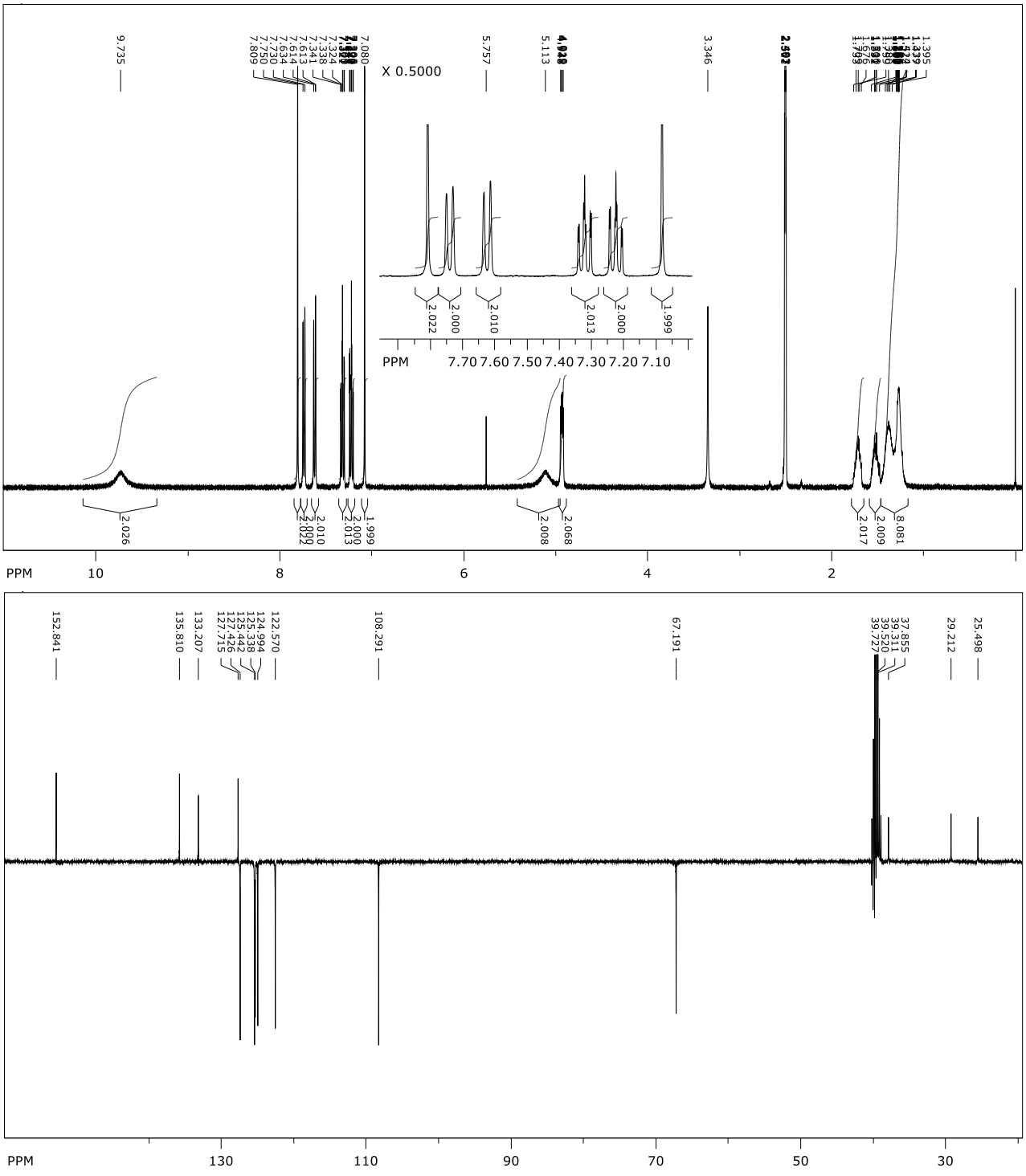
Prilog 35. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **34**



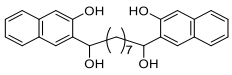


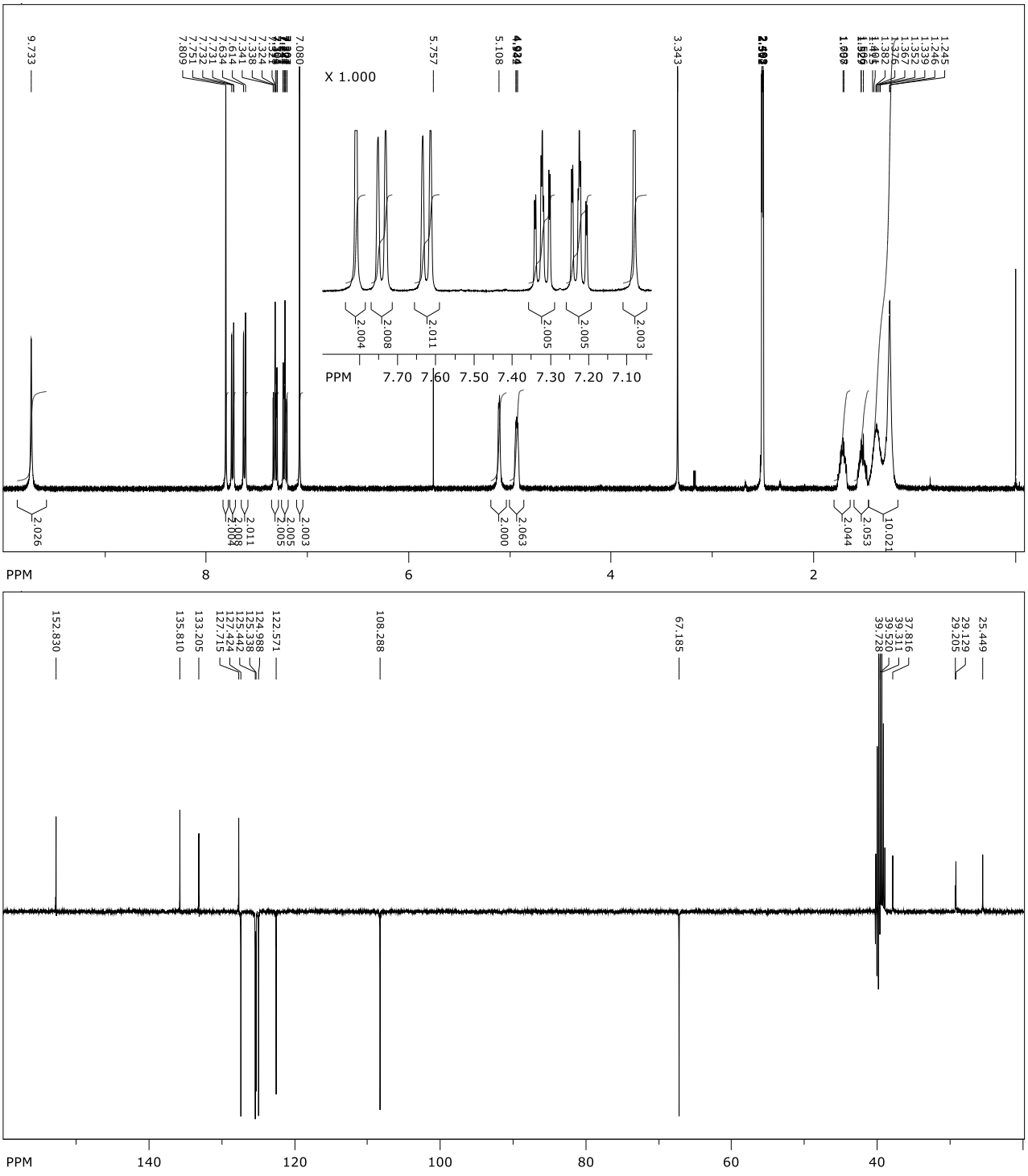
Prilog 36. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **35**



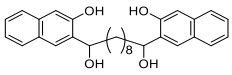


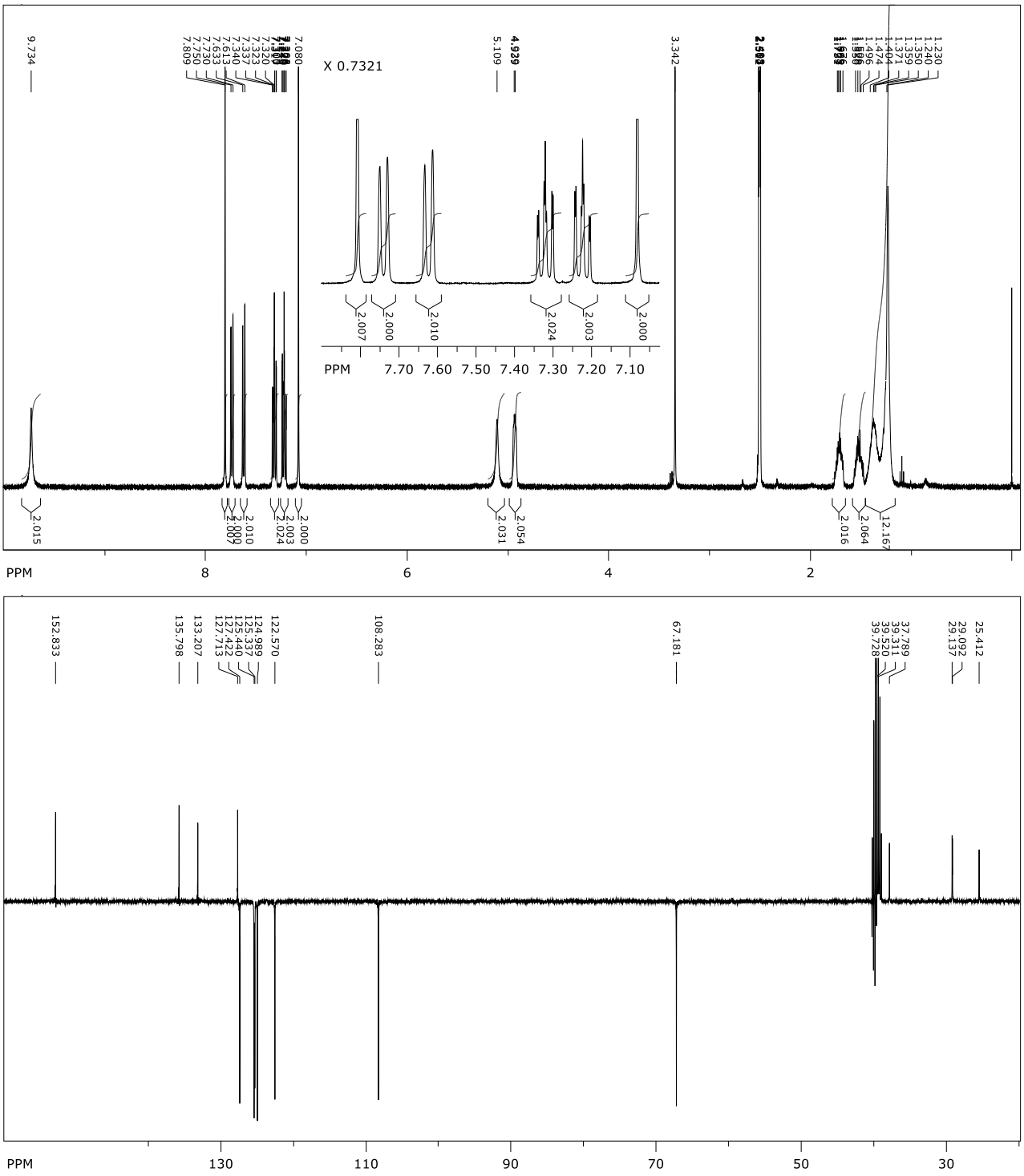
Prilog 37. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **36**



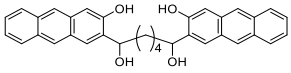


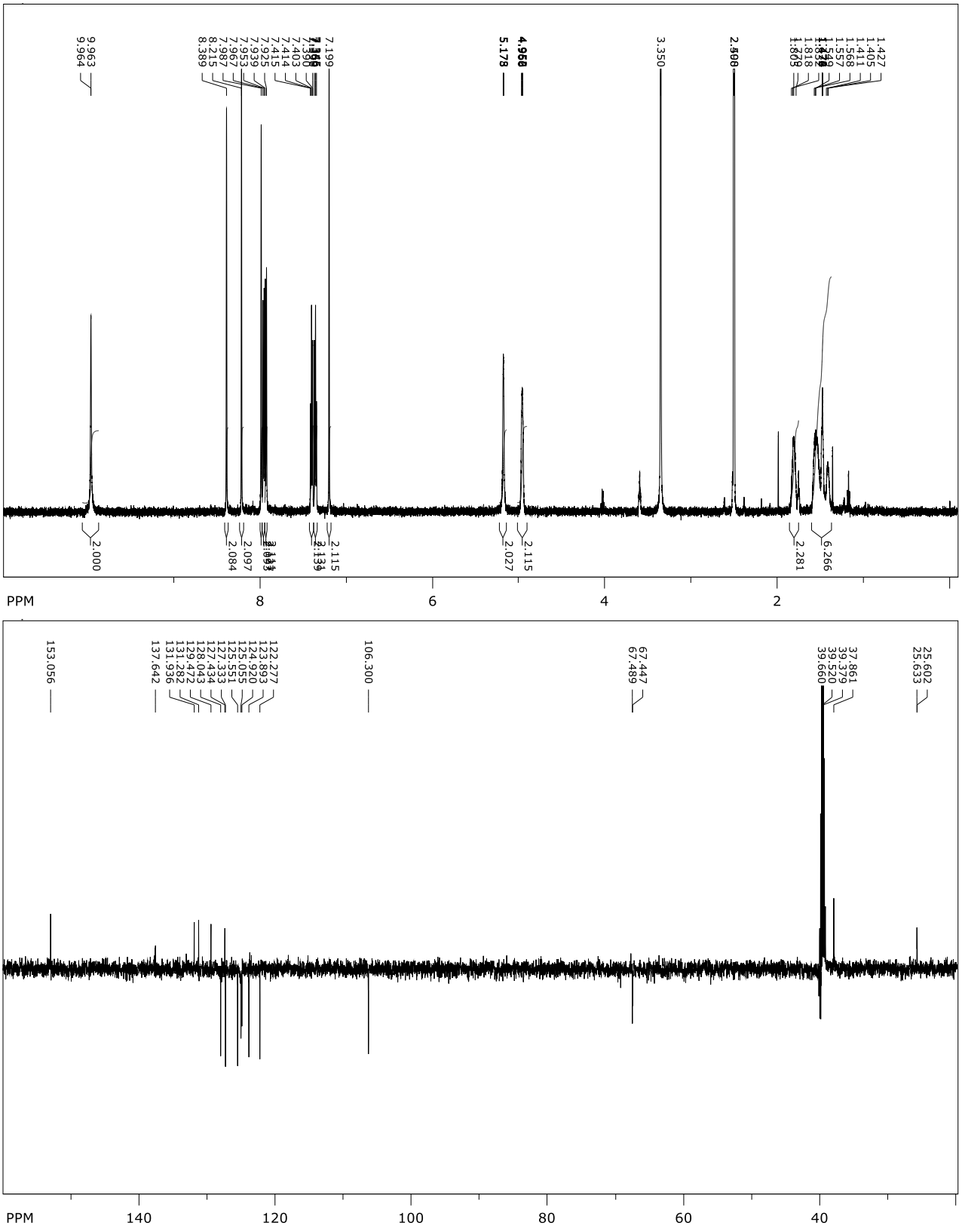
Prilog 38. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **37**



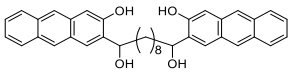


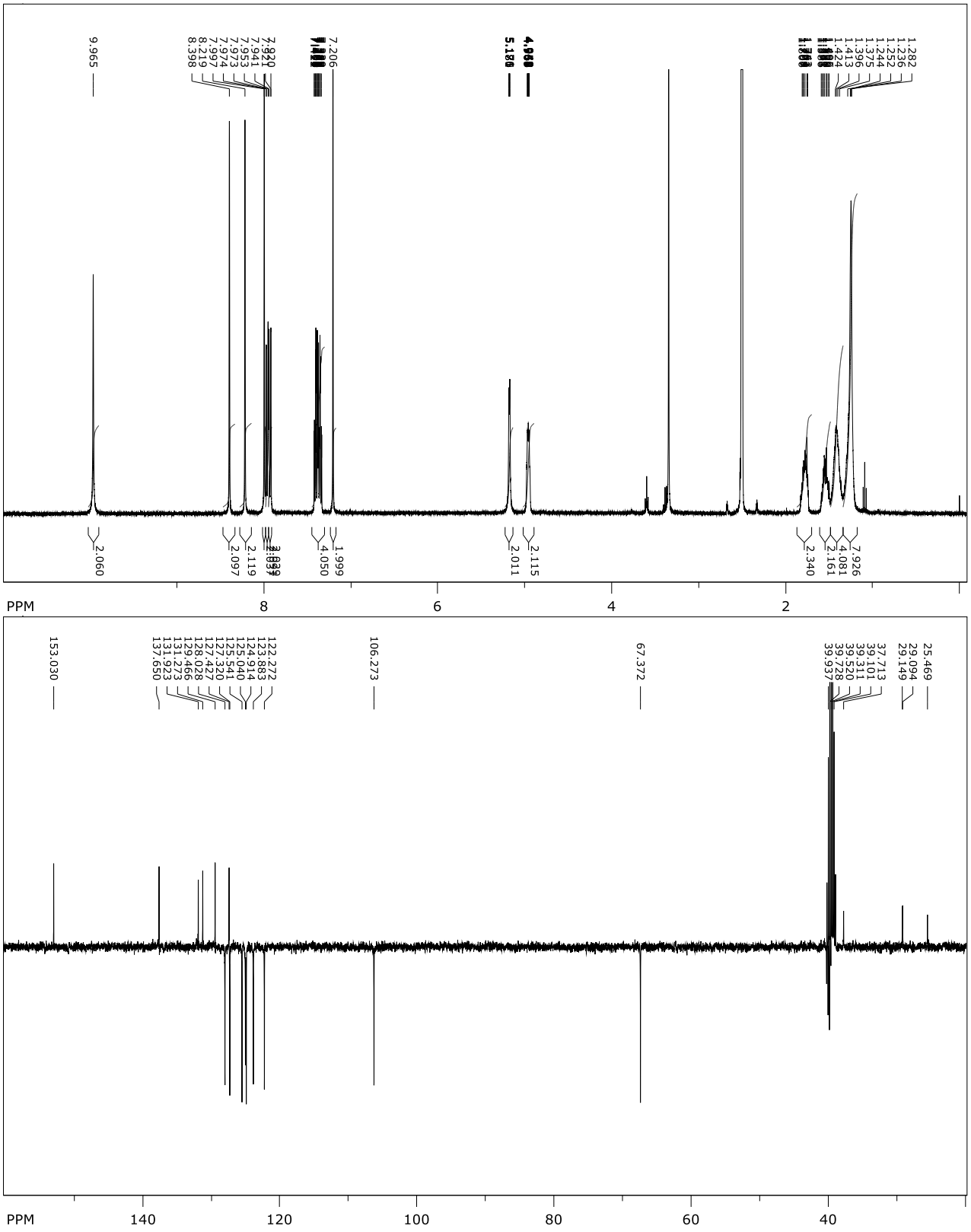
Prilog 39. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **38**



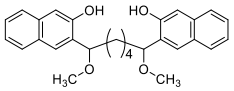


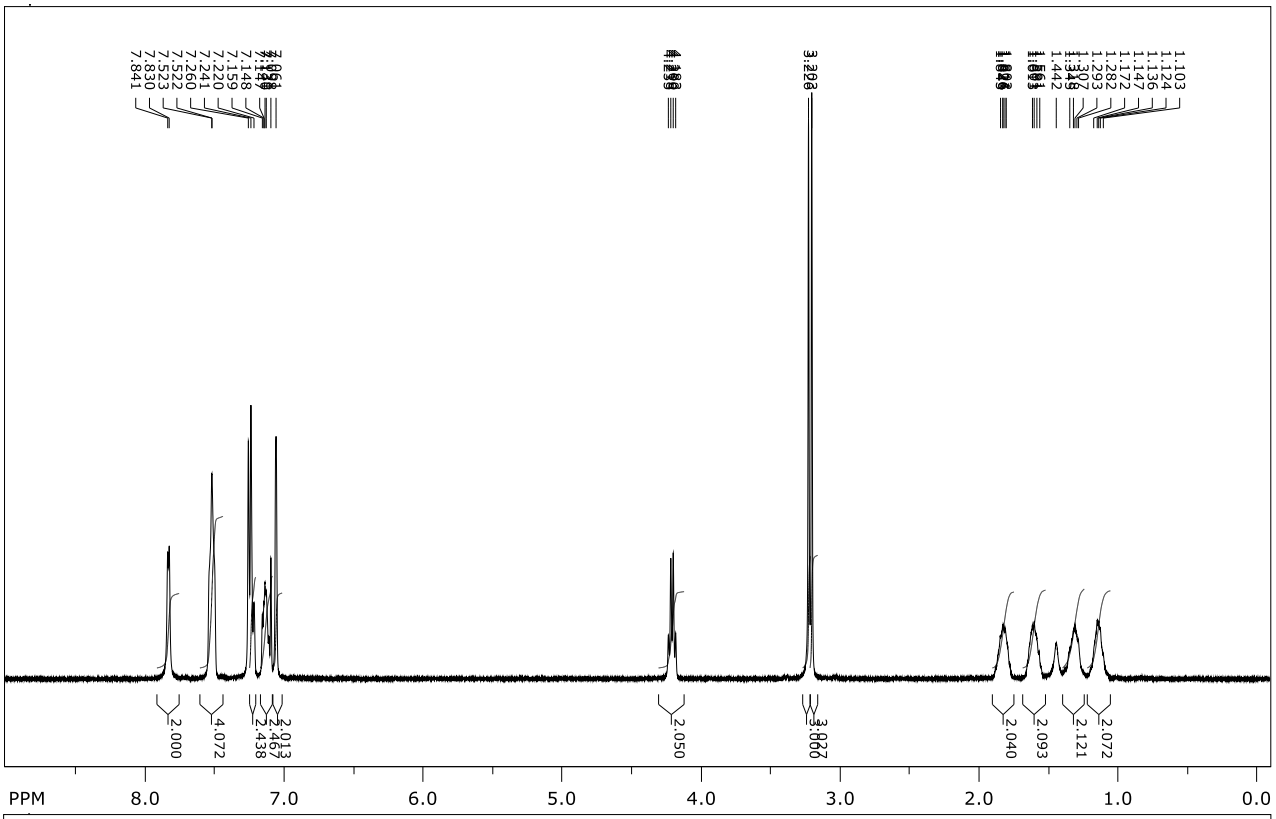
Prilog 40. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **39**

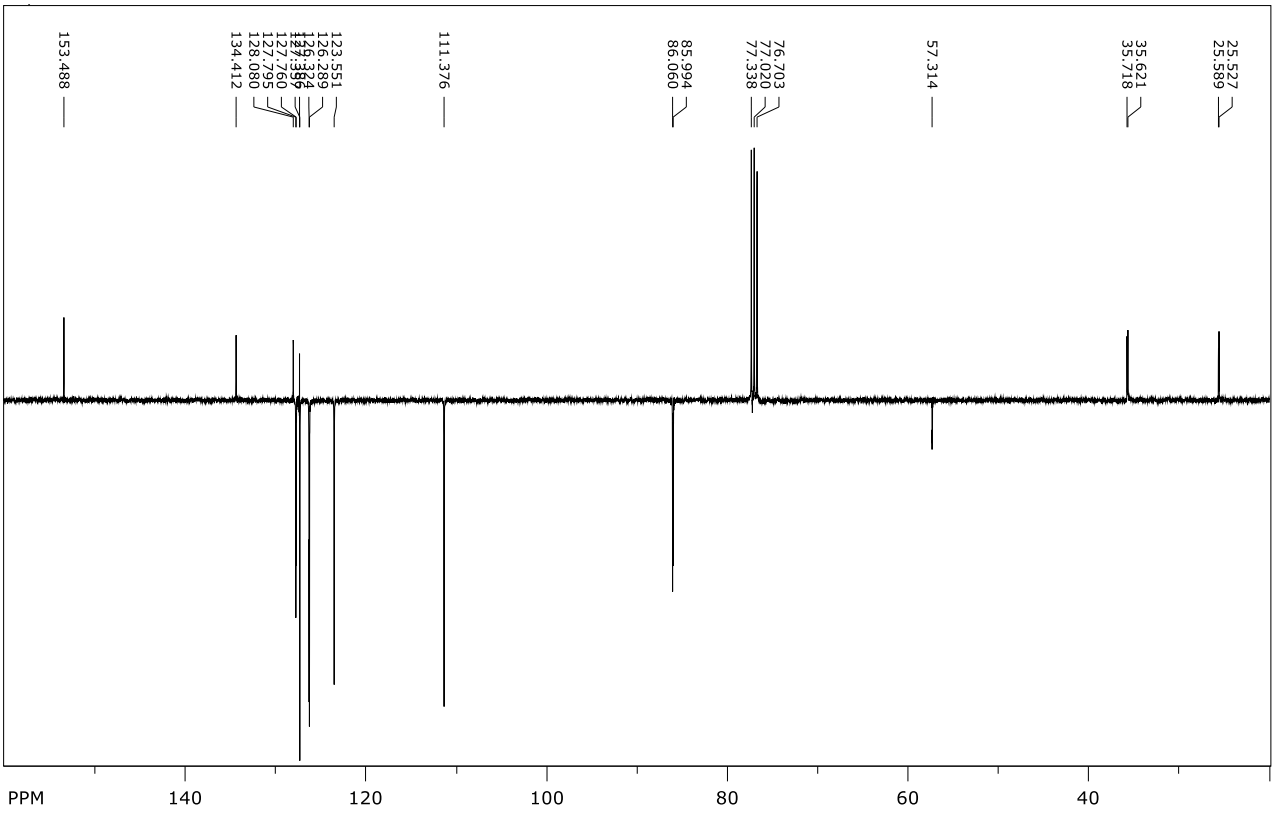




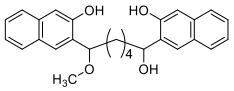
Prilog 41. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **40**

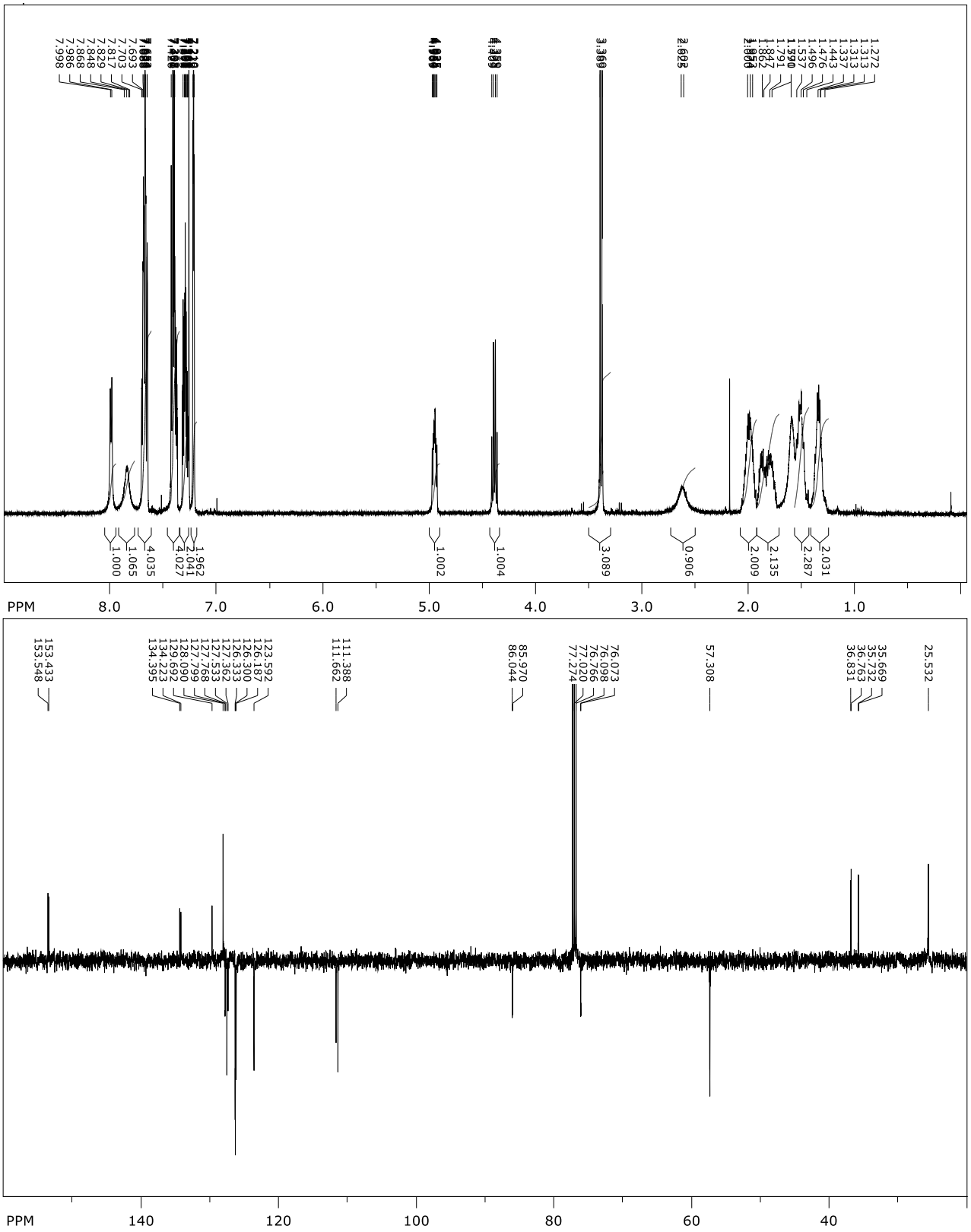




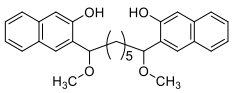


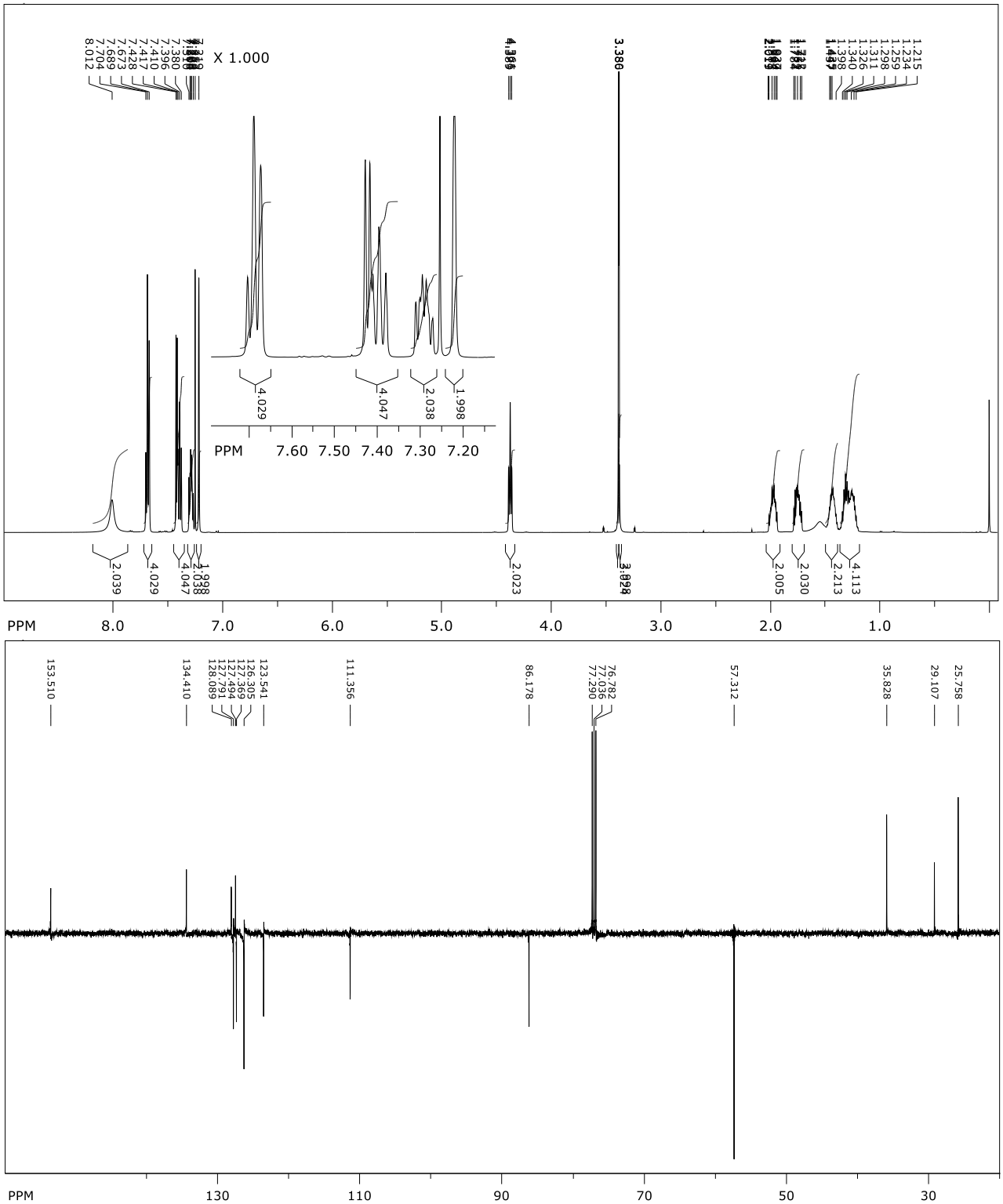
Prilog 42. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **41**



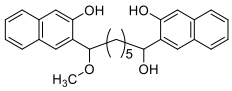


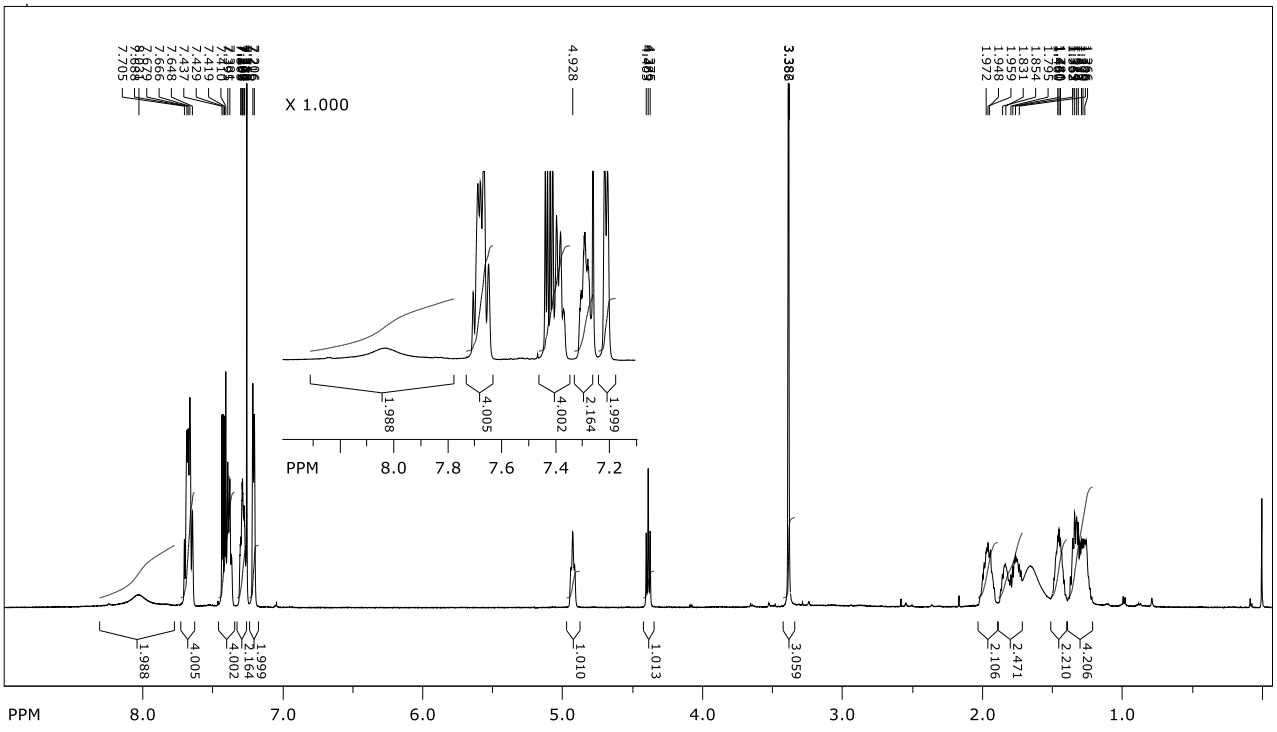
Prilog 43. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **42**

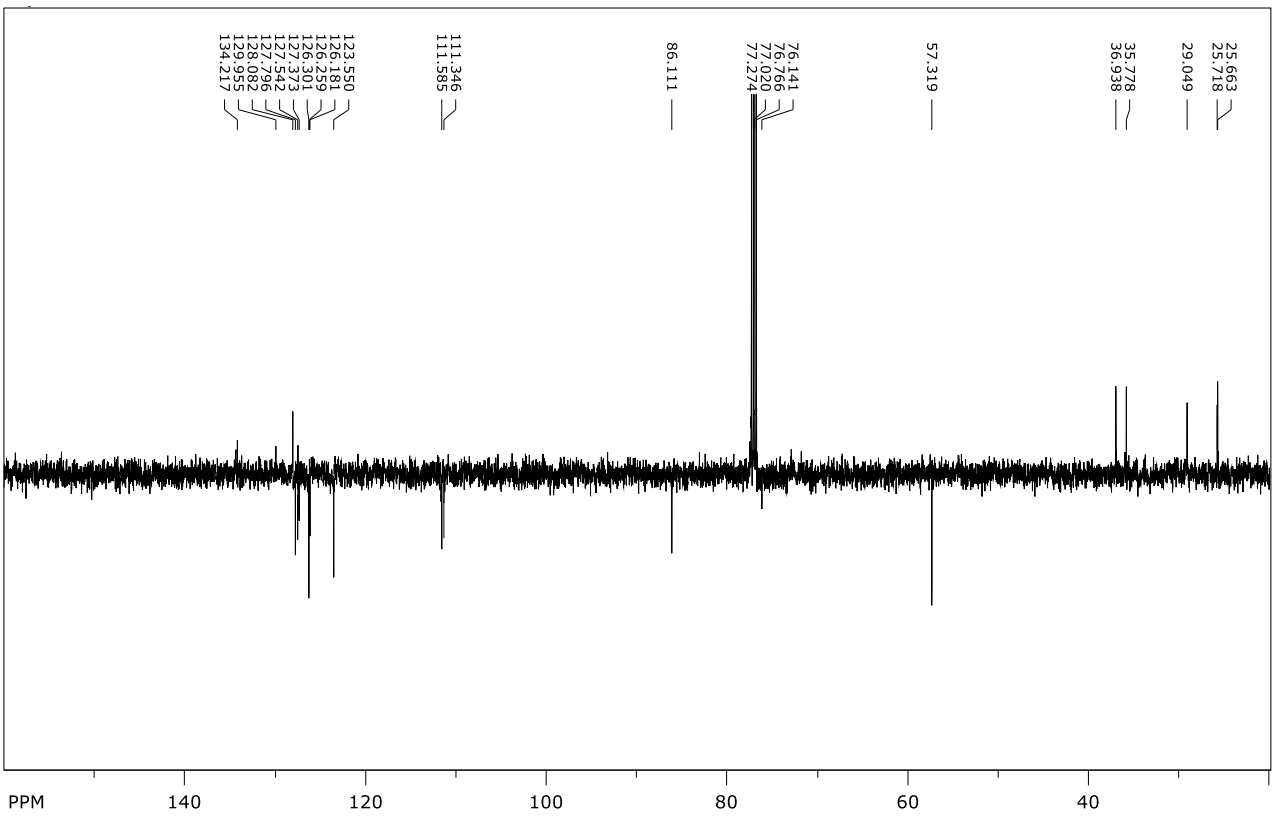




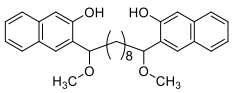
Prilog 44. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **43**

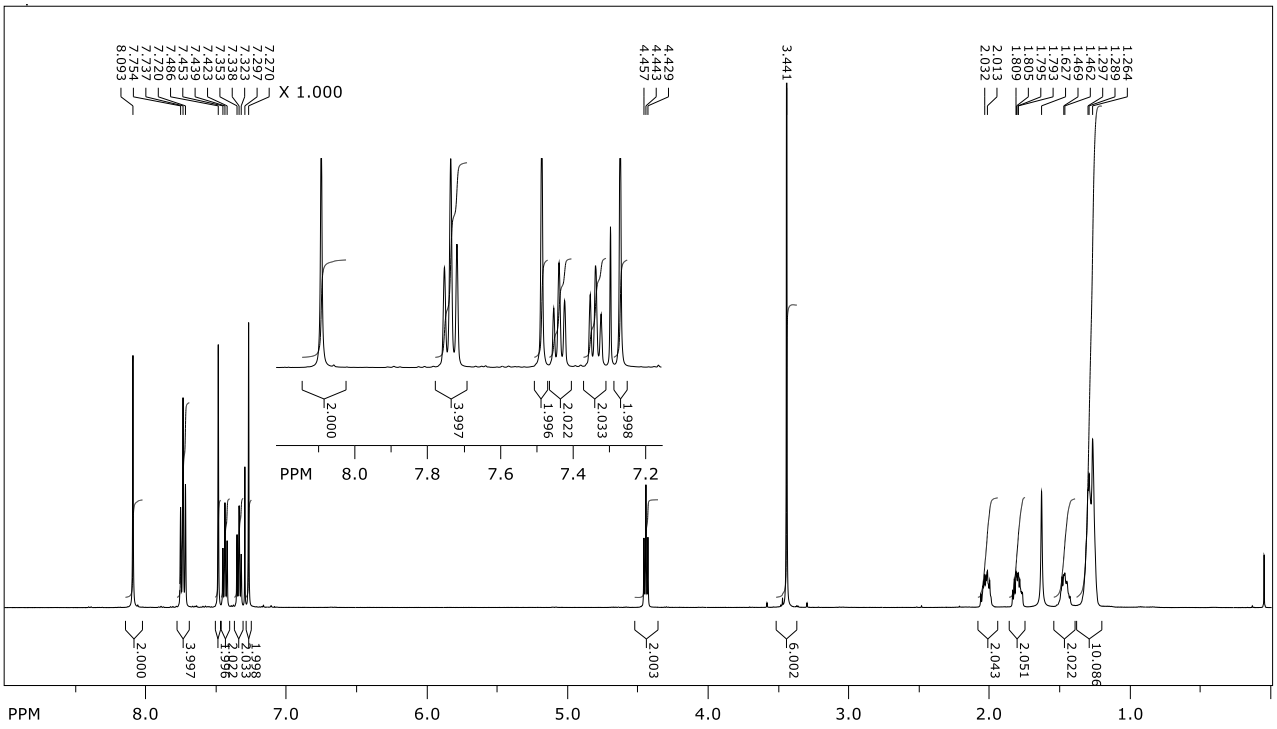


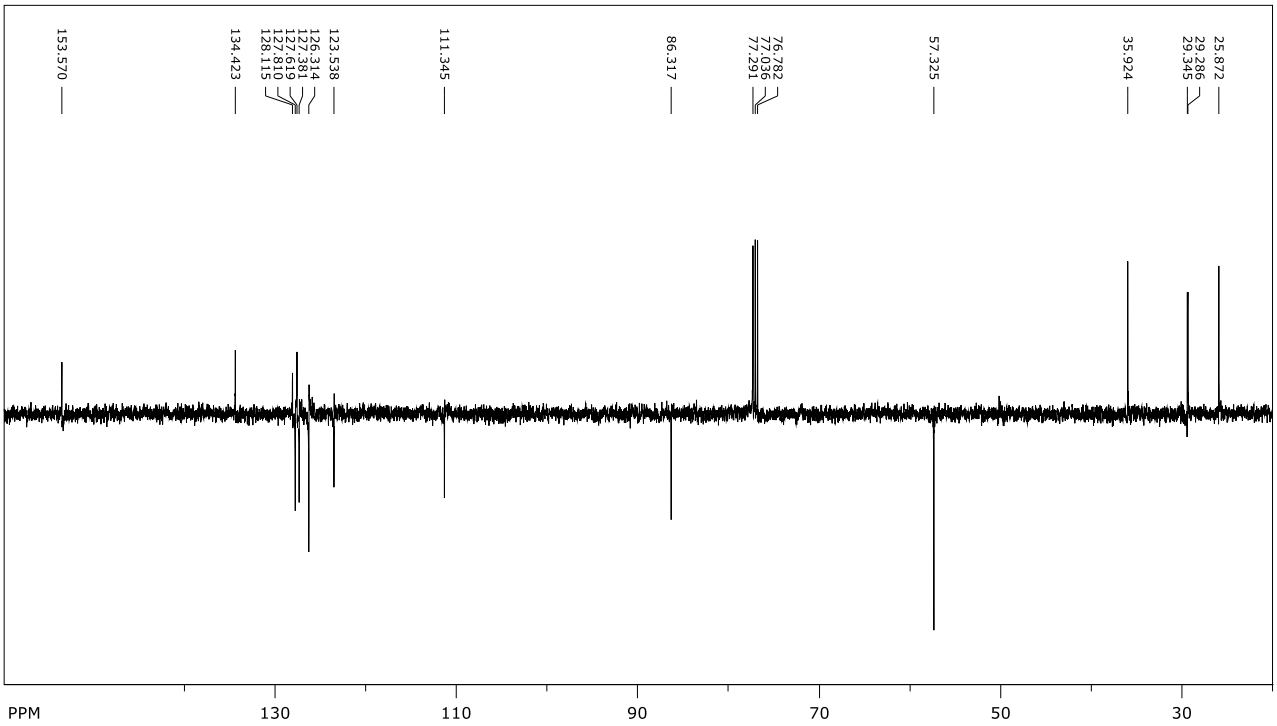




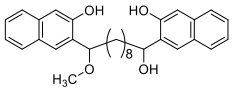
Prilog 45. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **44**

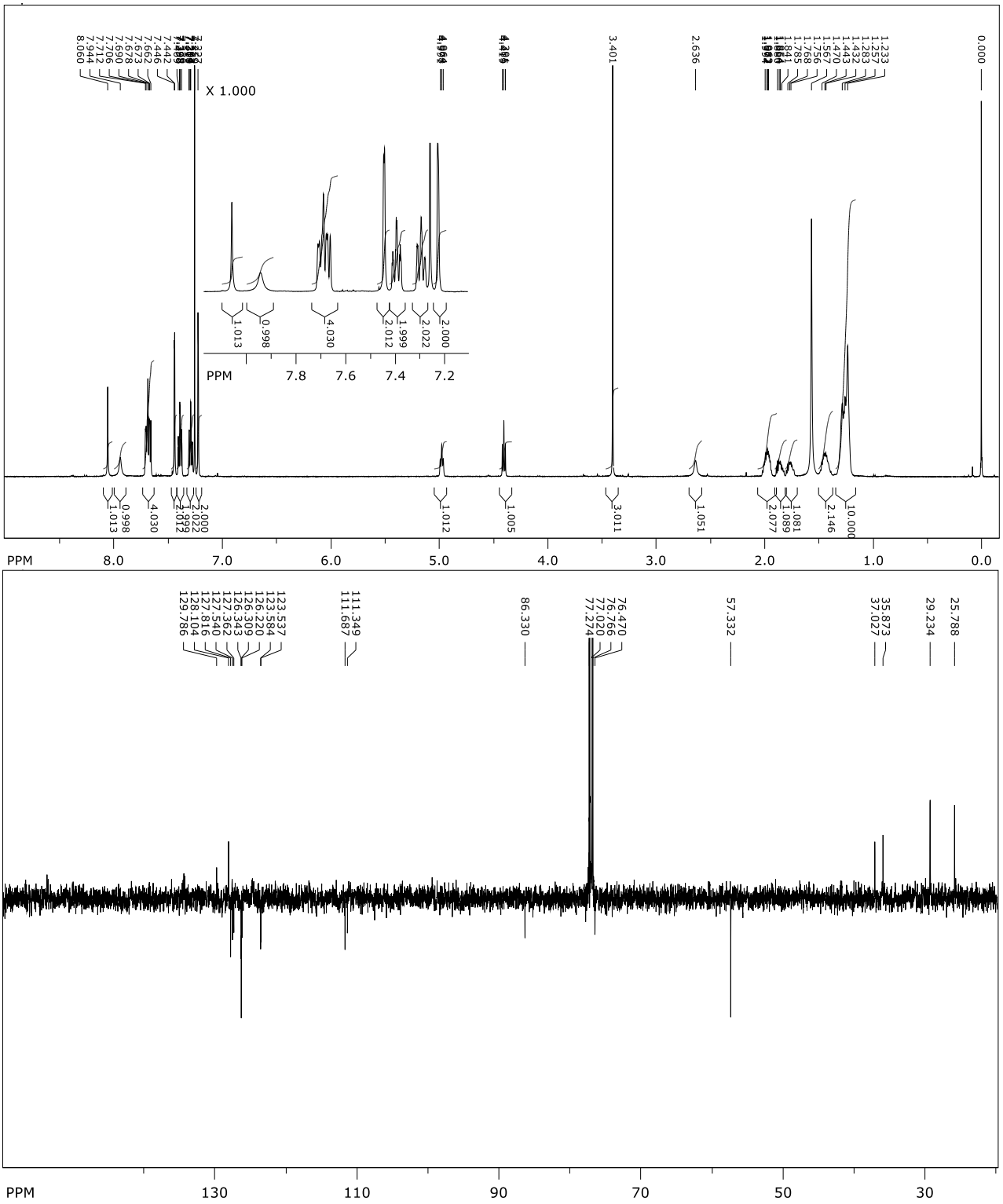




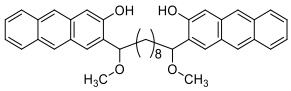


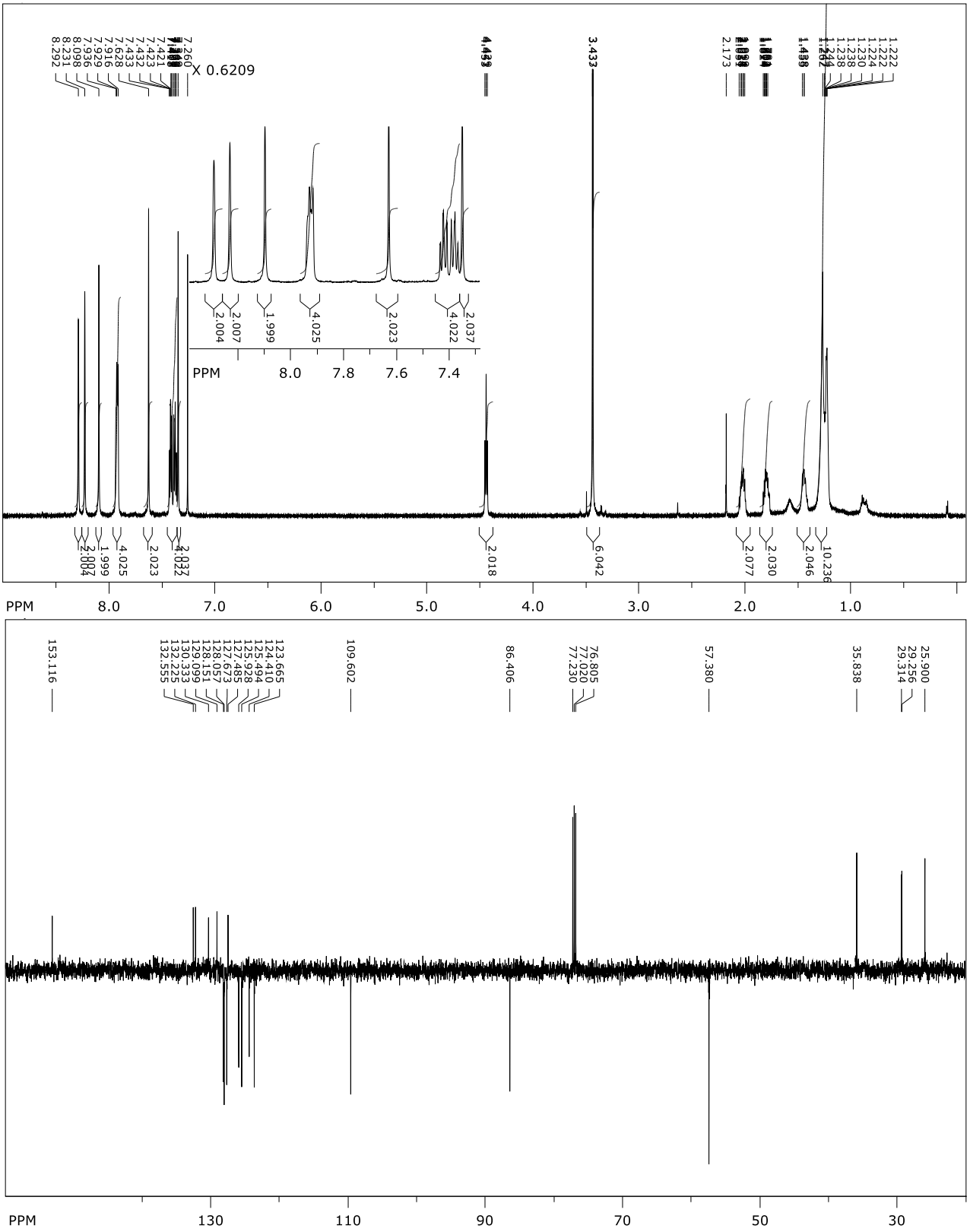
Prilog 46. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **45**



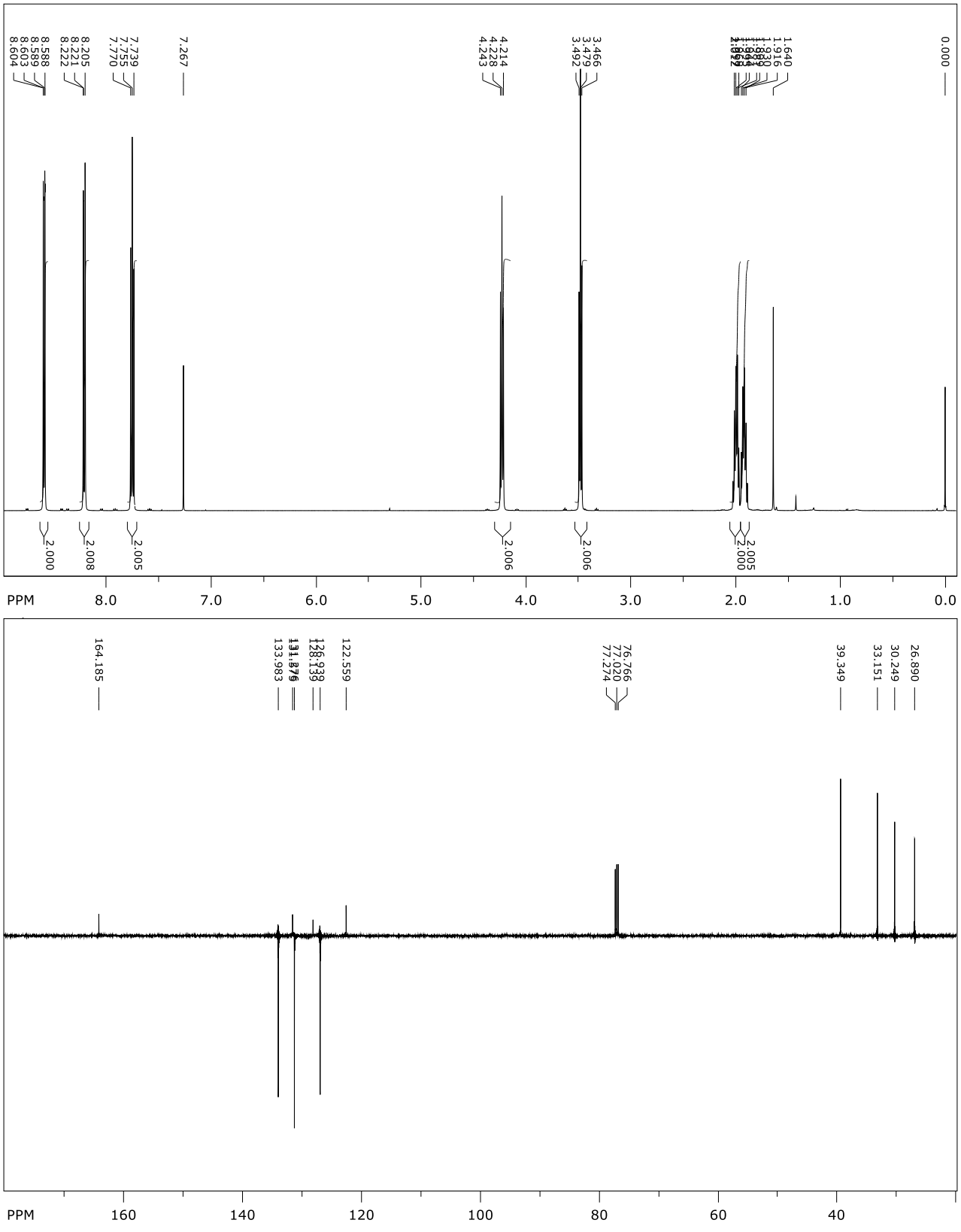


Prilog 47. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **46**

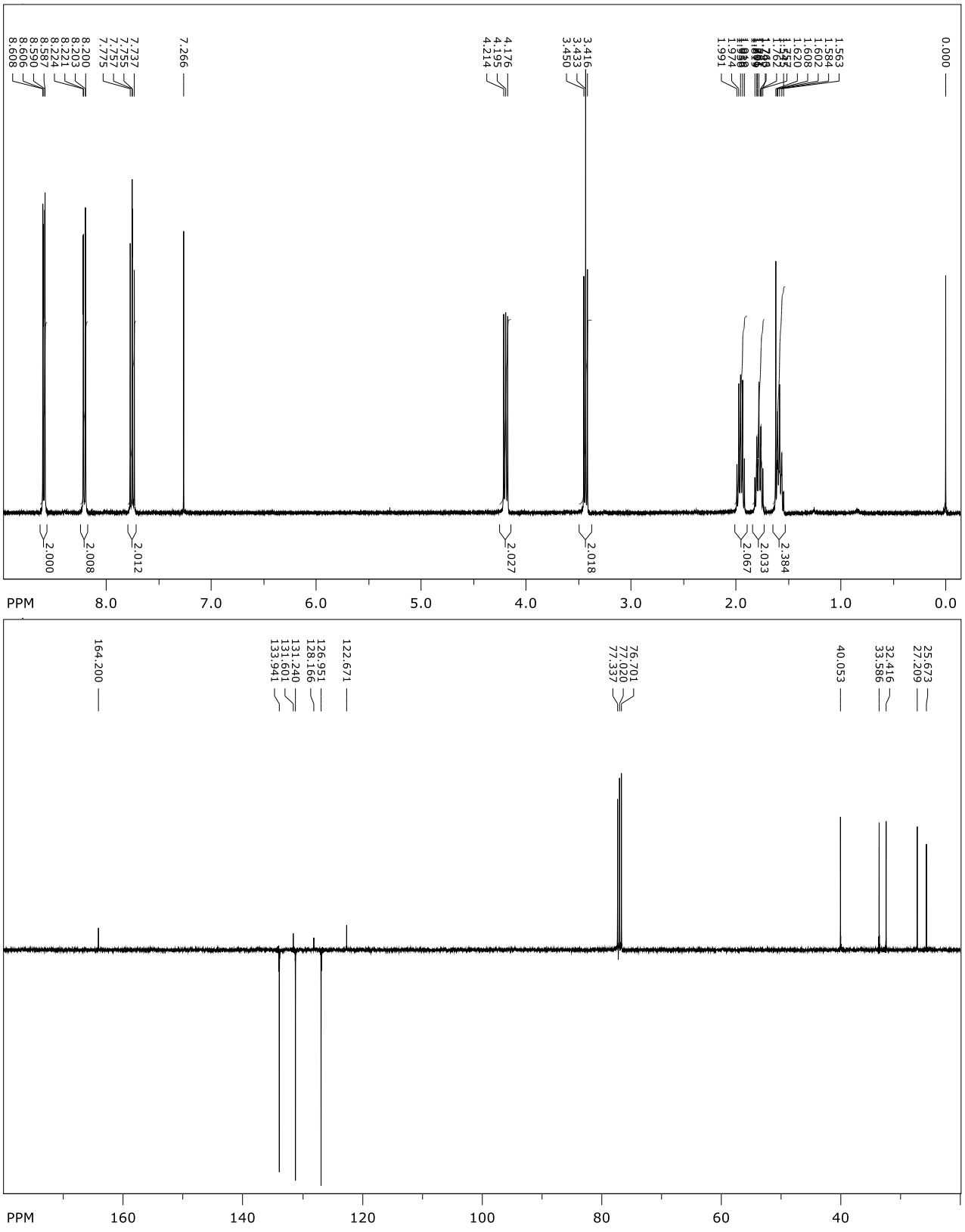




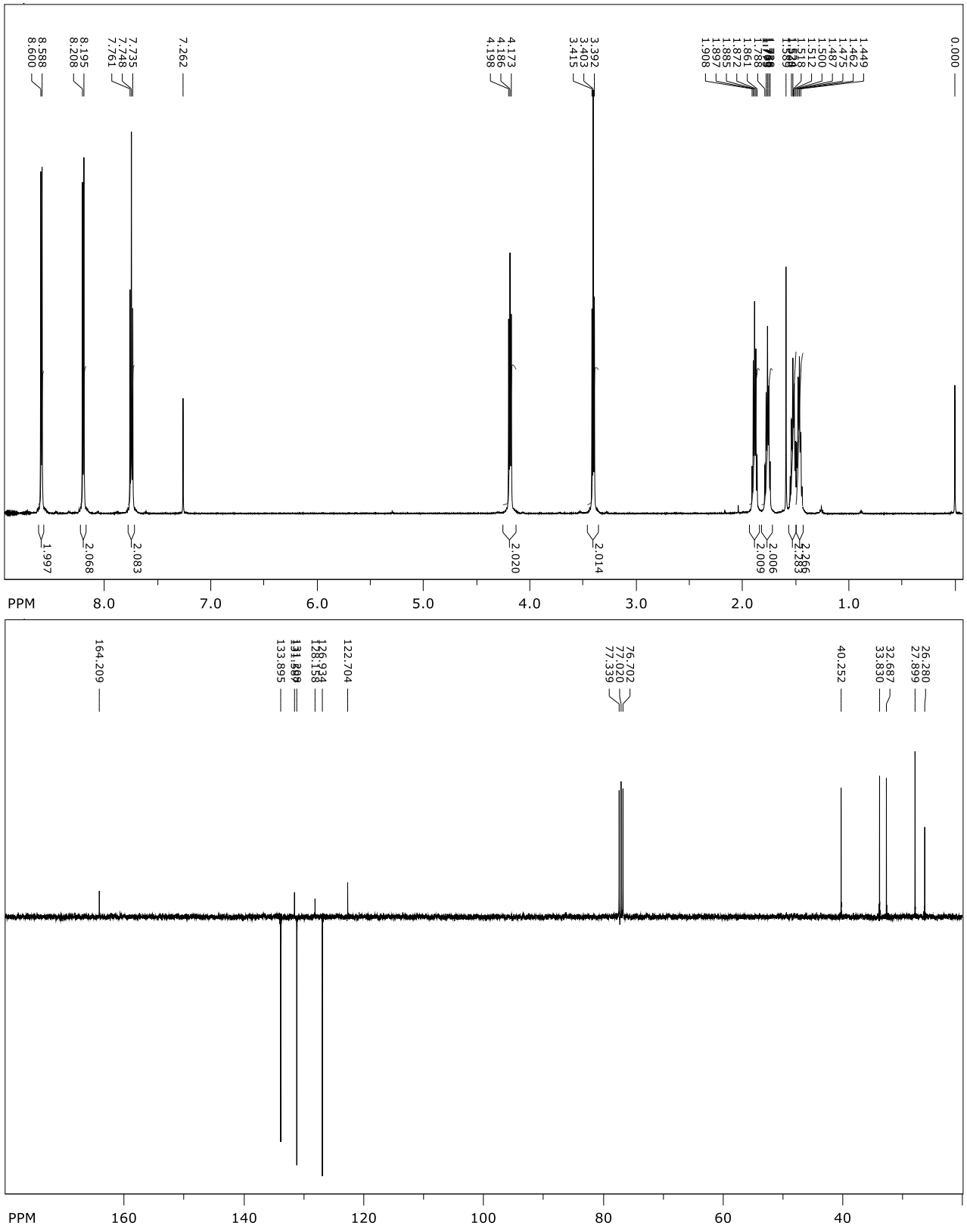
Prilog 48. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **50**



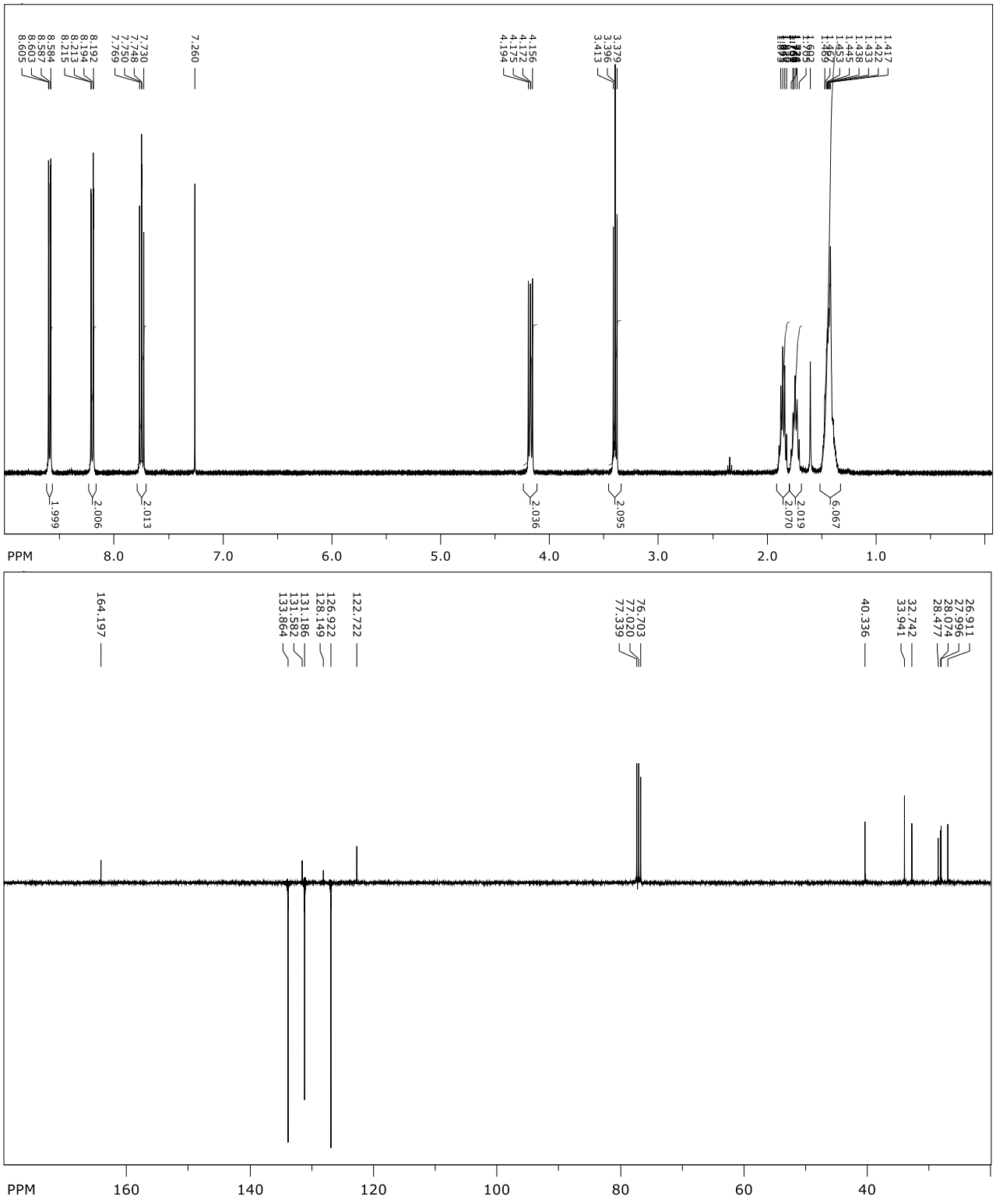
Prilog 49. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **51**



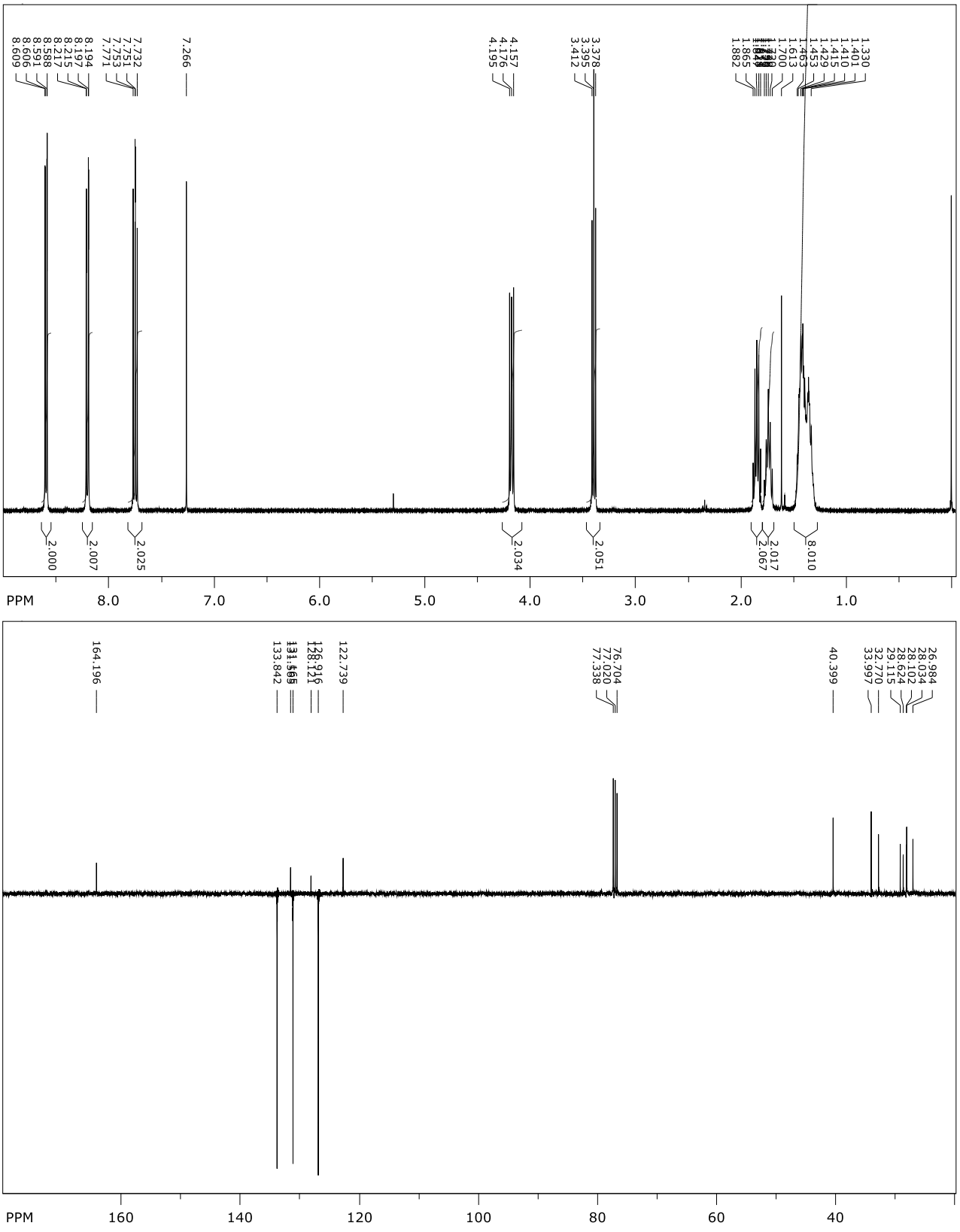
Prilog 50. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **52**



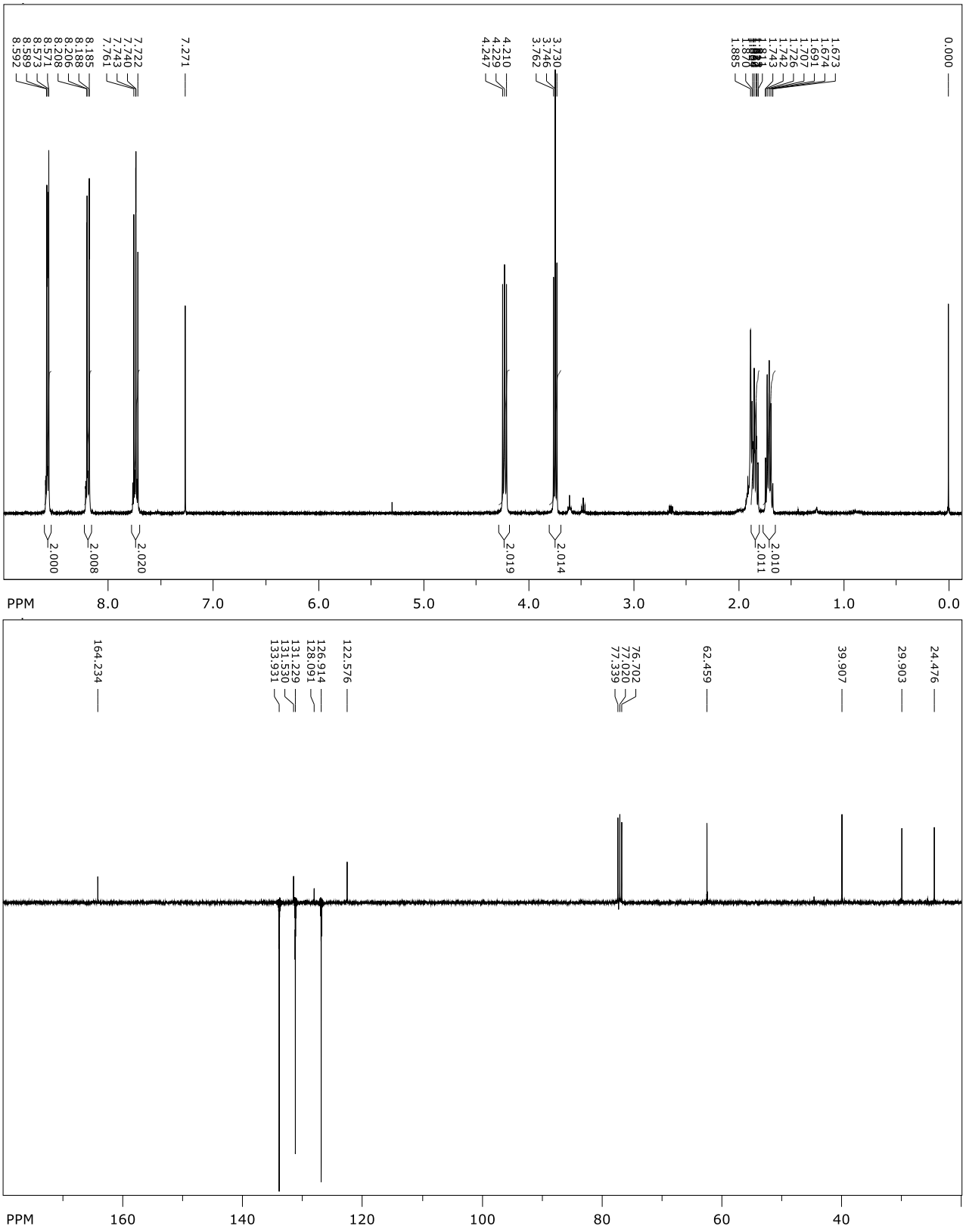
Prilog 51. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **53**



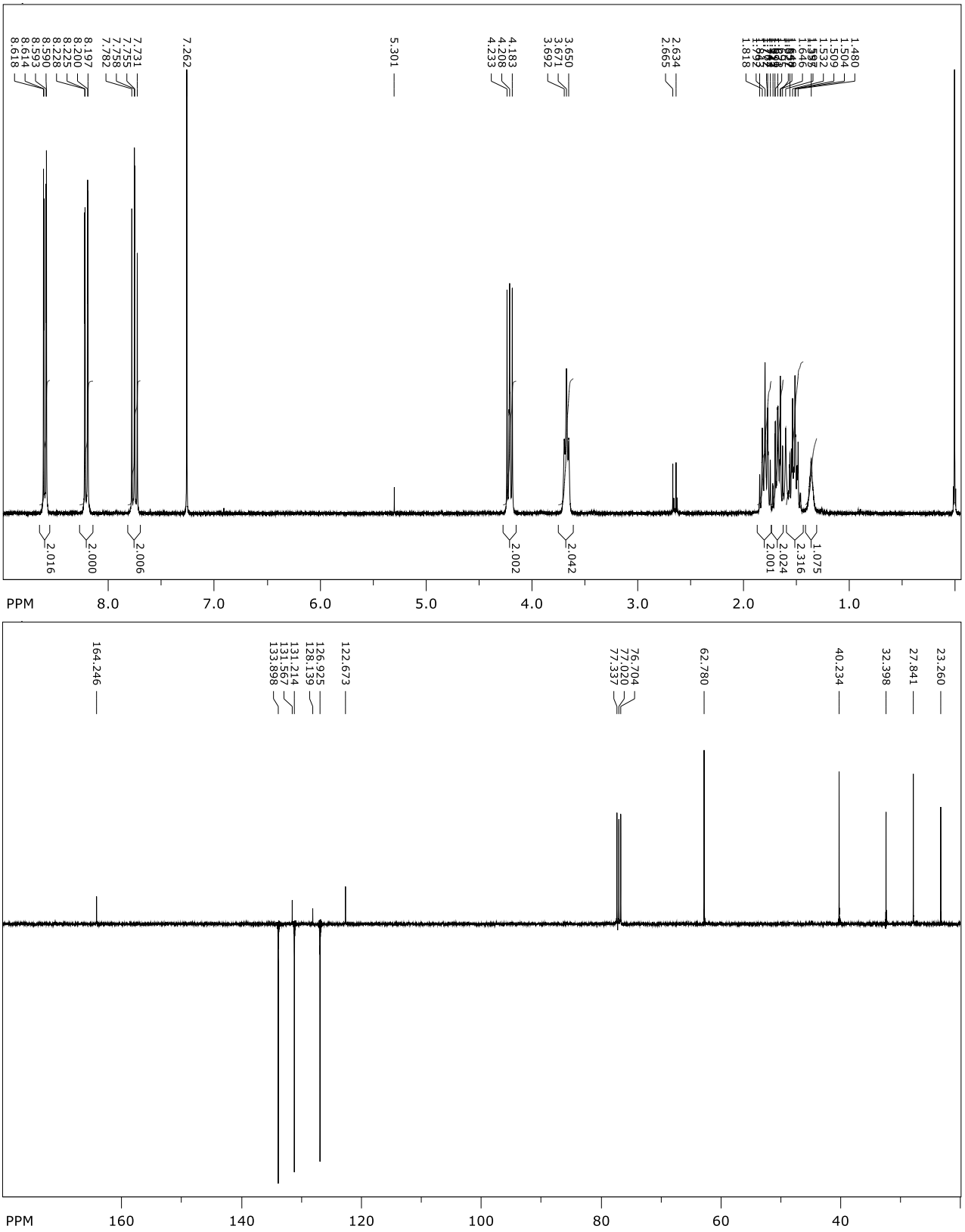
Prilog 52. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **54**



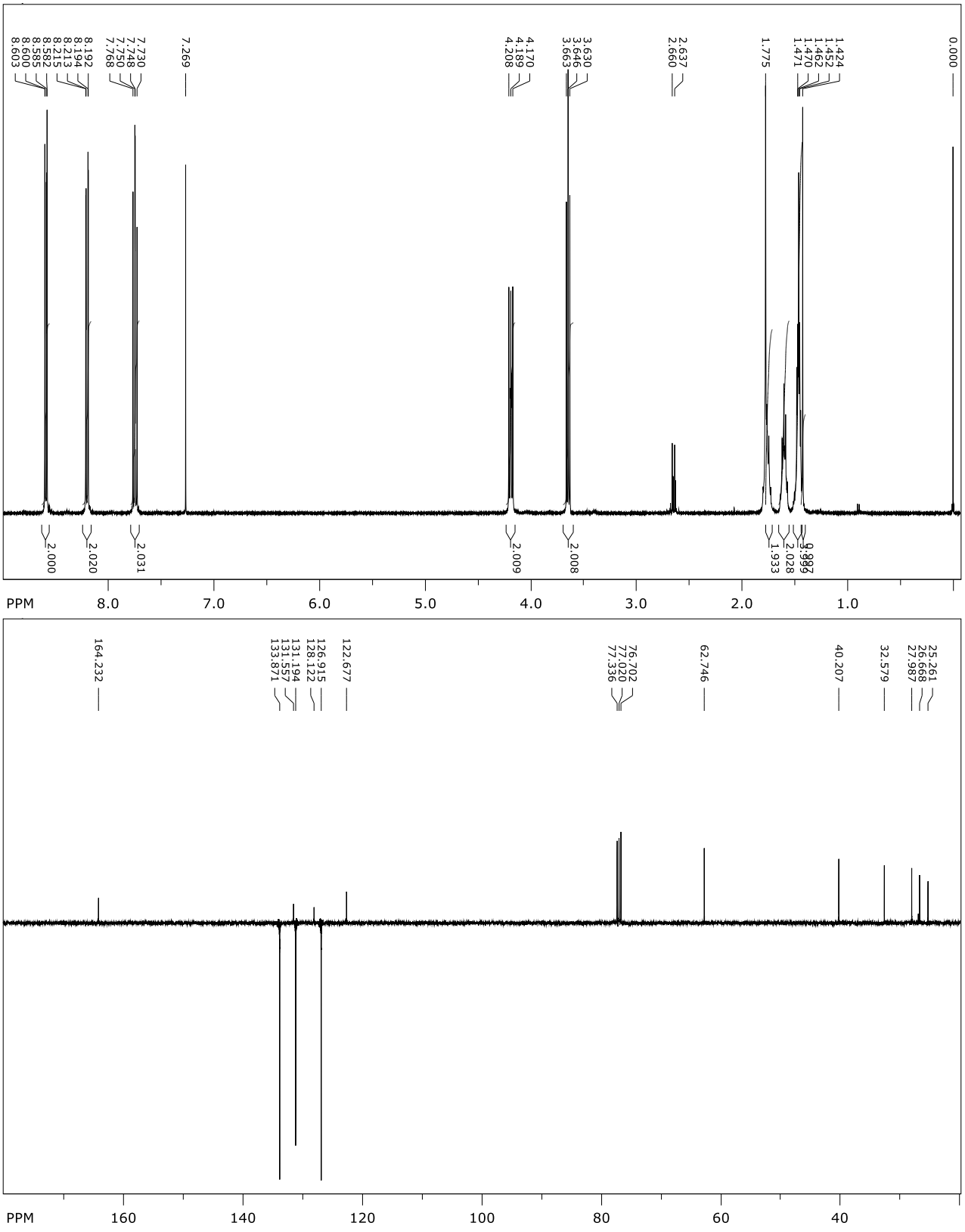
Prilog 53. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **55**



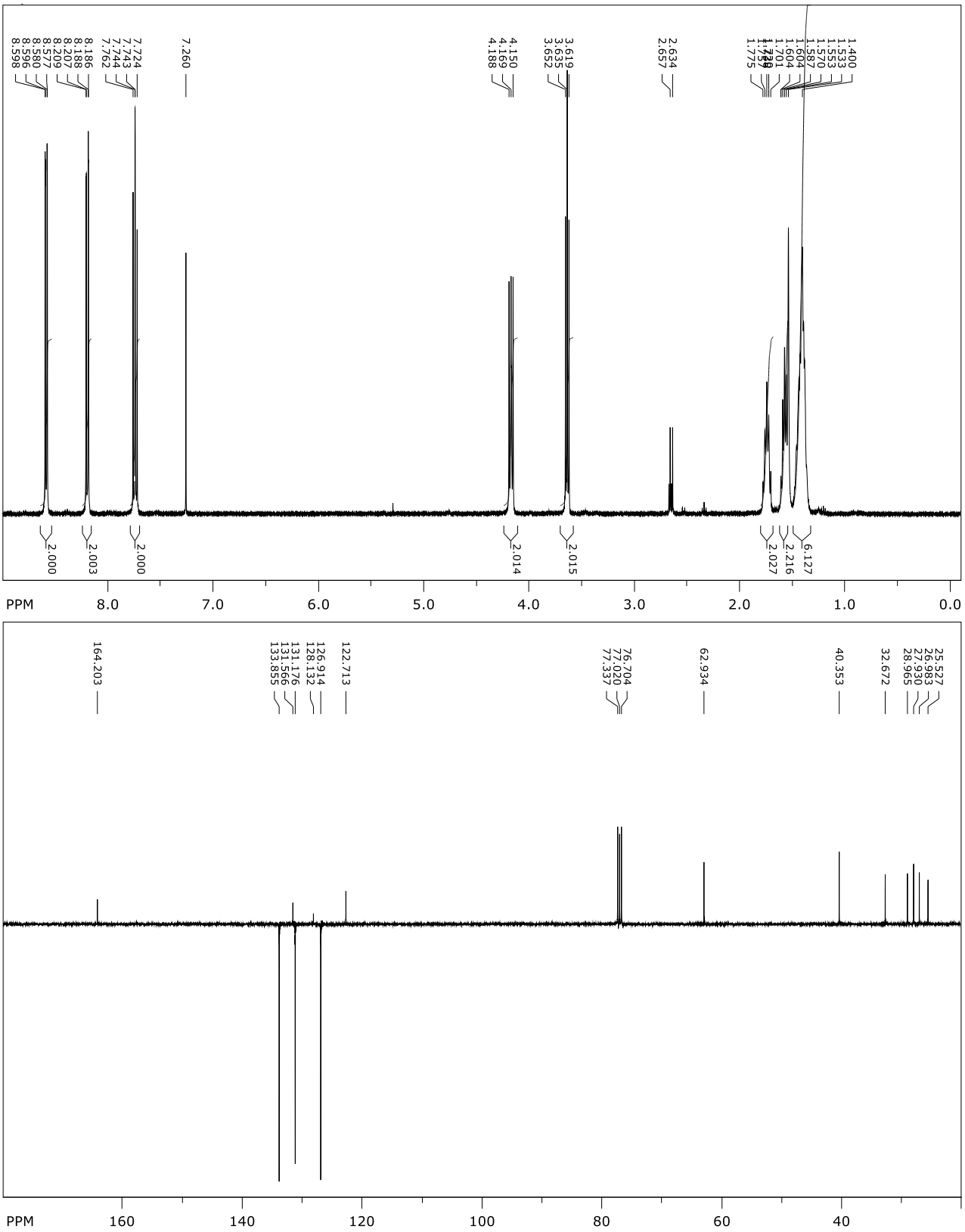
Prilog 54. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **56**



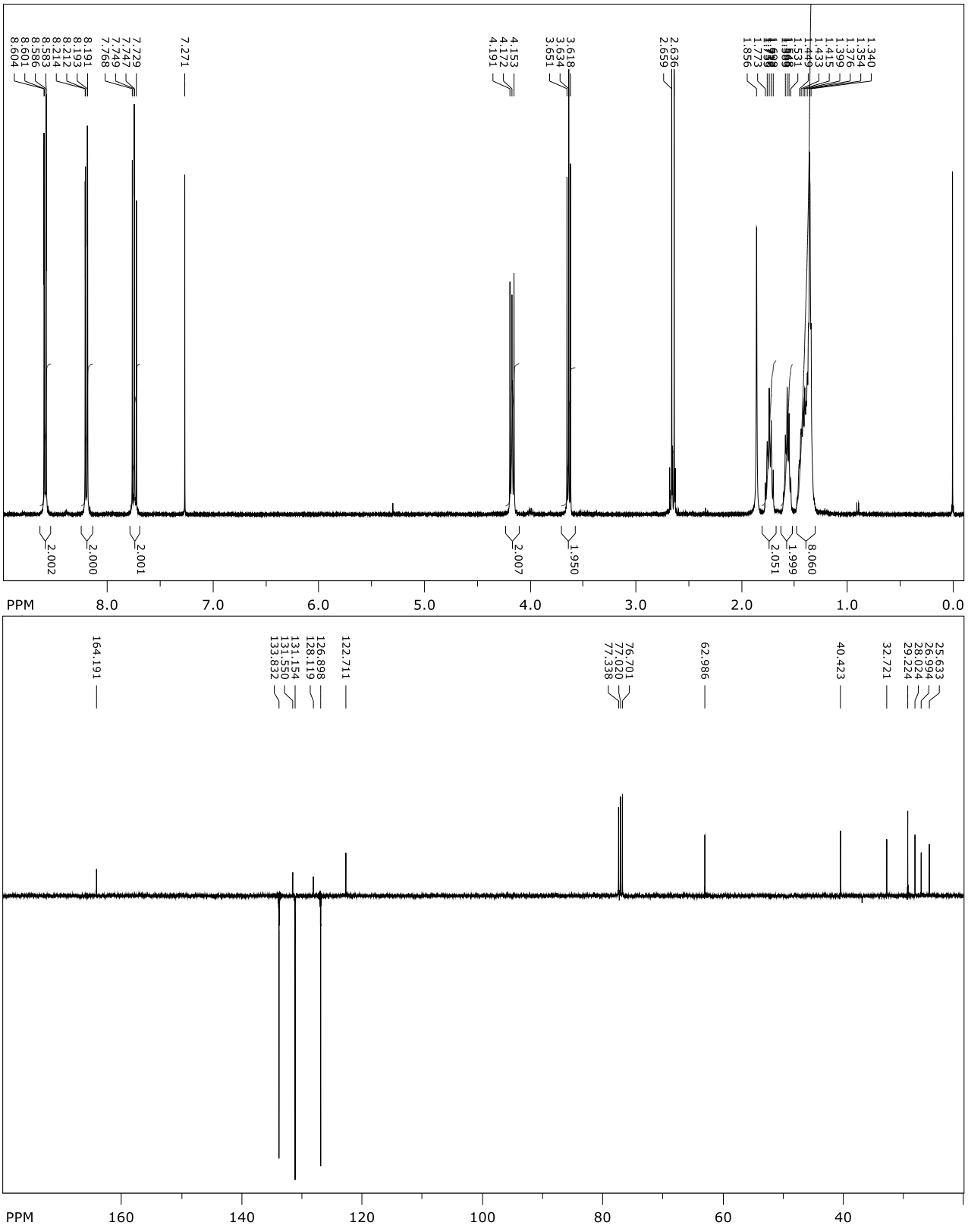
Prilog 55. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **57**



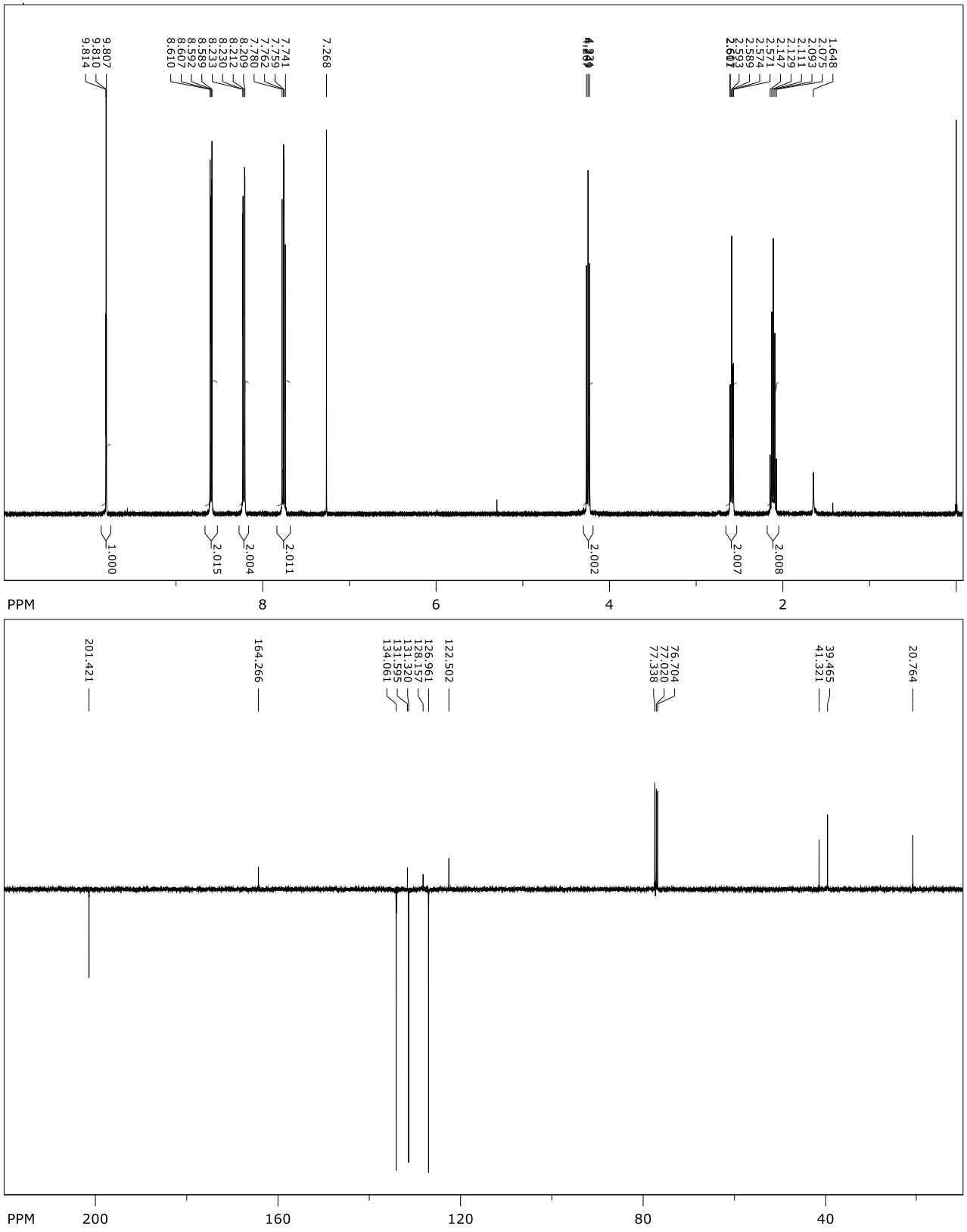
Prilog 56. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **58**



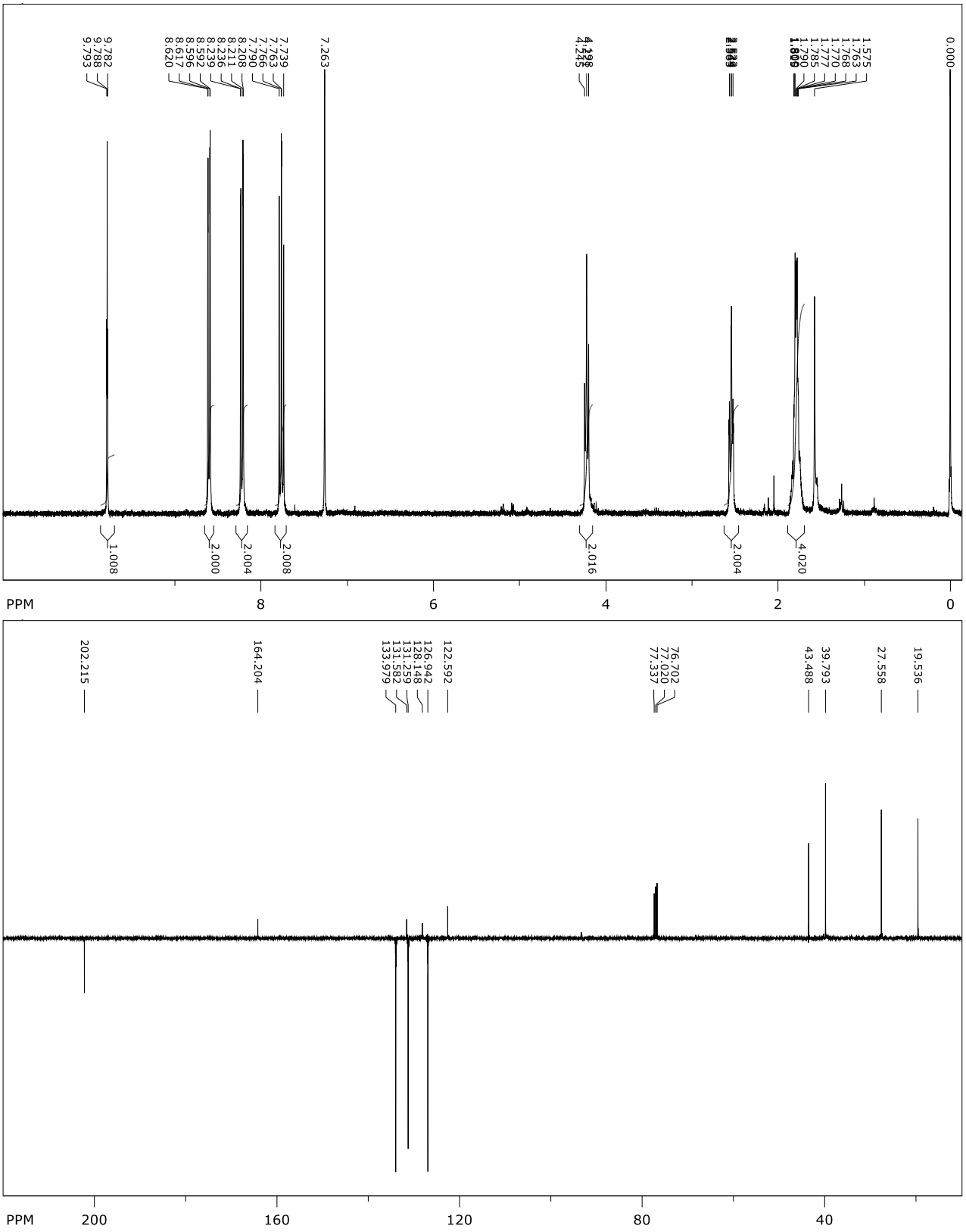
Prilog 57. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **59**



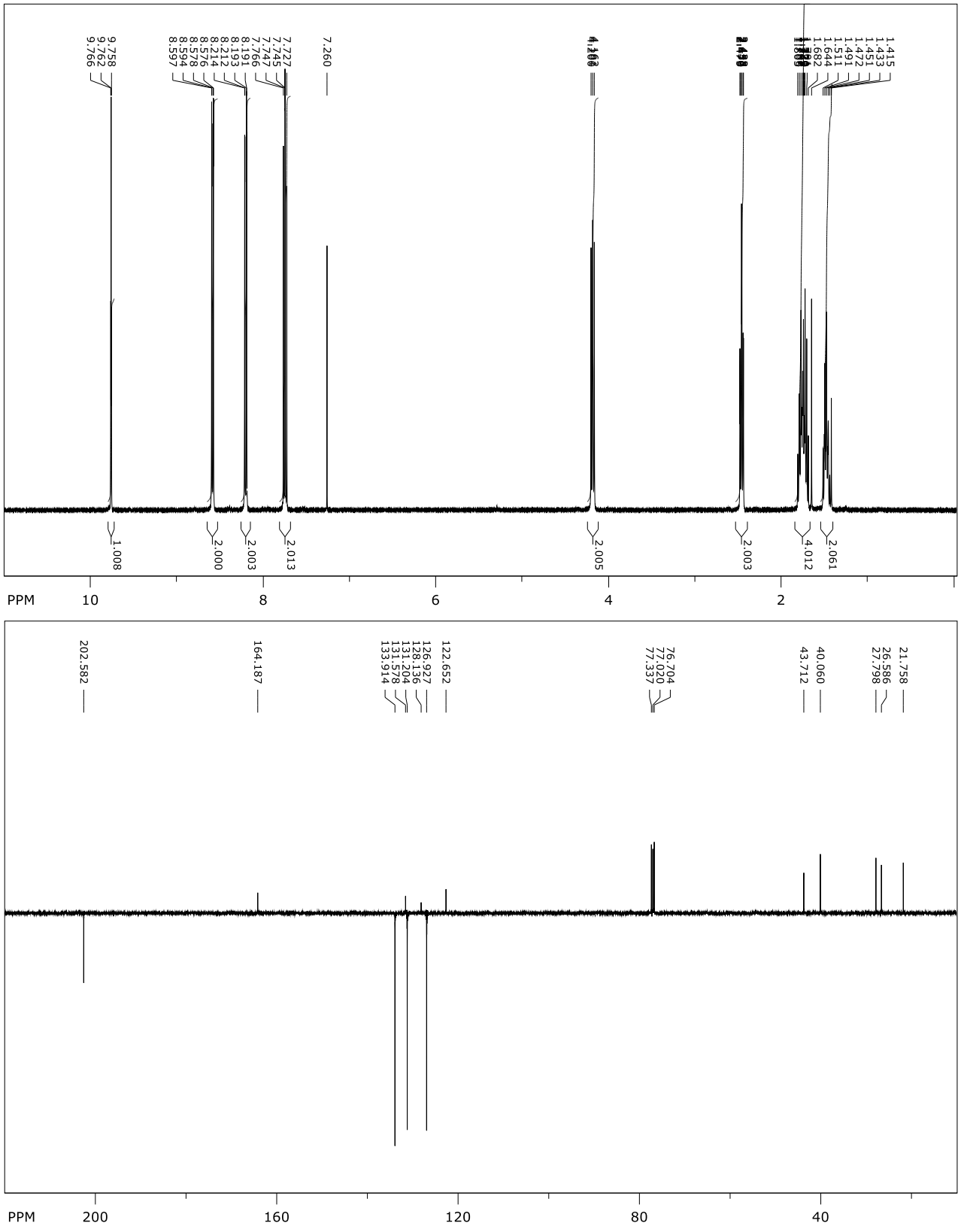
Prilog 58. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **60**



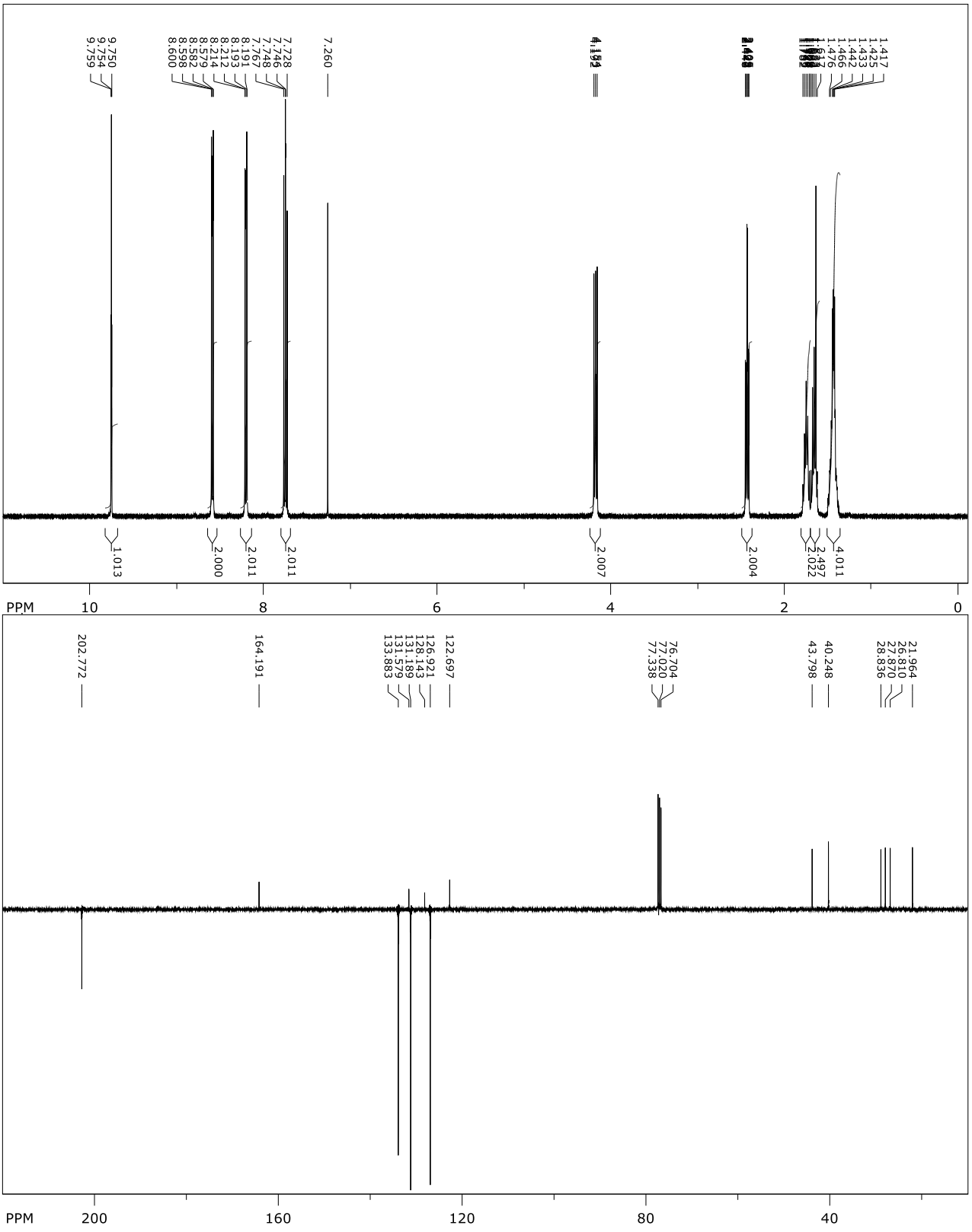
Prilog 59. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **61**



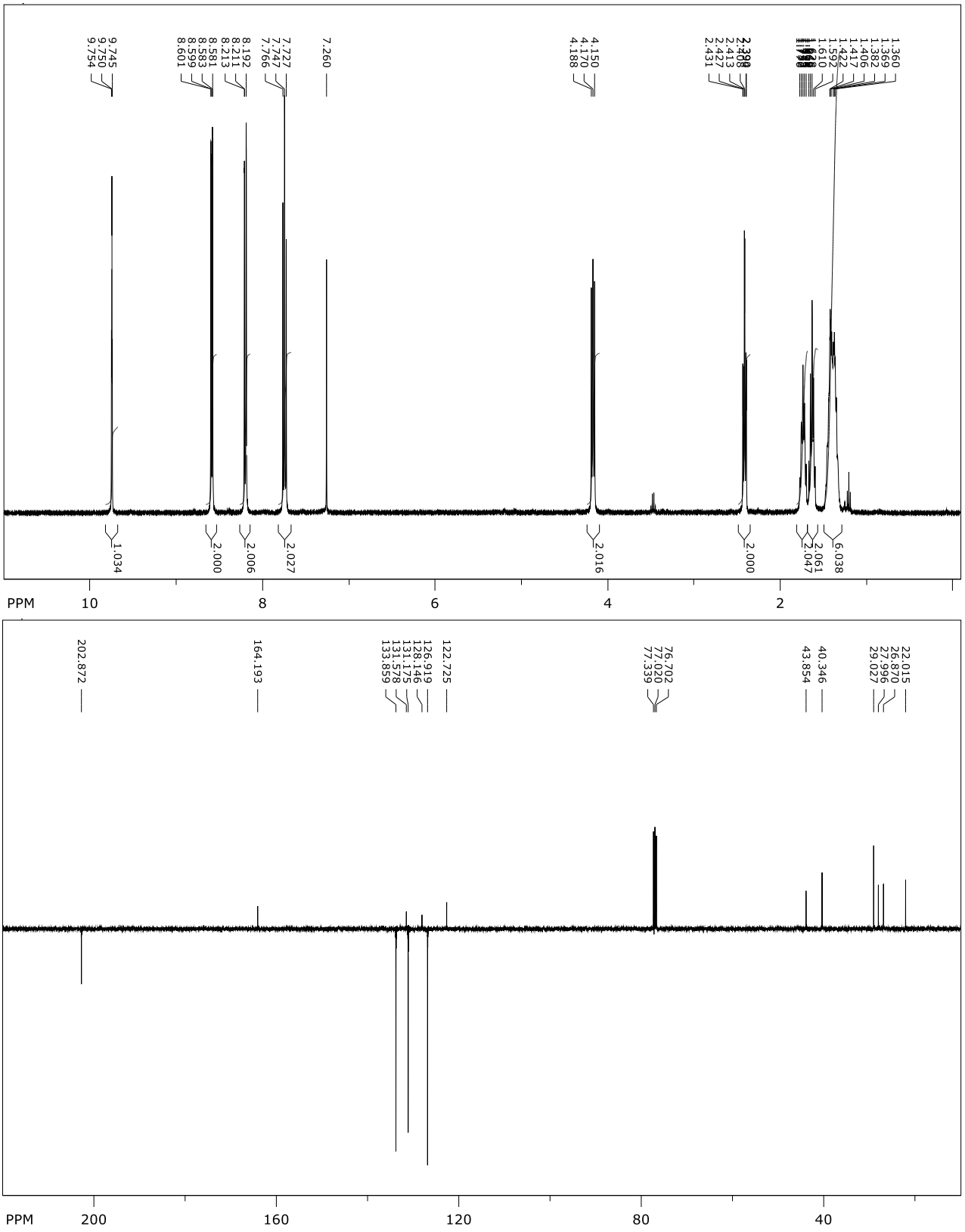
Prilog 60. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **62**

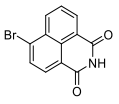


Prilog 61. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **63**

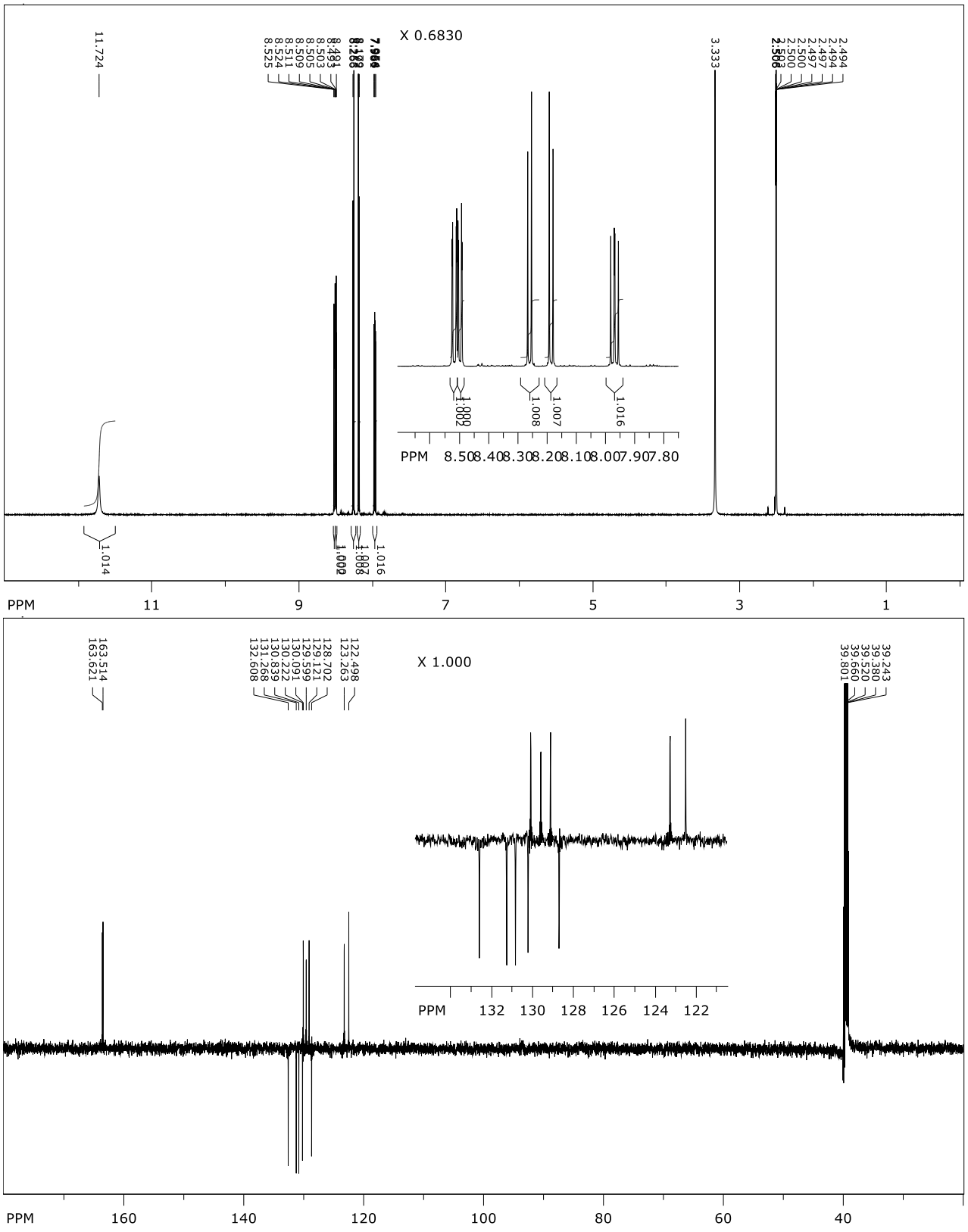


Prilog 62. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **64**

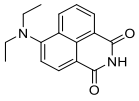


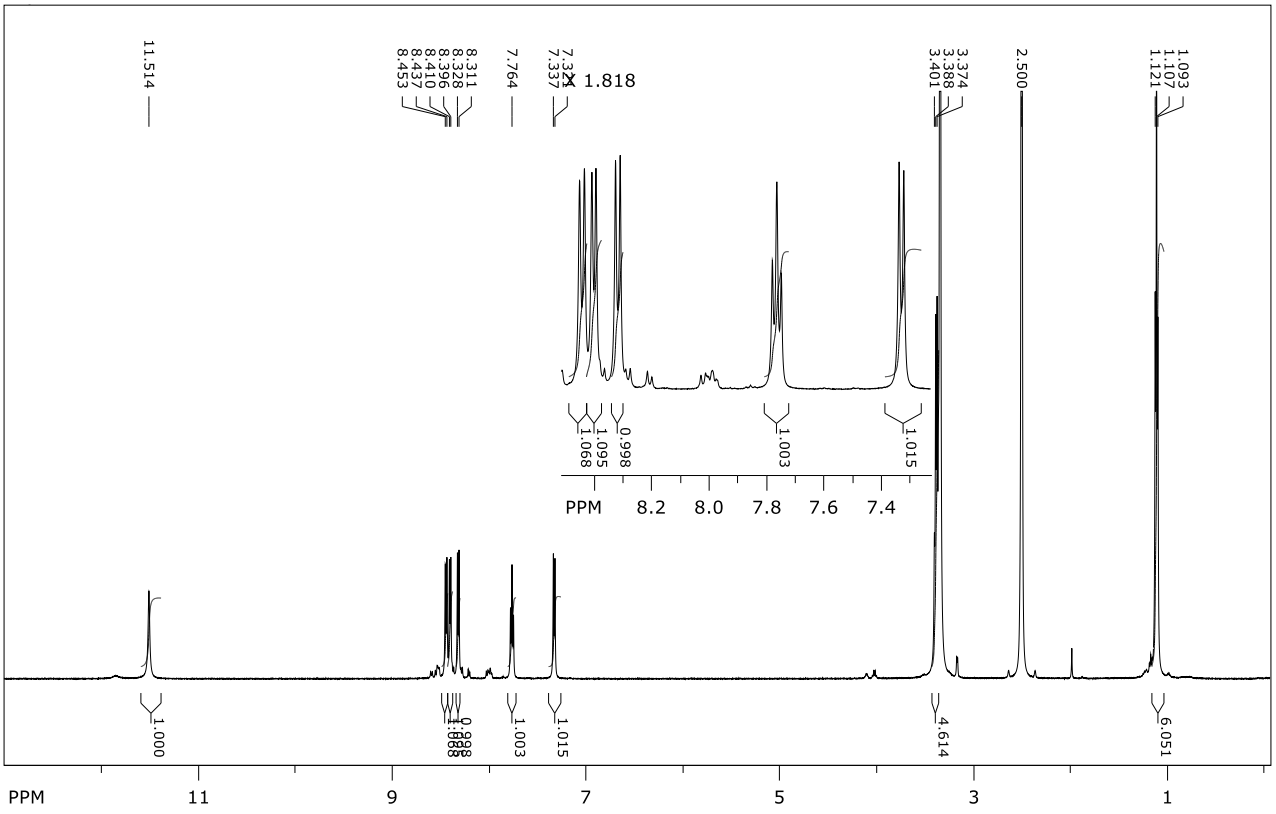


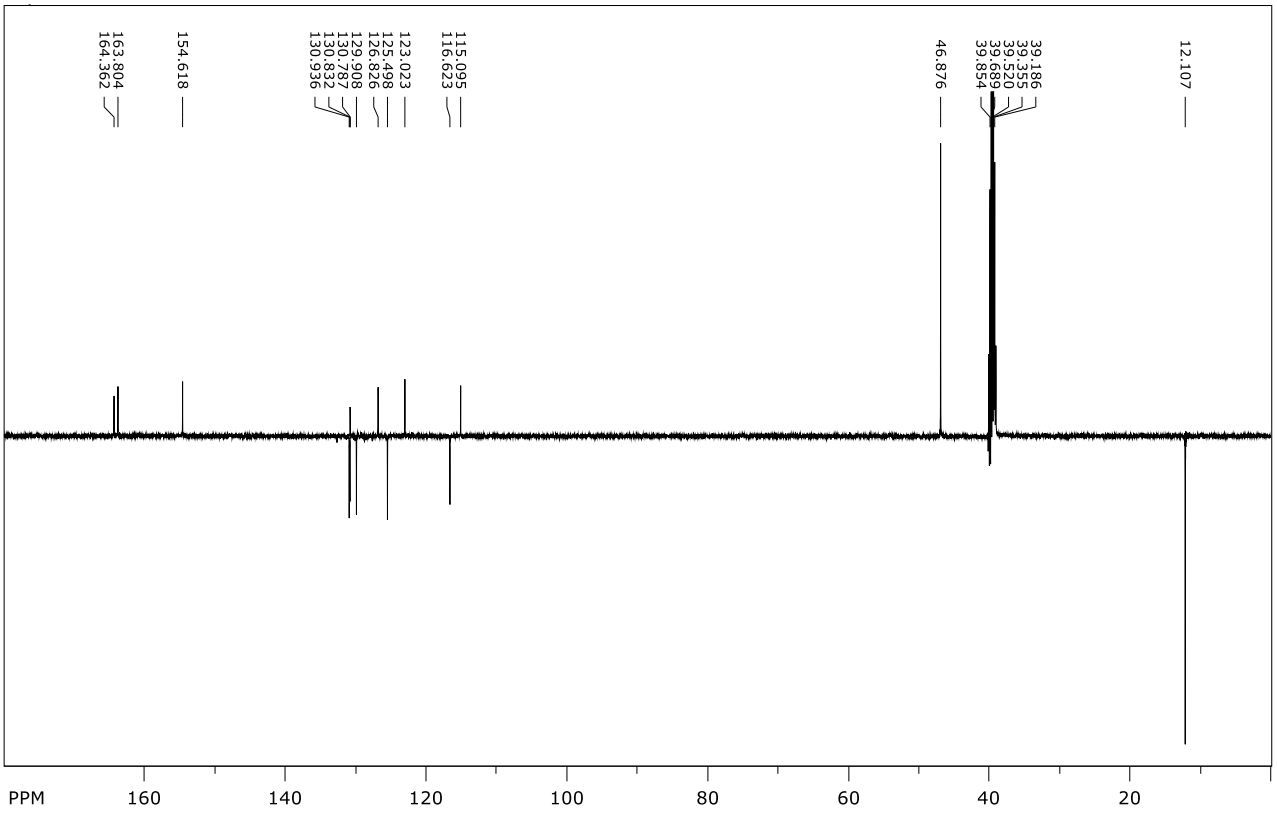
Prilog 63. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **65**

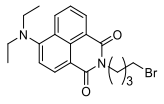


Prilog 64. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 125 MHz) spoja **66**

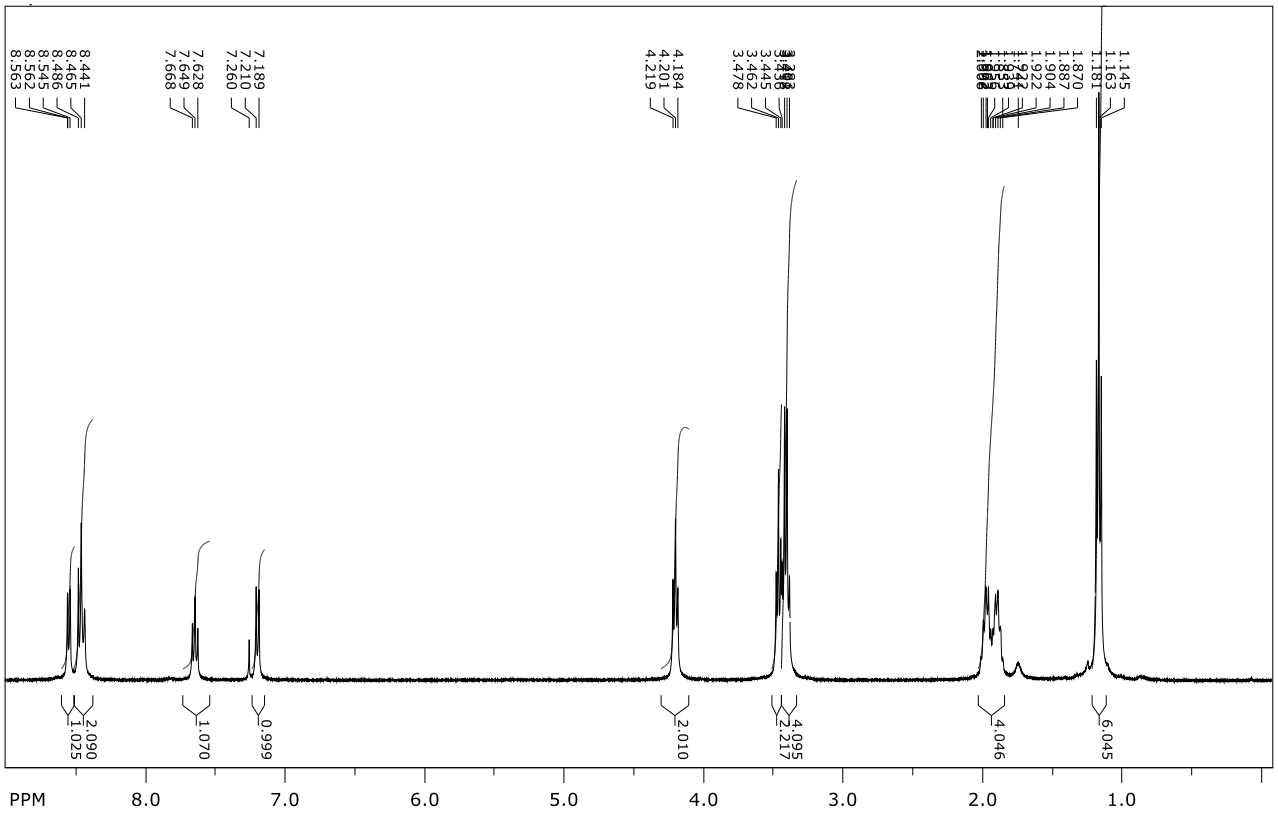


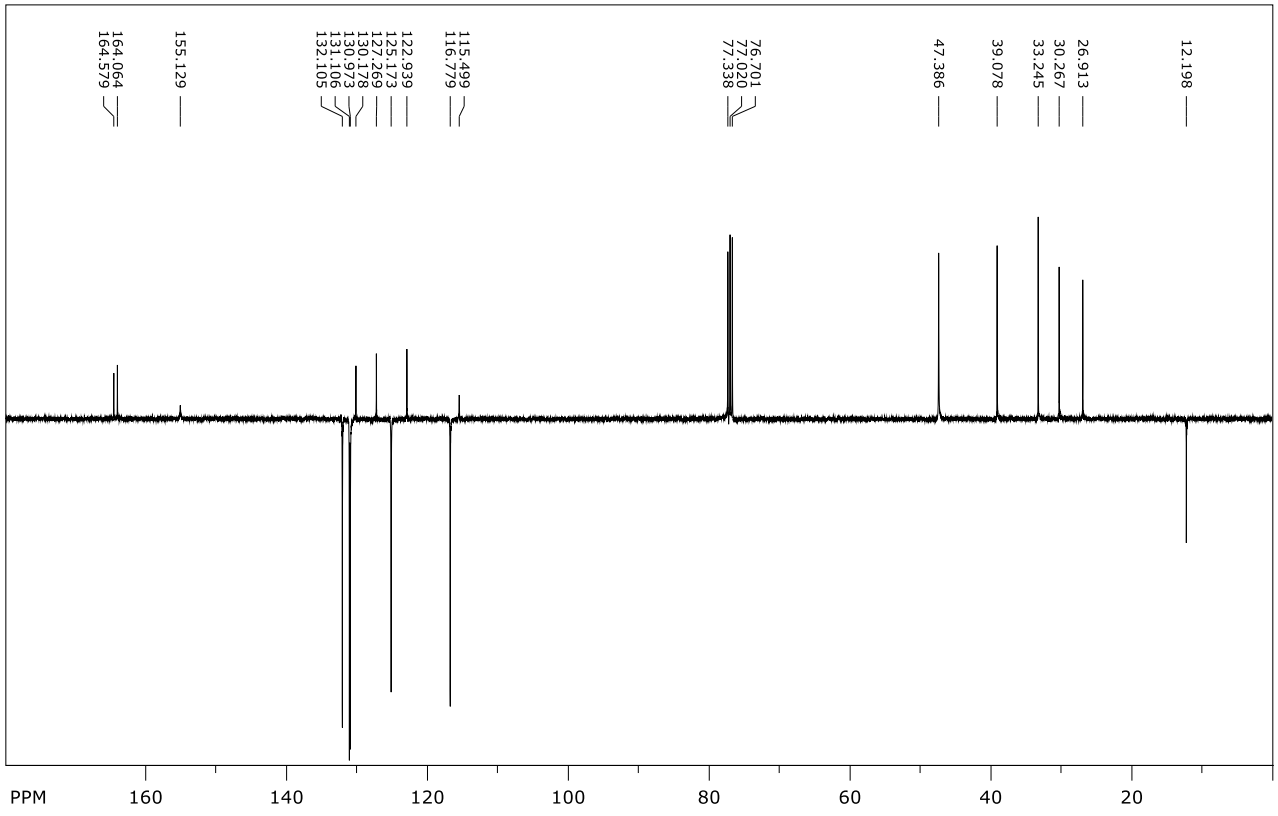


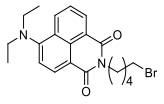




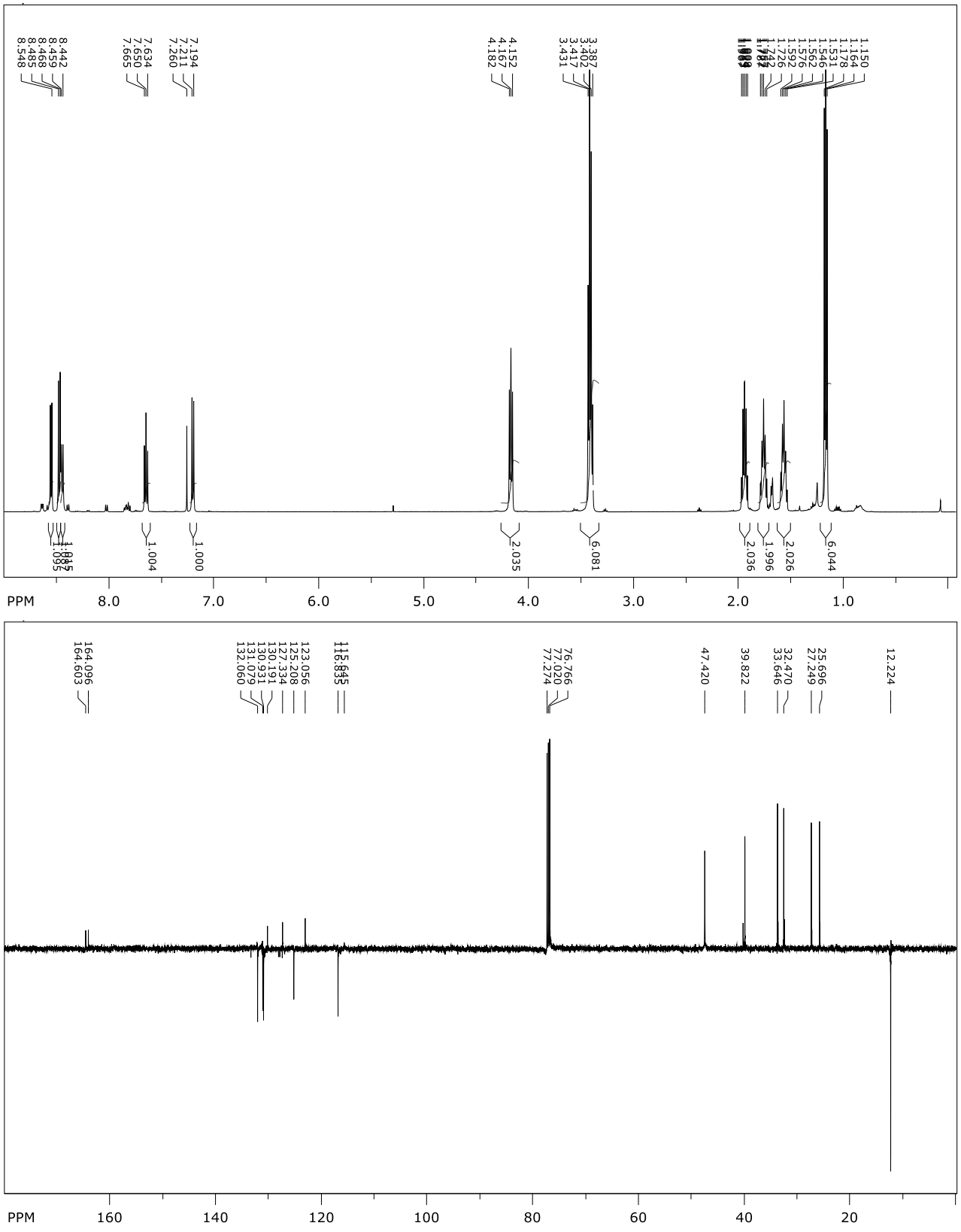
Prilog 65. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **67**

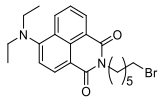




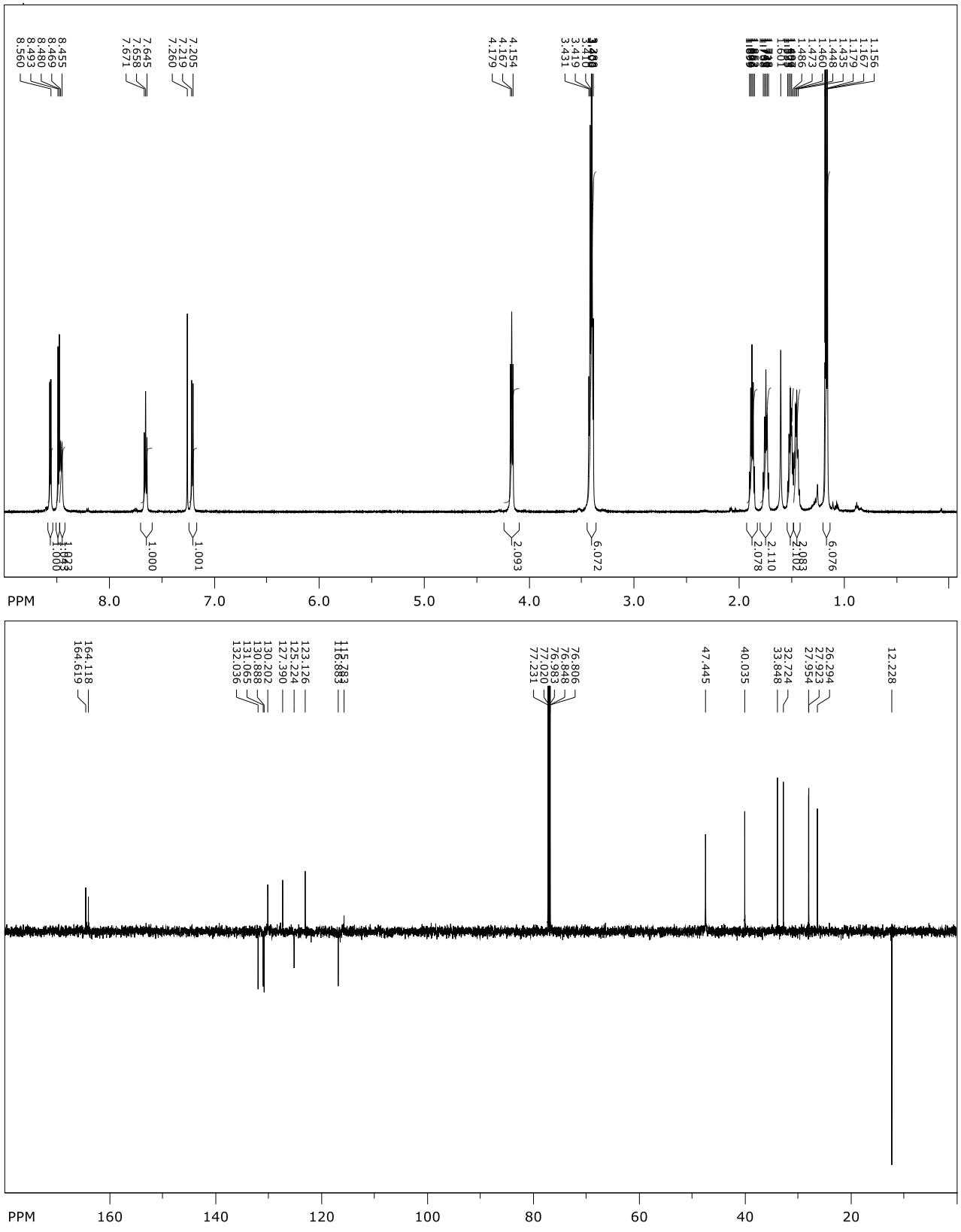


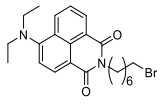
Prilog 66. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **68**



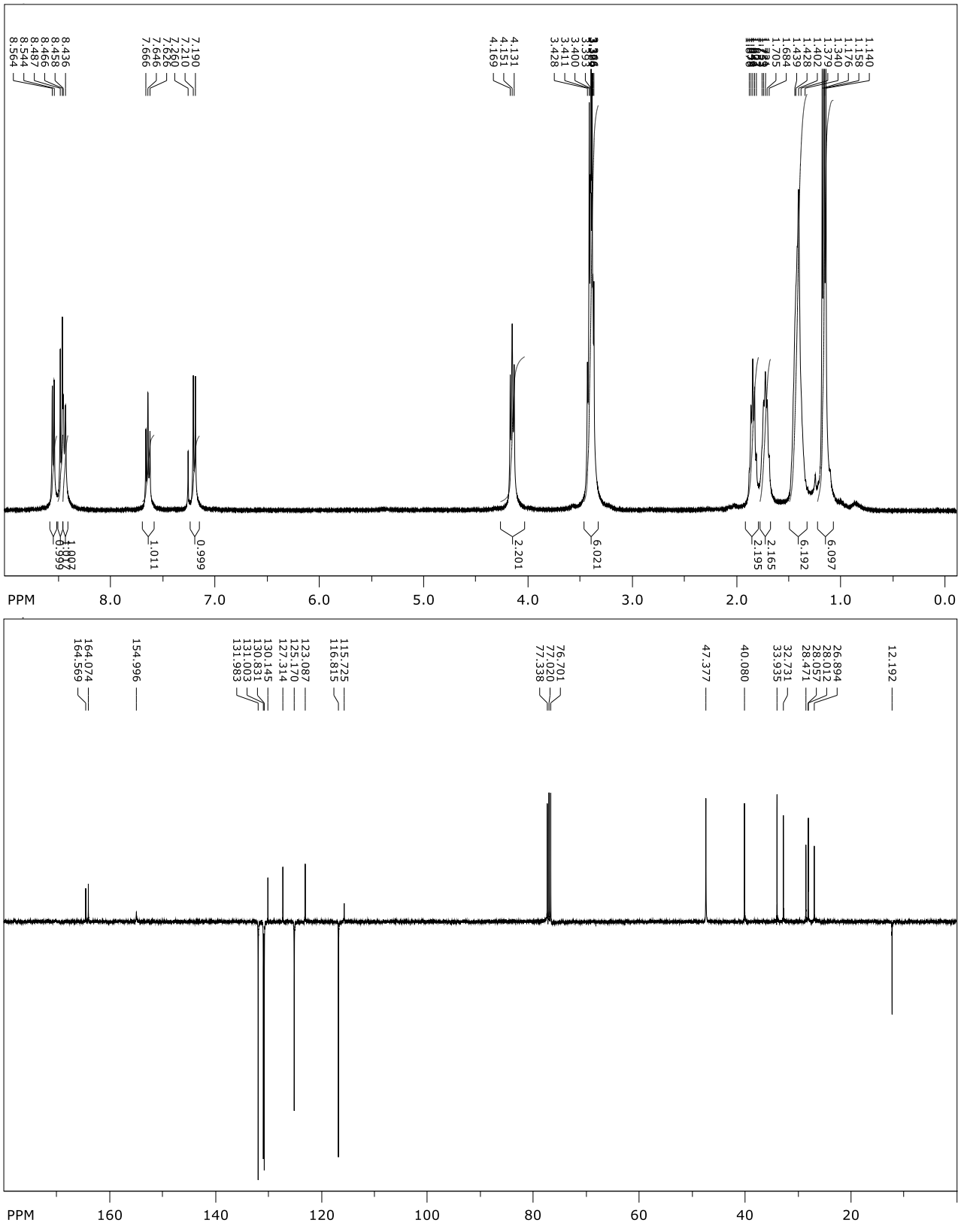


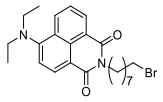
Prilog 67. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **69**



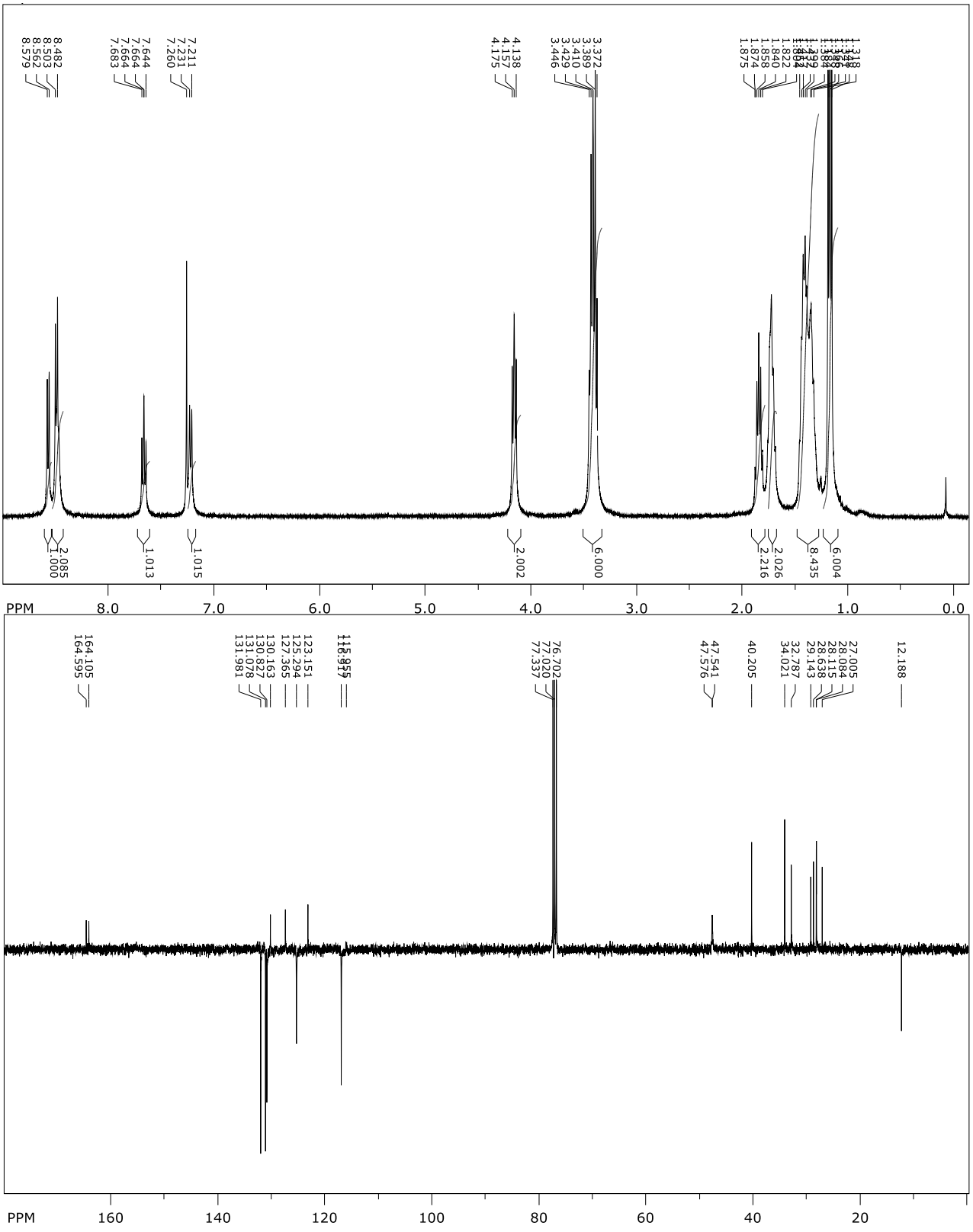


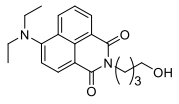
Prilog 68. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **70**



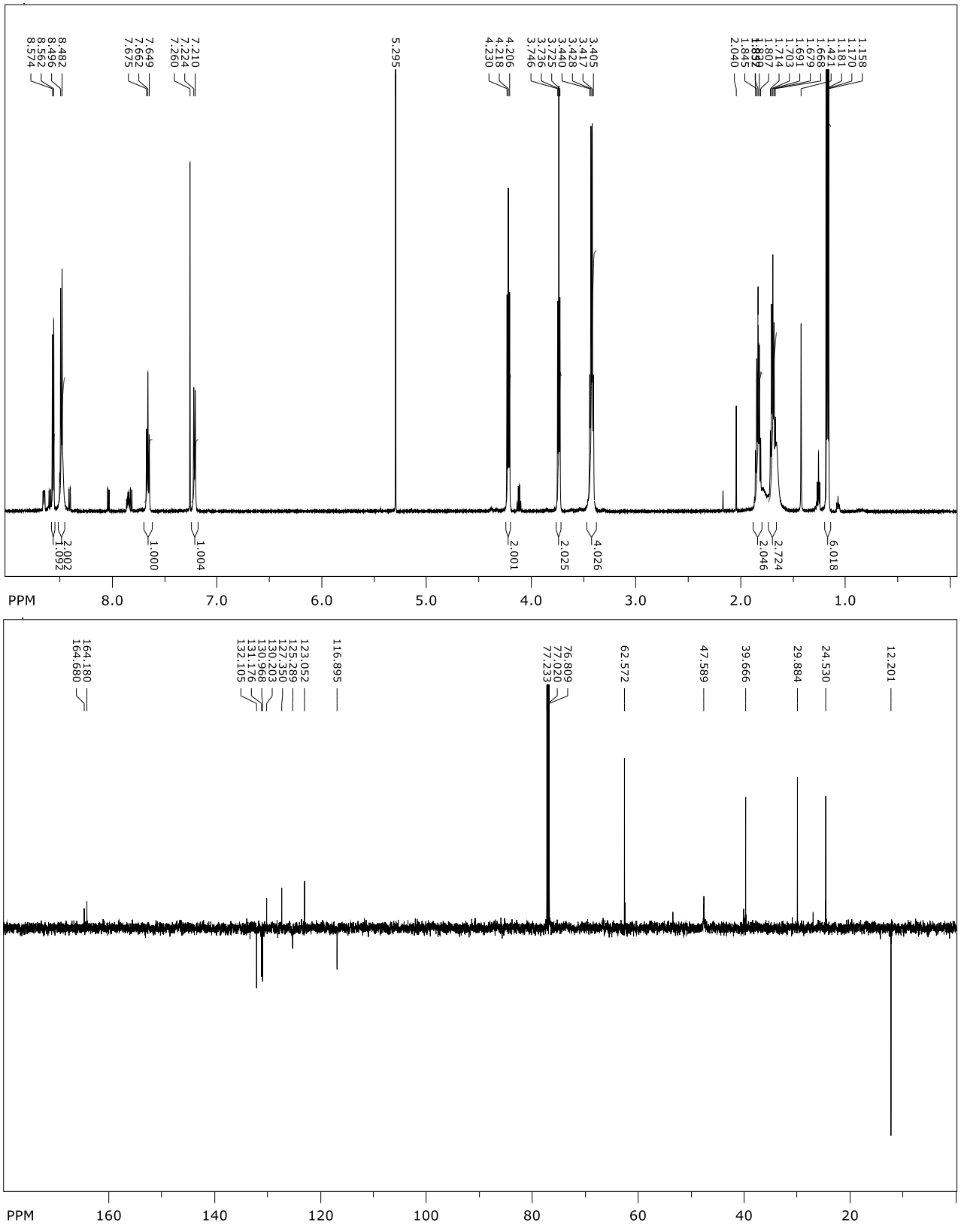


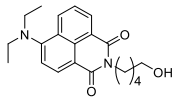
Prilog 69. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **71**



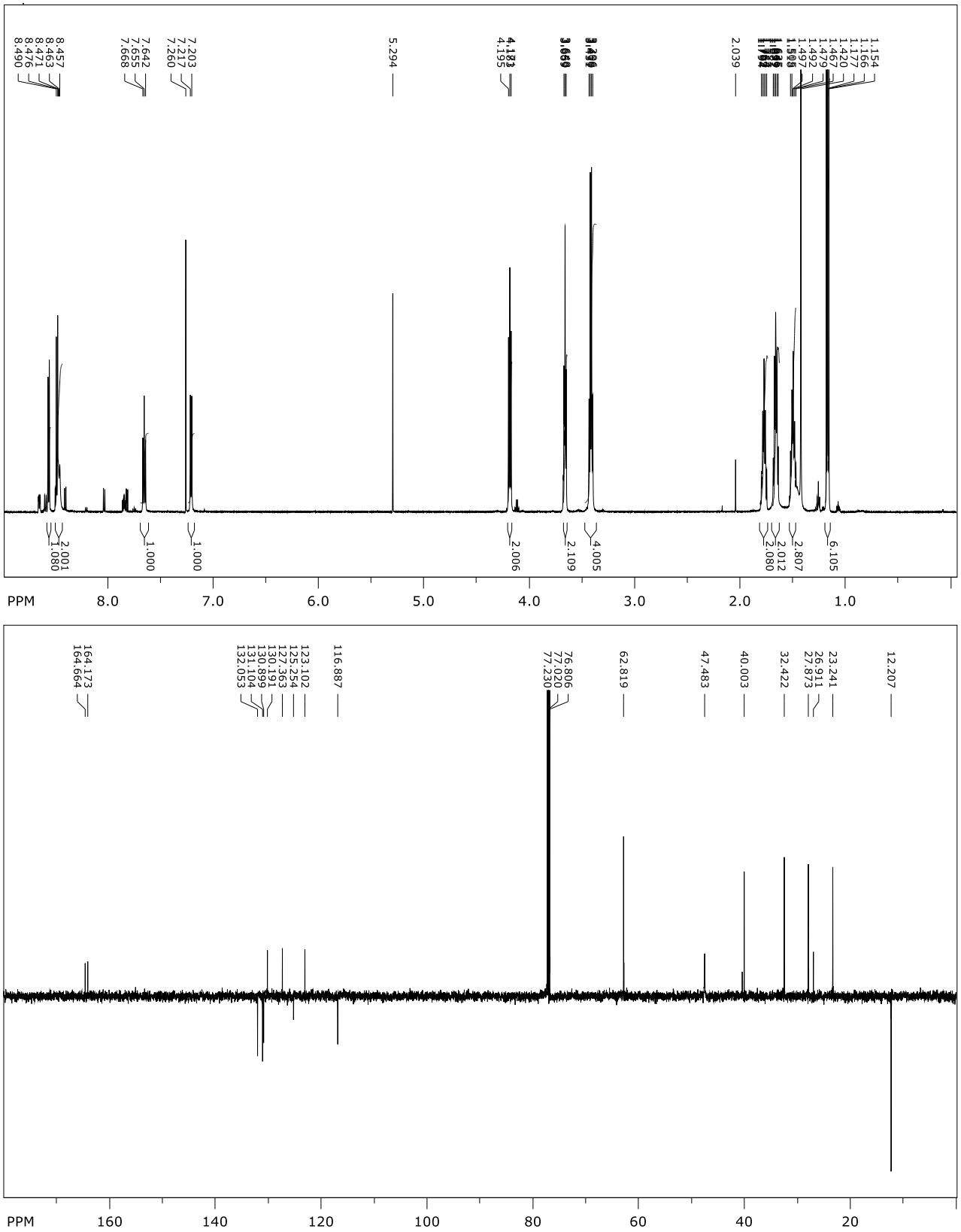


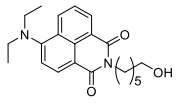
Prilog 70. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **72**



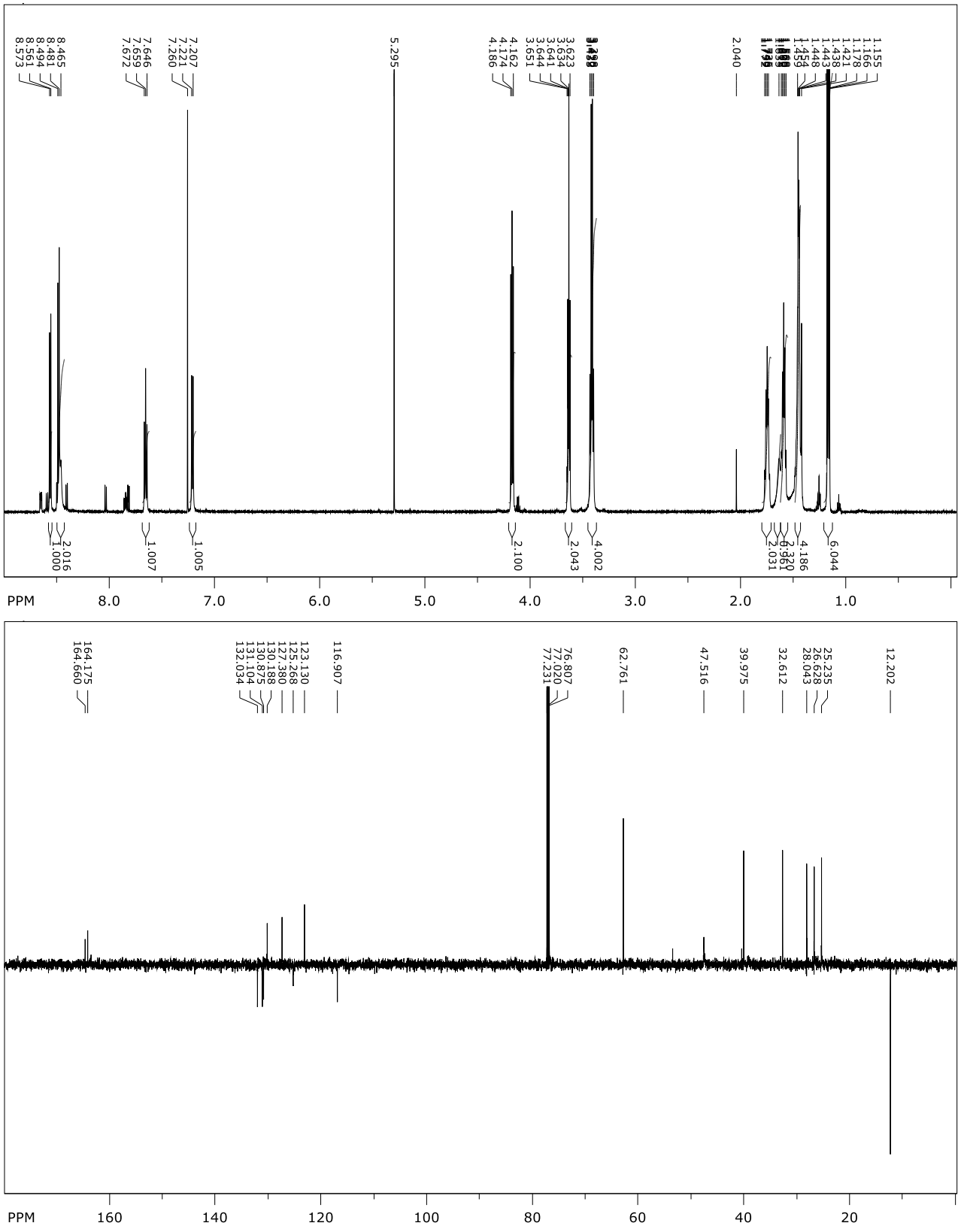


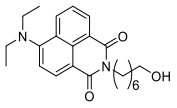
Prilog 71. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **73**



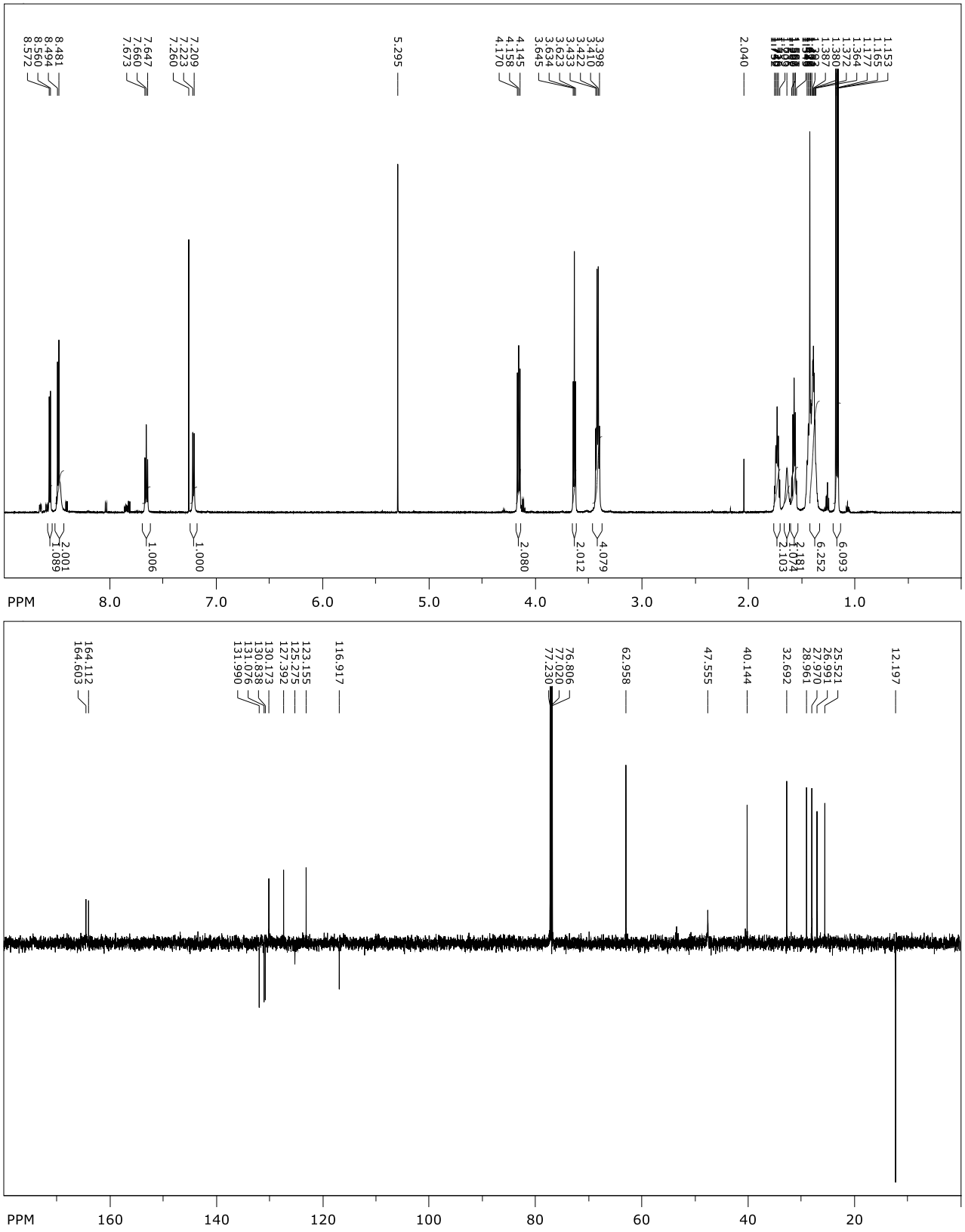


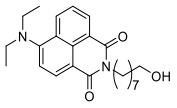
Prilog 72. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **74**



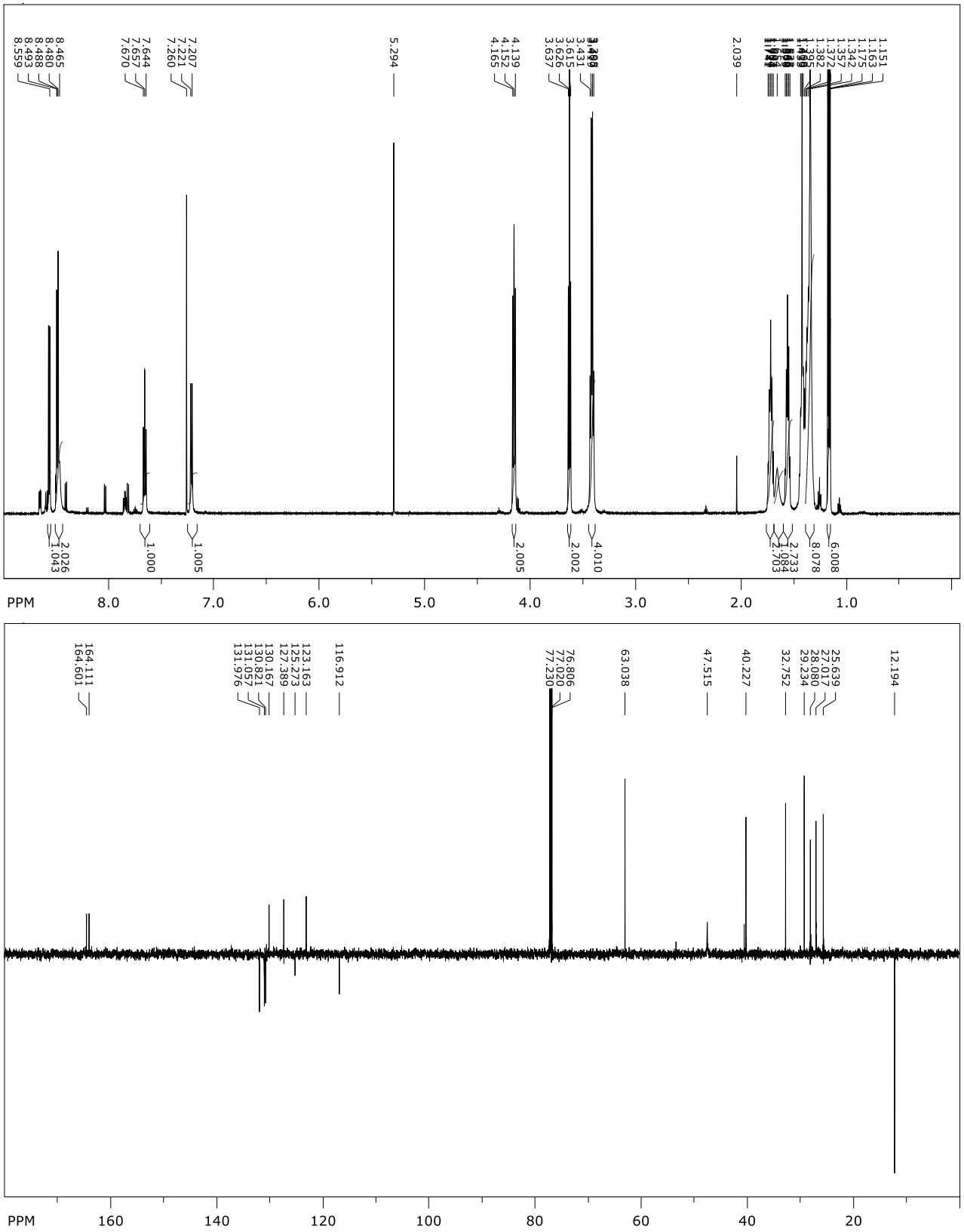


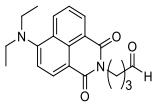
Prilog 73. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **75**



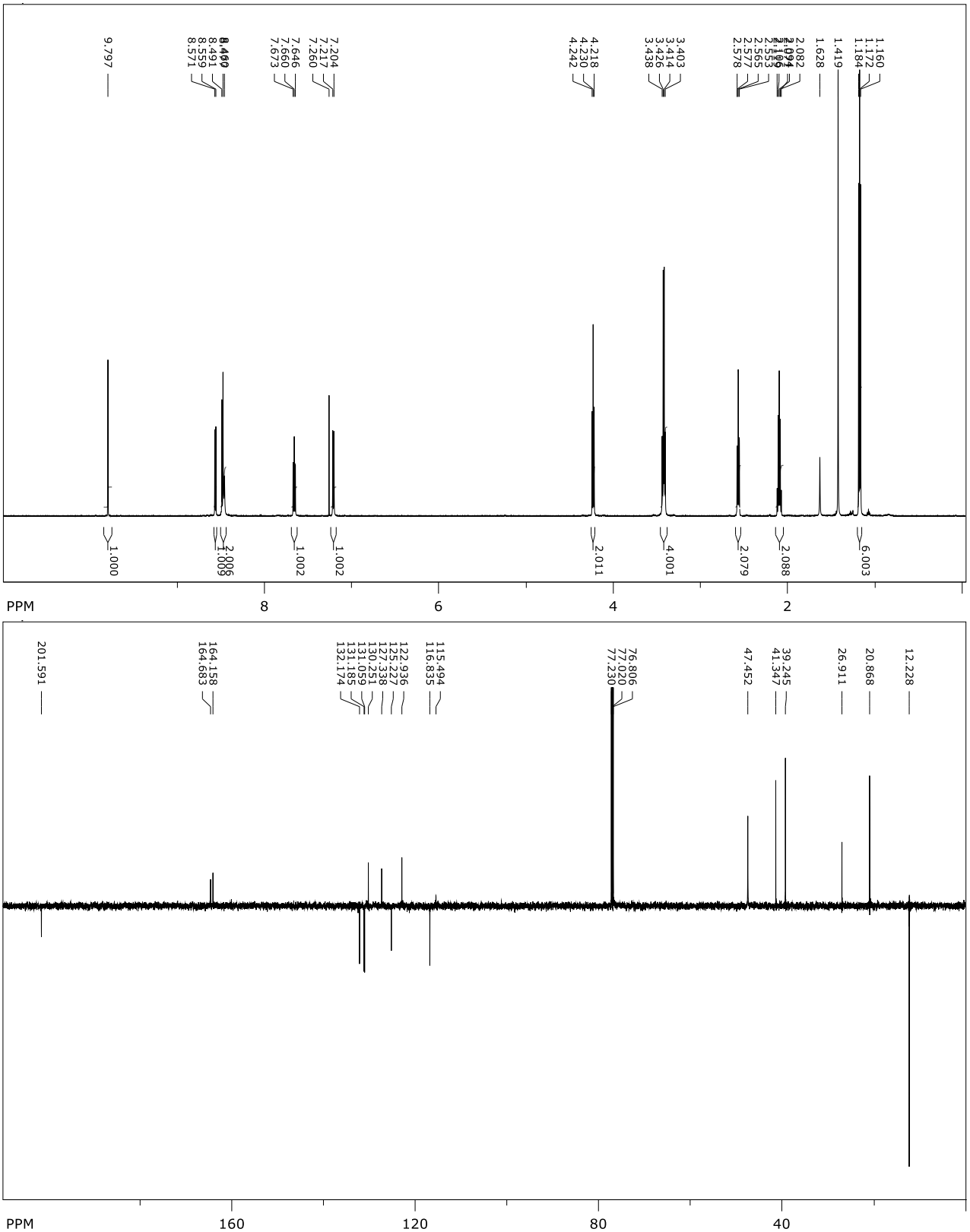


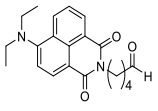
Prilog 74. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **76**



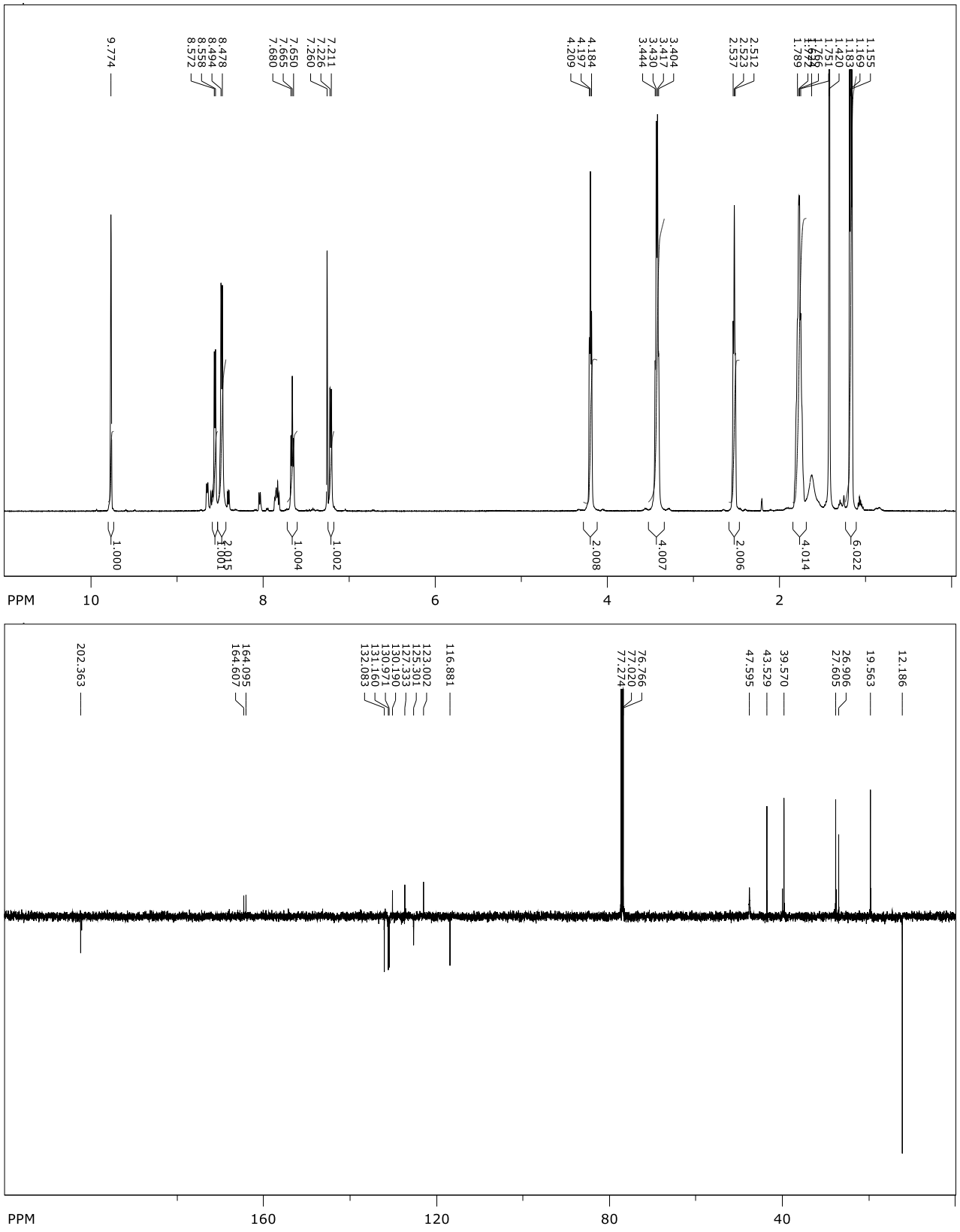


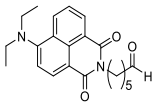
Prilog 75. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **77**



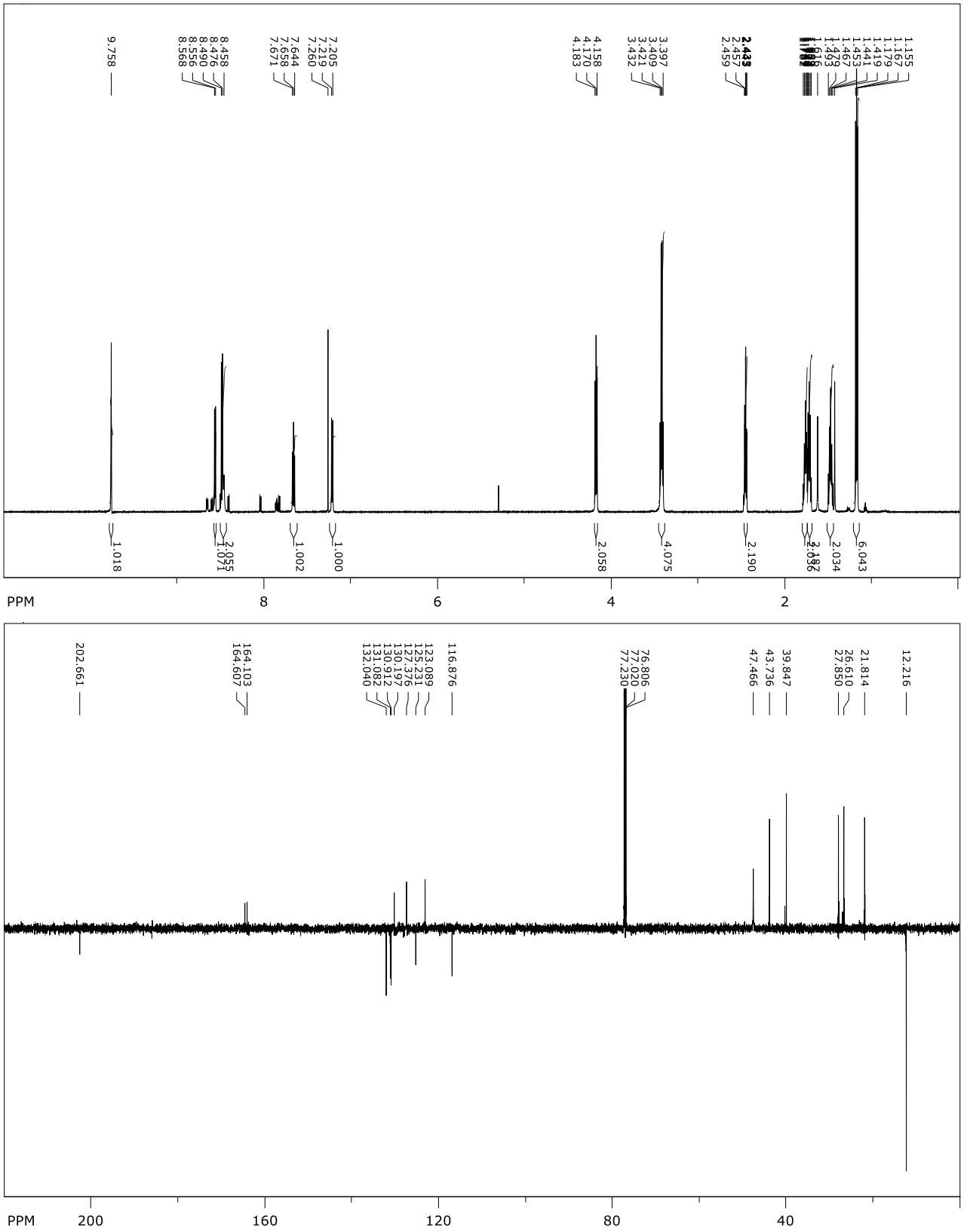


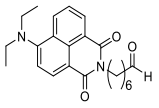
Prilog 76. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **78**



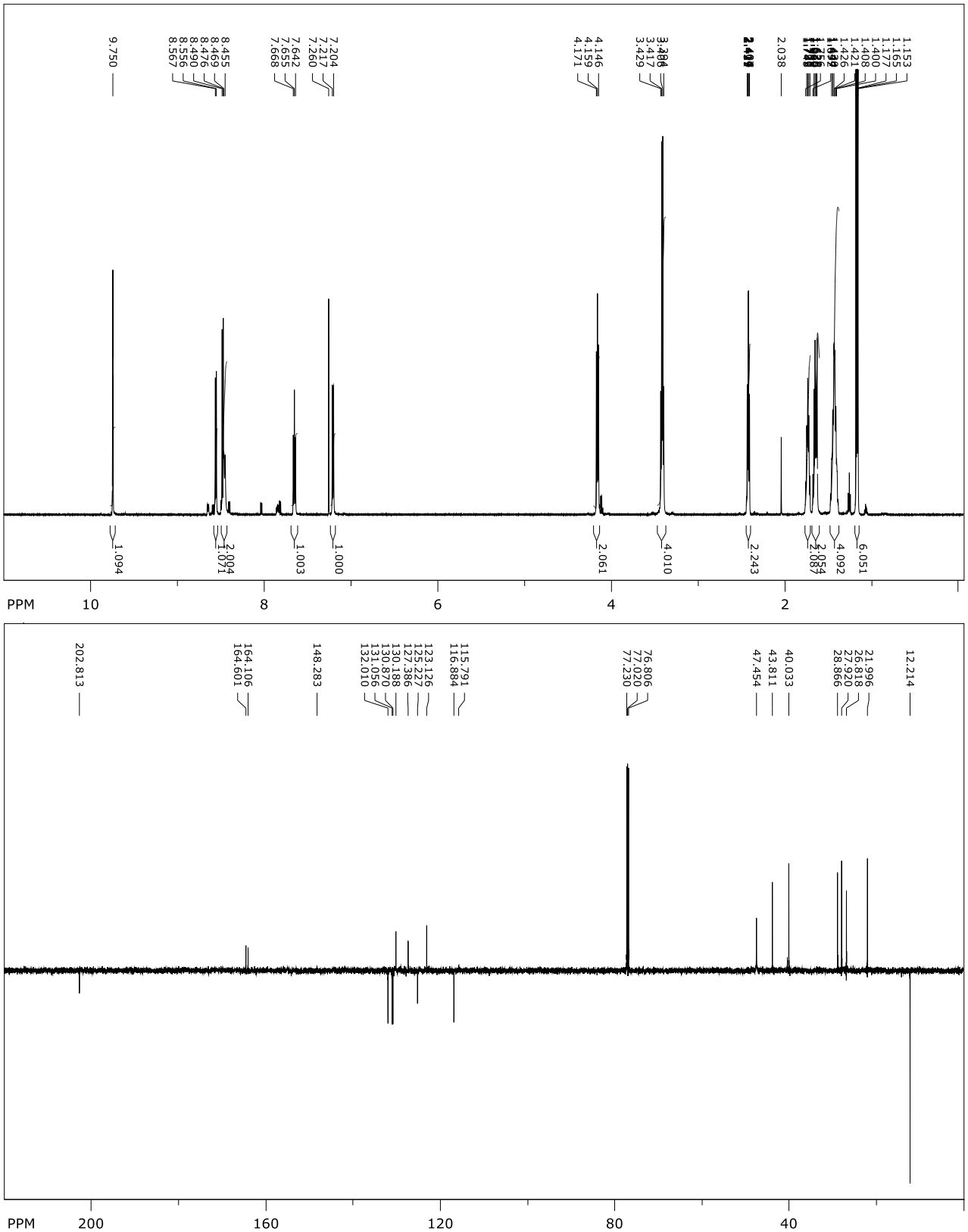


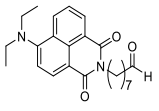
Prilog 77. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **79**



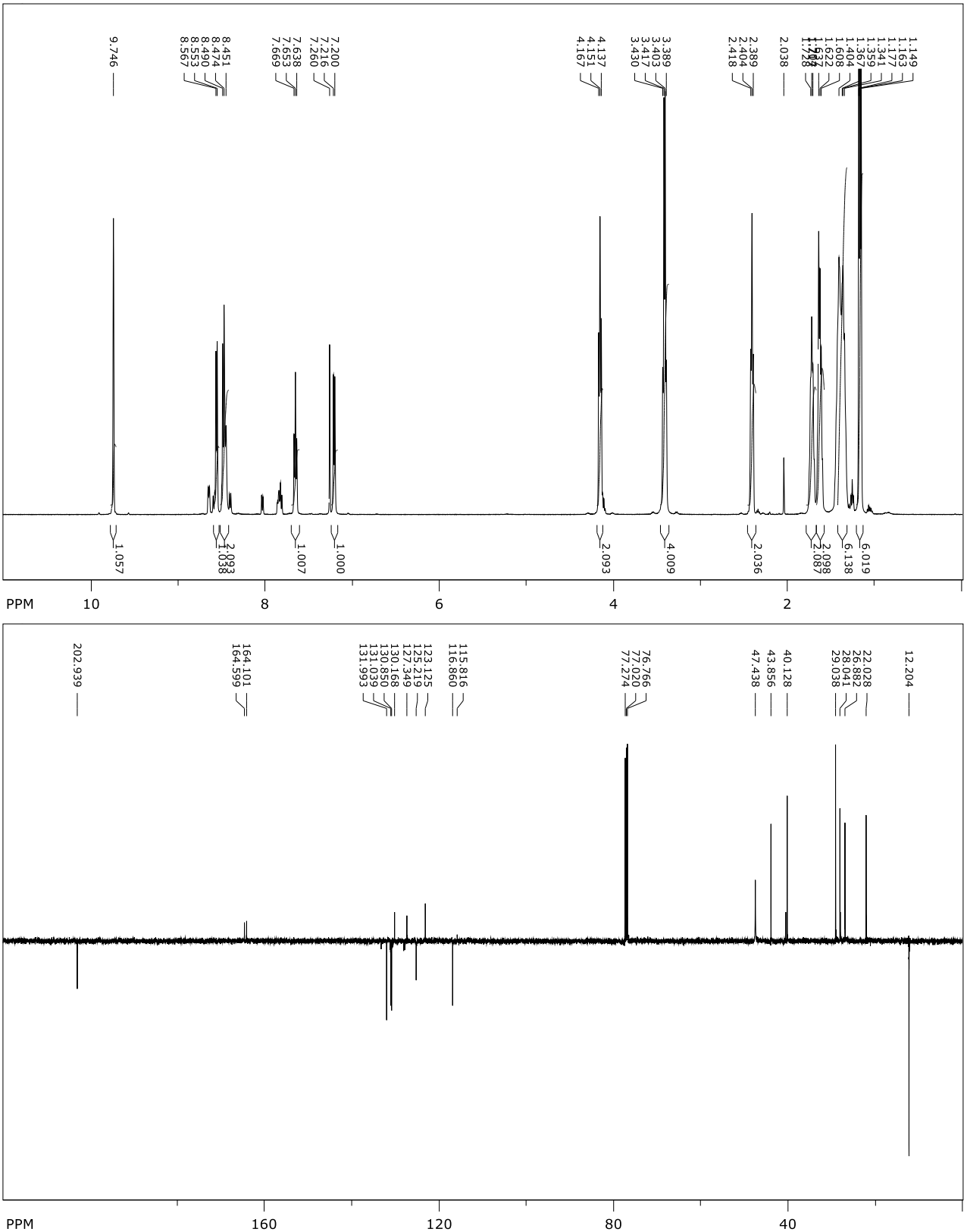


Prilog 78. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **80**

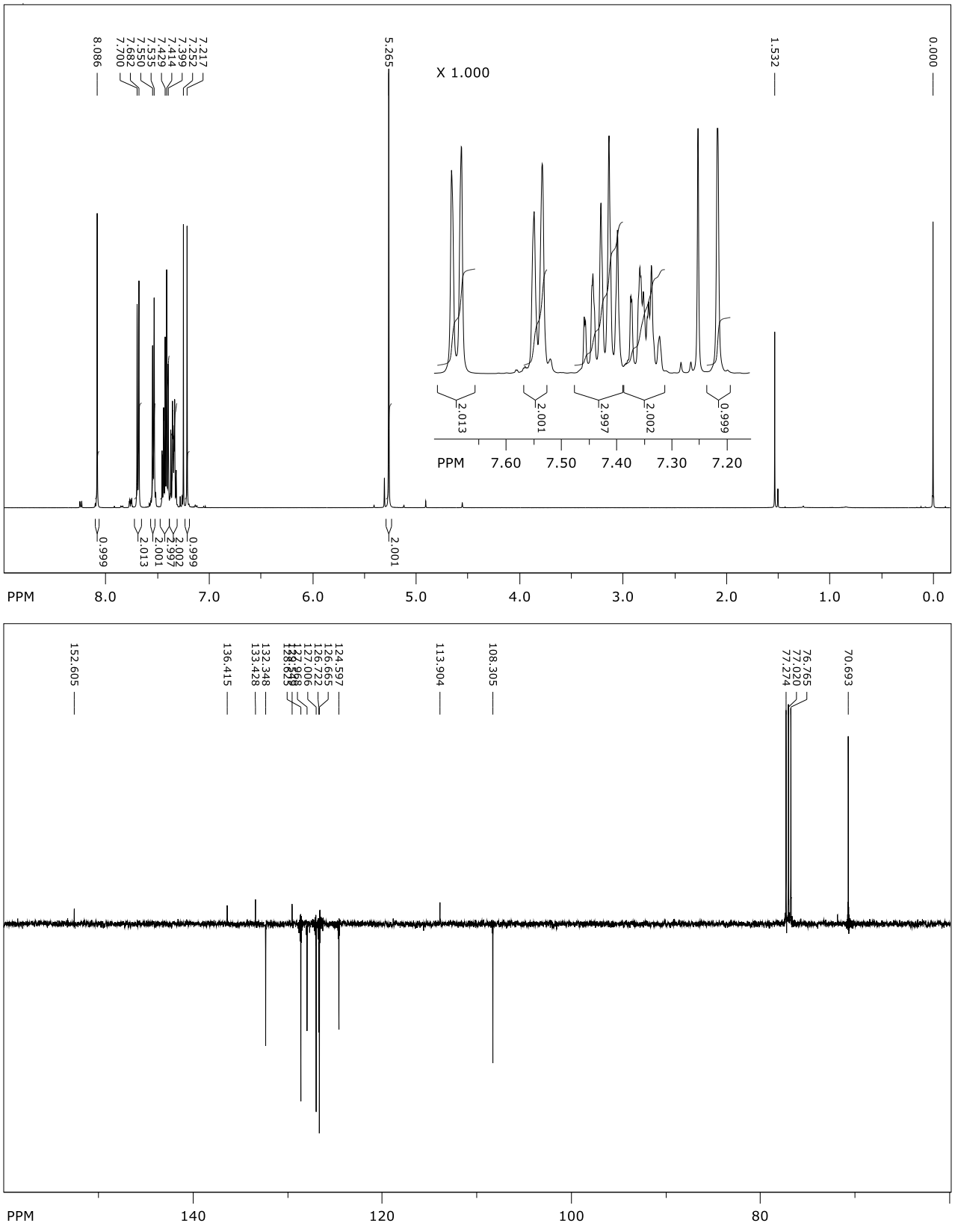




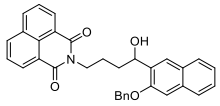
Prilog 79. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **81**

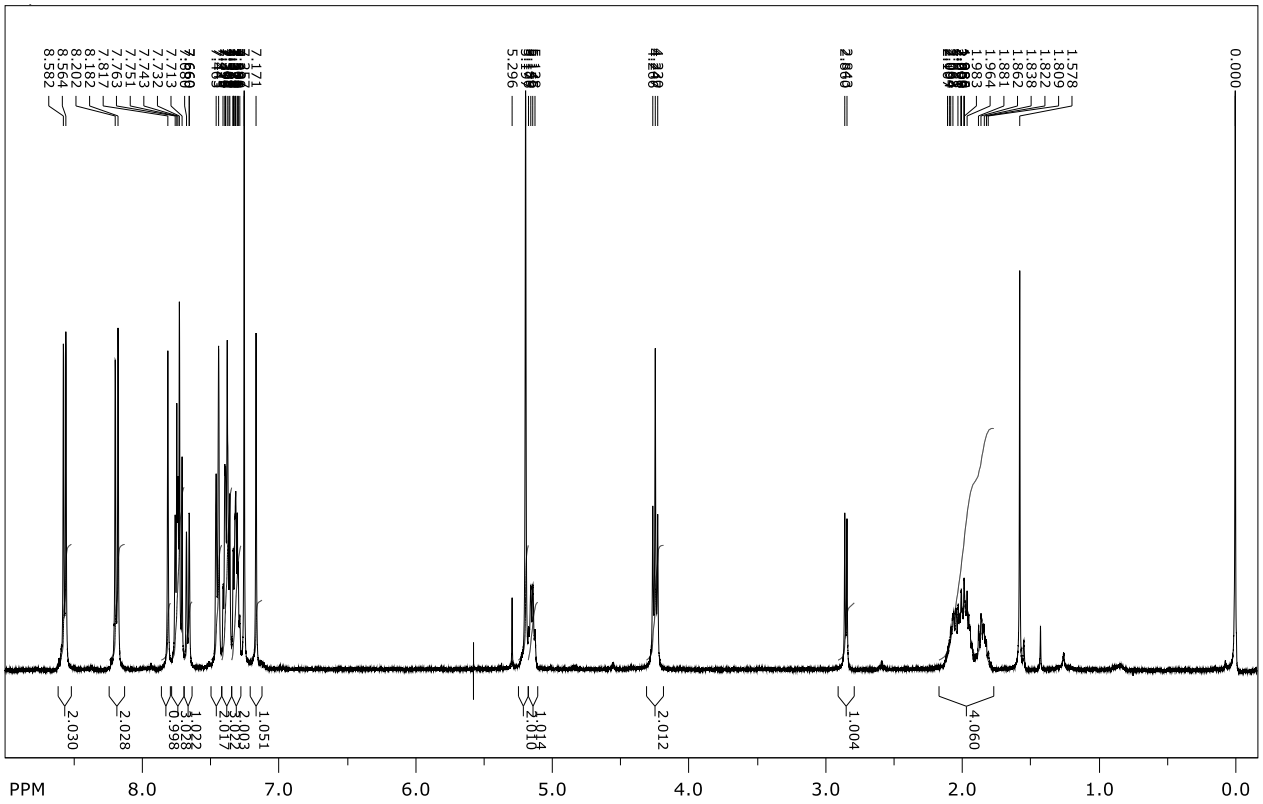


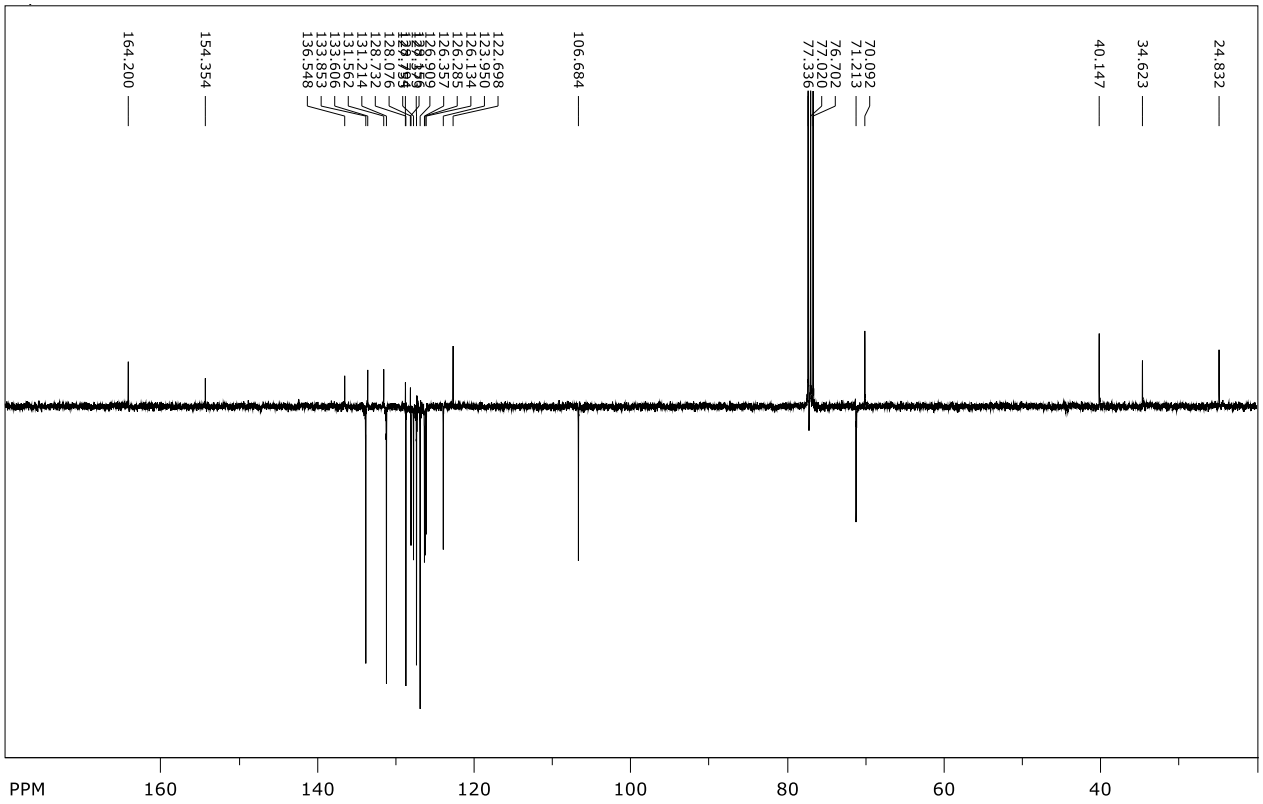
Prilog 80. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **82**



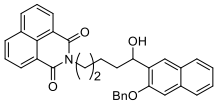
Prilog 81. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **84**

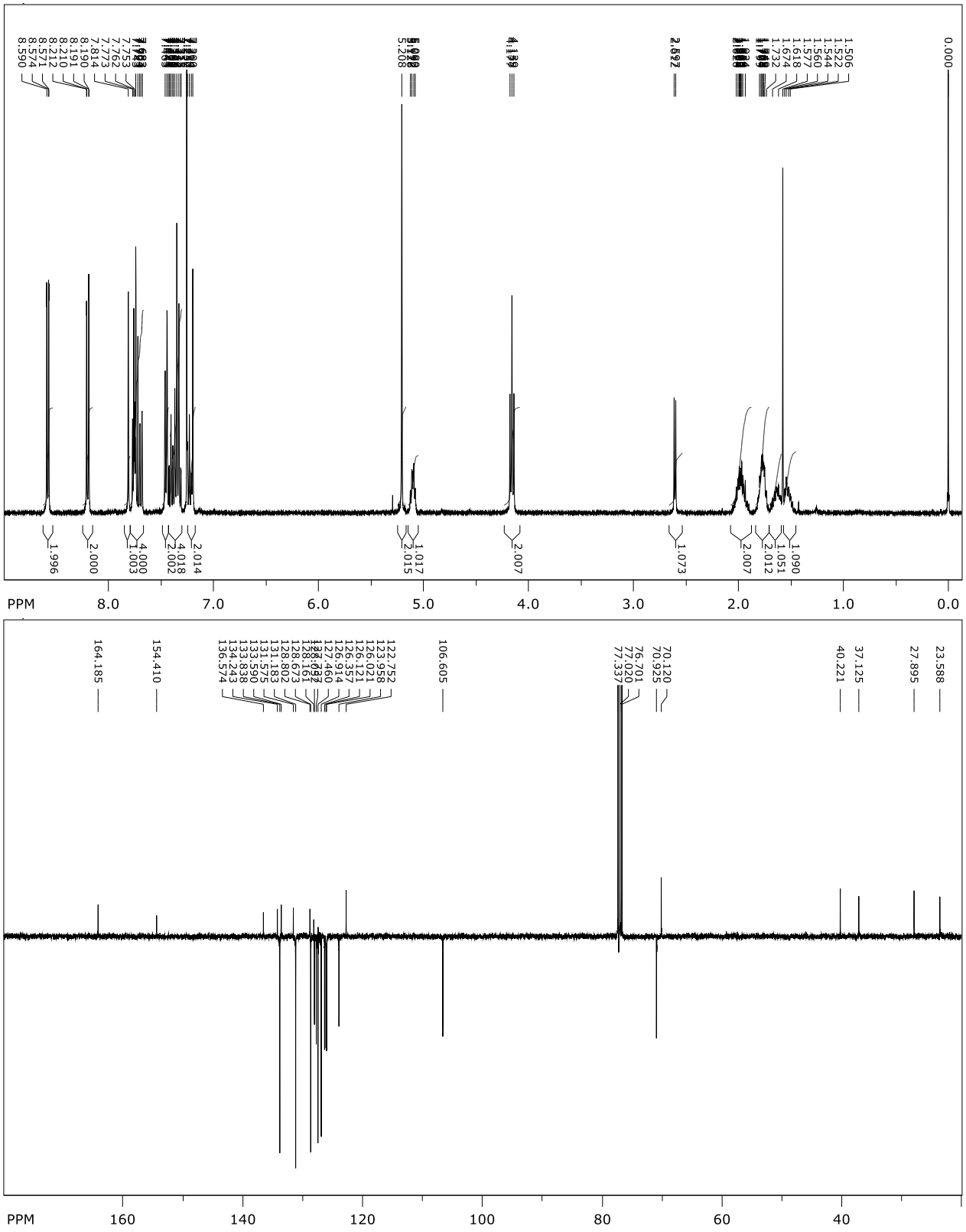




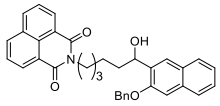


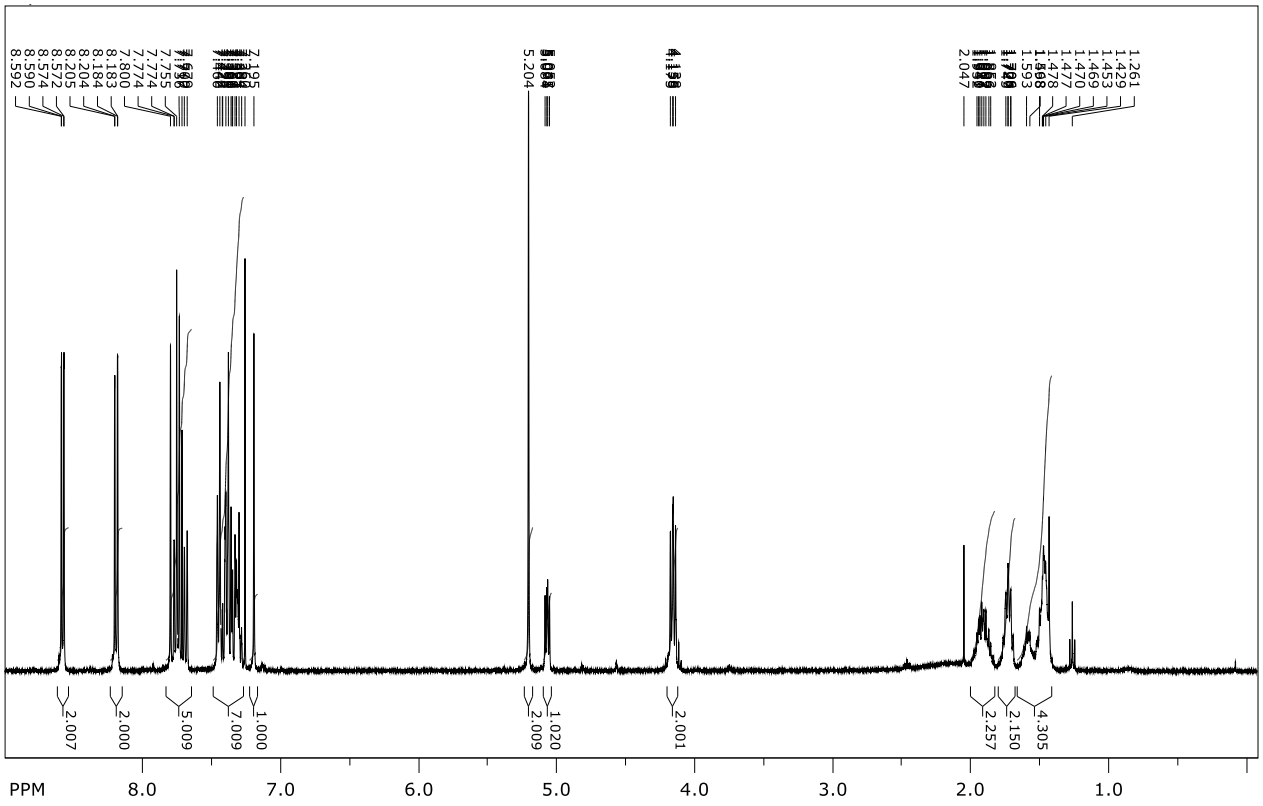
Prilog 82. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **85**

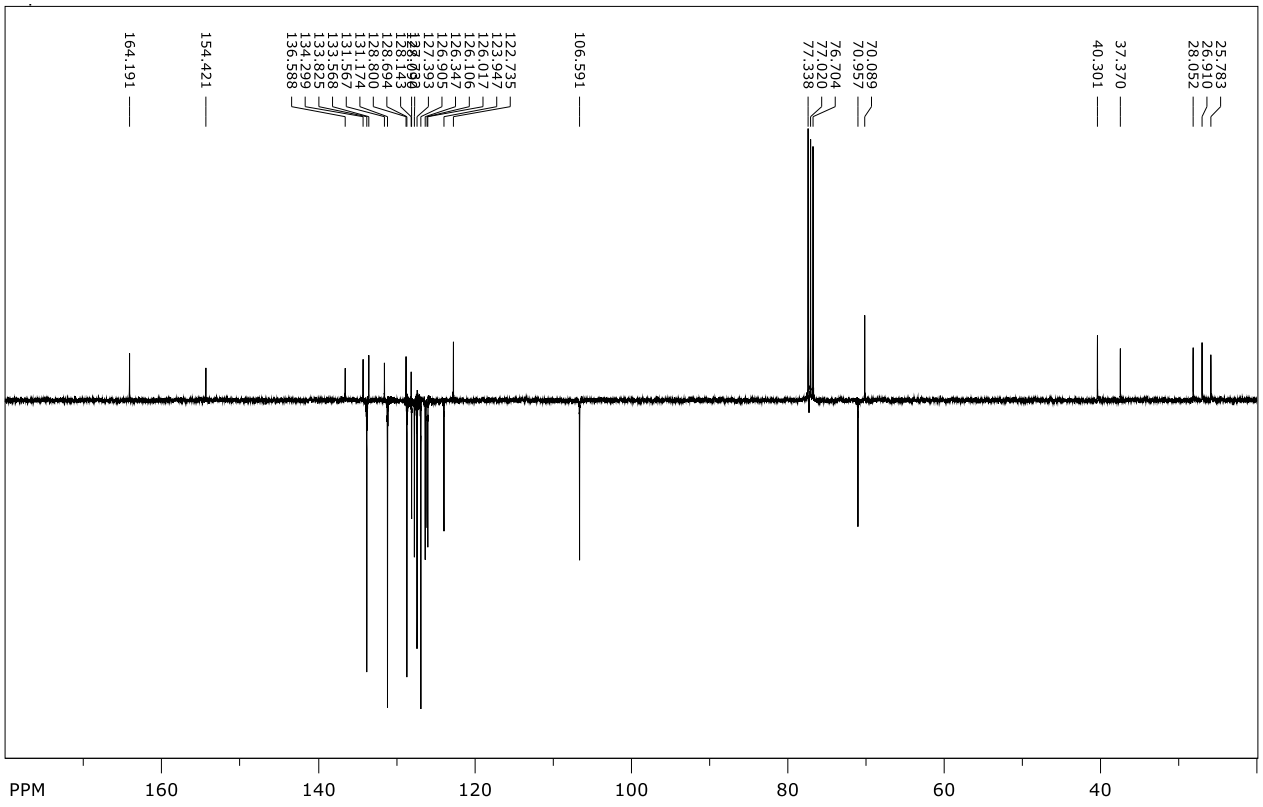




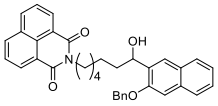
Prilog 83. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **86**

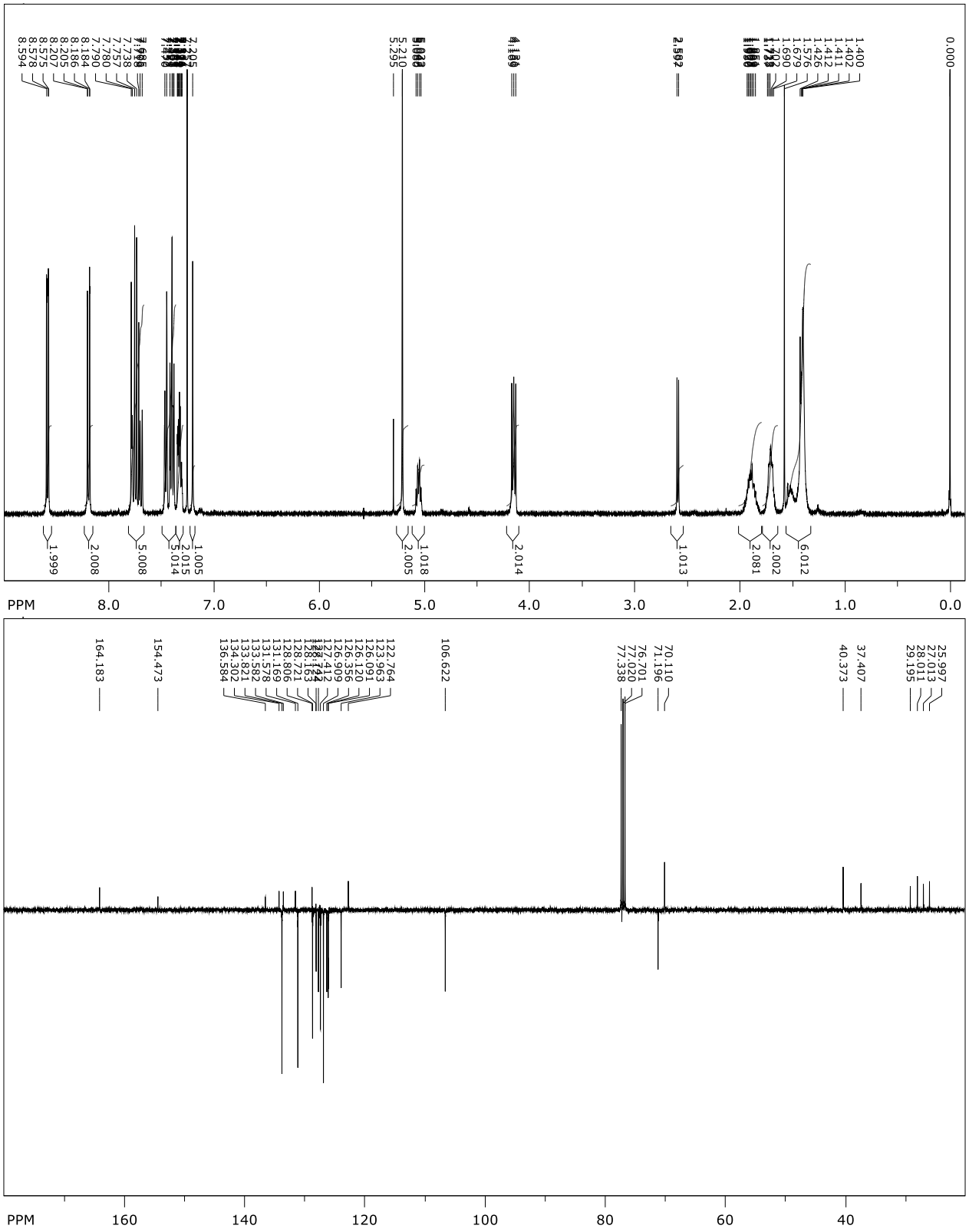




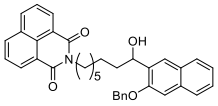


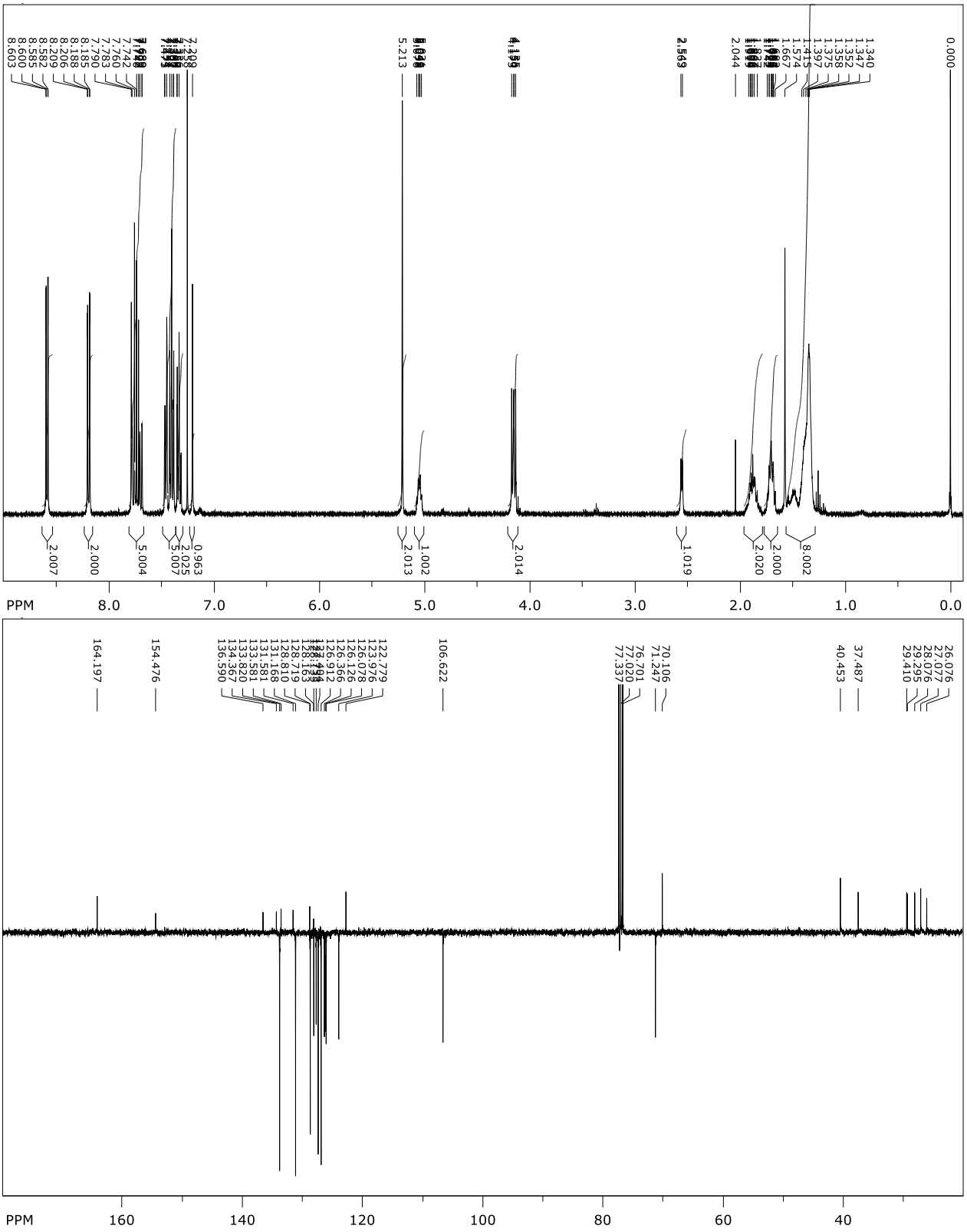
Prilog 84. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **87**



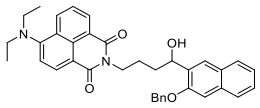


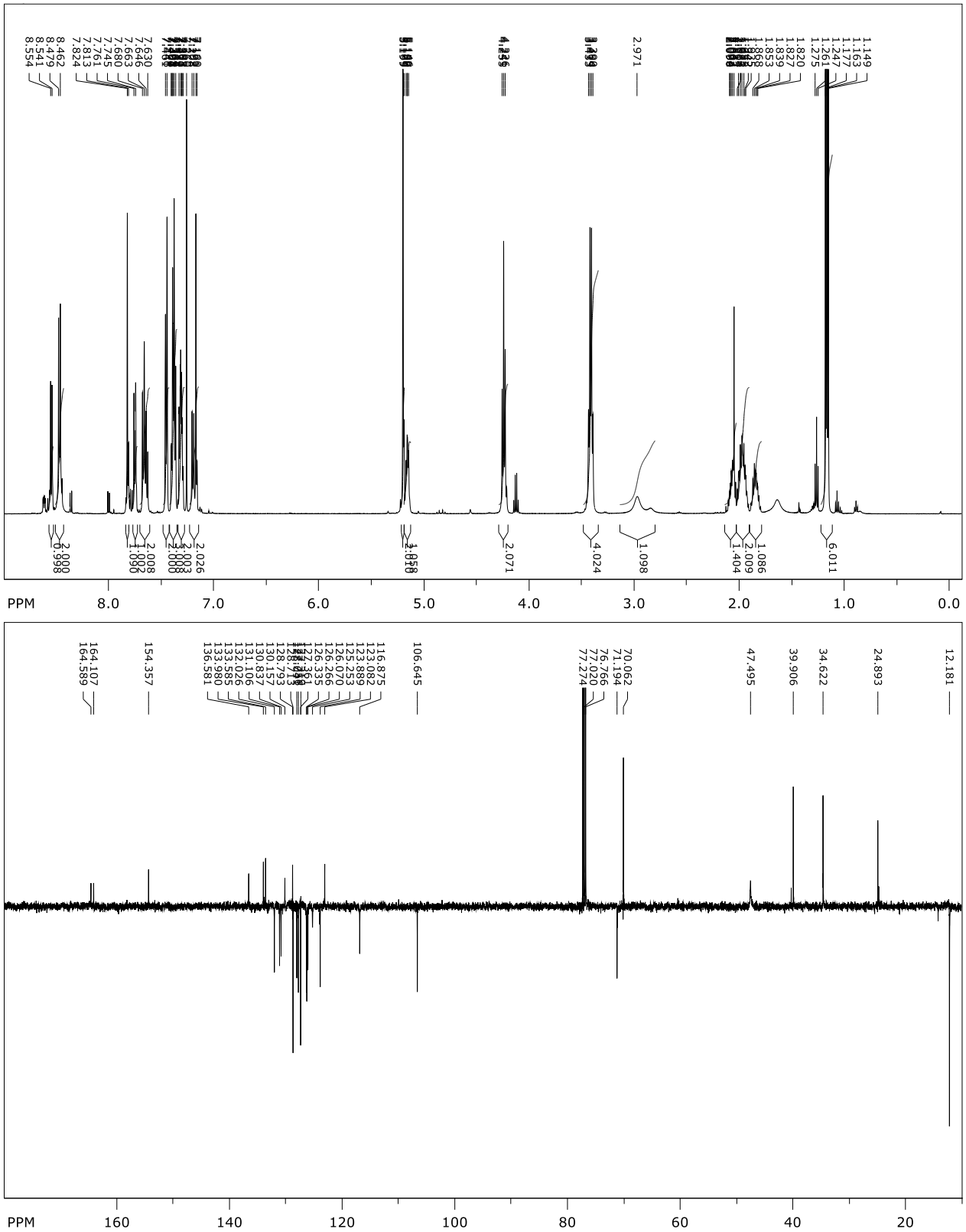
Prilog 85. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **88**



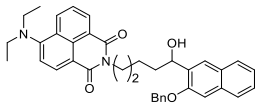


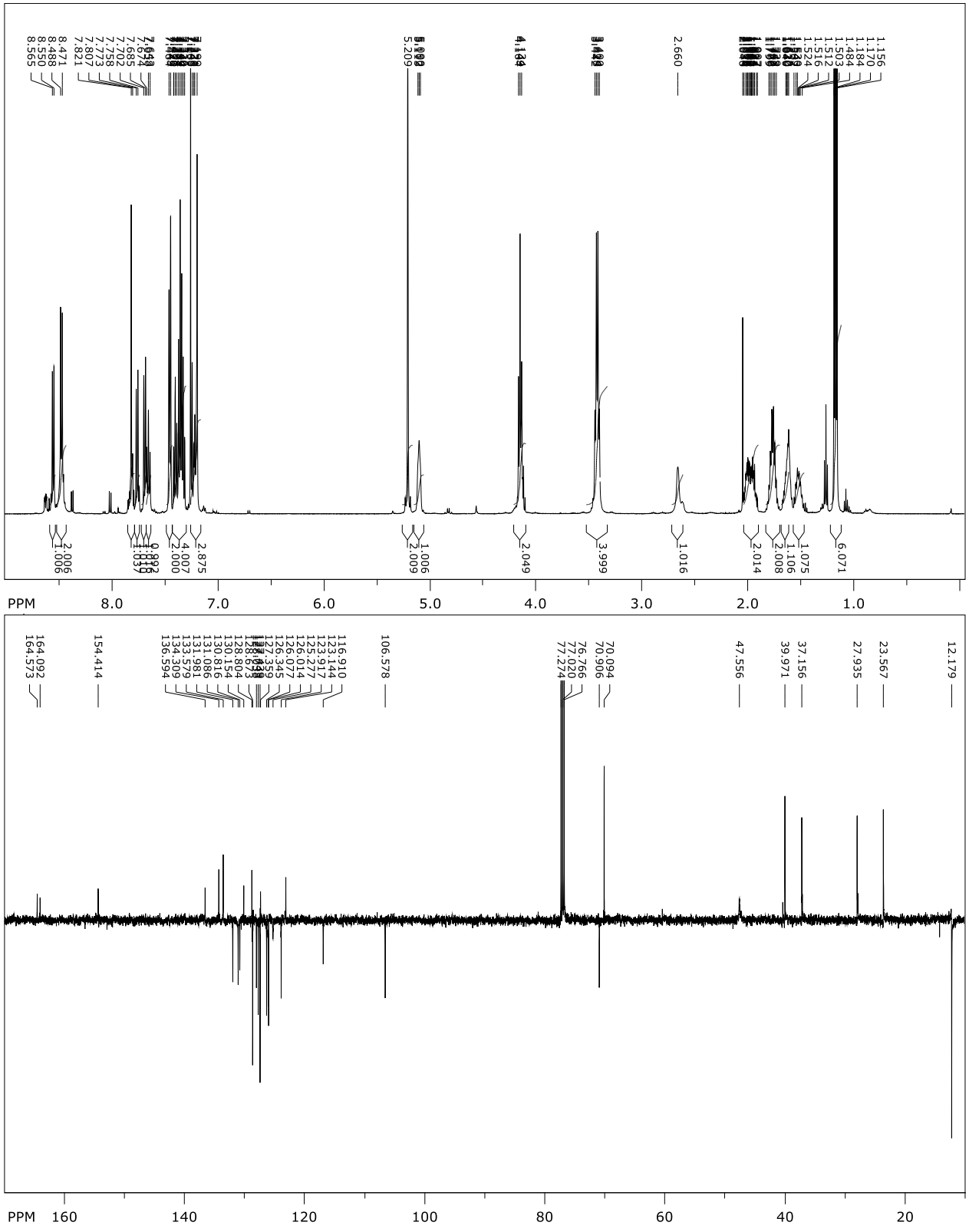
Prilog 86. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **89**



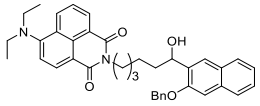


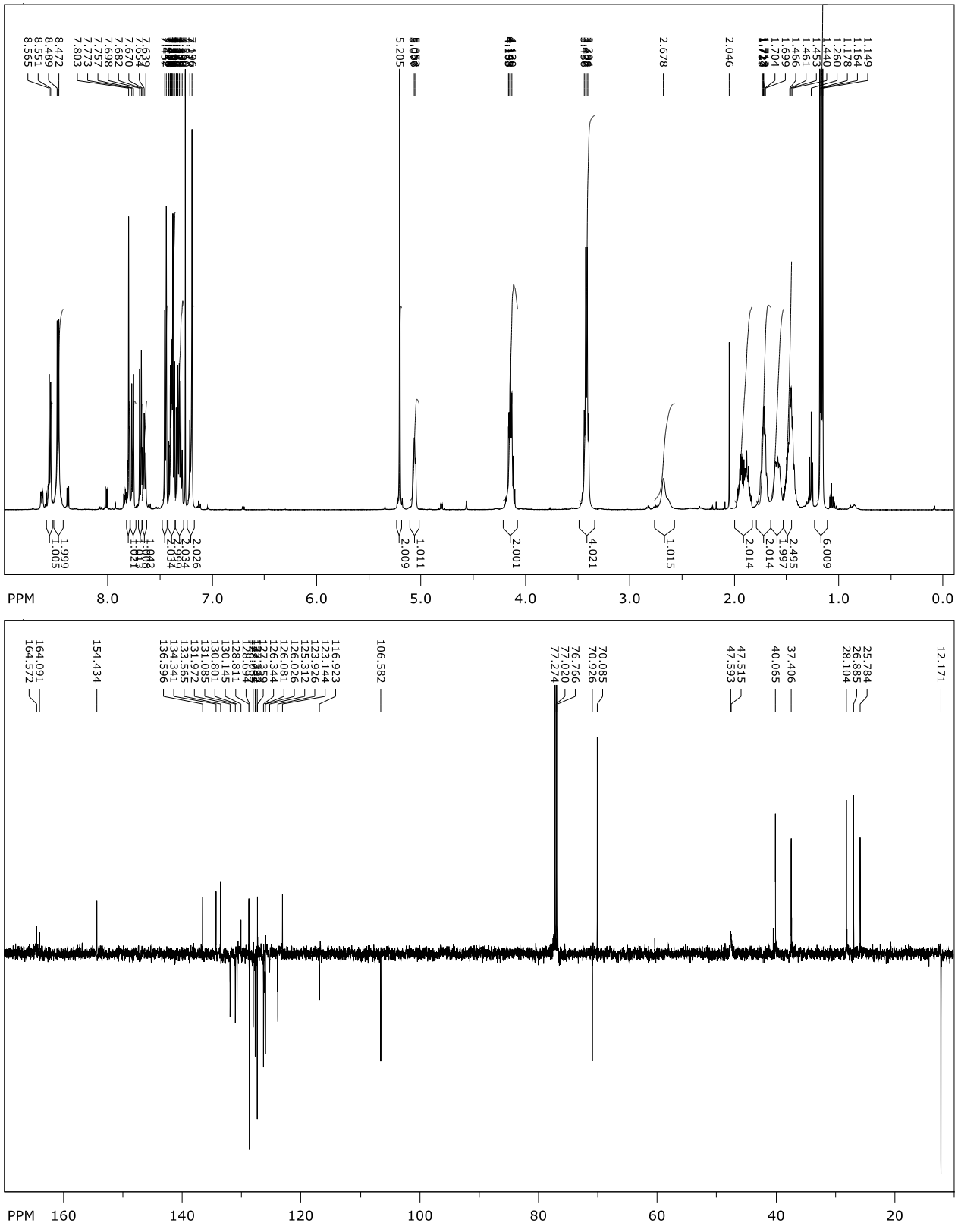
Prilog 87. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **90**



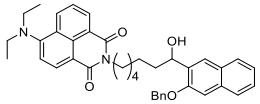


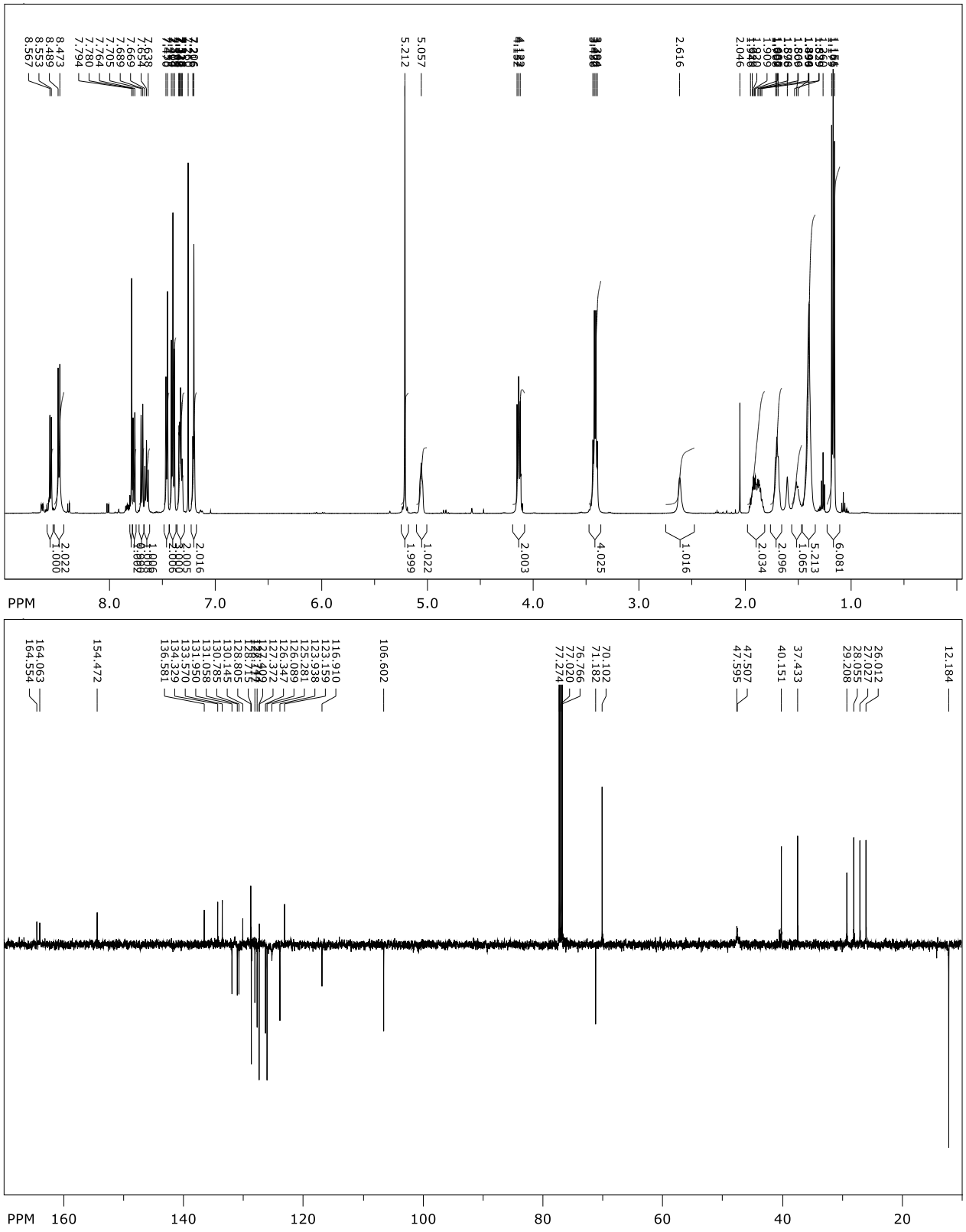
Prilog 88. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **91**



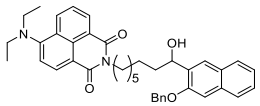


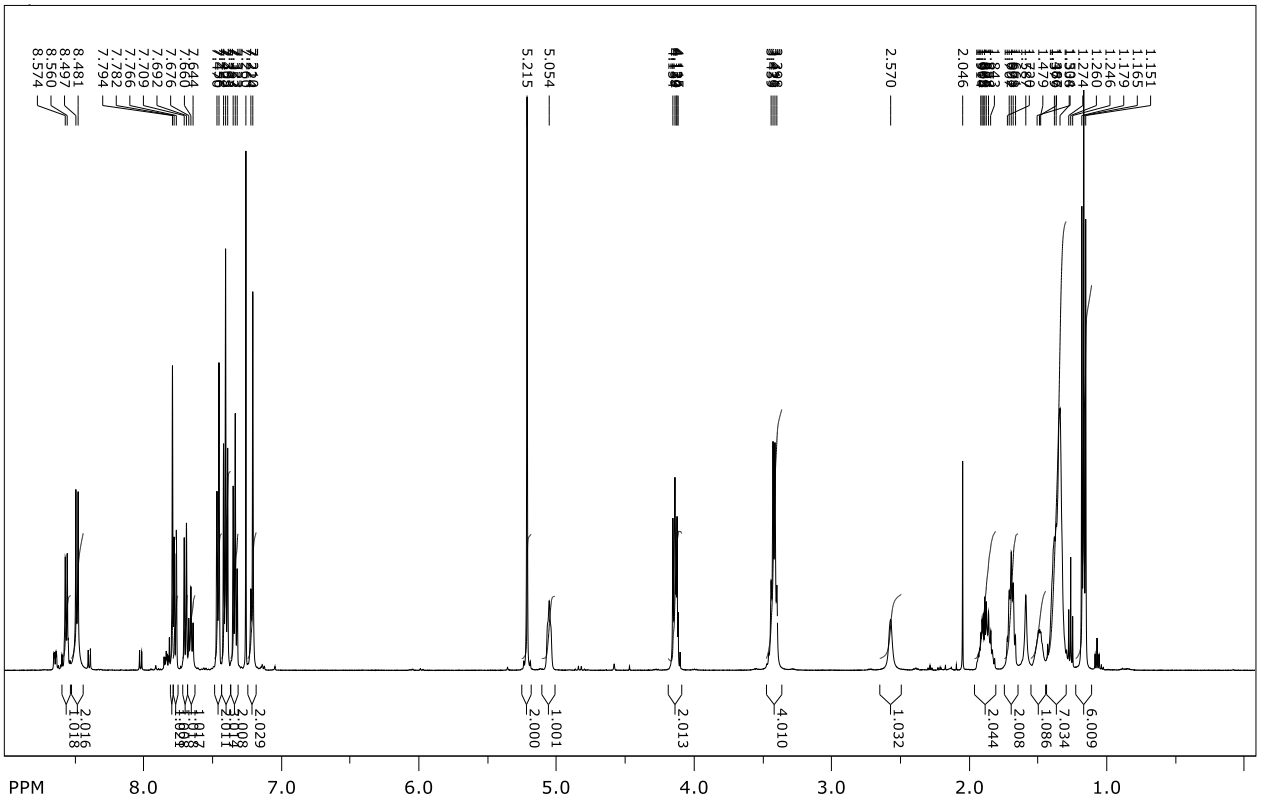
Prilog 89. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **92**

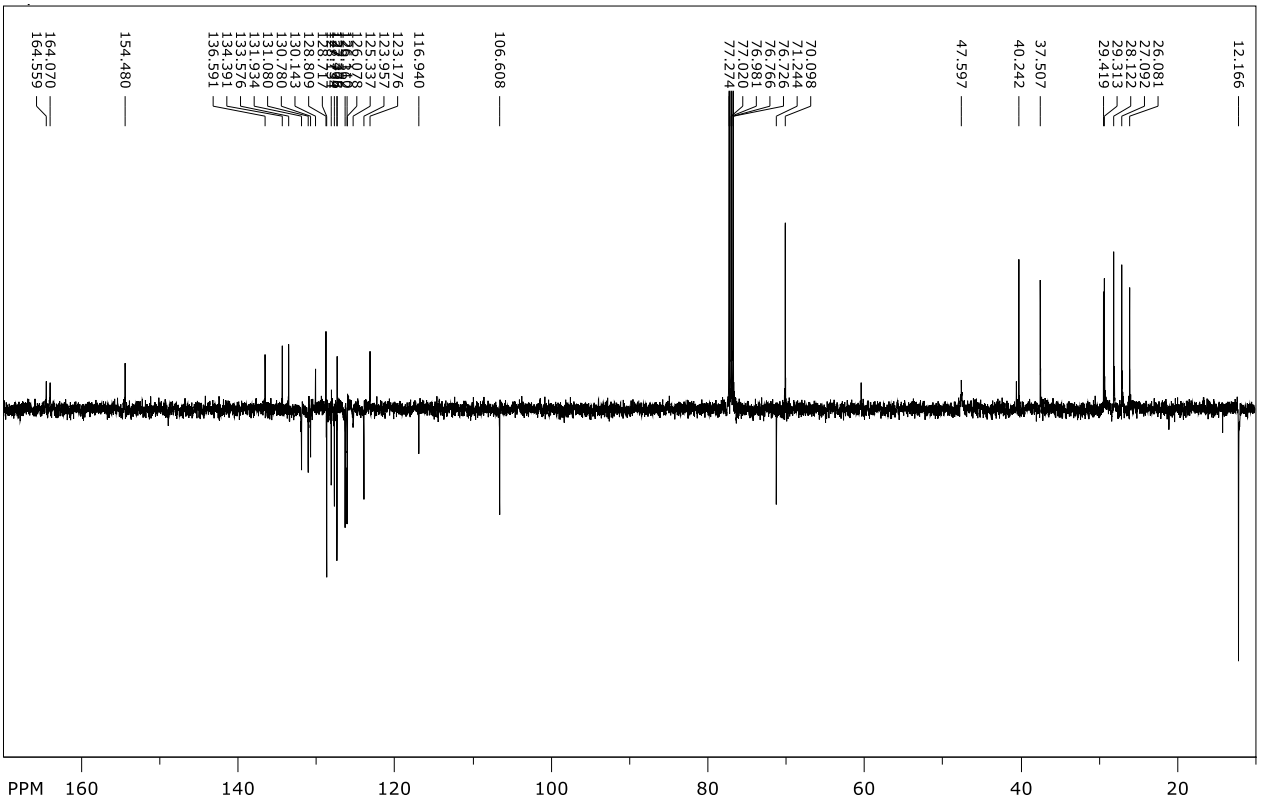




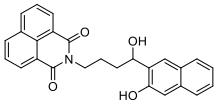
Prilog 90. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) spoja **93**

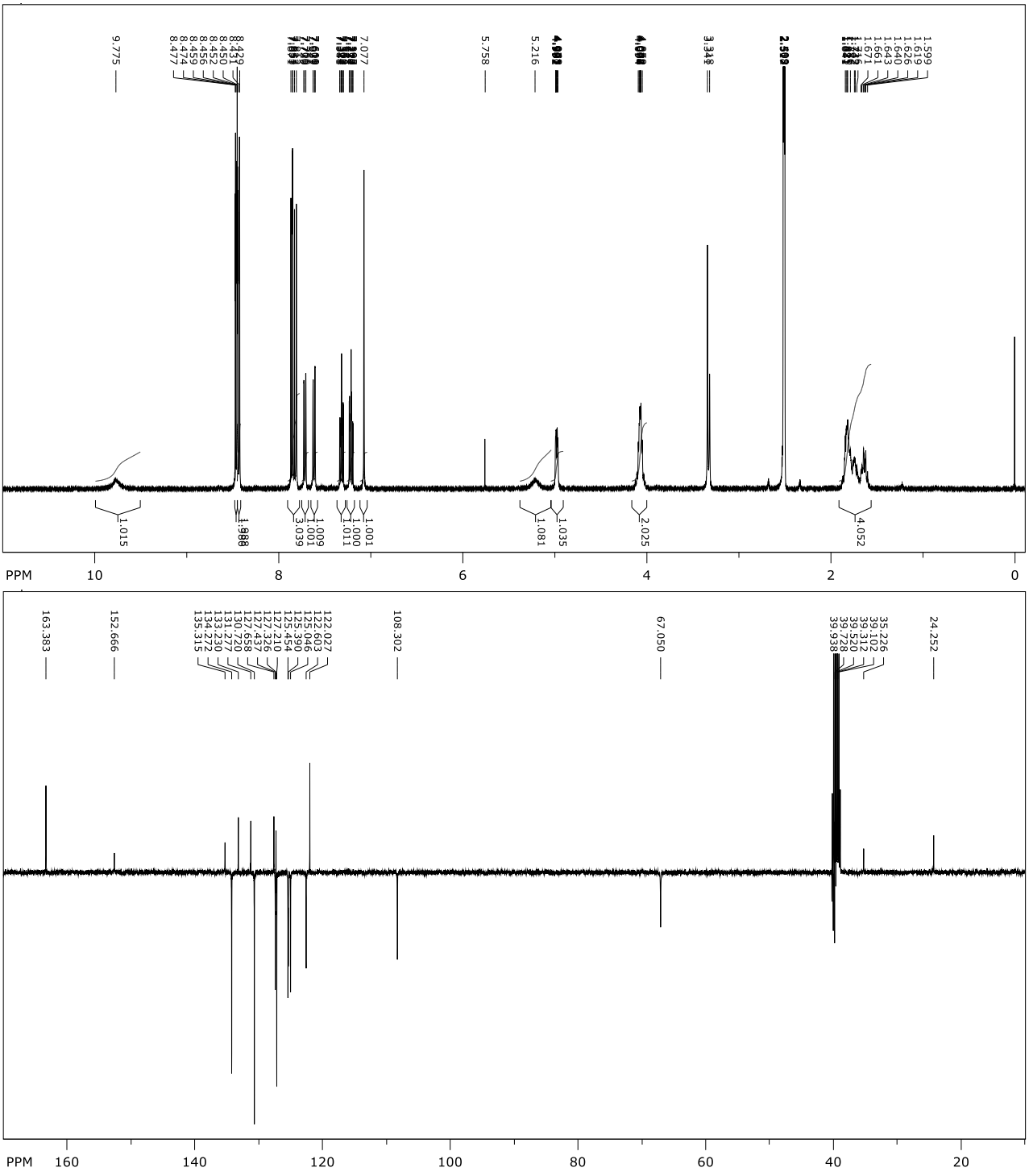




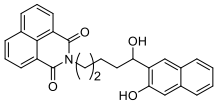


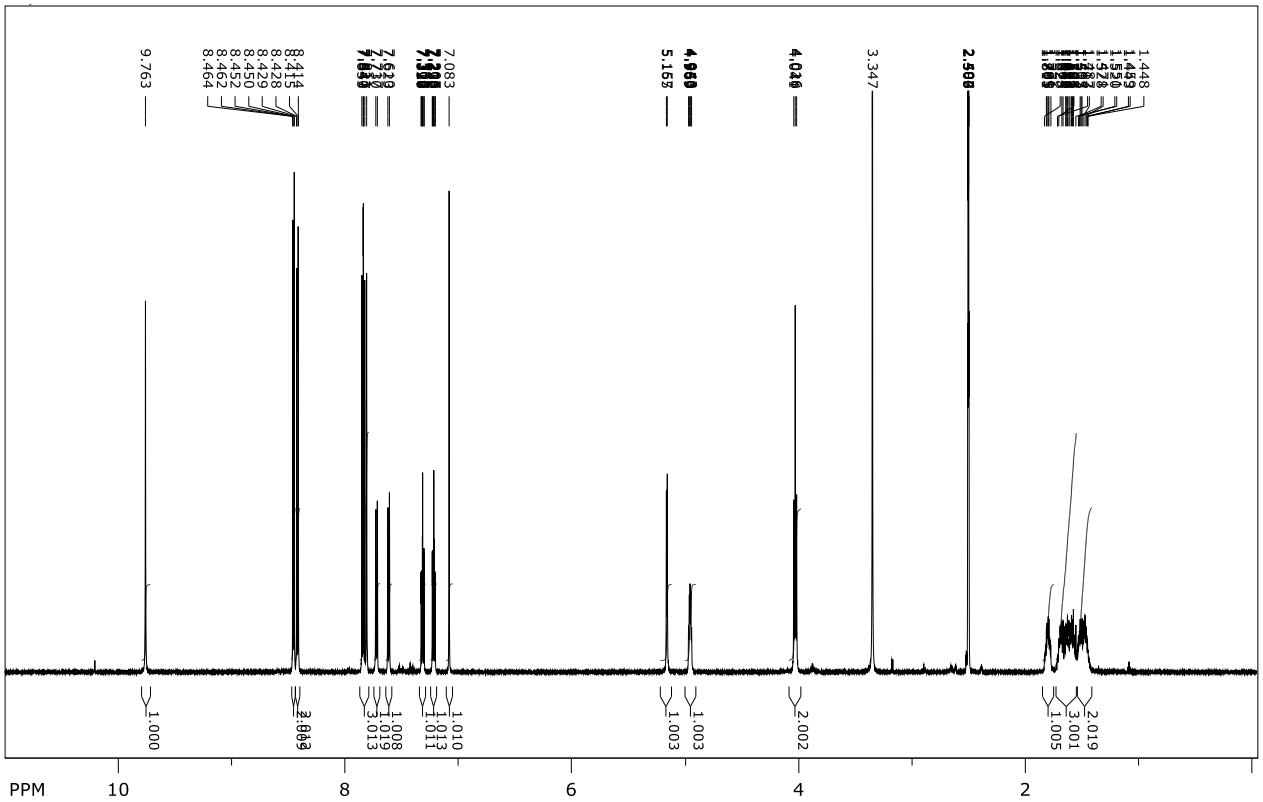
Prilog 91. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **94**

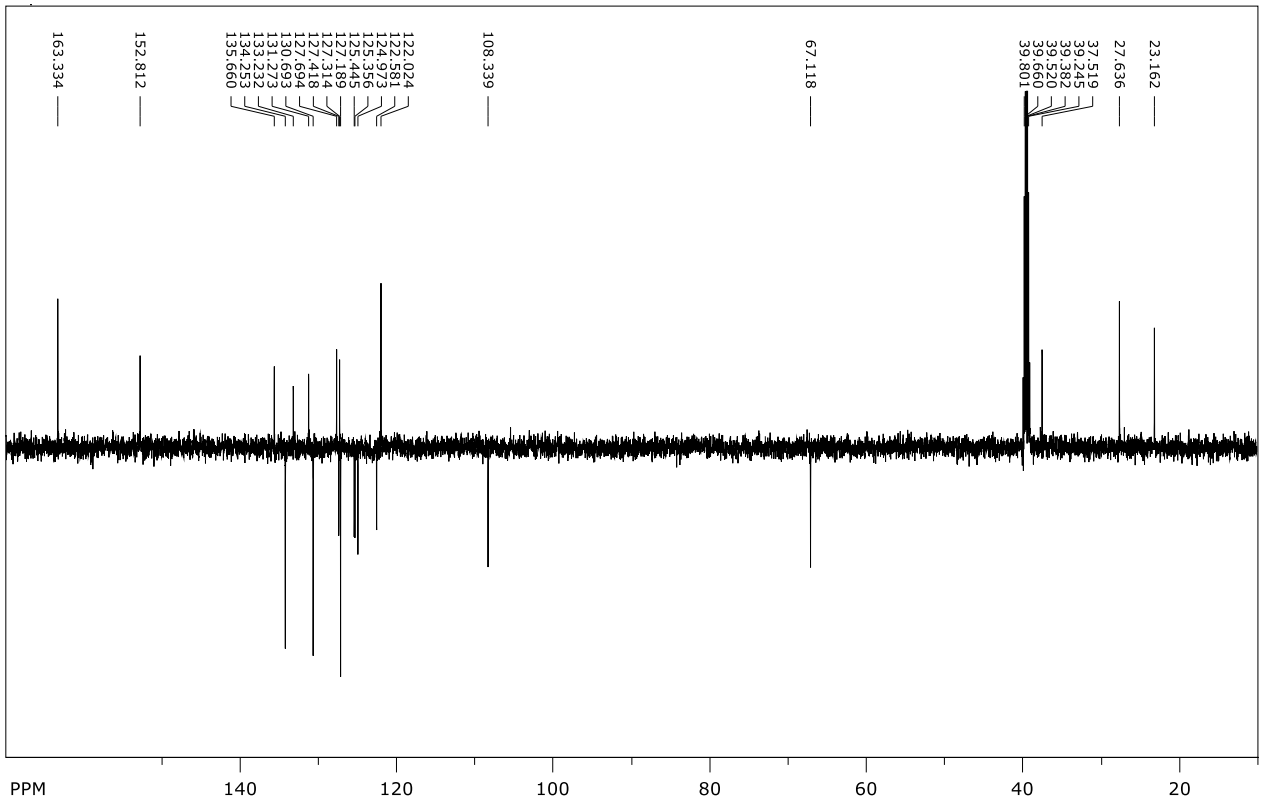




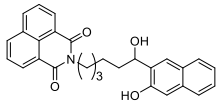
Prilog 92. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **95**

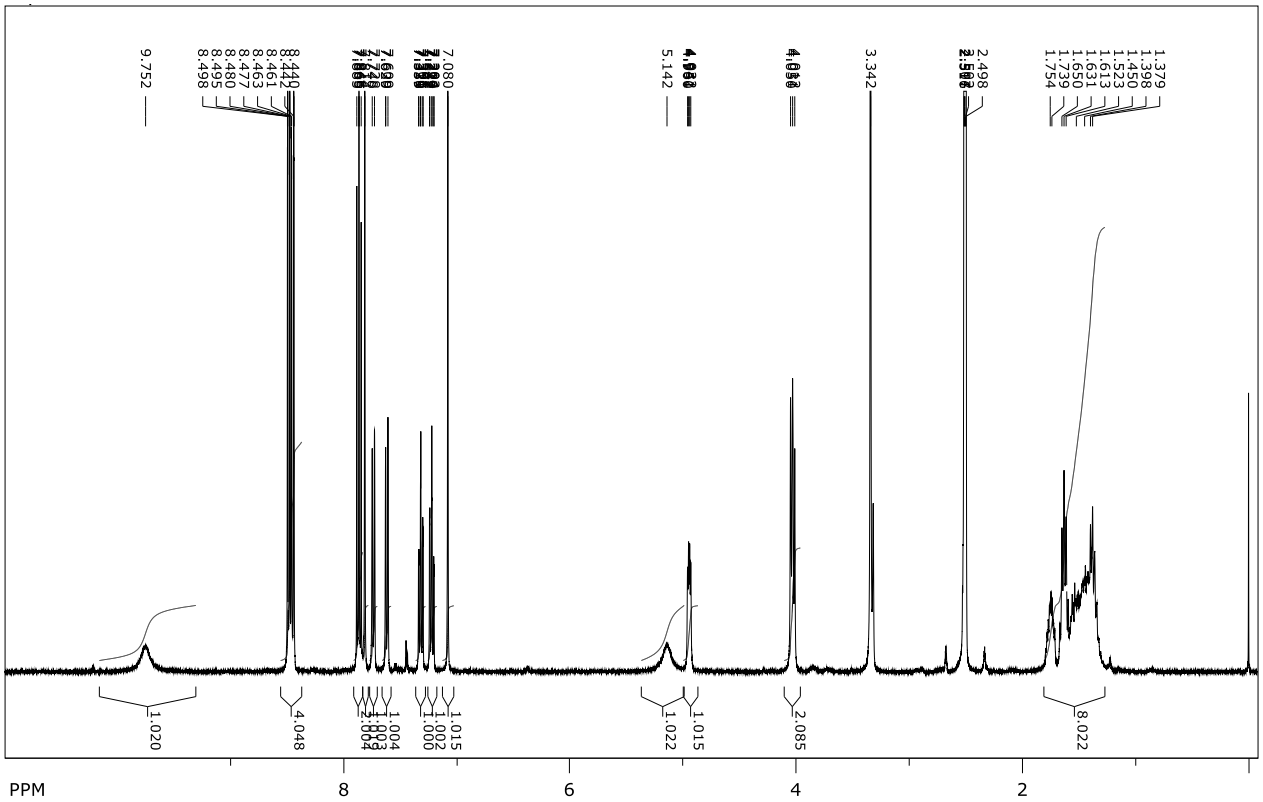


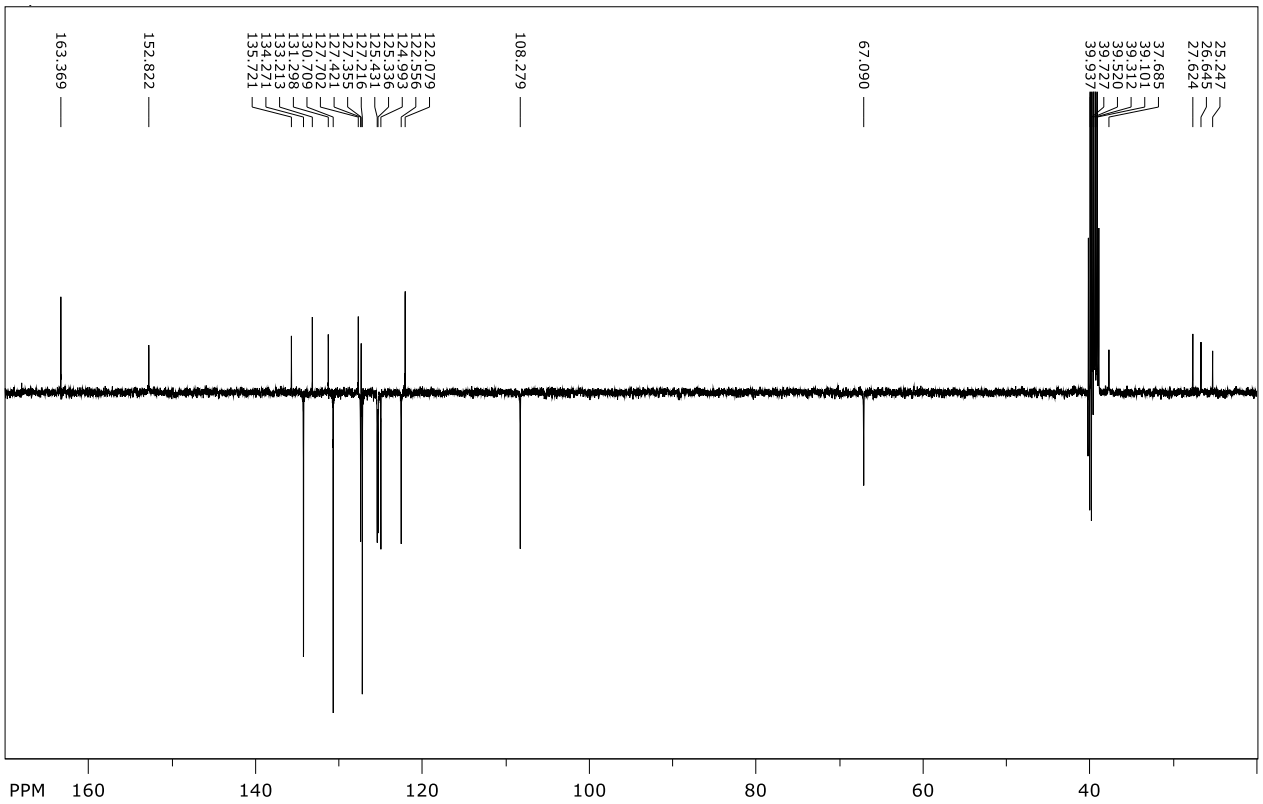




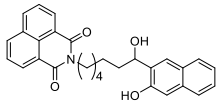
Prilog 93. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 100 MHz) spoja **96**

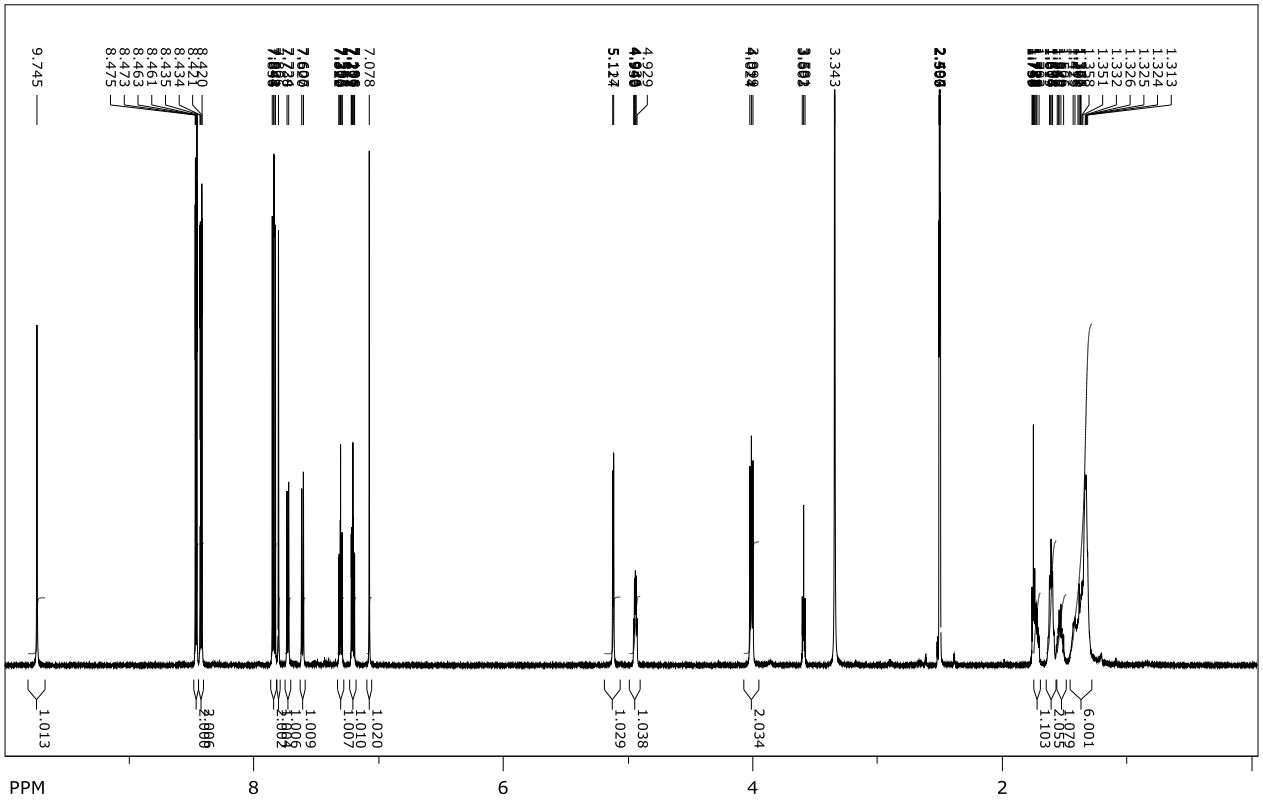


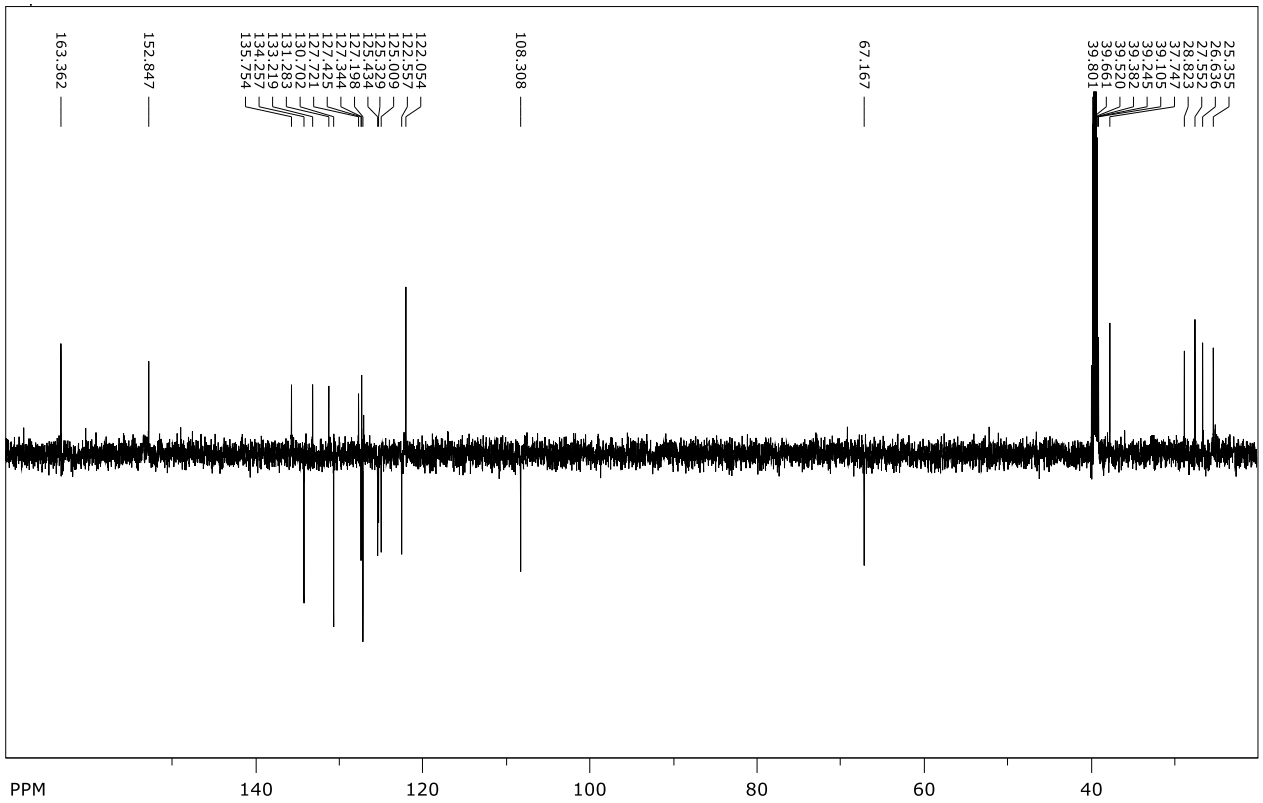




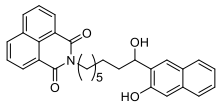
Prilog 94. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **97**

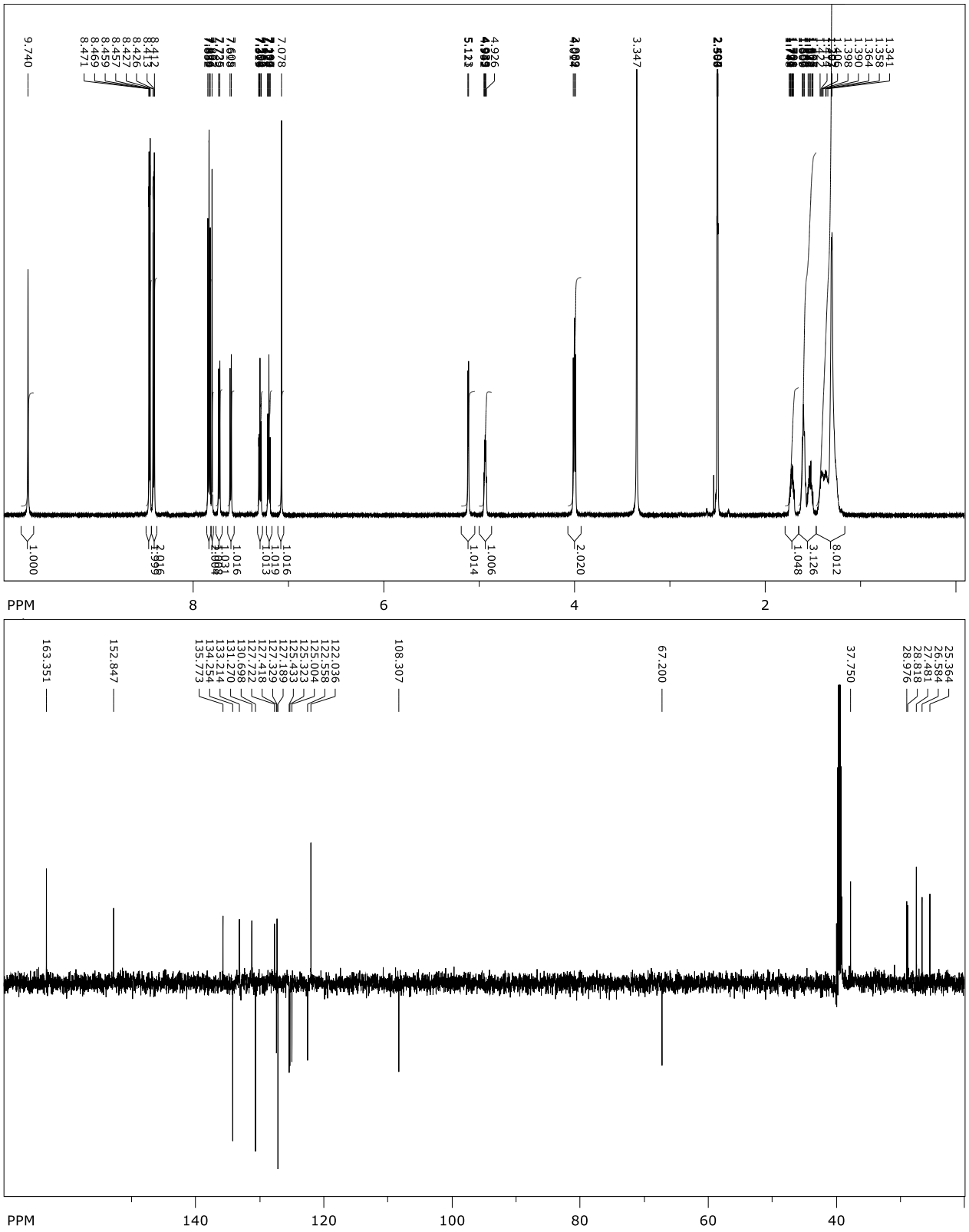




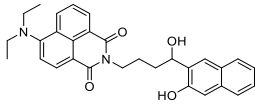


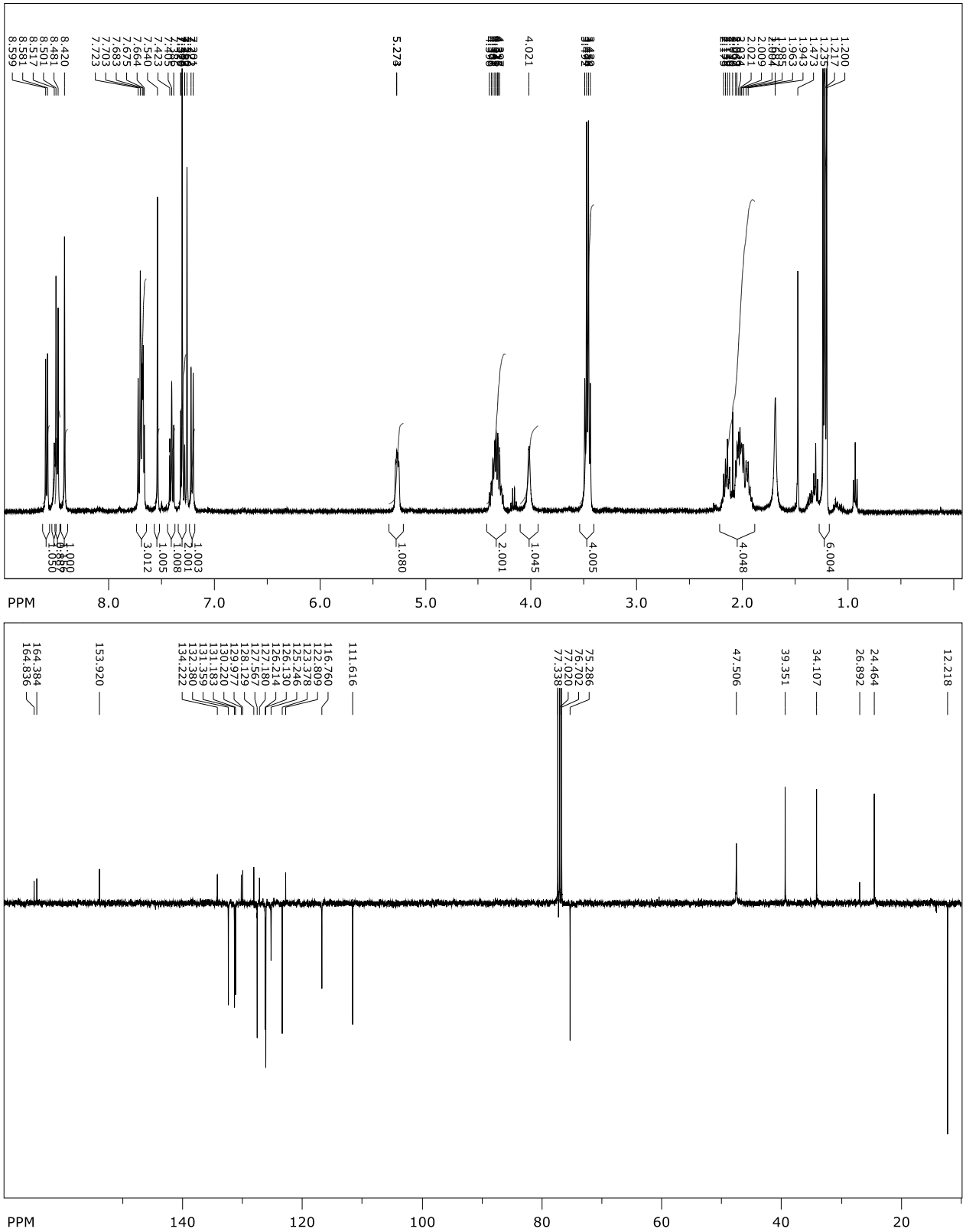
Prilog 95. Spektri ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) i ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spoja **98**



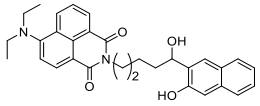


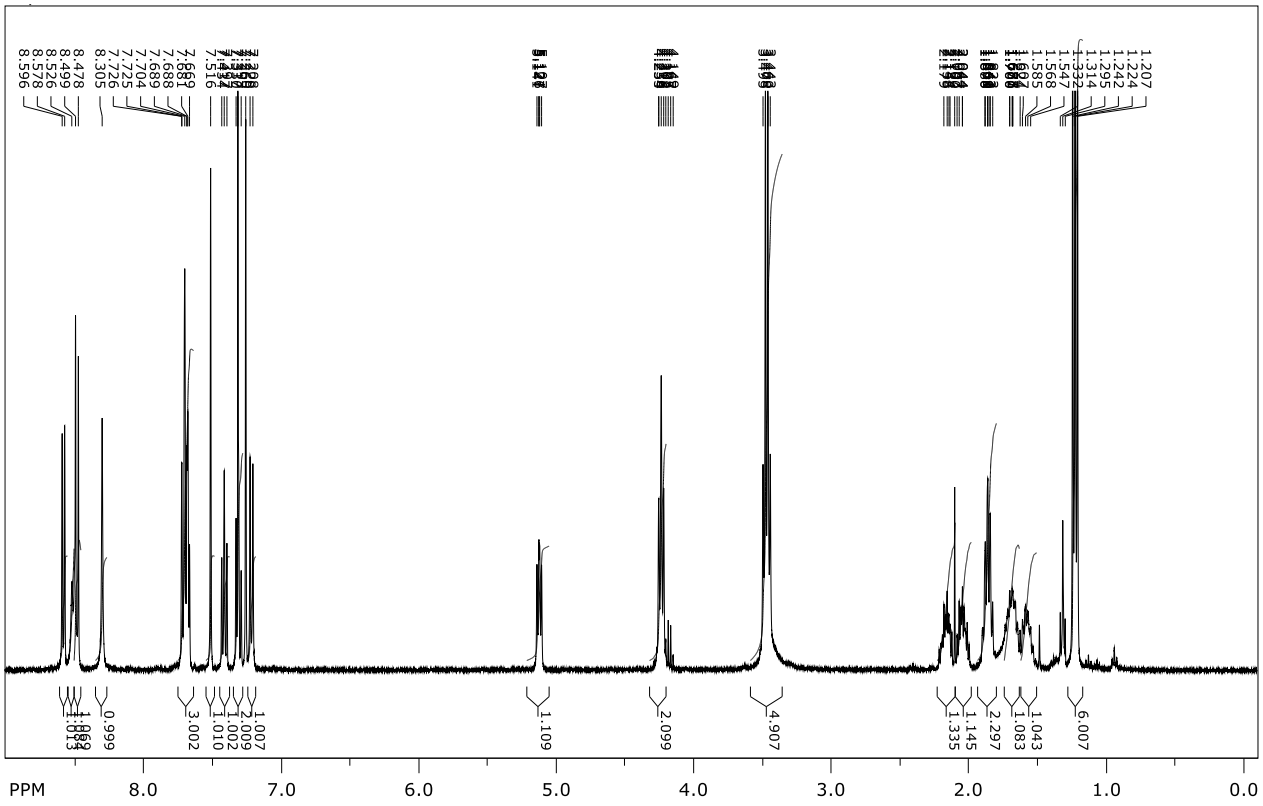
Prilog 96. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **99**

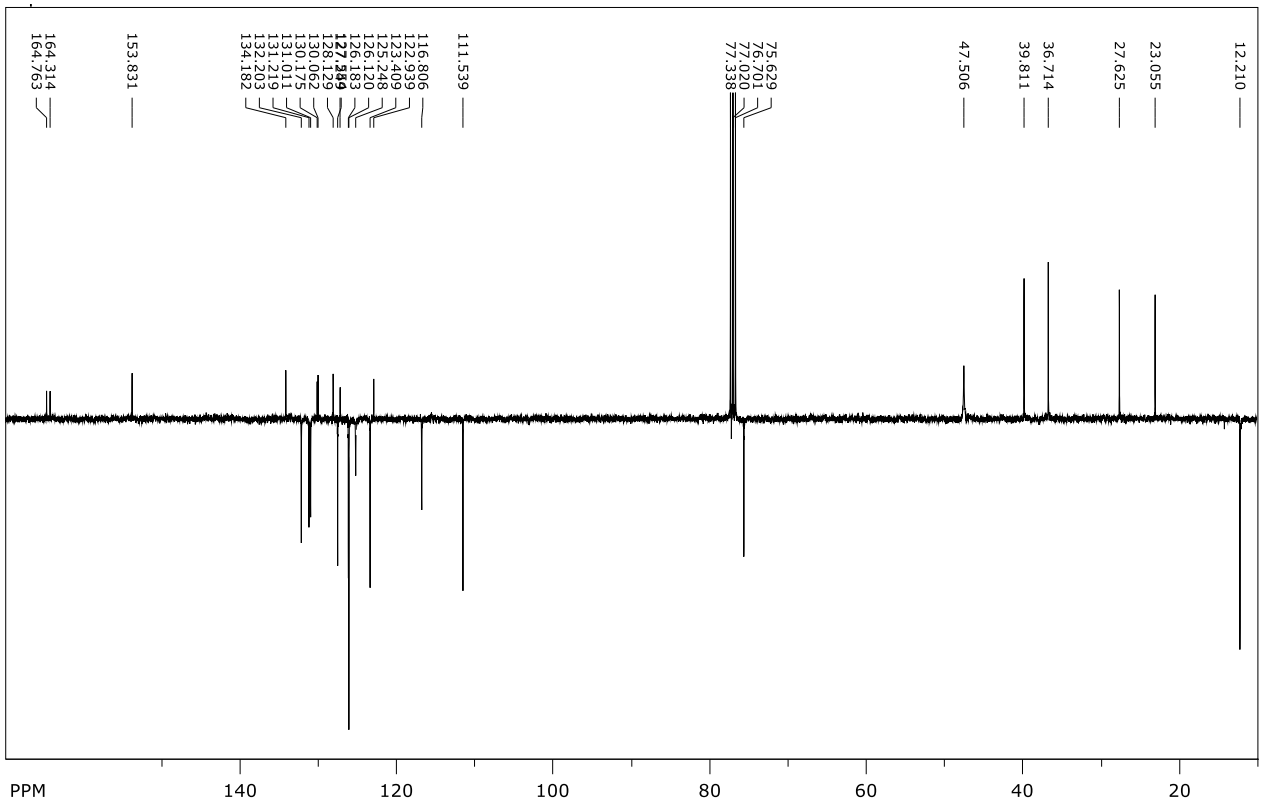




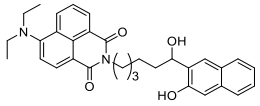
Prilog 97. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **100**

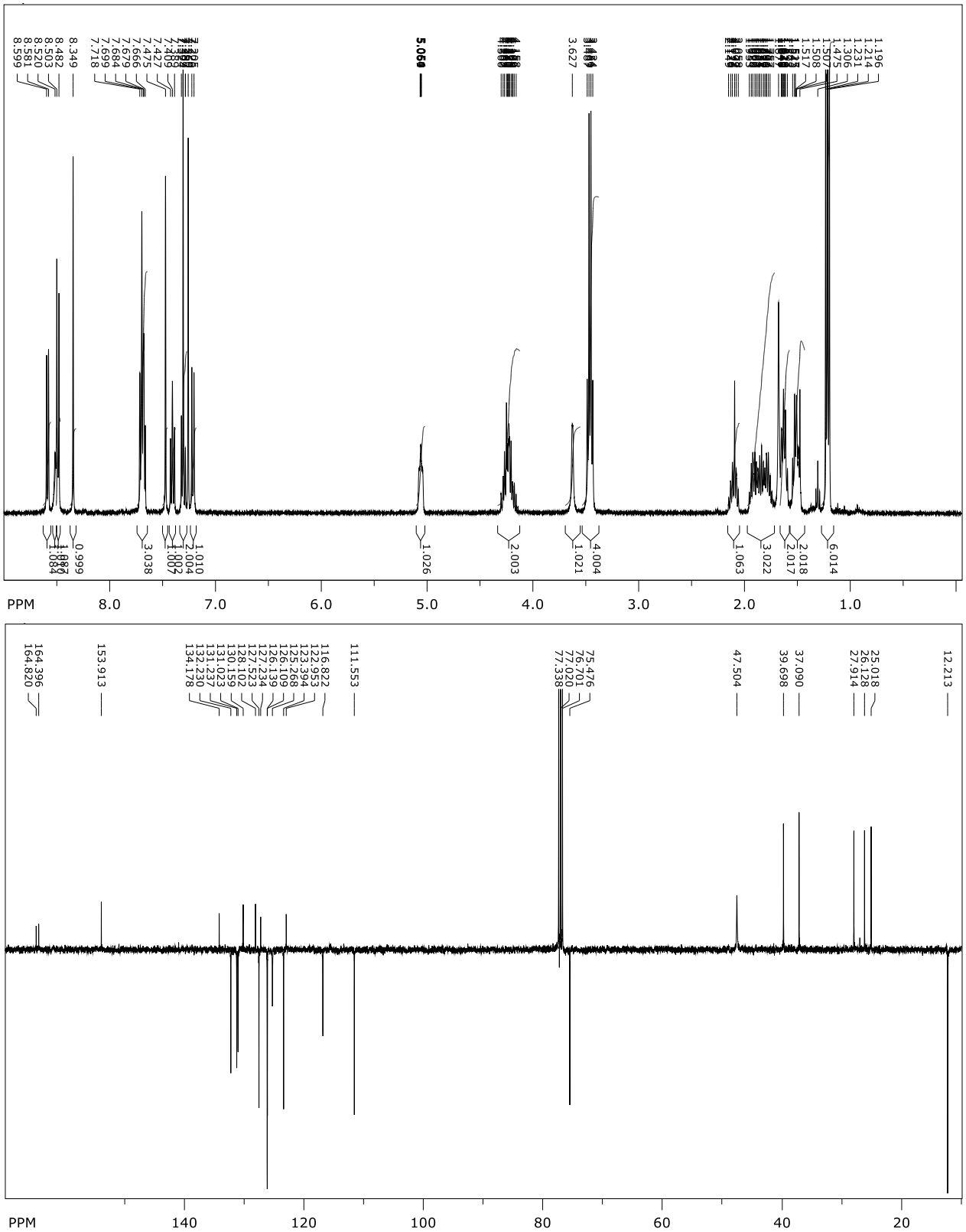




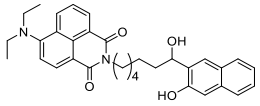


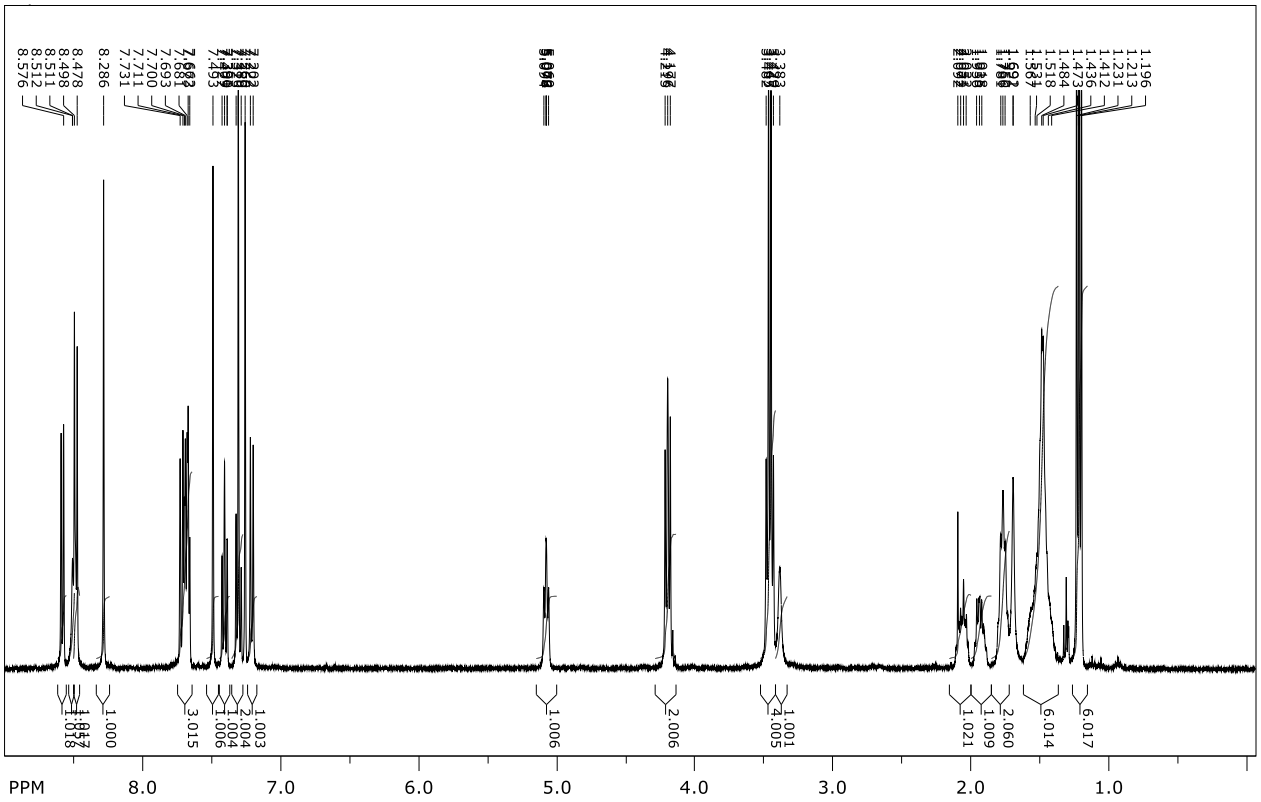
Prilog 98. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **101**

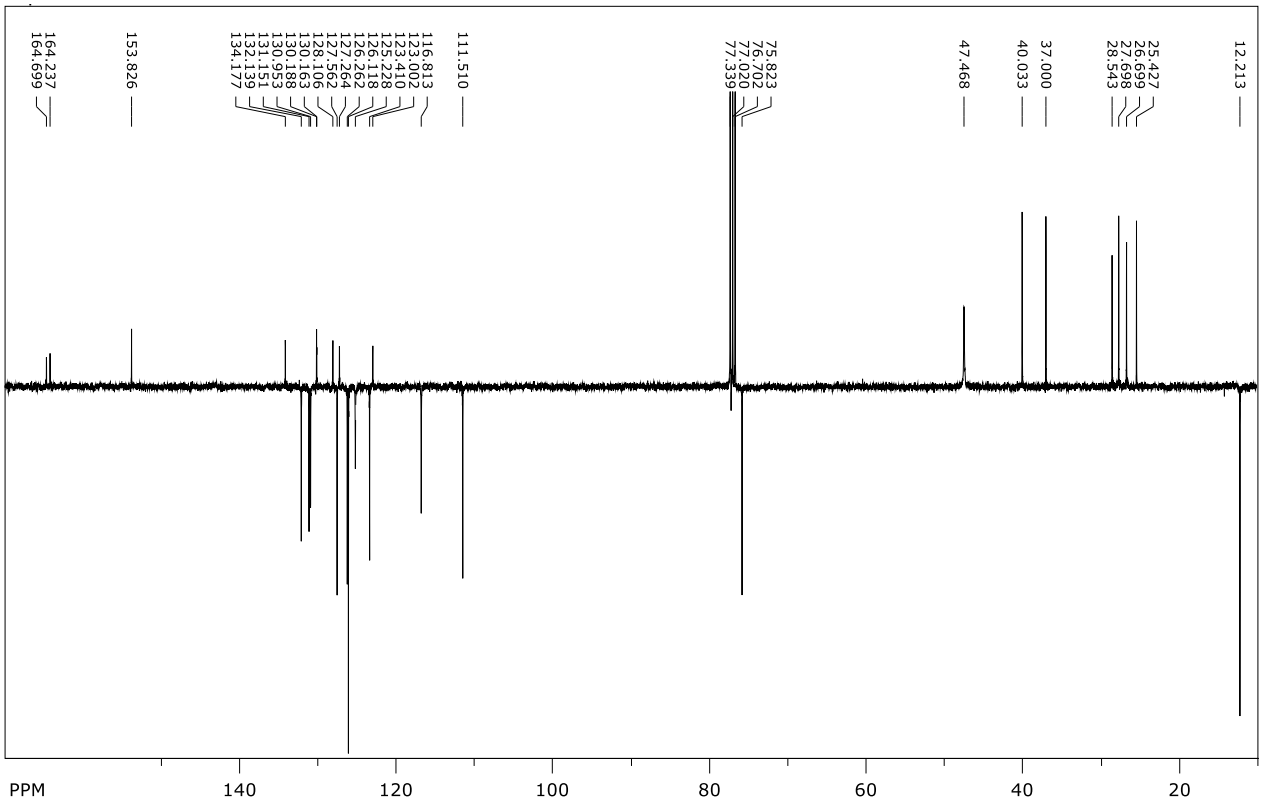




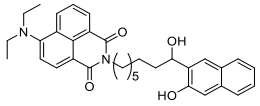
Prilog 99. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **102**

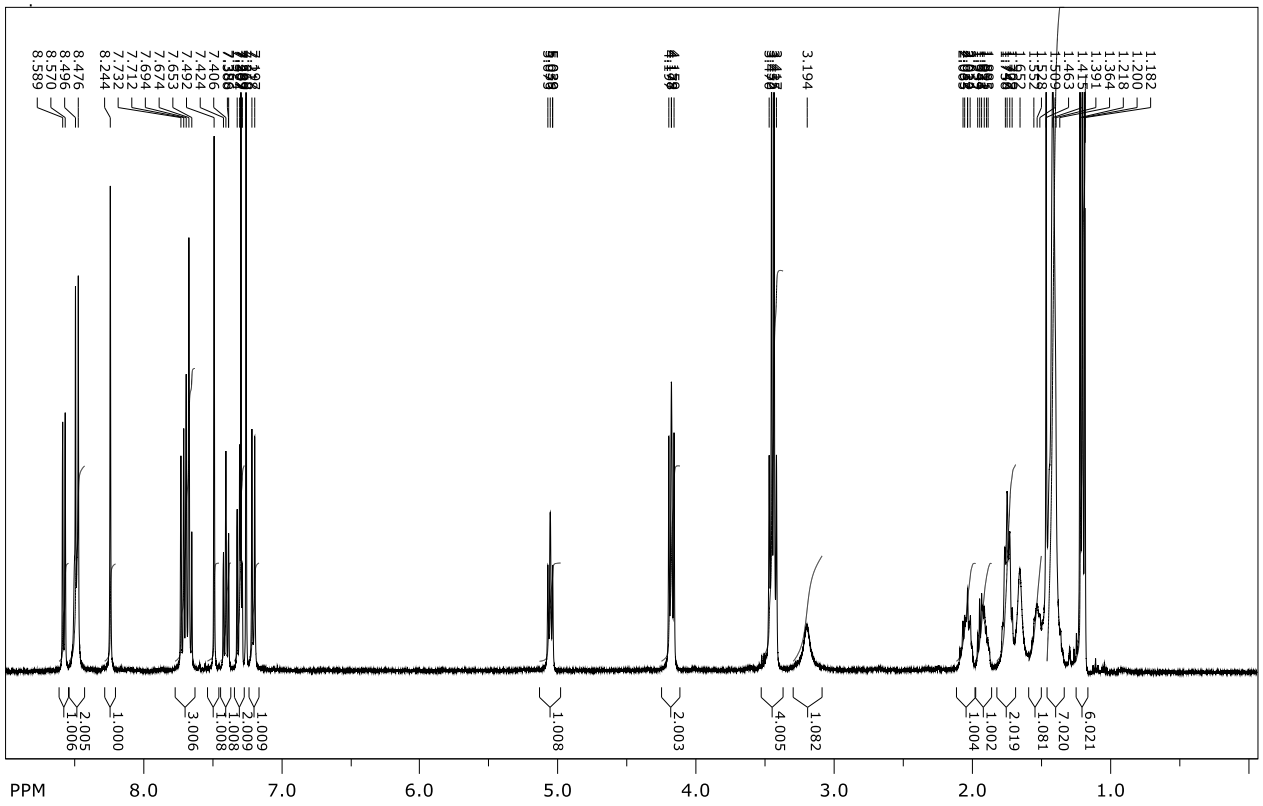


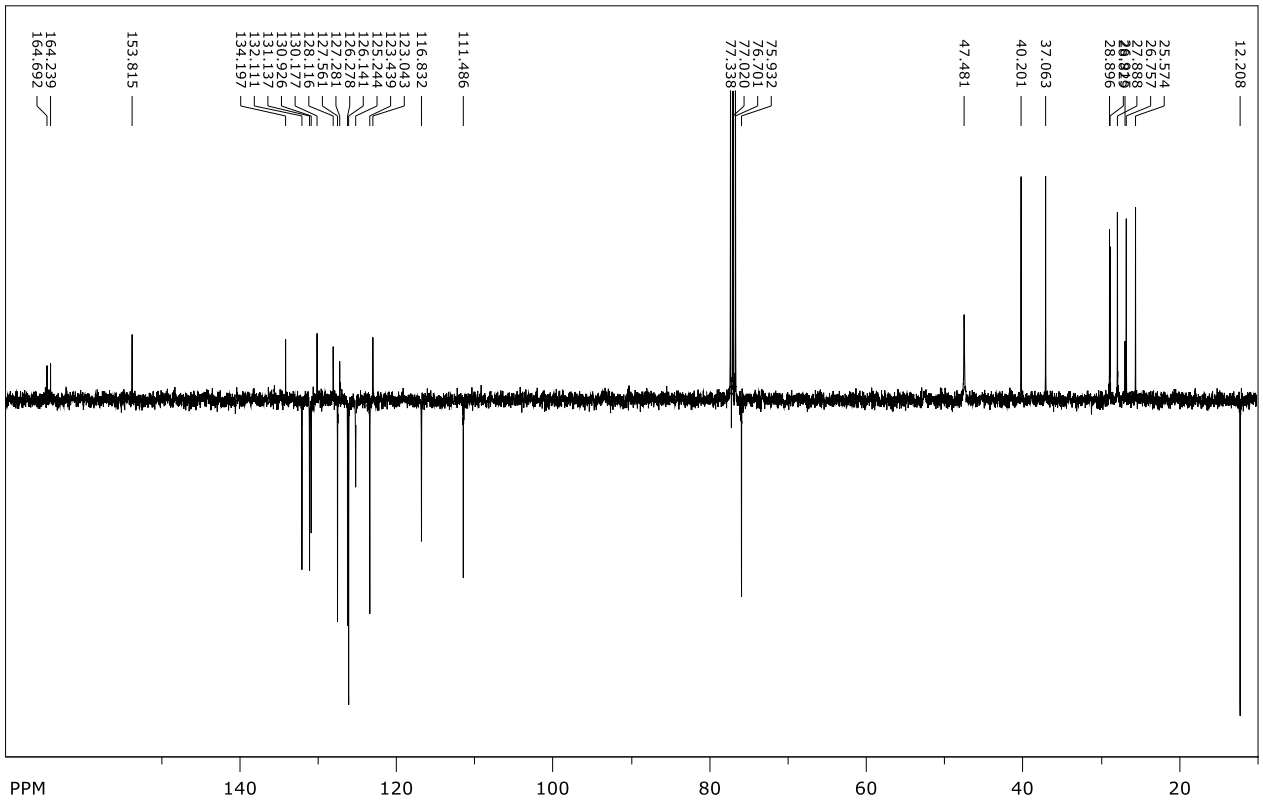




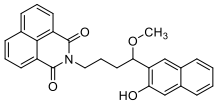
Prilog 100. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) spoja **103**

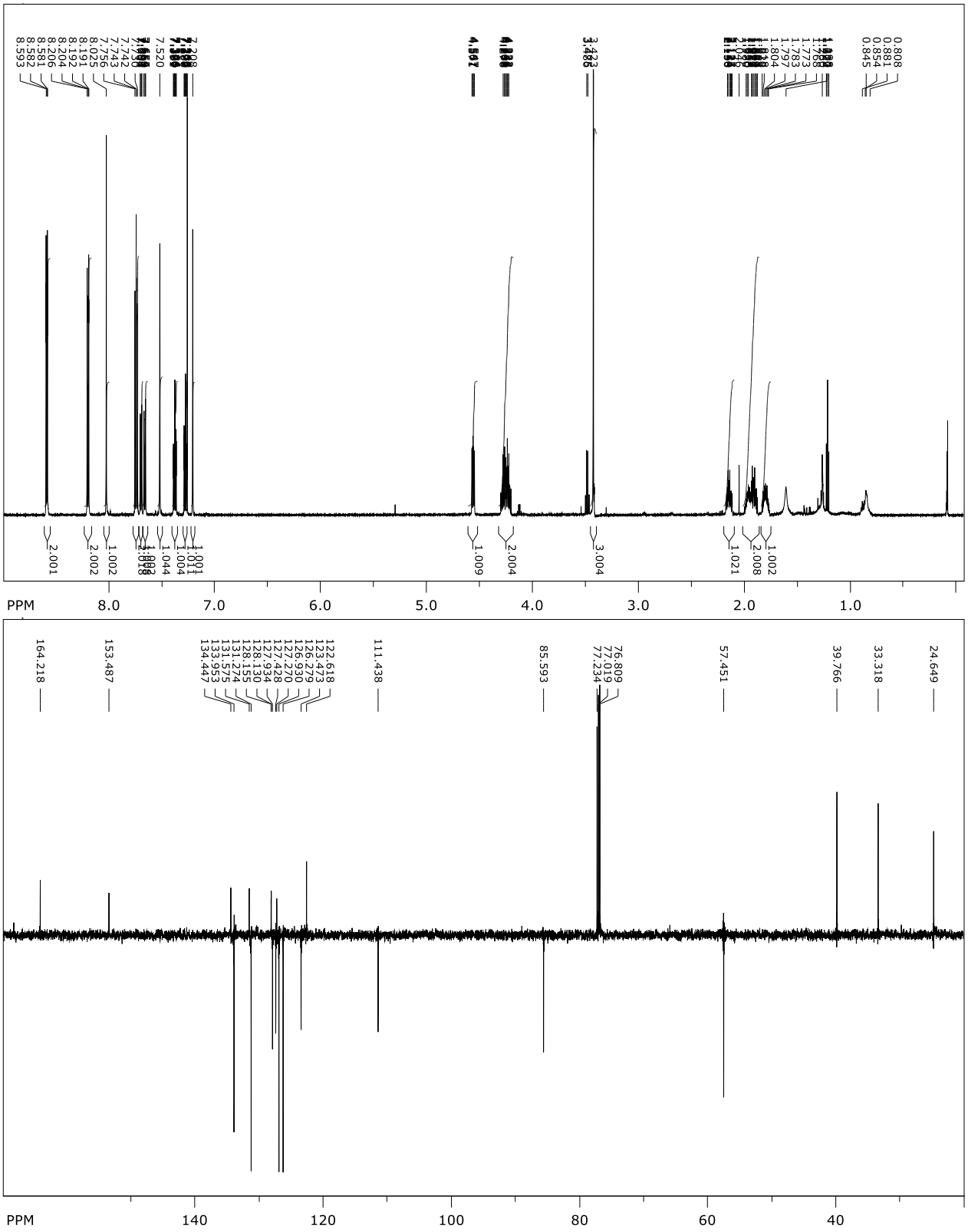




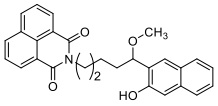


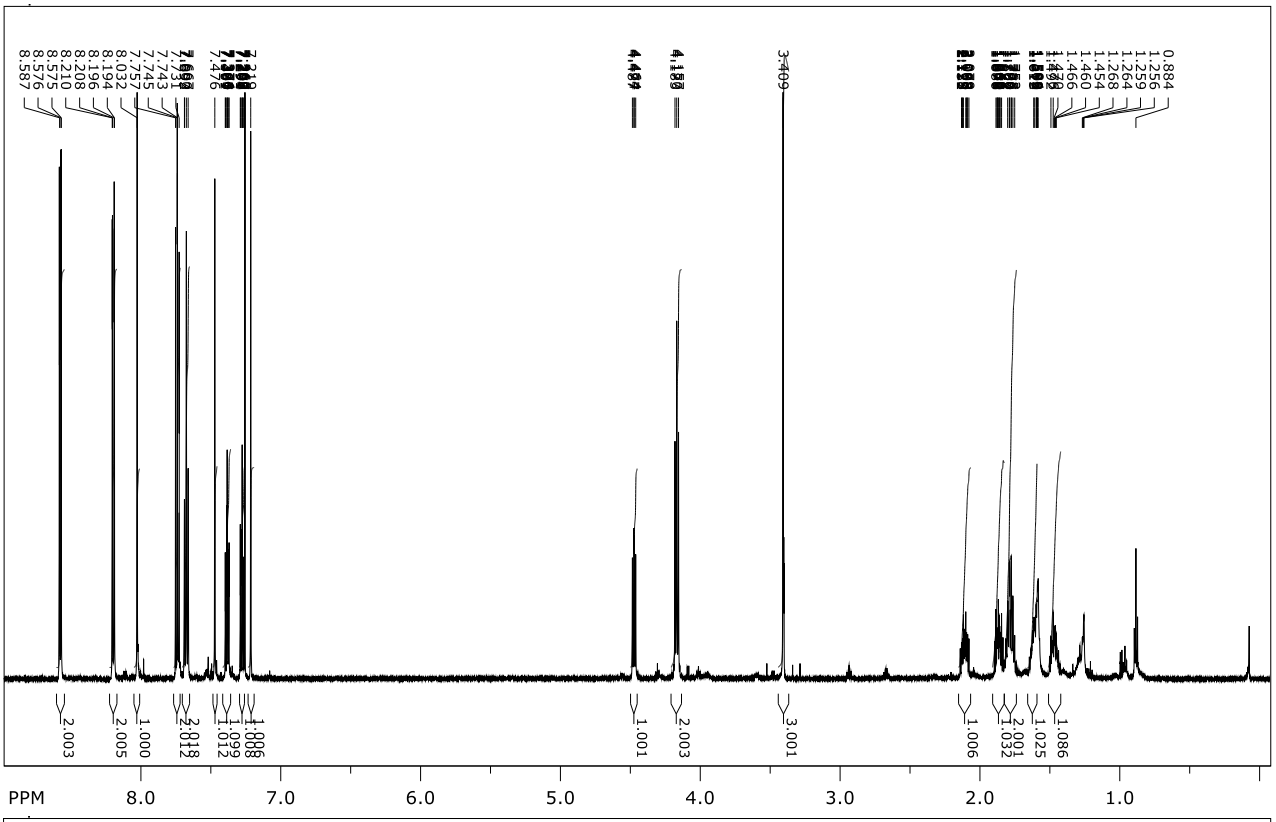
Prilog 101. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **104**

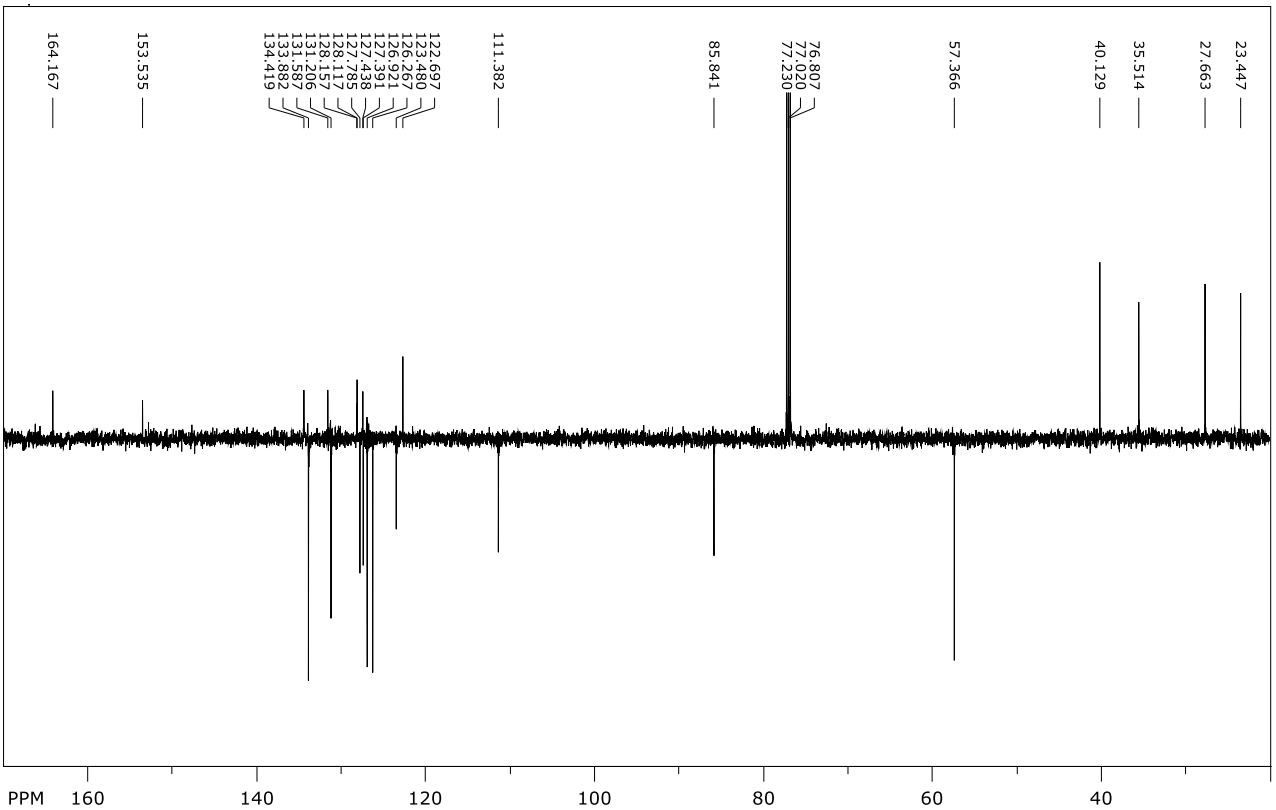




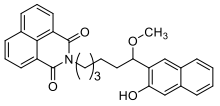
Prilog 102. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **105**

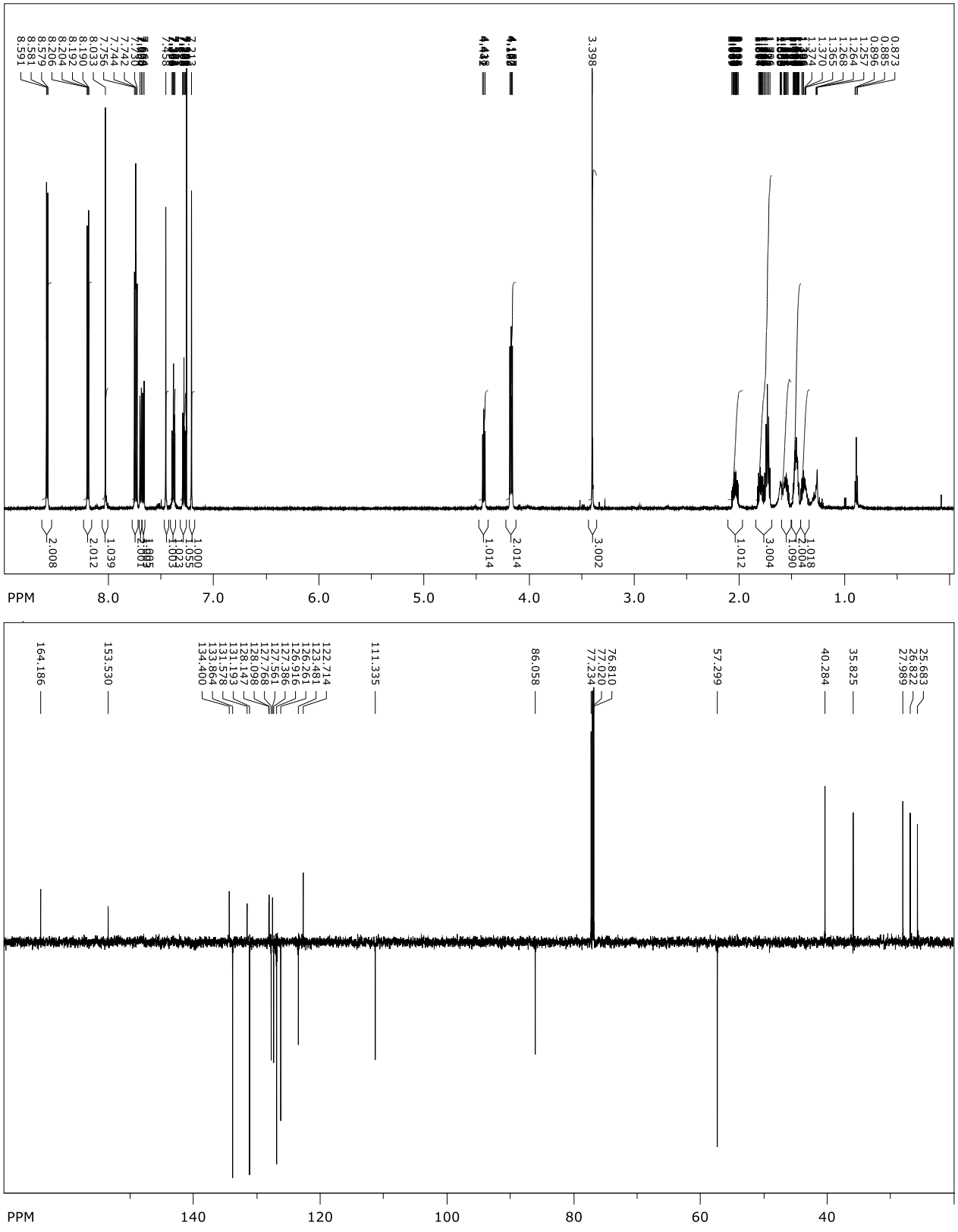




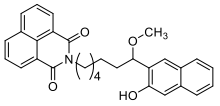


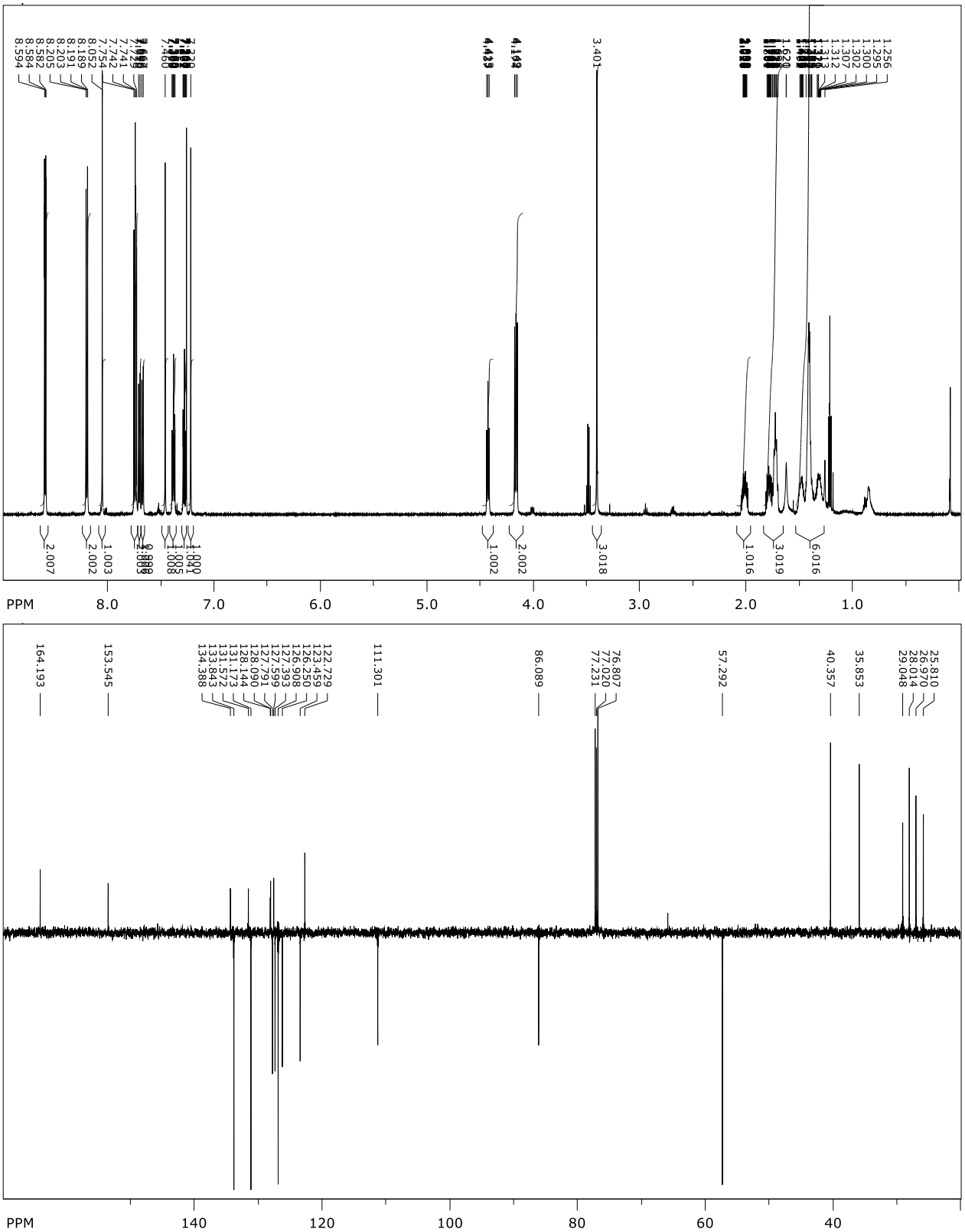
Prilog 103. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **106**



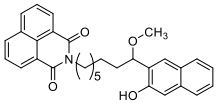


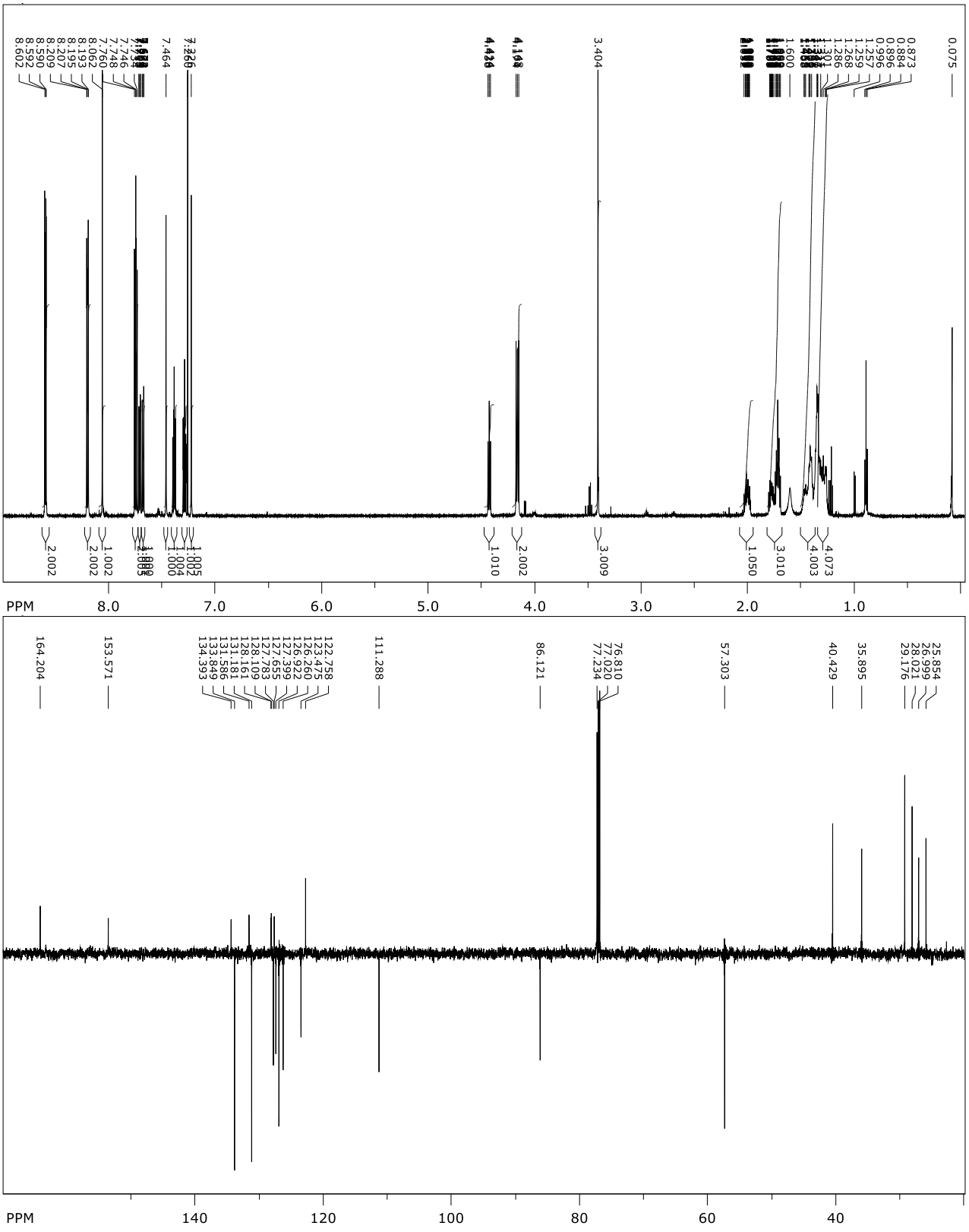
Prilog 104. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **107**



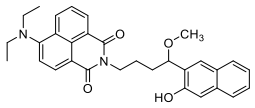


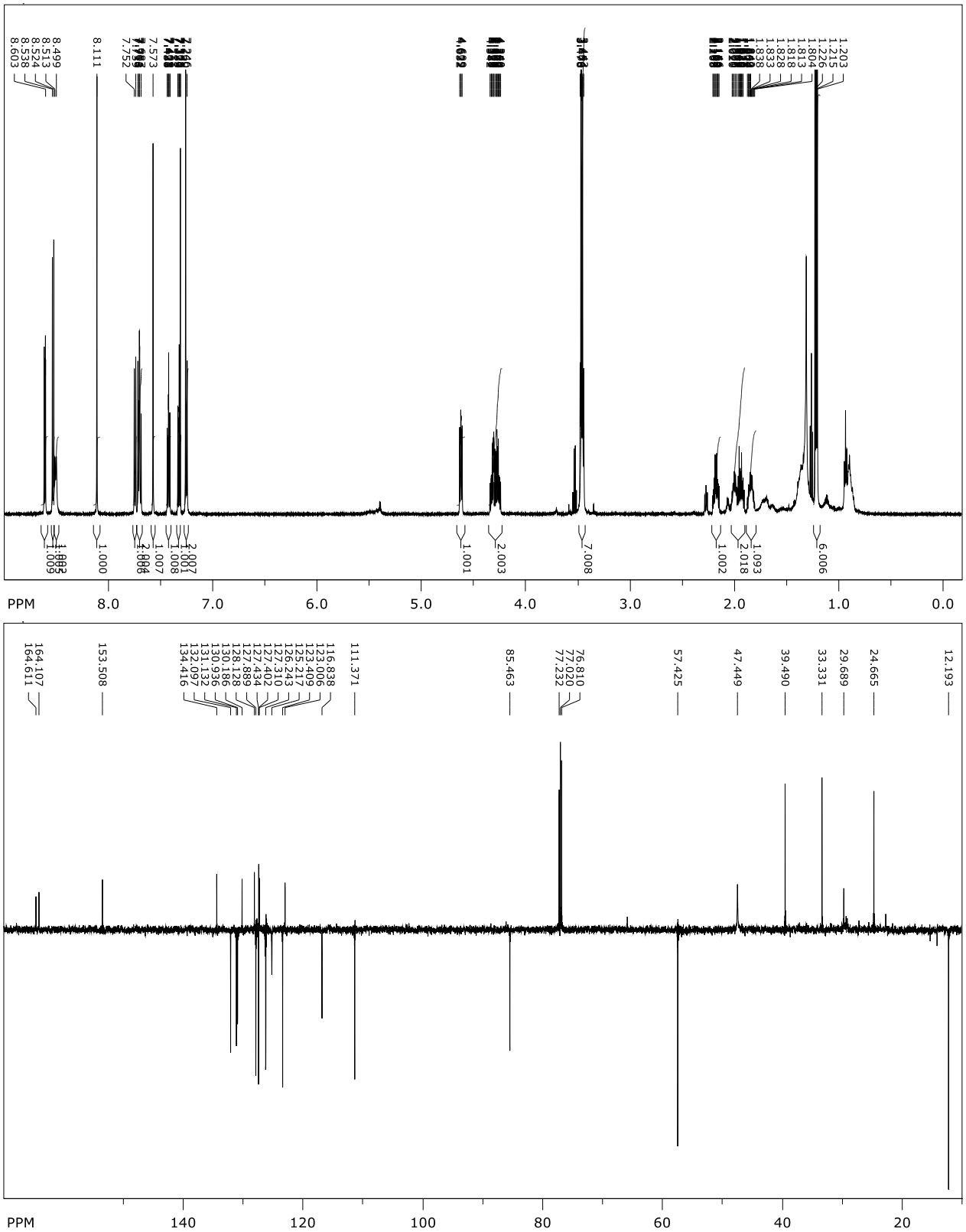
Prilog 105. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **108**



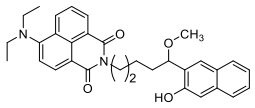


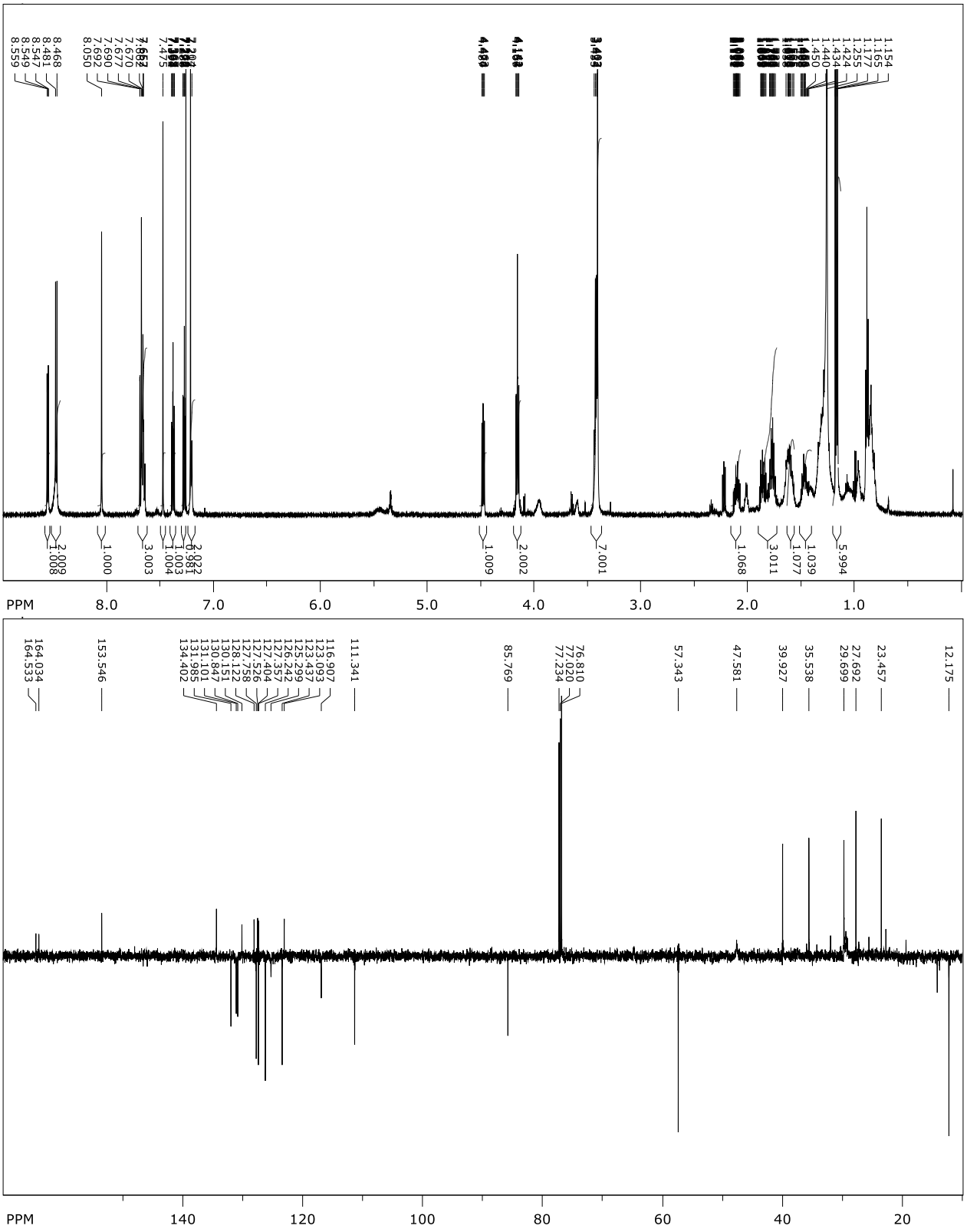
Prilog 106. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **109**



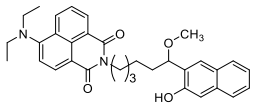


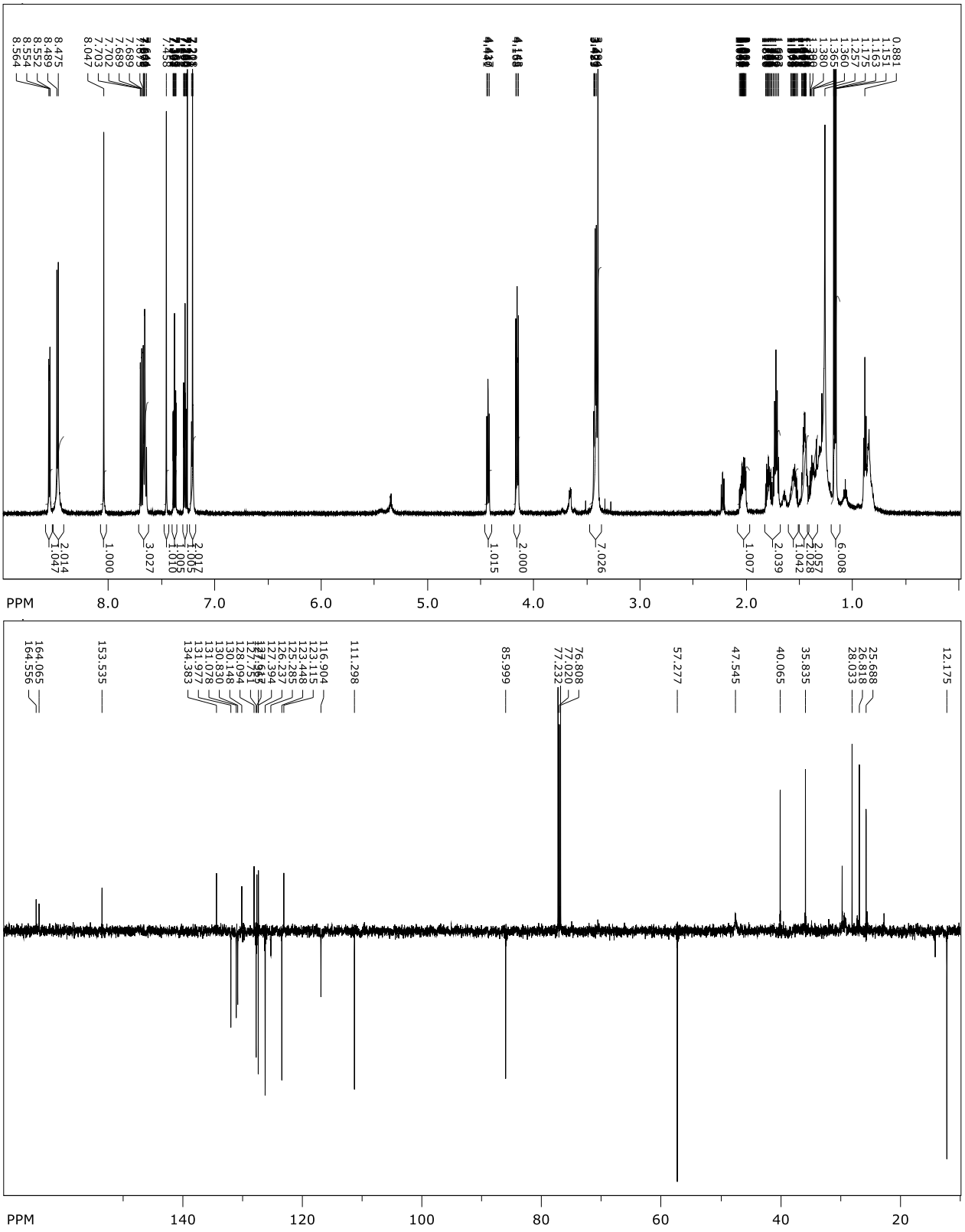
Prilog 107. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **110**



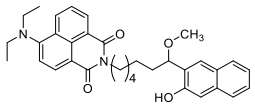


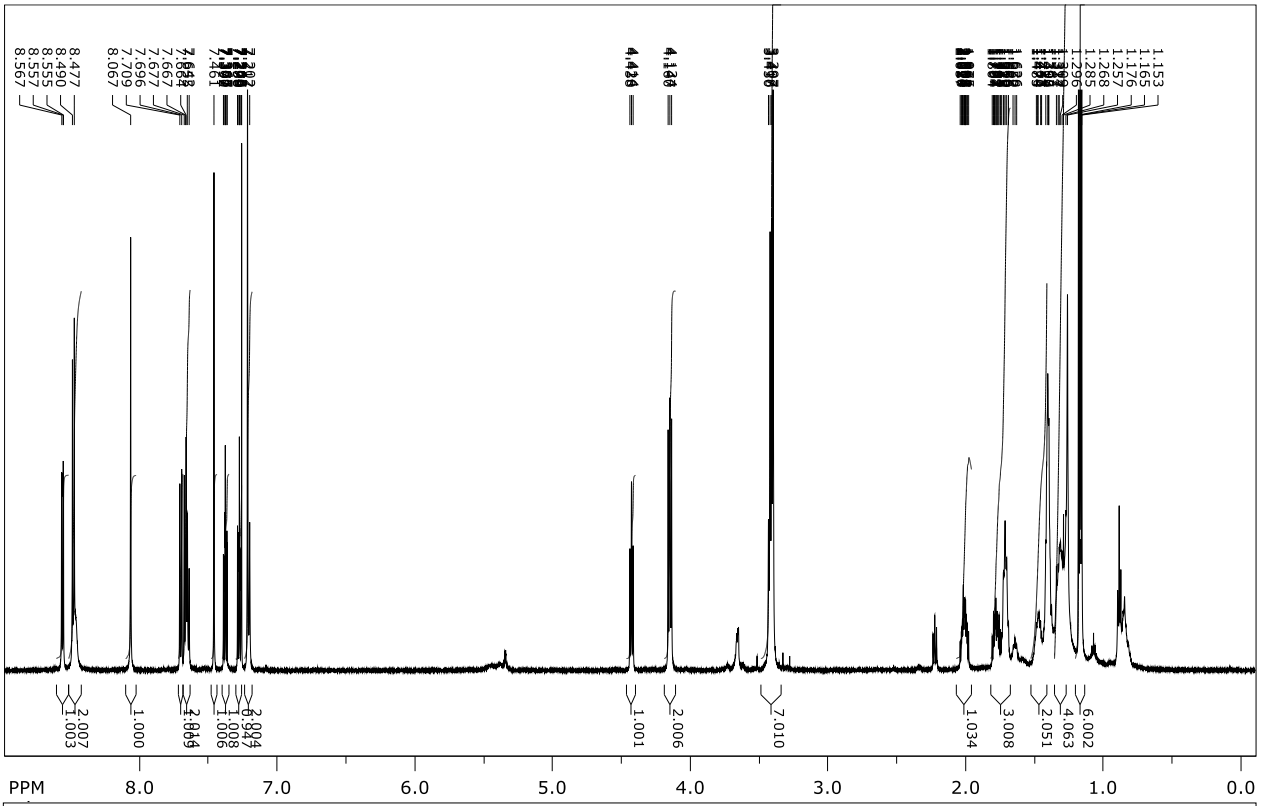
Prilog 108. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **111**

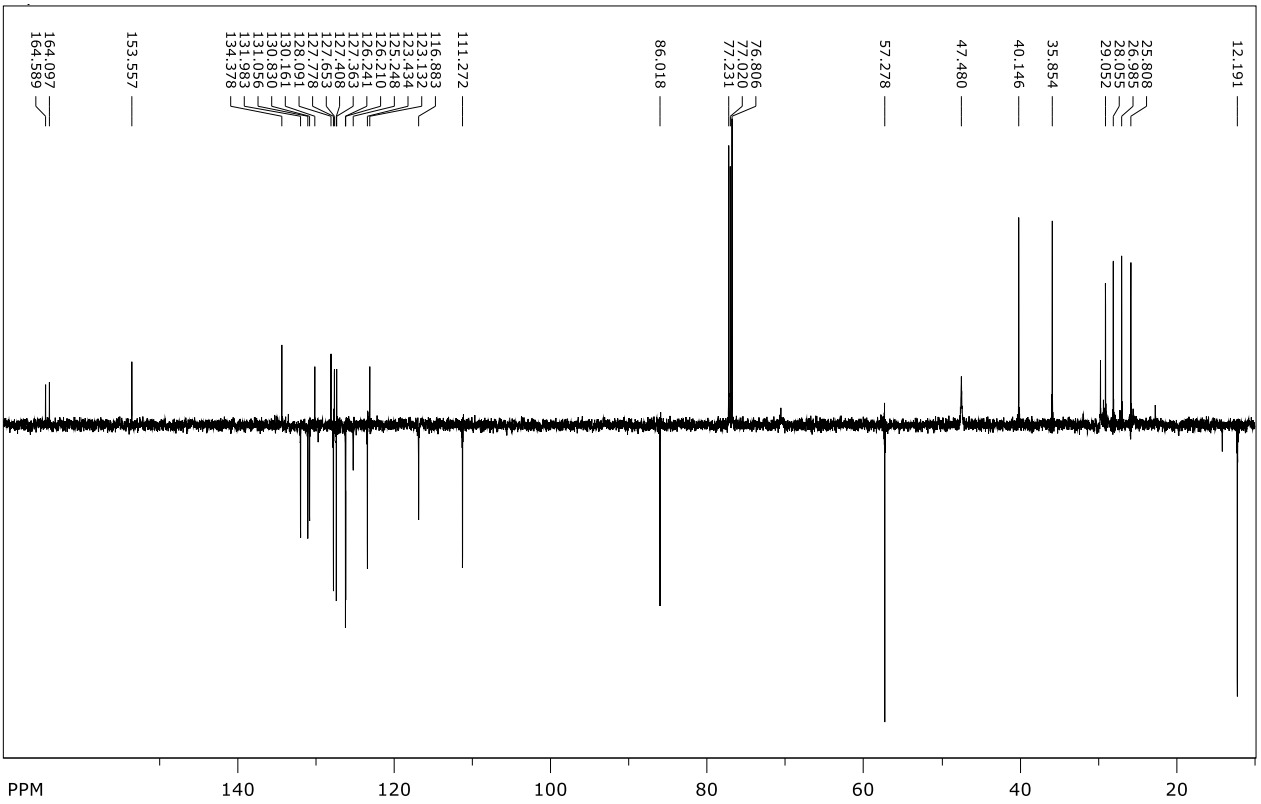




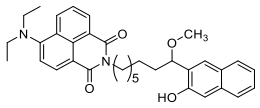
Prilog 109. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **112**

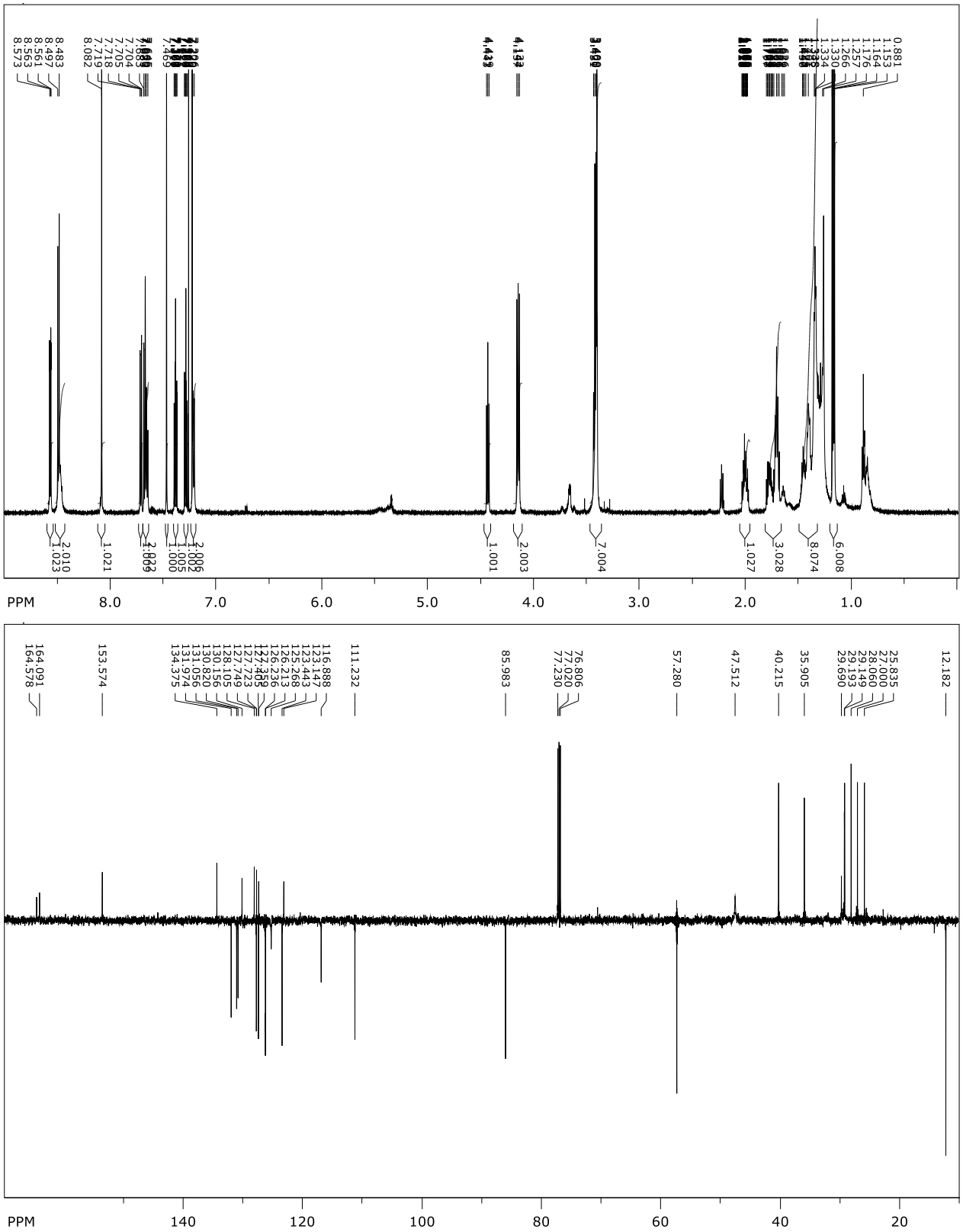






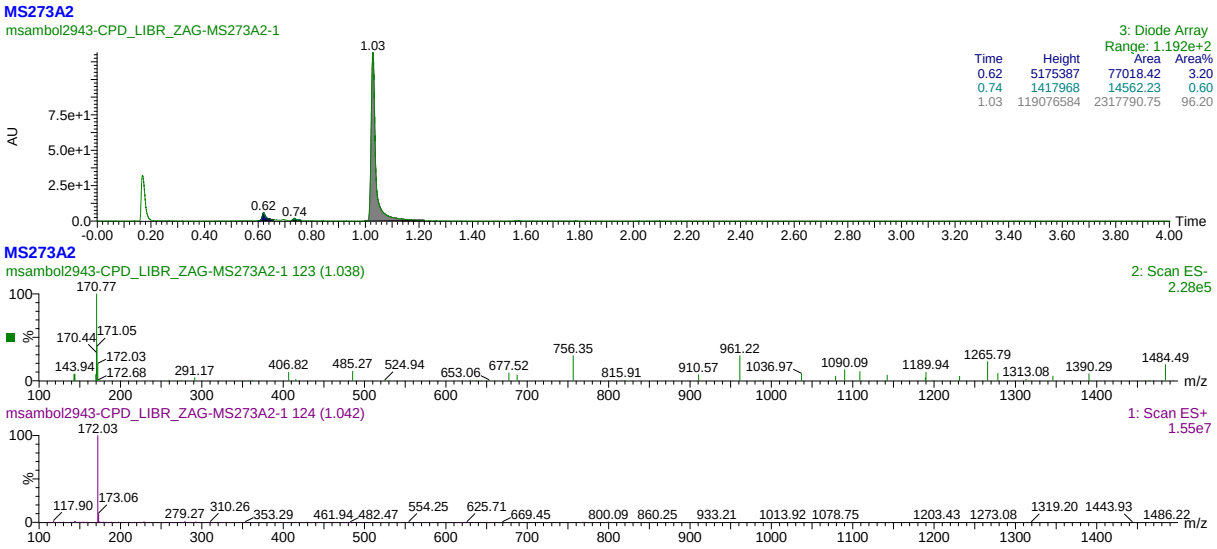
Prilog 110. Spektri ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) i ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spoja **113**



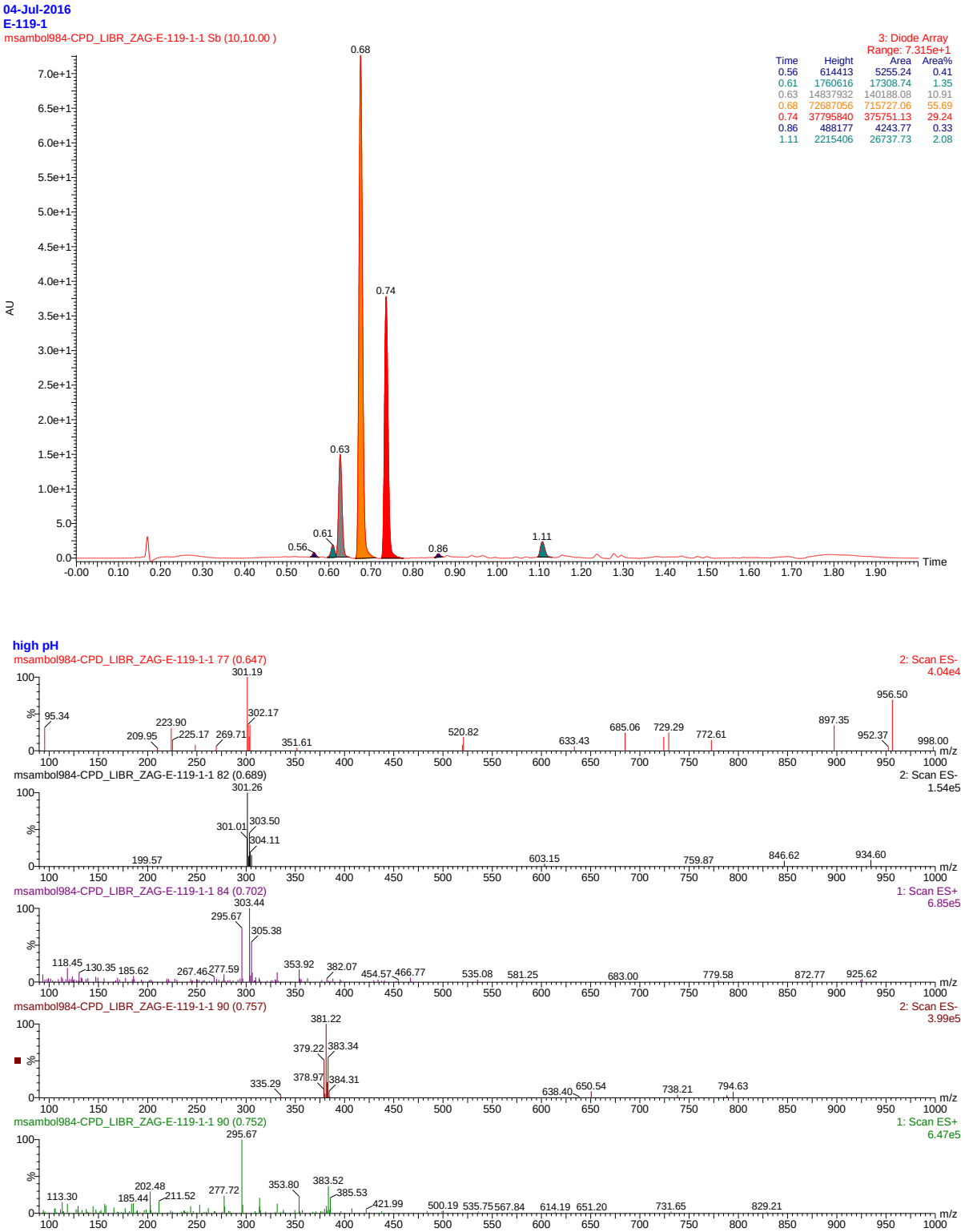


8.2. UPLC-MS/UV kromatogrami

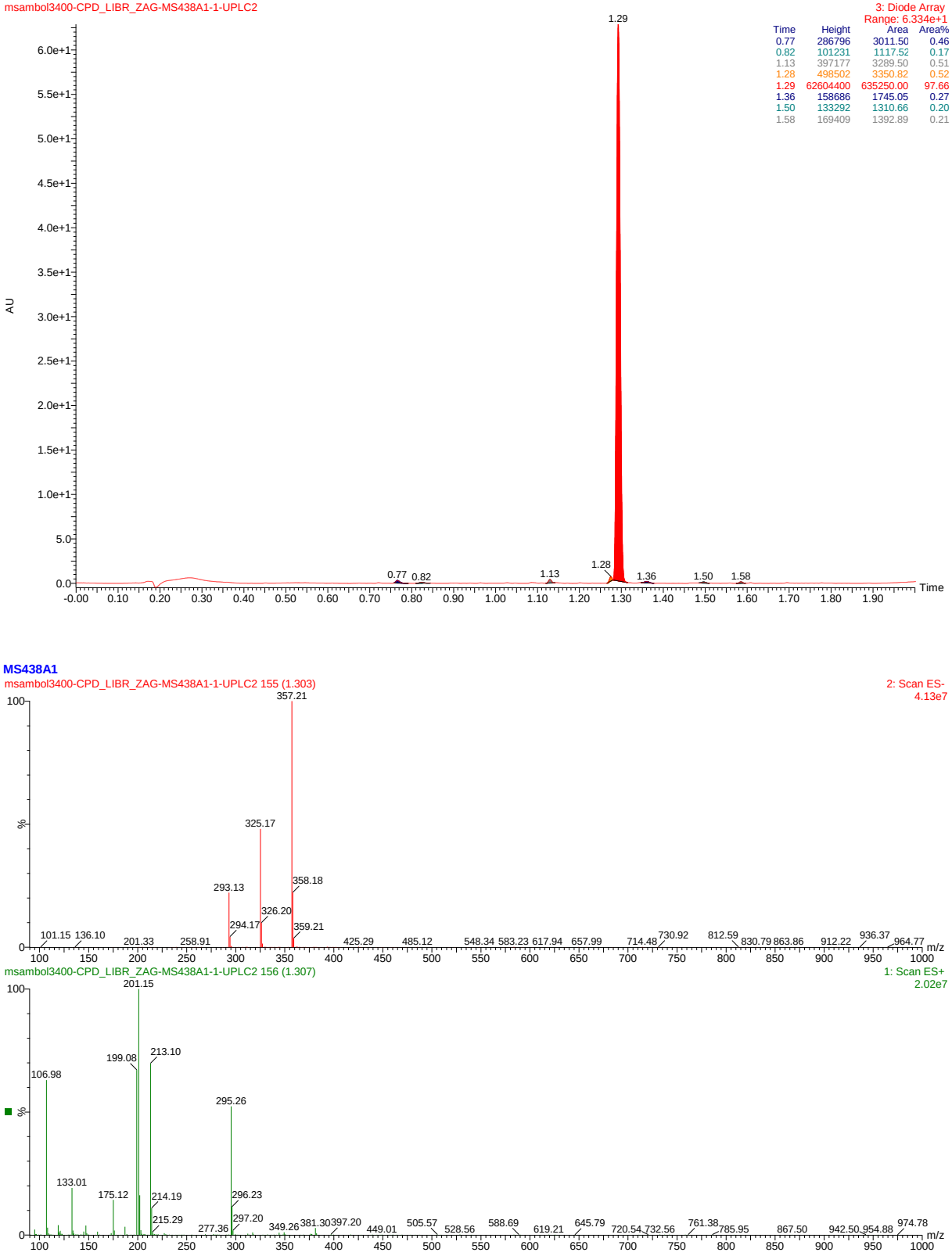
Prilog 111. Kromatogram i maseni spektar karbaldehida **4** dobivenog u jednom reakcijskom stupnju iz 2-naftola[296] UPLC-MS/UVmetoda ③, t_R (**4**) = 1,03 min, *m/z* = 172,05 $[M]^+$ nađeno 172,03; *m*/*z* = 171,04 $[M–H]^–$, nađeno 170,77.



Prilog 112. Kromatogram i maseni spektar sirovog produkta dobivenog bromiranjem 2-hidroksiantrakinona (**5**) UPLC-MS/UVmetoda ②, t_R (**6**) = 0,68 min, *m/z* = 302,97 $[M+H]^+$ nađeno 303,44, 305,38; t_R (**7**) = 0,74 min, *m/z* = 378,86 $[M–H]^–$, nađeno 381,22.

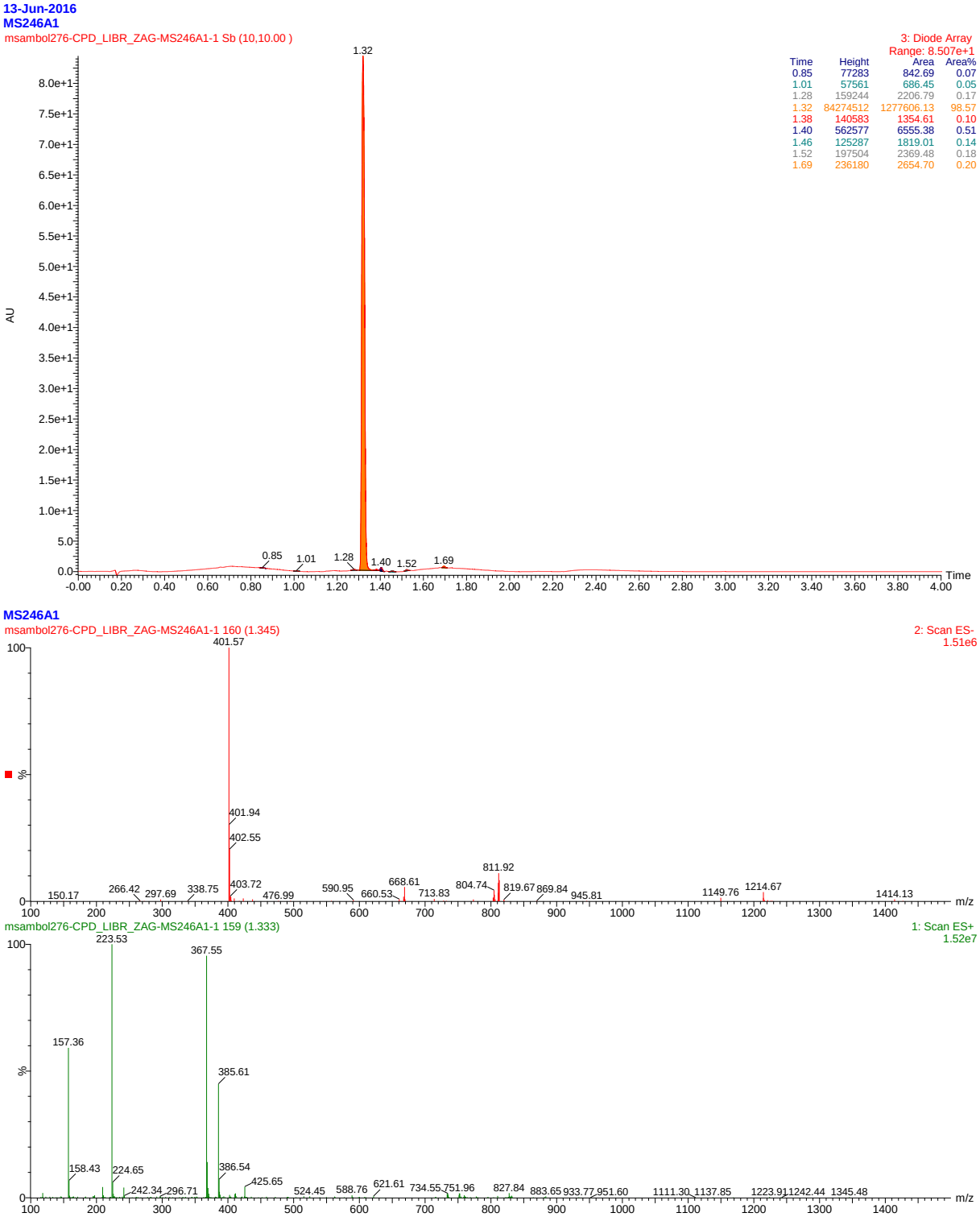


Prilog 113. Kromatogram i maseni spektar produkta **24**. UPLC-MS/UVmetoda ②, t_R (**24**) = 1,29 min, *m/z* = 357,20 $[M–H]^-$ nađeno 357,21; *m/z* = 295,16 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 295,26.

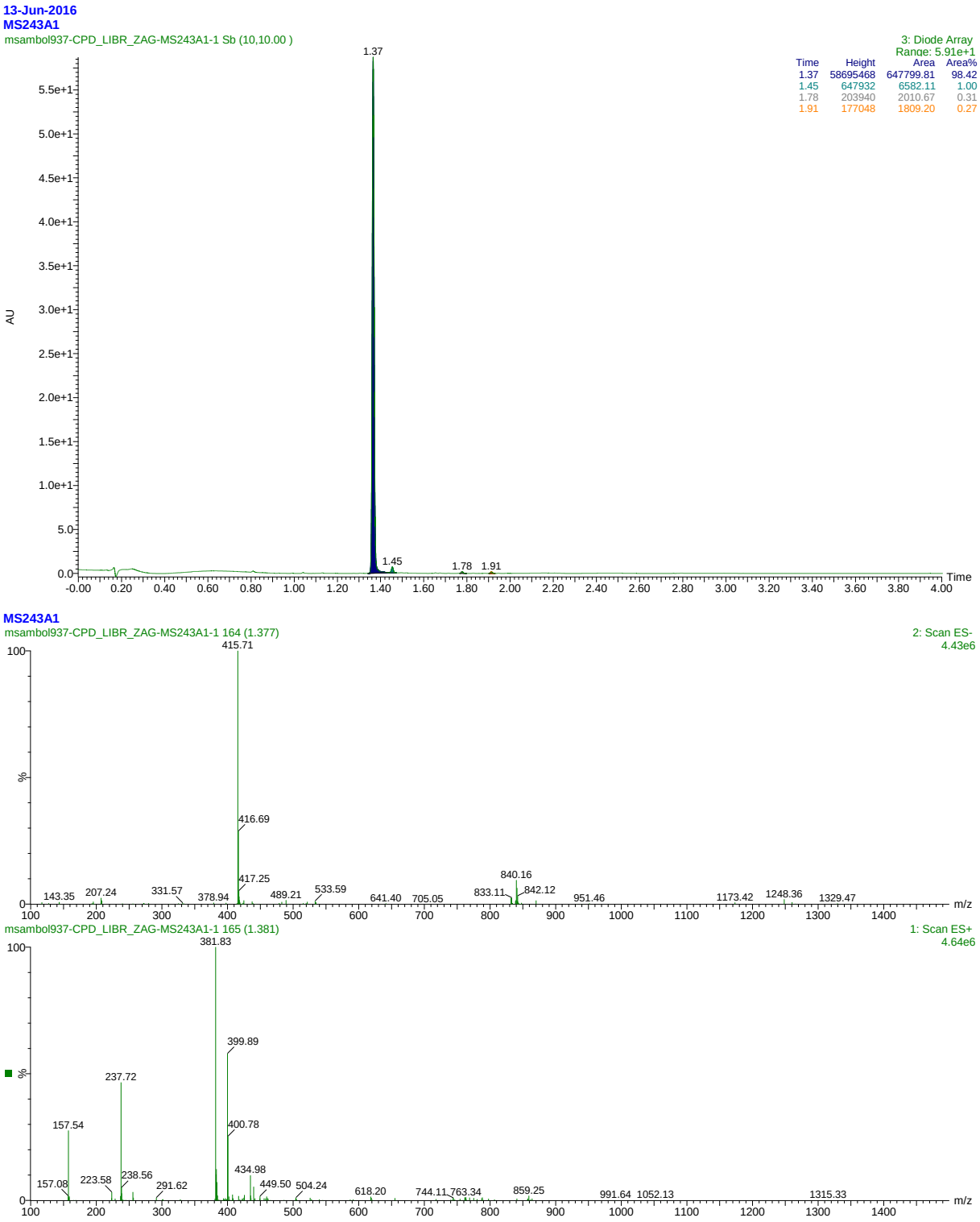


8.2.1. UPLC-MS/UV kromatogrami naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

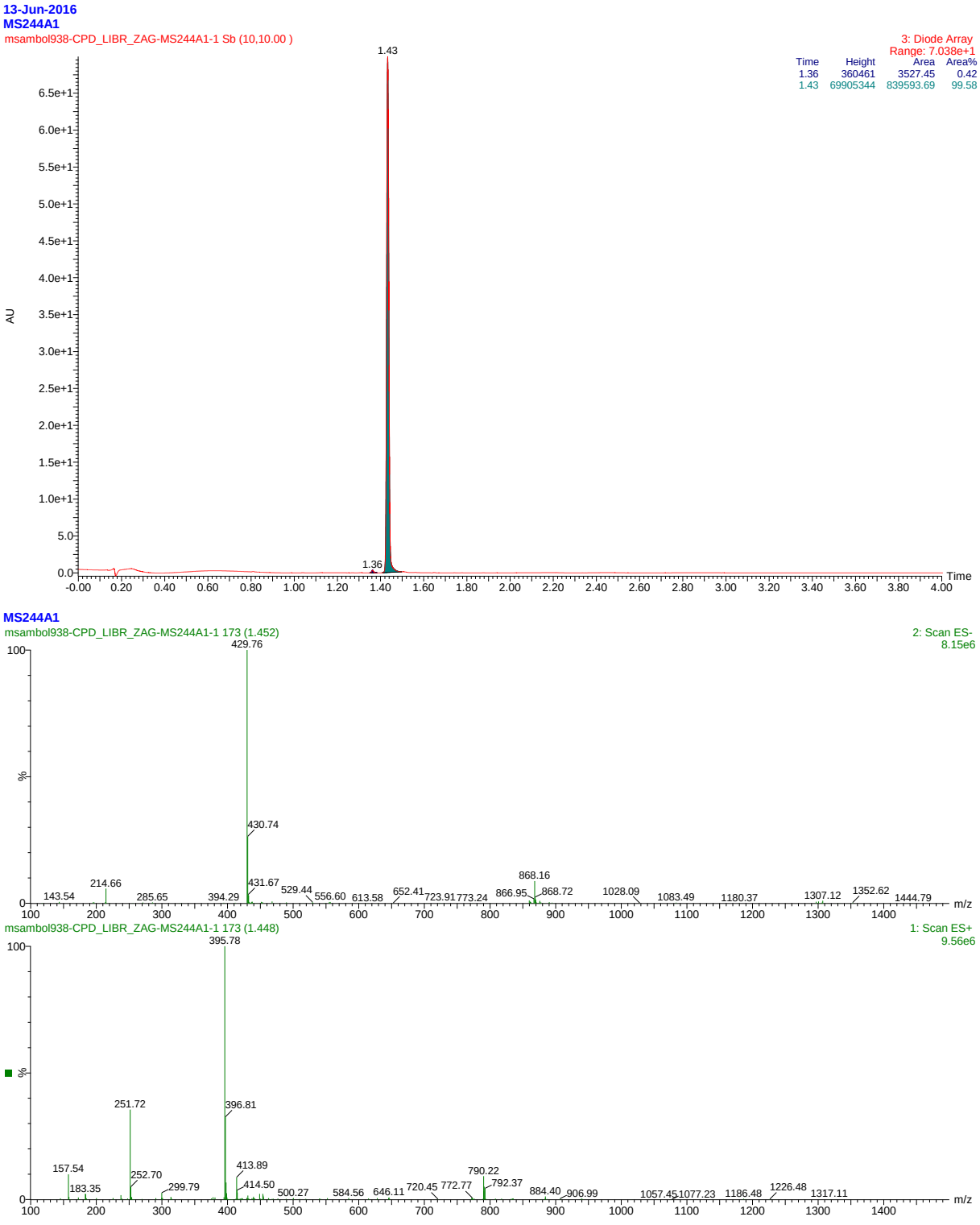
Prilog 114. Kromatogram i maseni spektar spoja **33**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**33**) = 1,32 min, *m*/*z* = 401,18 $[M–H]^-$, nađeno 401,57; *m*/*z* = 385,18 $[M–OH]^+$, nađeno 385,61; *m*/*z* = 367,17 $[M–OH–H_2O]^+$, nađeno 367,55.



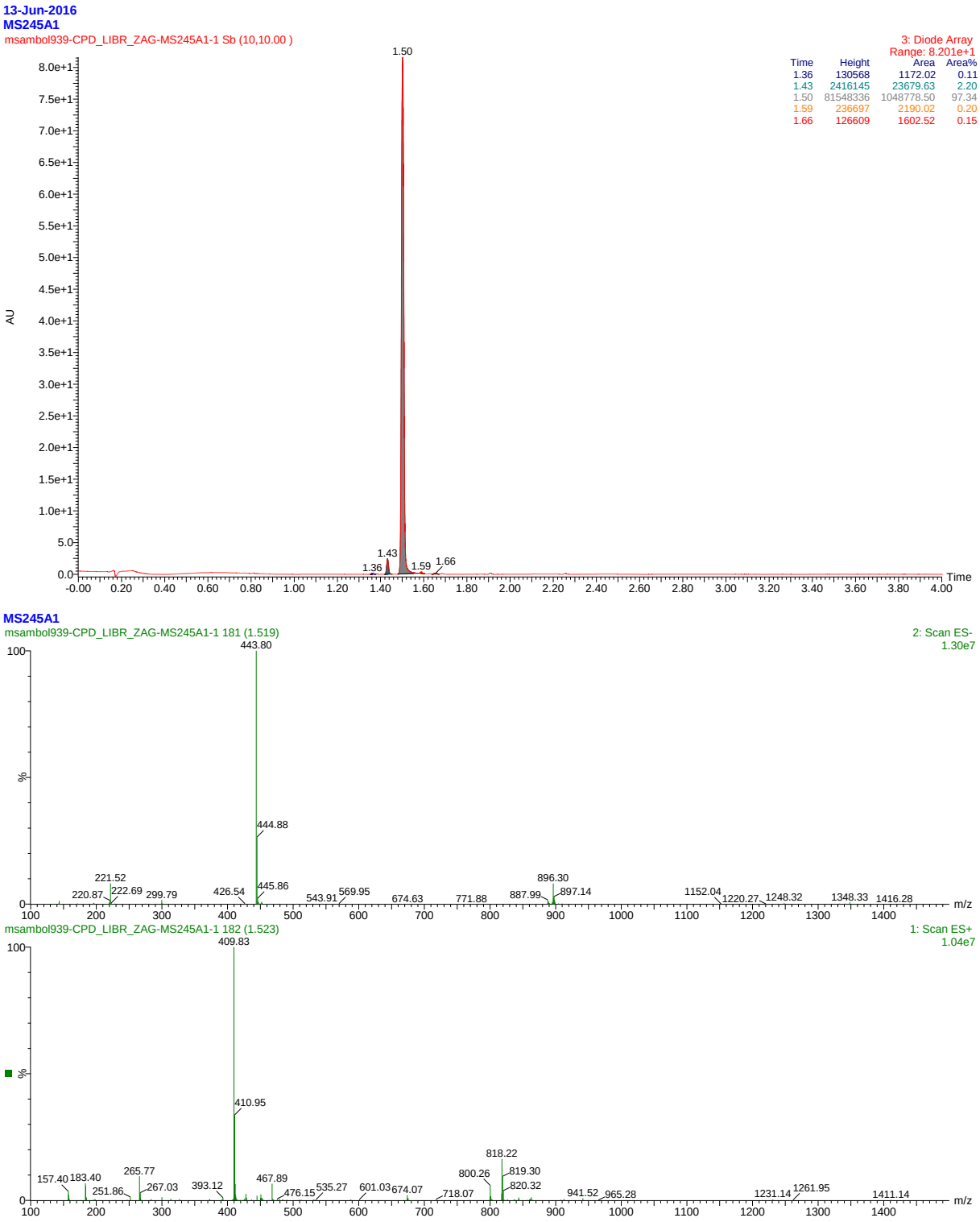
Prilog 115. Kromatogram i maseni spektar spoja **34**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**34**) = 1,37 min, *m*/*z* = 415,19 $[M–H]^-$, nađeno 415,71; *m*/*z* = 399,20 $[M–OH]^+$, nađeno 399,89.



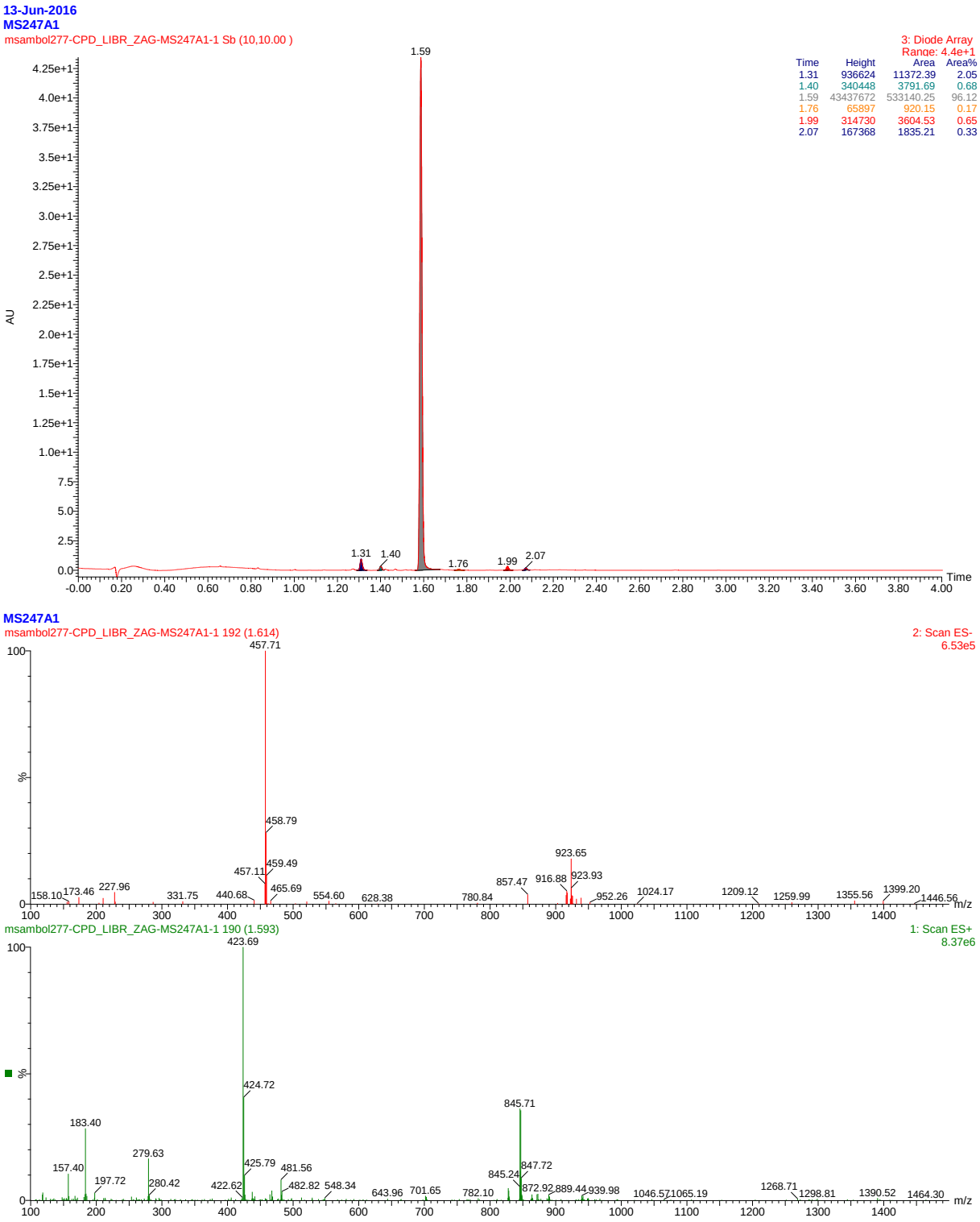
Prilog 116. Kromatogram i maseni spektar spoja **35**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**35**) = 1,43 min, *m*/*z* = 429,21 $[M–H]^-$, nađeno 429,76; *m*/*z* = 413,21 $[M–OH]^+$, nađeno 413,89; *m*/*z* = 395,20 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 395,78.



Prilog 117. Kromatogram i maseni spektar spoja **36**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**36**) = 1,50 min, *m*/*z* = 443,22 $[M–H]^-$, nađeno 443,80; *m*/*z* = 409,22 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 409,83.

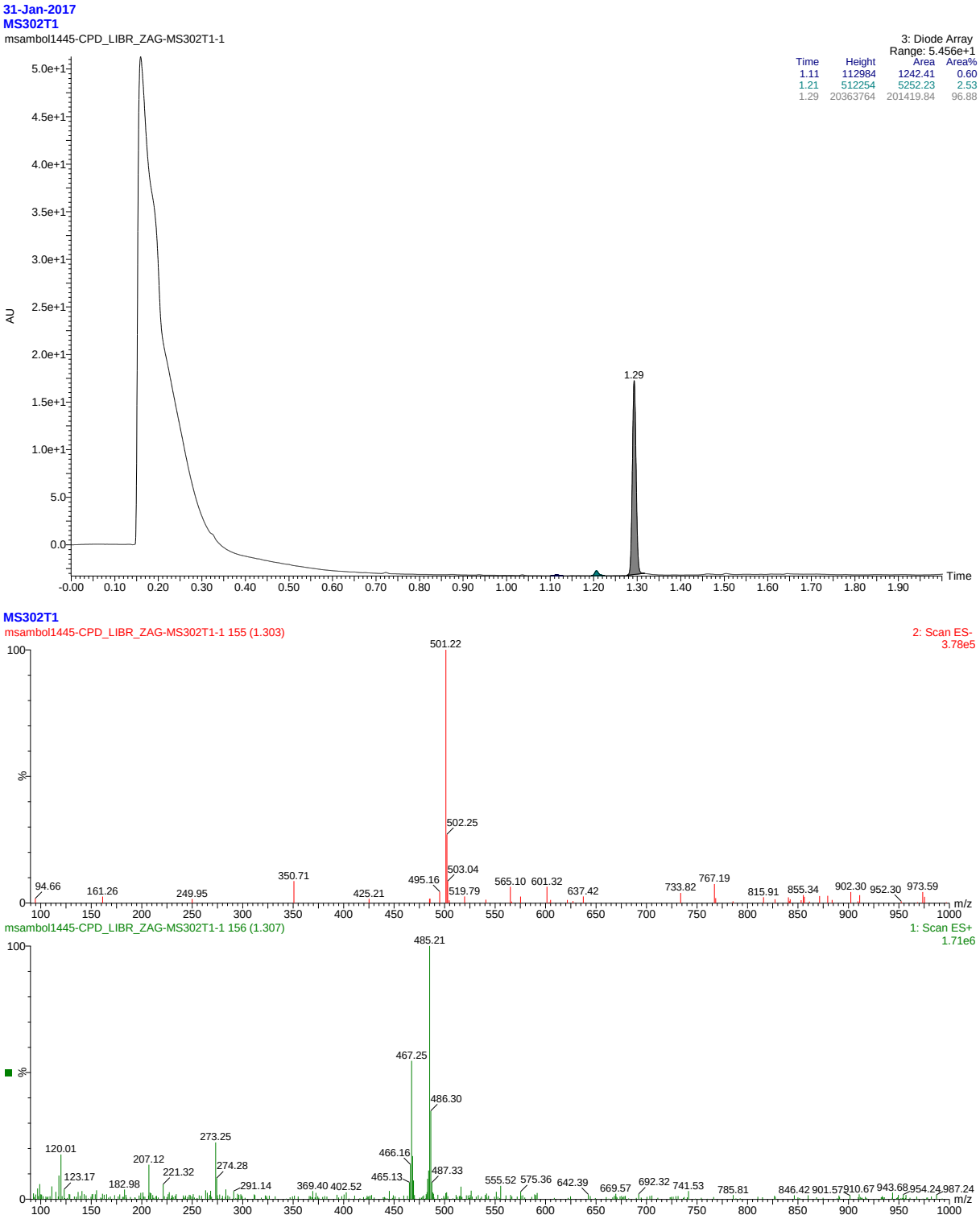


Prilog 118. Kromatogram i maseni spektar spoja **37**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**37**) = 1,59 min, *m*/*z* = 457,24 $[M–H]^-$, nađeno 457,71; *m*/*z* = 423,23 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 423,69.

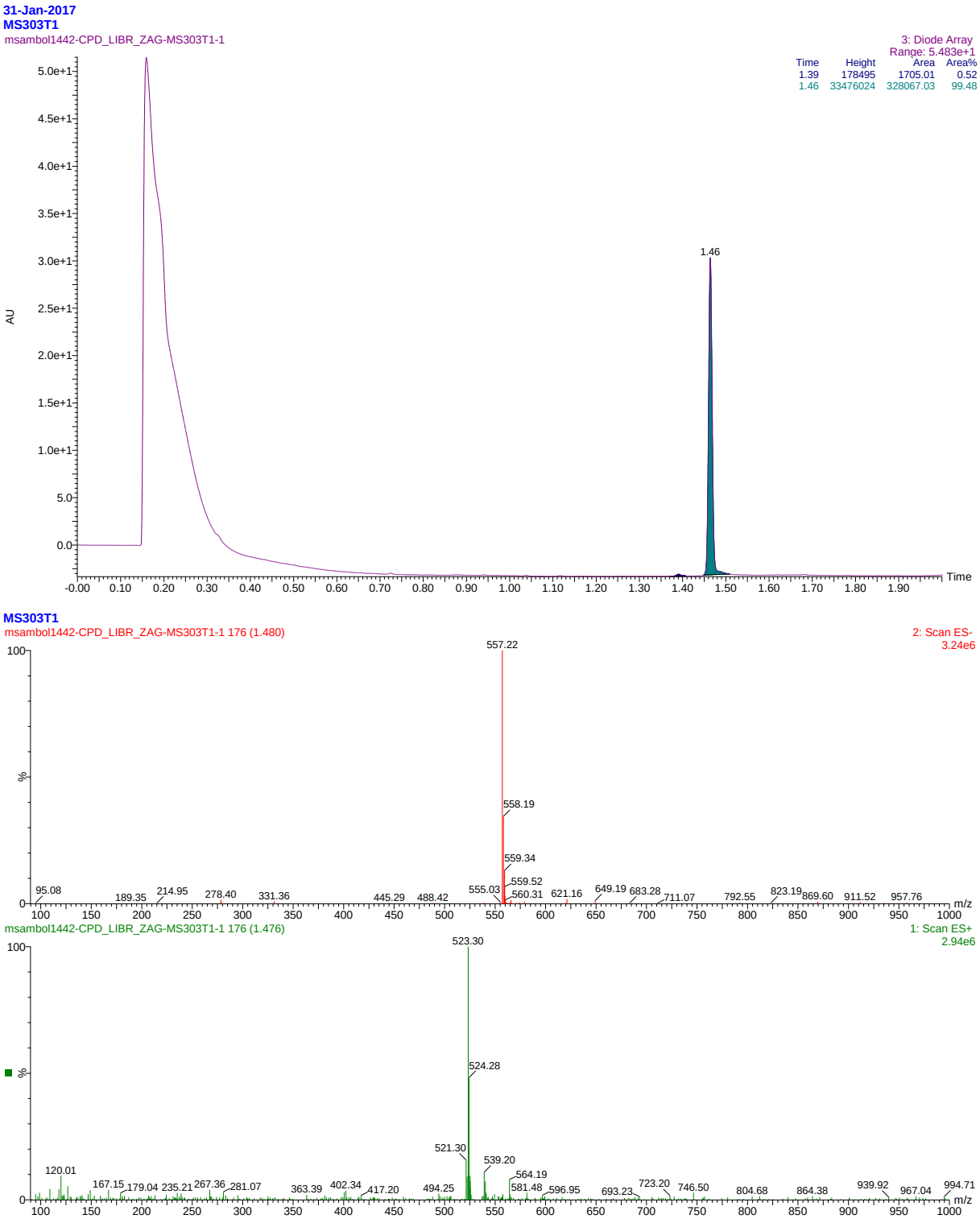


8.2.2. UPLC-MS/UV kromatogrami antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

Prilog 119. Kromatogram i maseni spektar spoja **38**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**38**) = 1,29 min, *m*/*z* = 501,21 $[M–H]^-$, nađeno 501,22; *m*/*z* = 485,21 $[M–OH]^+$ nađeno 485,21.

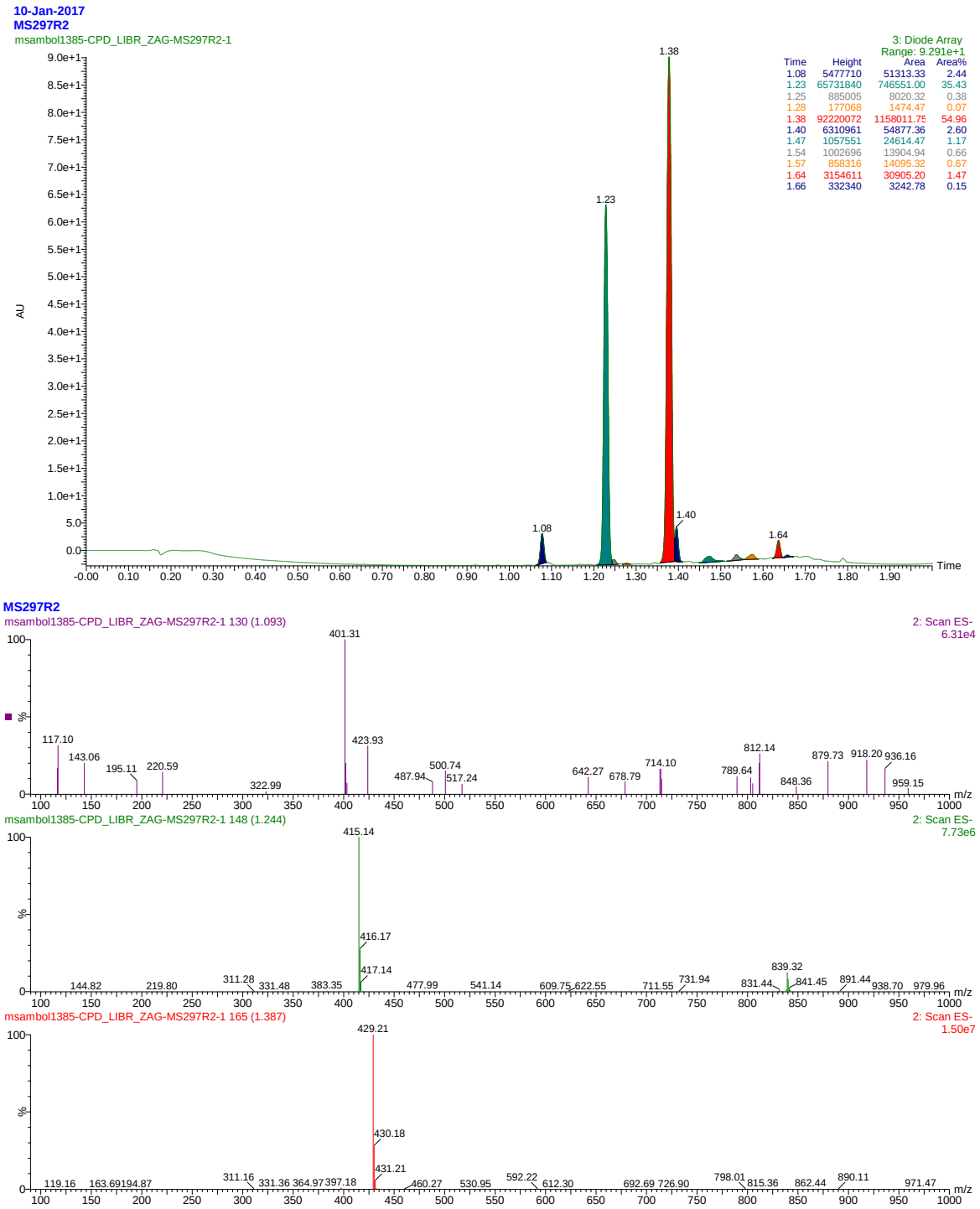


Prilog 120. Kromatogram i maseni spektar spoja **39**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**39**) = 1,46 min, *m*/*z* = 557,27 $[M–H]^-$, nađeno 557,22; *m*/*z* = 523,26 $[M–OH–H_2O]^+$ nađeno 523,30.

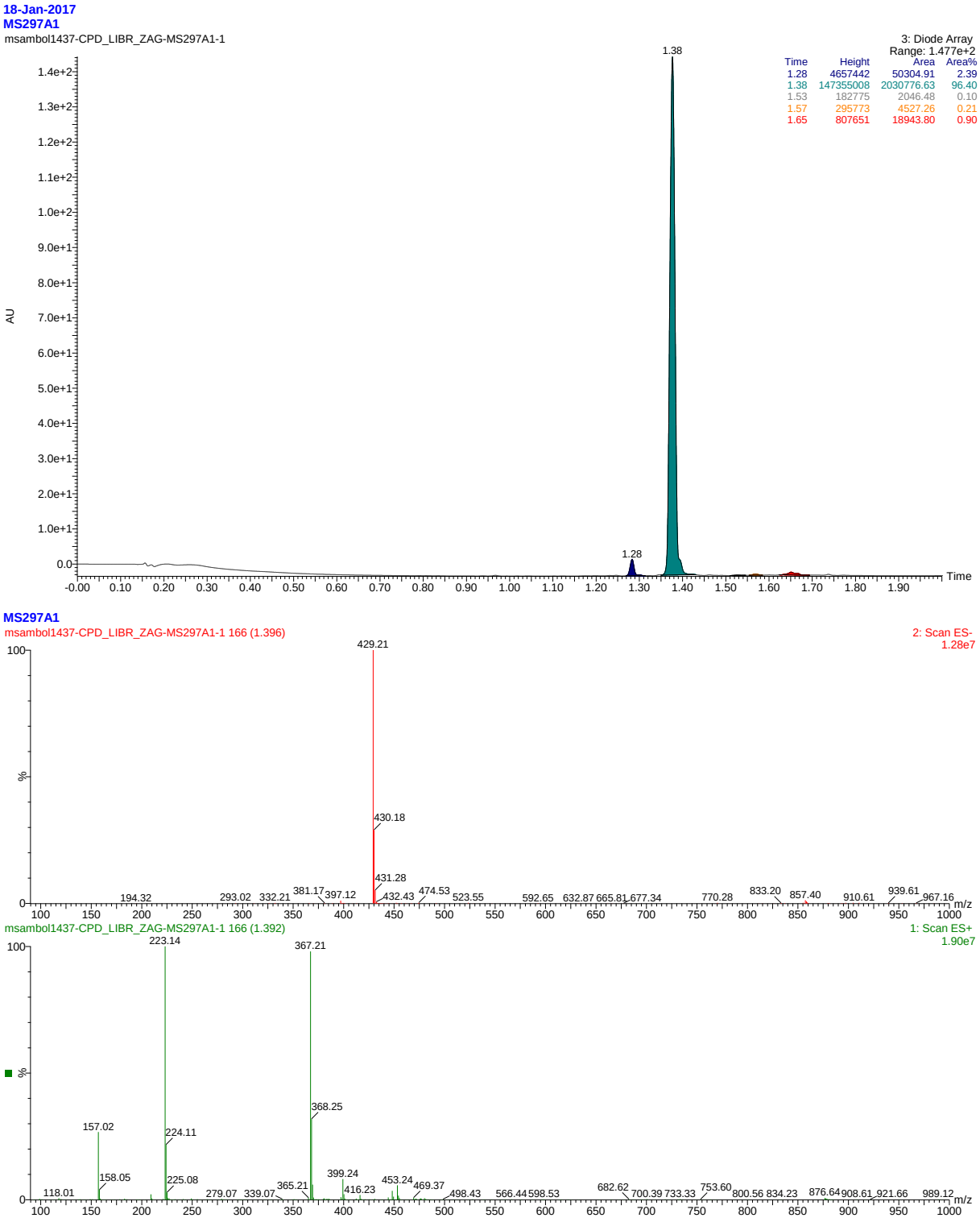


8.2.3. UPLC-MS/UV kromatogrami fotometanolize naftolnih homobifunkcionalnih spojeva i izoliranih fotoprodukata

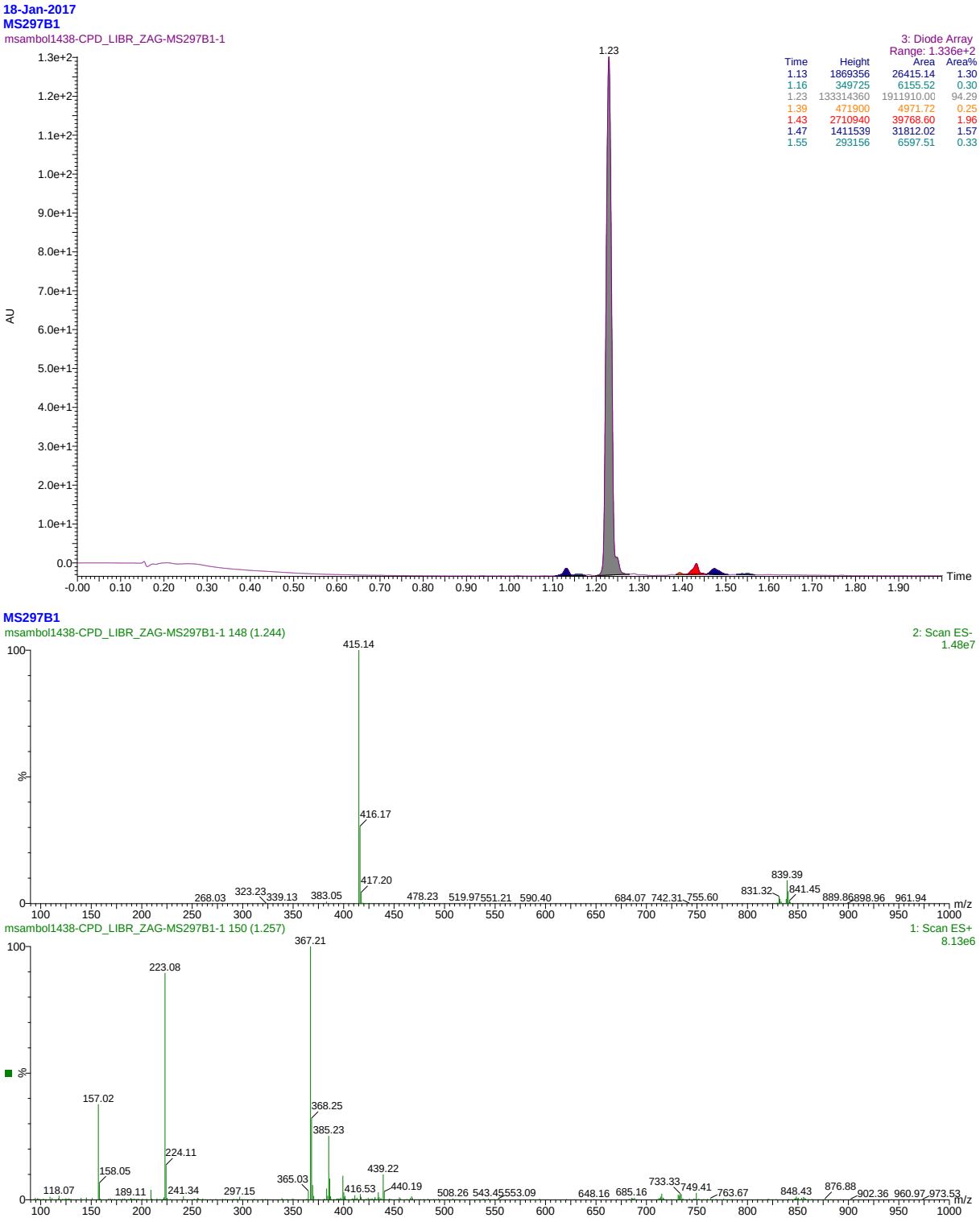
Prilog 121. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (15×8 W, λ_{max} = 300 nm, 60 min) spoja **33**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**33**) = 1,08 min, *m/z* = 401,18 $[M–H]^-$ nađeno 401,31; t_R (**41**) = 1,23 min, *m/z* = 415,19 $[M–H]^-$ nađeno 415,14; t_R (**40**) = 1,38 min, *m/z* = 429,21 $[M–H]^-$ nađeno 429,21.



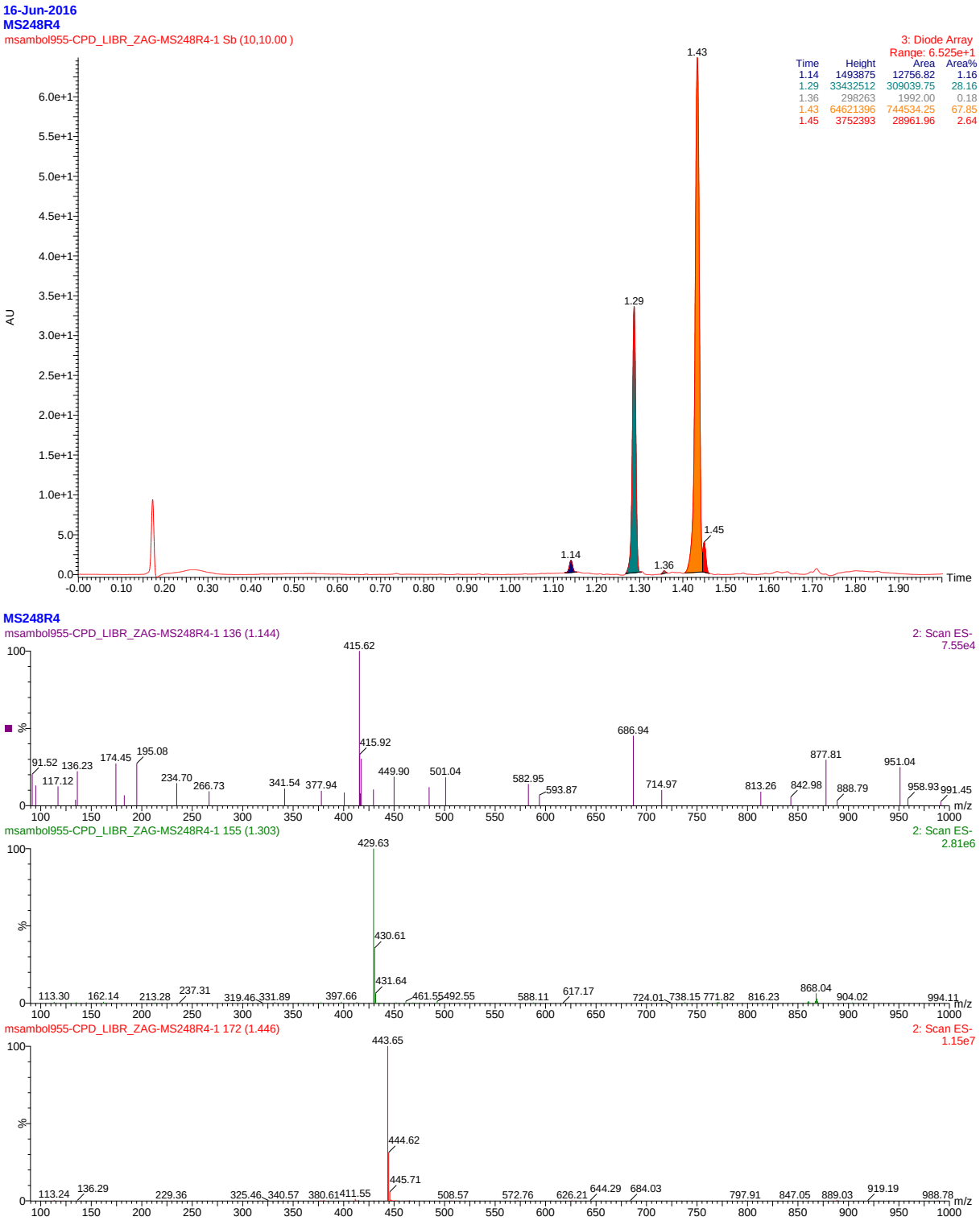
Prilog 122. Kromatogram i maseni spektar dimetoksi-fotoprodukta **40**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**40**) = 1,38 min, *m*/*z* = 429,21 $[M–H]^-$, nađeno 429,21; *m*/*z* = 367,17 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 367,21.



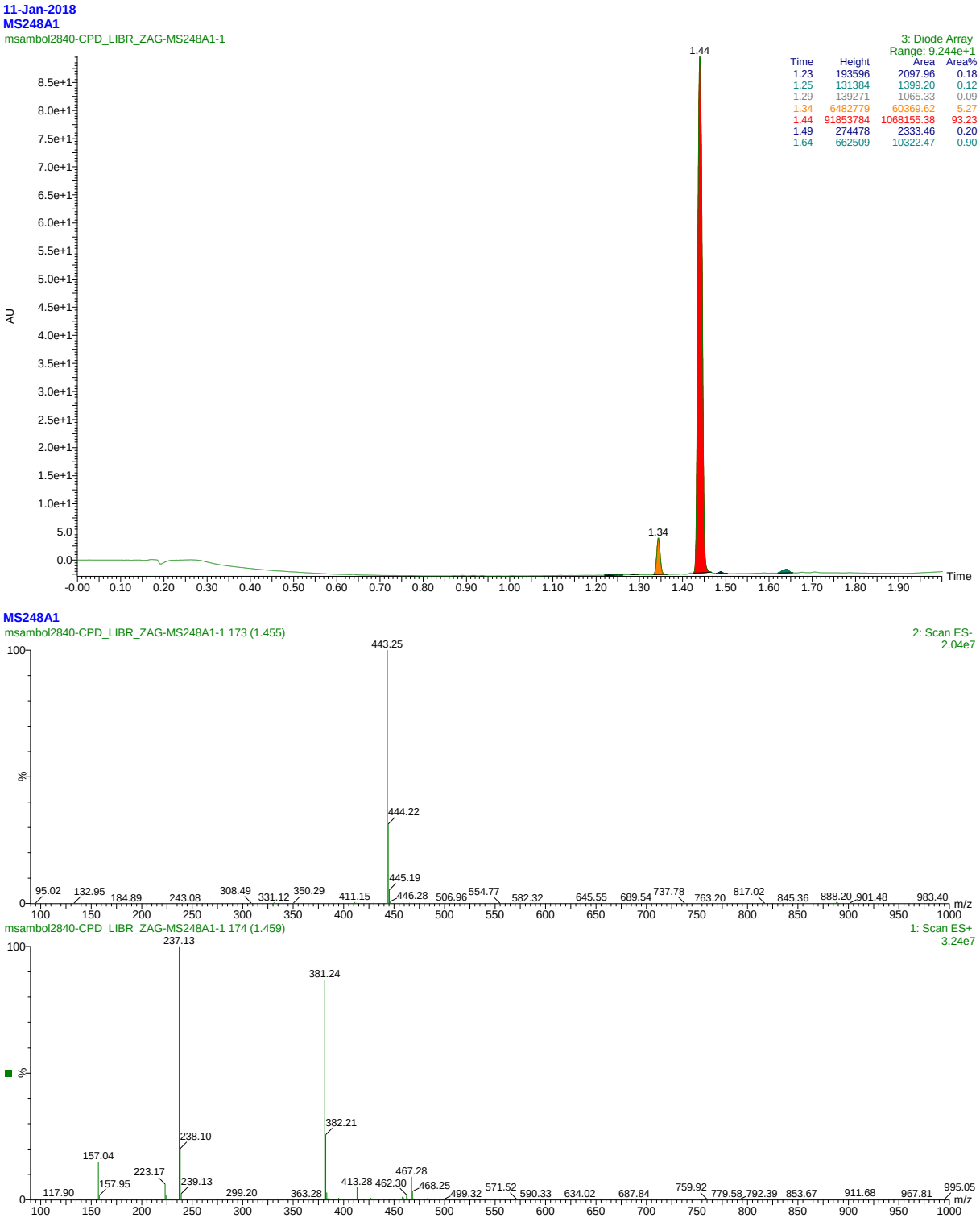
Prilog 123. Kromatogram i maseni spektar metoksi-fotoprodukta **41**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**41**) = 1,23 min, *m*/*z* = 415,19 $[M–H]^-$, nađeno 415,14; *m*/*z* = 367,17 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 367,21.



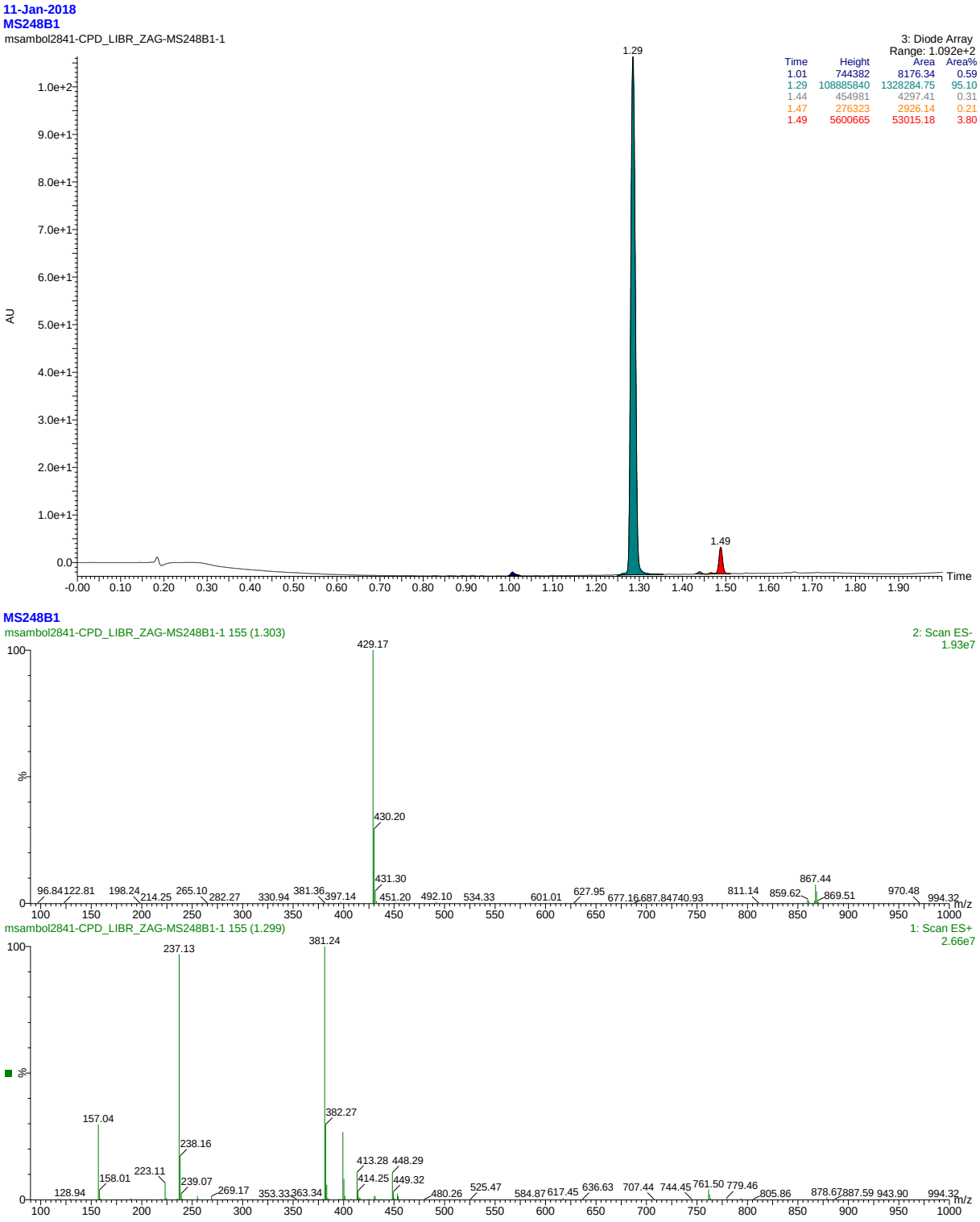
Prilog 124. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (10×8 W, λ_{max} = 300 nm, 60 min) spoja **34**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**34**) = 1,14 min, *m/z* = 415,19 $[M–H]^-$ nađeno 415,62; t_R (**43**) = 1,29 min, *m/z* = 429,21 $[M–H]^-$ nađeno 429,63; t_R (**42**) = 1,43 min, *m/z* = 443,22 $[M–H]^-$ nađeno 443,65.



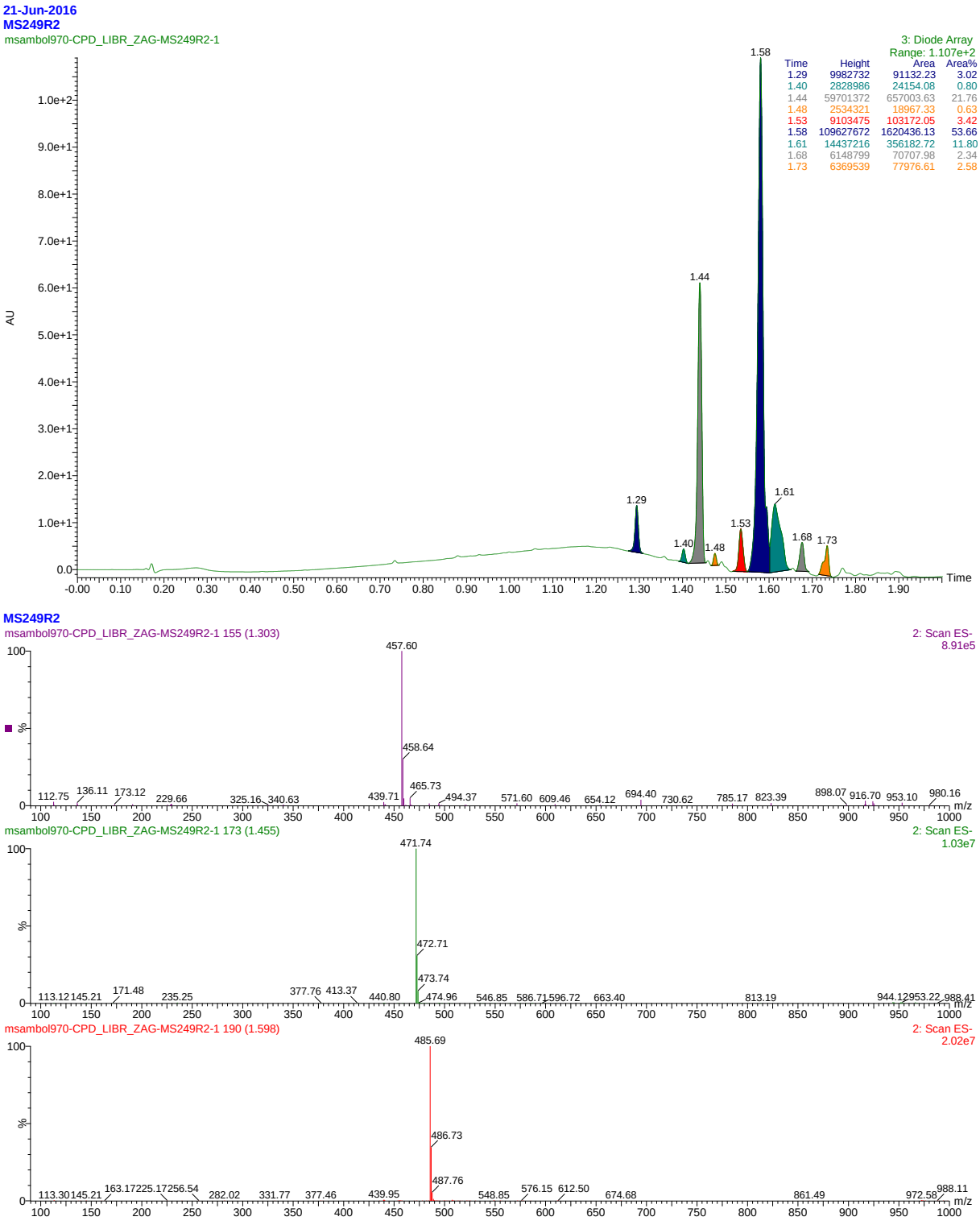
Prilog 125. Kromatogram i maseni spektar dimetoksi-fotoprodukta **42**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**42**) = 1,44 min, *m*/*z* = 443,22 $[M–H]^-$, nađeno 443,25; *m*/*z* = 381,18 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 381,24.



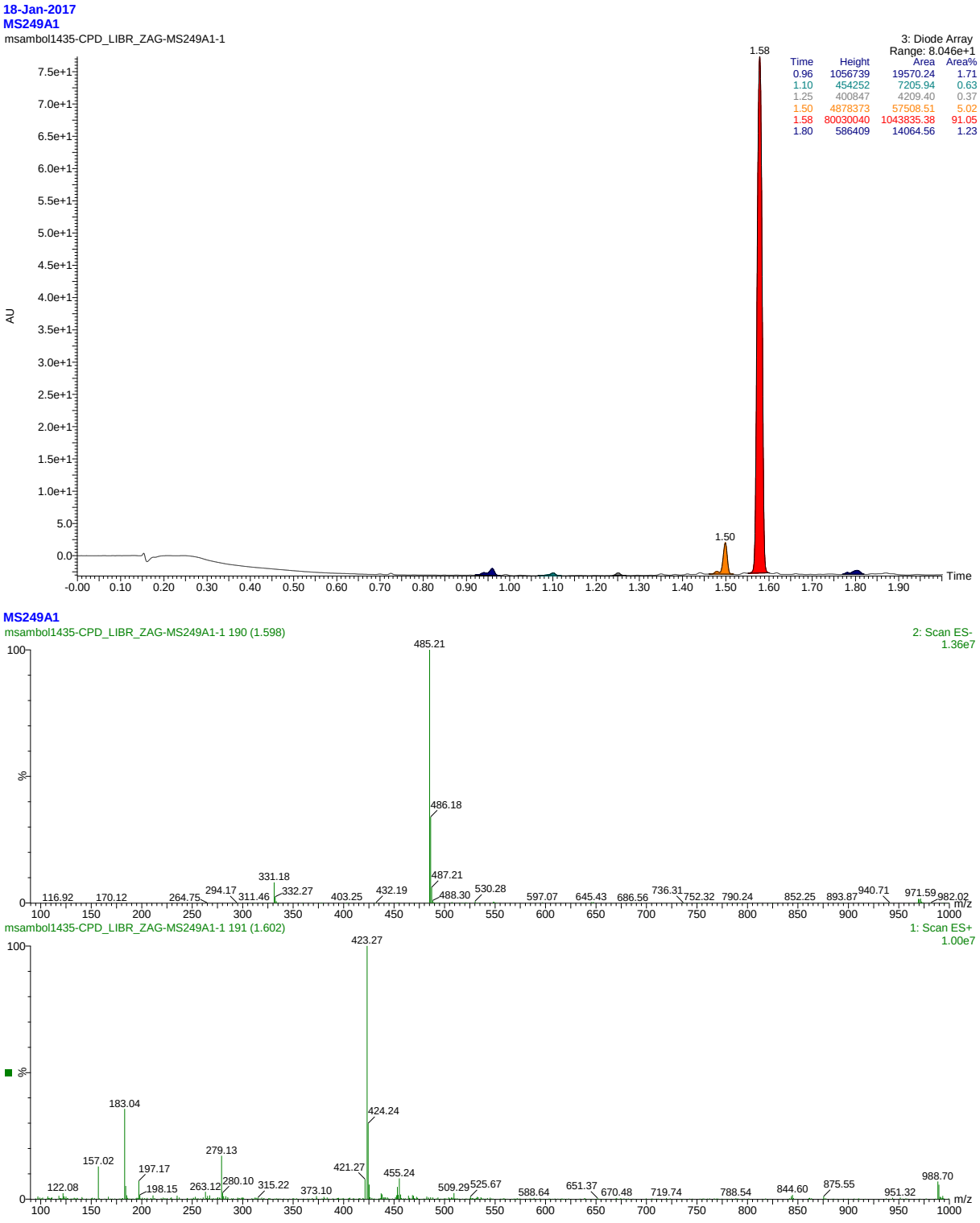
Prilog 126. Kromatogram i maseni spektar metoksi–fotoprodukta **43**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**43**) = 1,29 min, *m*/*z* = 429,21 $[M–H]^-$, nađeno 429,17; *m*/*z* = 381,18 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 381,24.



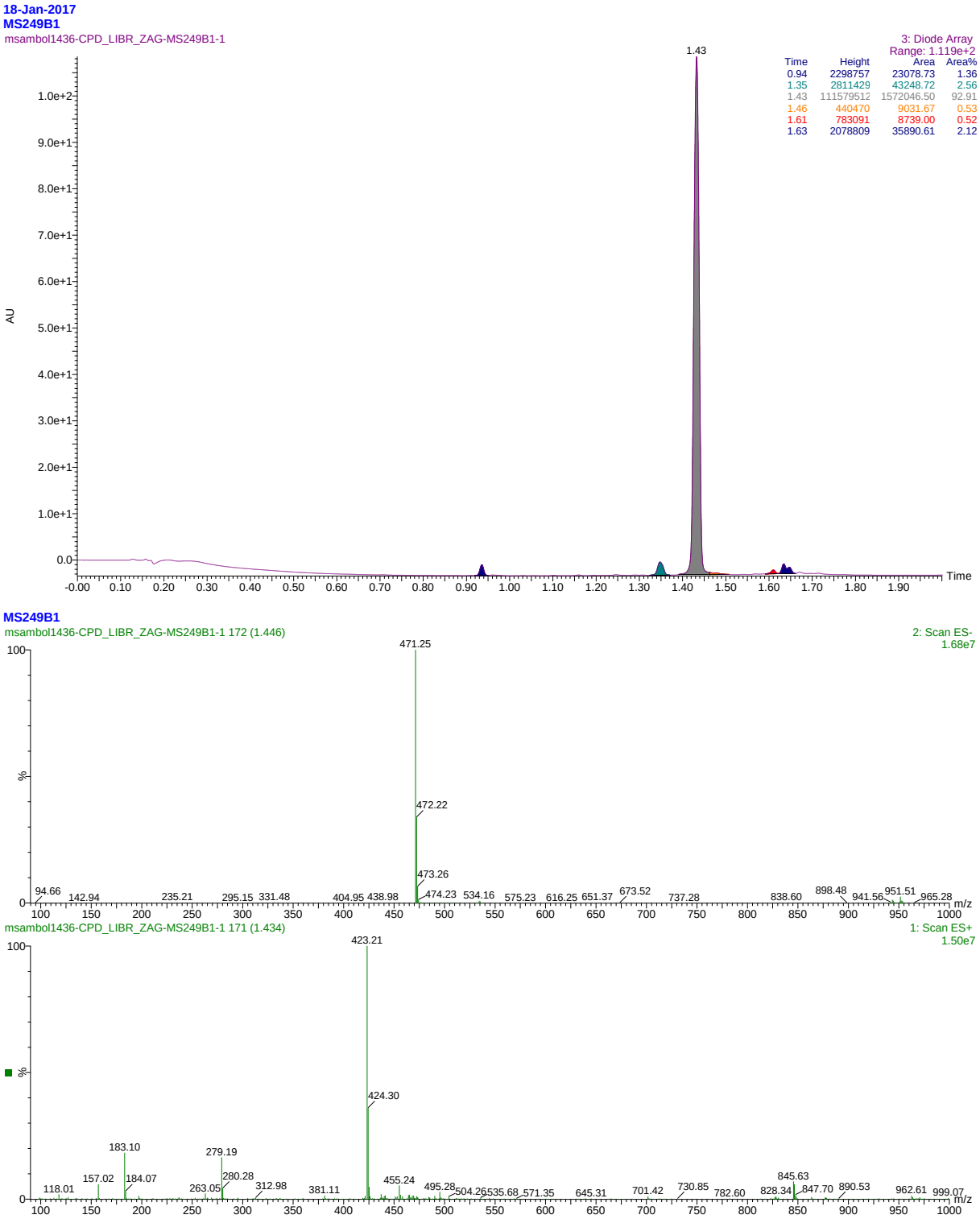
Prilog 127. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (10×8 W, λ_{max} = 300 nm, 60 min) spoja **37**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**37**) = 1,29 min, *m/z* = 457,24 $[M–H]^-$ nađeno 457,60; t_R (**45**) = 1,44 min, *m/z* = 471,25 $[M–H]^-$ nađeno 471,74; t_R (**44**) = 1,58 min, *m/z* = 485,27 $[M–H]^-$ nađeno 485,69.



Prilog 128. Kromatogram i maseni spektar dimetoksi-fotoprodukta **44**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**44**) = 1,58 min, *m*/*z* = 485,27 $[M–H]^-$, nađeno 485,21; *m*/*z* = 423,23 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 423,27.

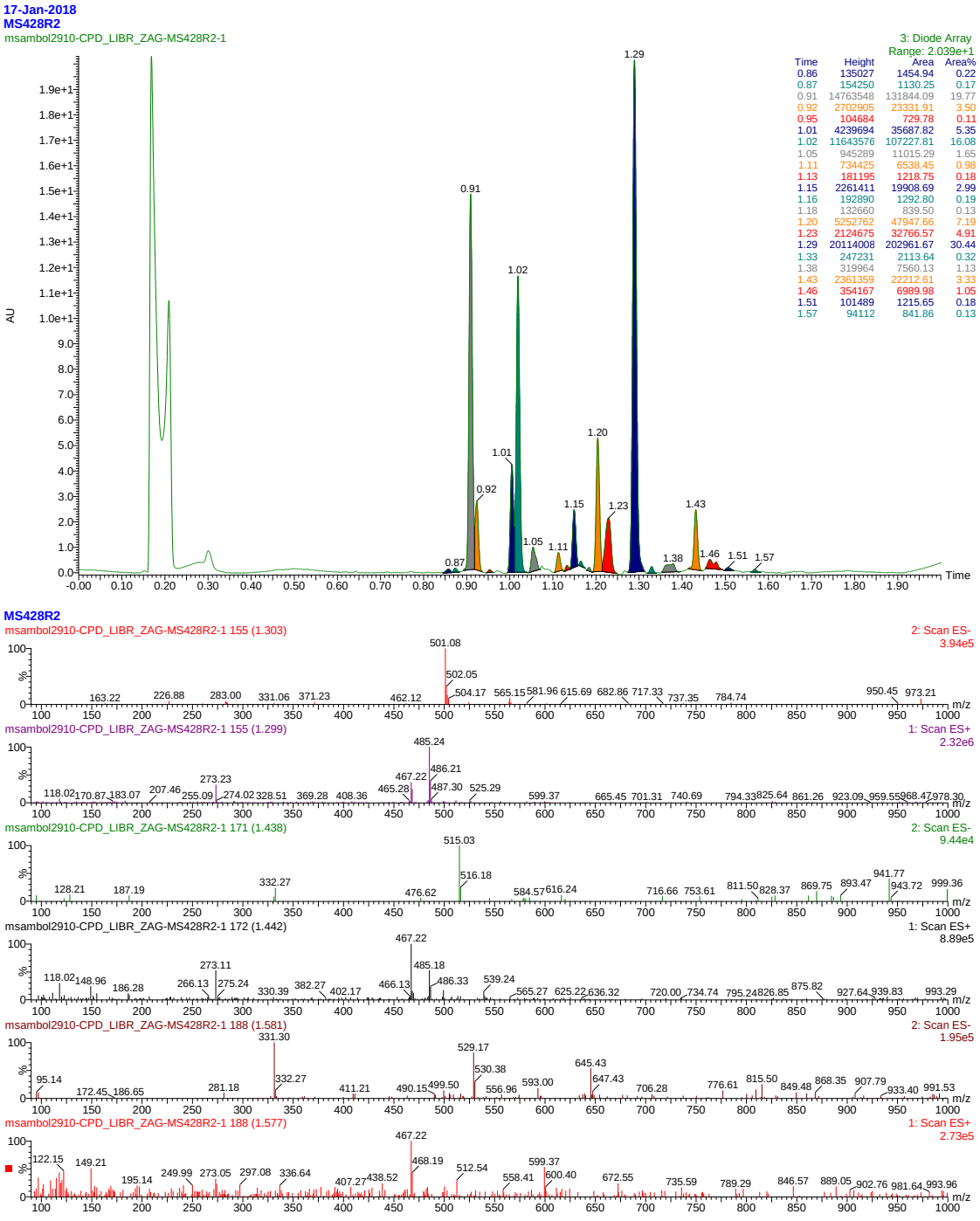


Prilog 129. Kromatogram i maseni spektar metoksi-fotoprodukta **45**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**45**) = 1,43 min, *m*/*z* = 471,25 $[M–H]^-$, nađeno 471,25; *m*/*z* = 423,23 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 423,21.

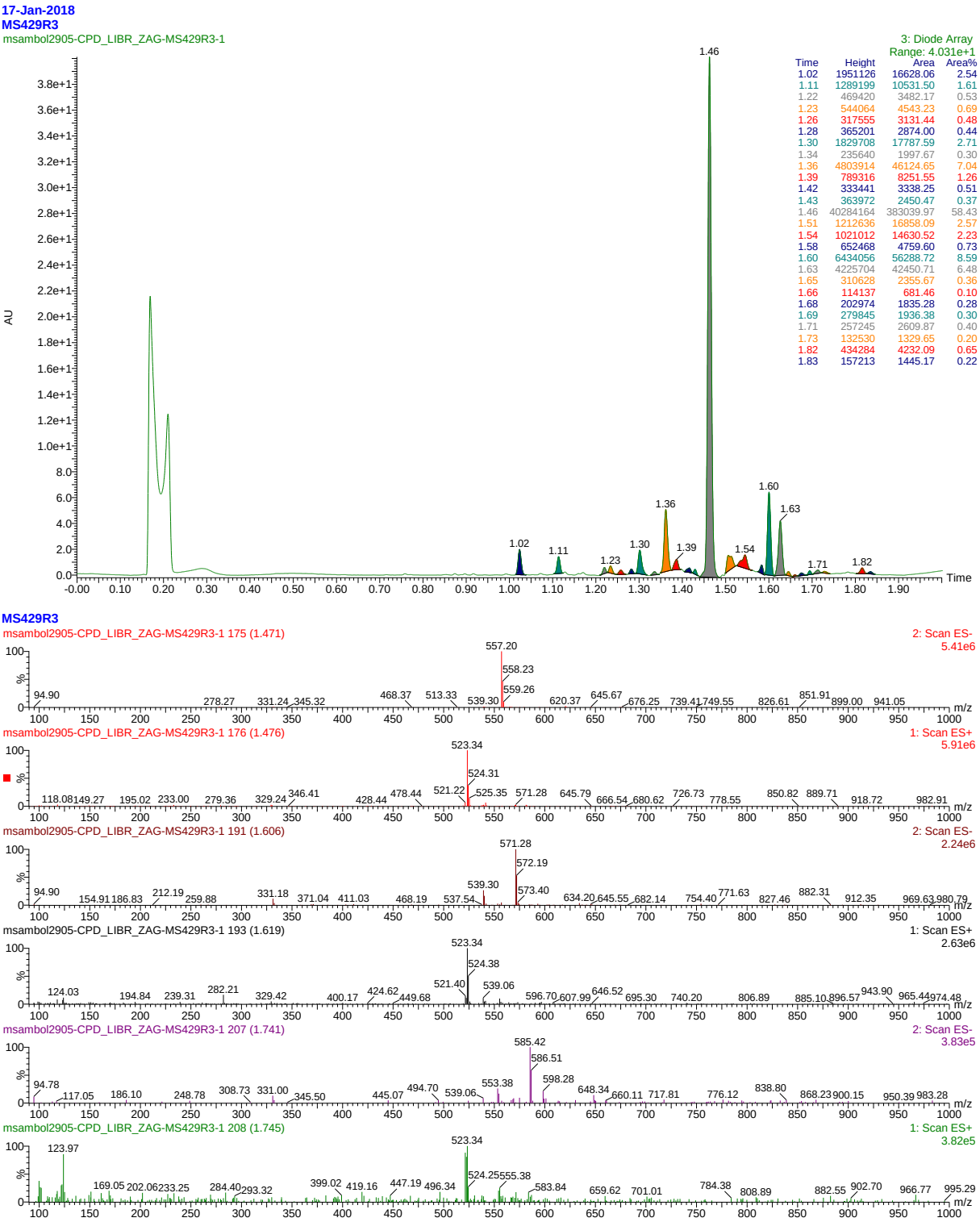


8.2.4. UPLC-MS/UV kromatogrami fotometanolize antrolnih homobifunkcionalnih spojeva

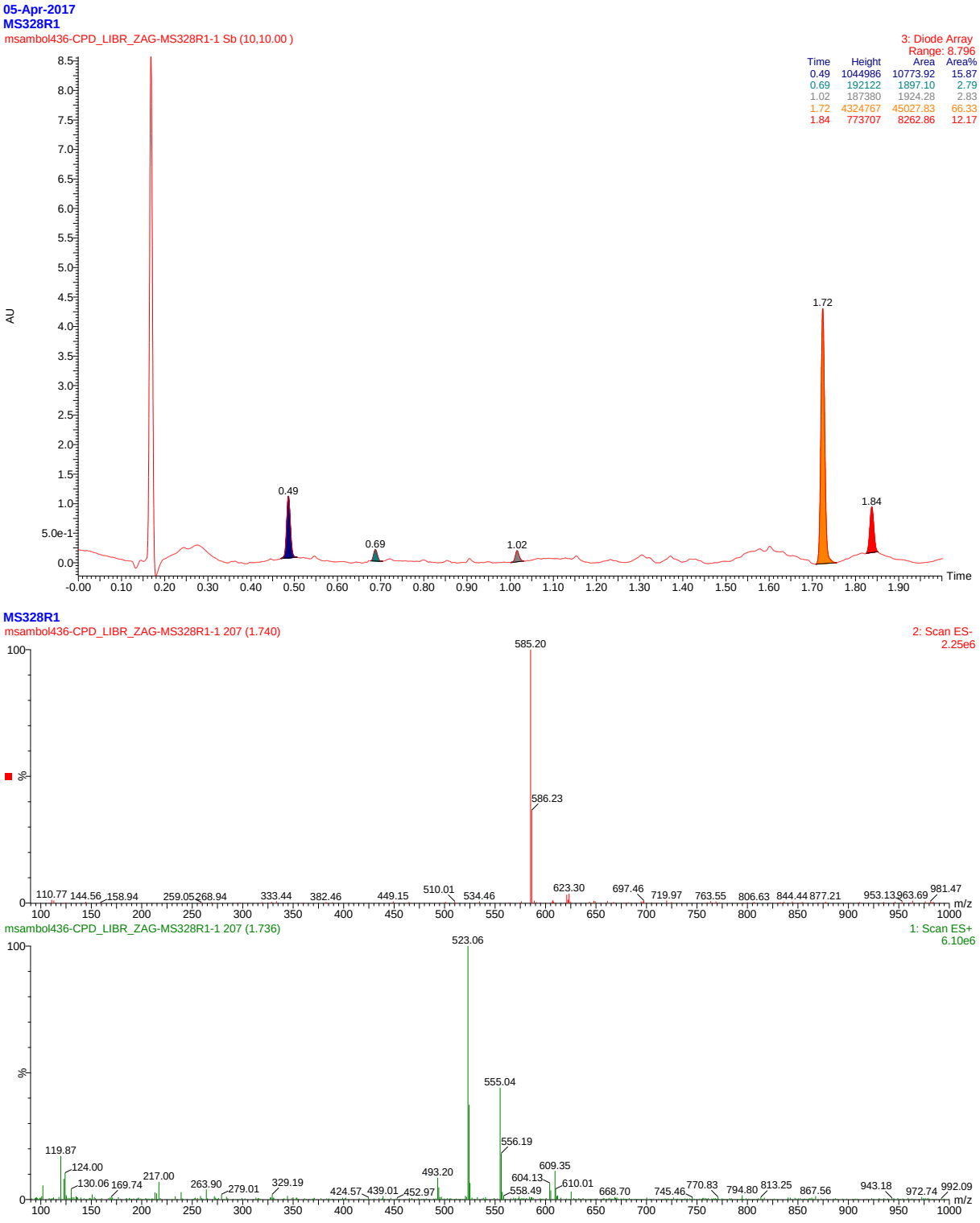
Prilog 130. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (1×8 W, λ_{max} = 350 nm, 10 min) spoja **38**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**38**) = 1,29 min, *m*/*z* = 501,21 $[M–H]^-$, nađeno 501,08; t_R (**47**) = 1,43 min, *m*/*z* = 515,22 $[M–H]^-$, nađeno 515,03; *m*/*z* = 485,21 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 485,18; *m*/*z* = 467,20 $[M–OH–CH_3OH]^+$, nađeno 467,22; t_R (**48**) = 1,57 min, *m*/*z* = 529,24 $[M–H]^-$, nađeno 529,17; *m*/*z* = 467,20 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 467,22.



Prilog 131. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (1×8 W, λ_{max} = 350 nm, 10 min) spoja **39**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**39**) = 1,46 min, *m*/*z* = 557,27 $[M–H]^-$, nađeno 557,20; t_R (**49**) = 1,60 min, *m*/*z* = 571,29 $[M–H]^-$, nađeno 571,28; *m*/*z* = 523,26 $[M–OCH_3–H_2O]^+$, nađeno 523,34; t_R (**46**) = 1,71 min, *m*/*z* = 585,30 $[M–H]^-$, nađeno 585,42; *m*/*z* = 523,26 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 523,34.

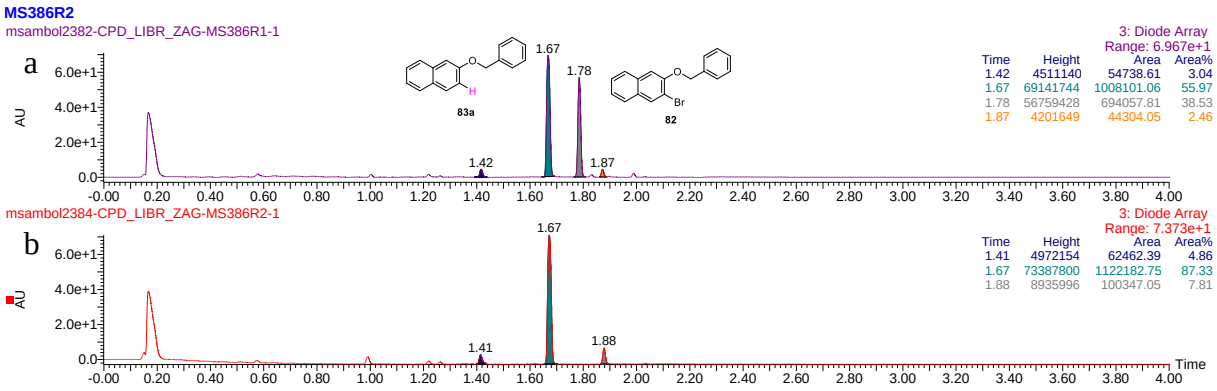


Prilog 132. Kromatogram i maseni spektar reakcijske smjese priprave dimetoksi-spoja **46** kiselo-kataliziranom dehidratacijom alkohola **39**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**46**) = 1,72 min, *m*/*z* = 585,30 $[M–H]^-$, nađeno 585,20; *m*/*z* = 523,26 $[M–OCH_3–CH_3OH]^+$, nađeno 523,06.

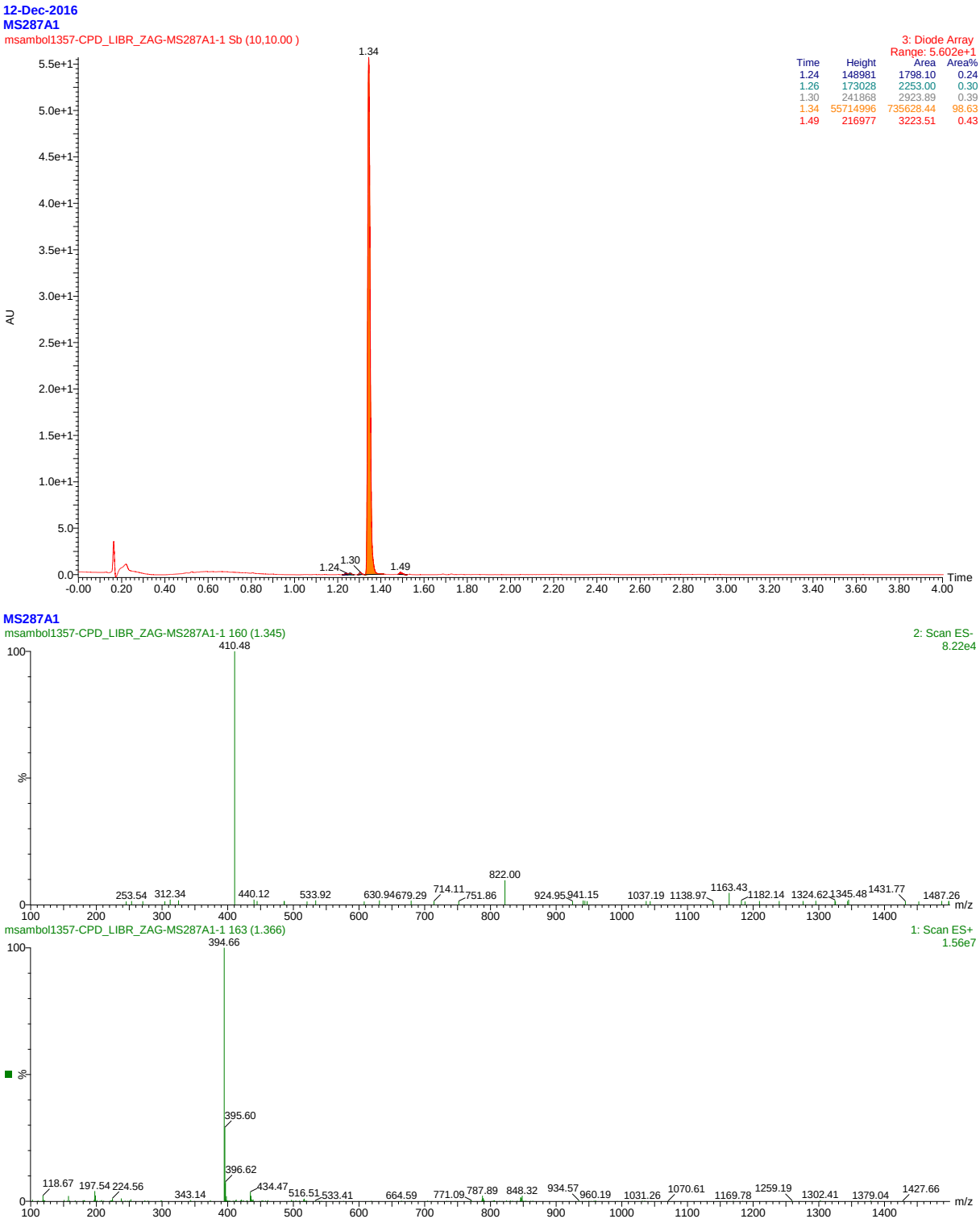


8.2.5. UPLC-MS/UV kromatogrami heterobifunkcionalnih – 1,8-naftalimid-naftolnih spojeva

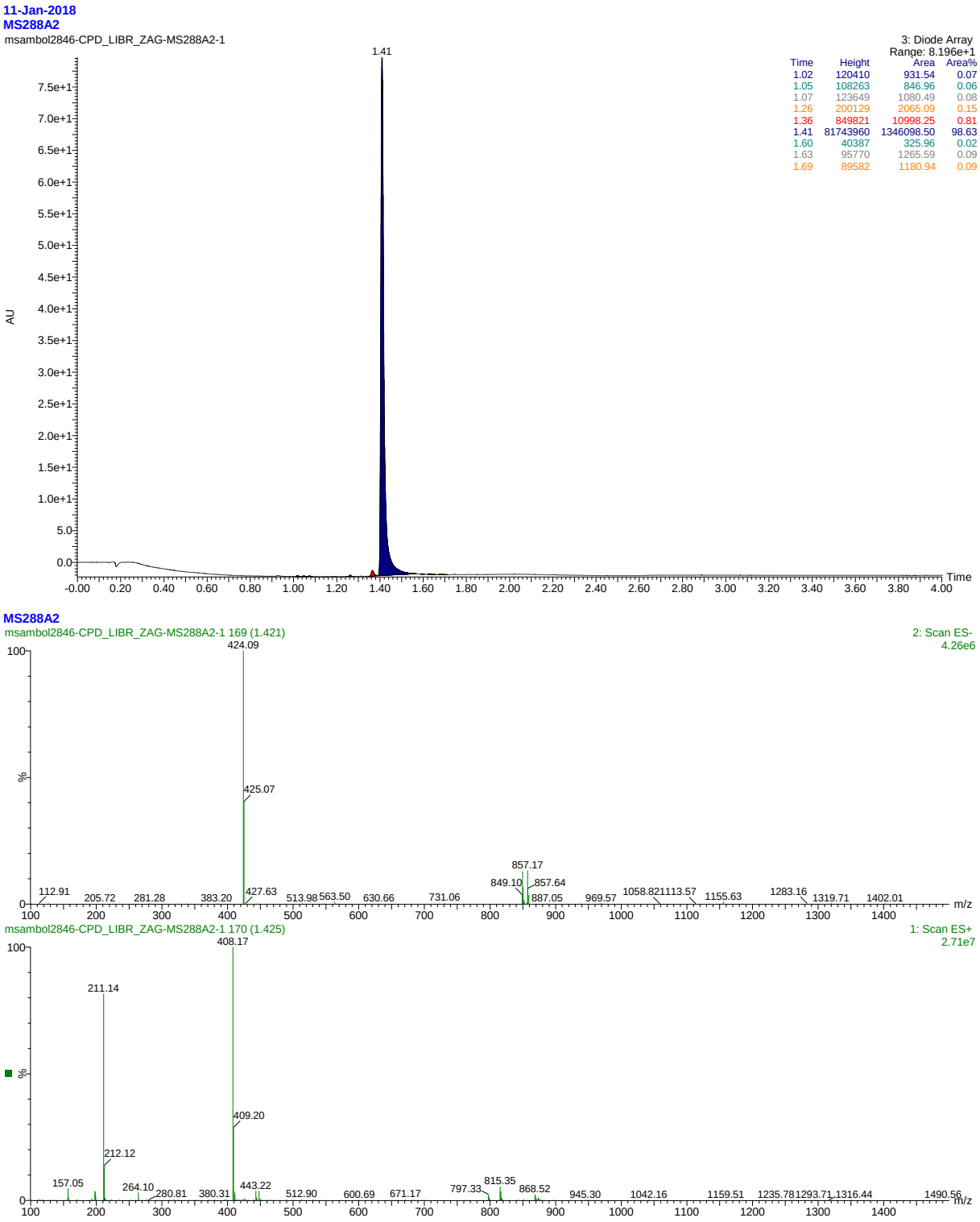
Prilog 133. Kromatogram reakcijske smjese priprave Grignardovog reagensa **83**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**82**) = 1,78 min, t_R (**83a**) = 1,67 min. (a) Nakon 1,5 h miješanja reakcijske smjese na temperaturi refluksa; (b) nakon ukupno 3,5 h miješanja na temperaturi refluksa



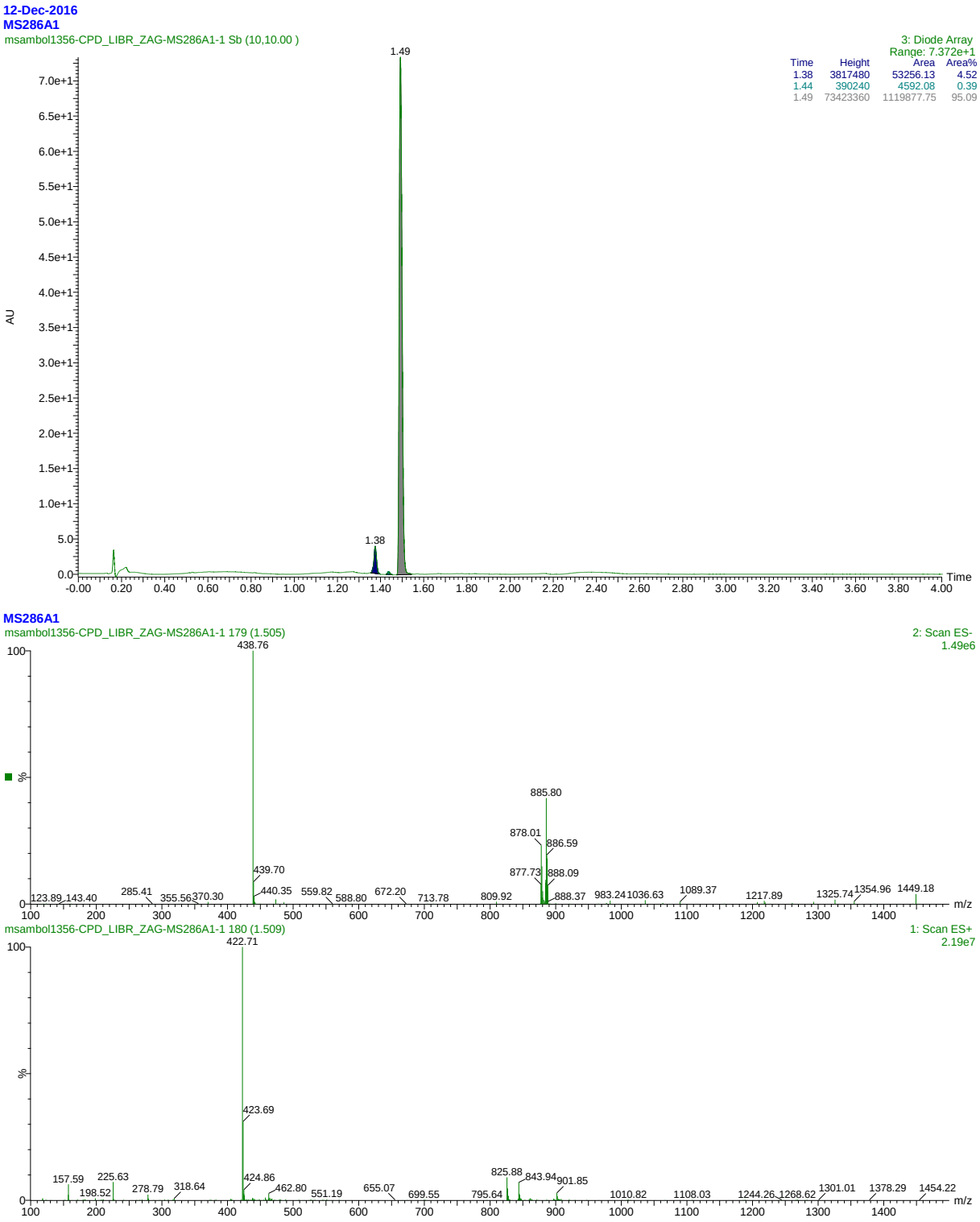
Prilog 134. Kromatogram i maseni spektar spoja **94**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**94**) = 1,34 min, *m*/*z* = 410,14 $[M–H]^-$, nađeno 410,48; *m*/*z* = 394,14 $[M–OH]^+$, nađeno 394,66.



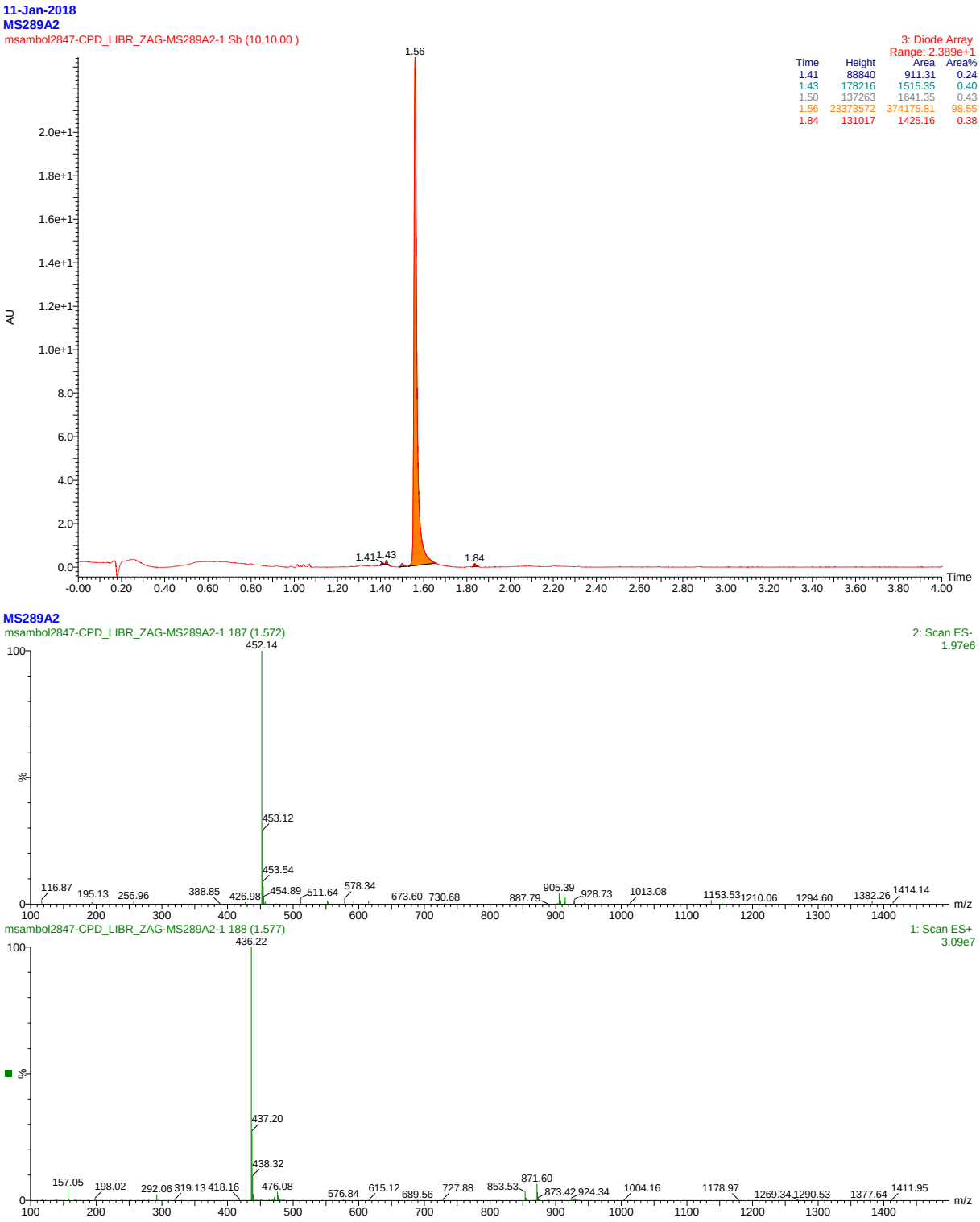
Prilog 135. Kromatogram i maseni spektar spoja **95**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**95**) = 1,41 min, *m*/*z* = 424,16 $[M–H]^-$, nađeno 424,09; *m*/*z* = 408,16 $[M–OH]^+$, nađeno 408,17.



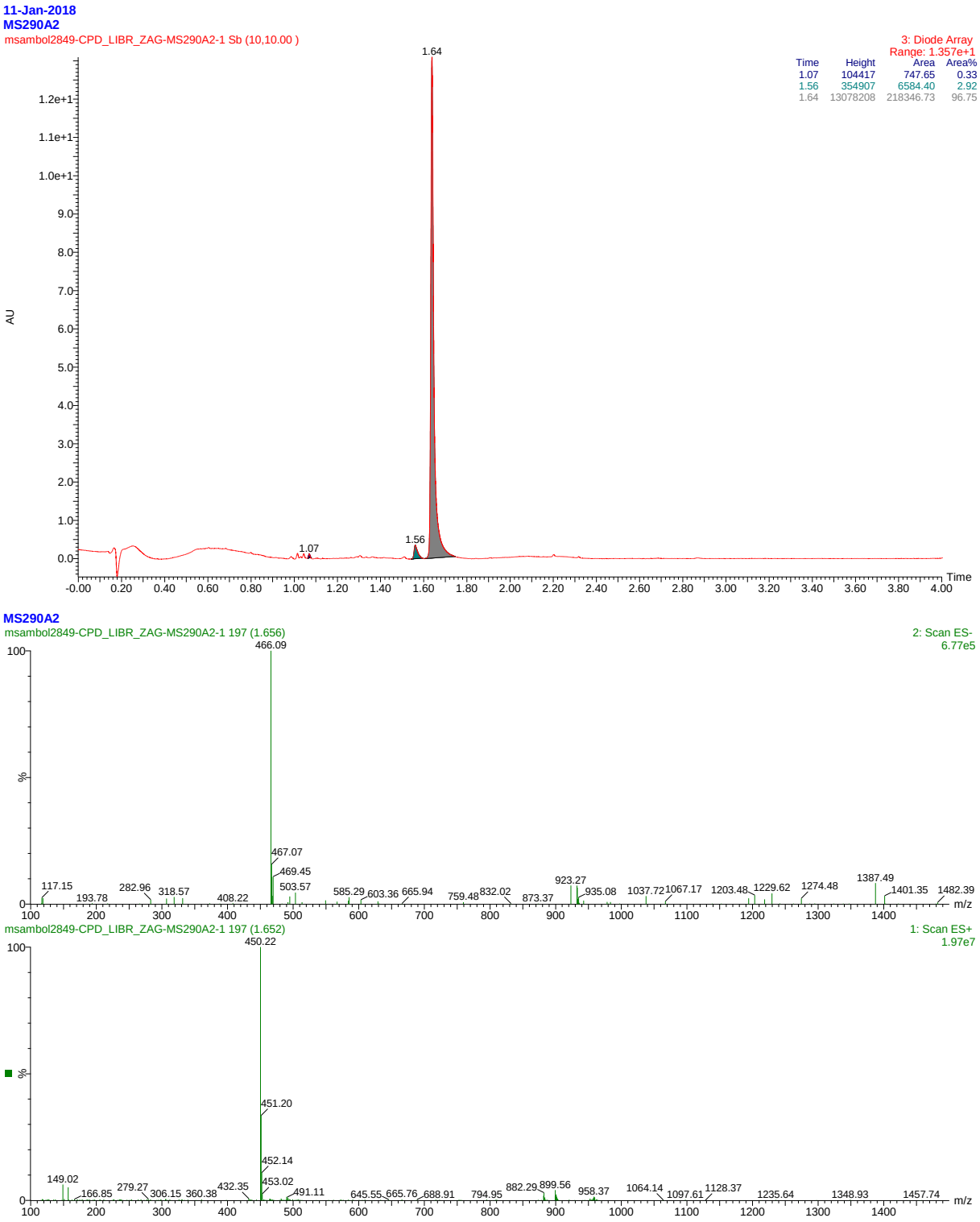
Prilog 136. Kromatogram i maseni spektar spoja **96**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**96**) = 1,56 min, *m*/*z* = 452,19 $[M–H]^-$, nađeno 452,14; *m*/*z* = 436,19 $[M–OH]^+$, nađeno 436,22.



Prilog 137. Kromatogram i maseni spektar spoja **97**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**97**) = 1,56 min, *m*/*z* = 452,19 $[M–H]^-$, nađeno 452,14; *m*/*z* = 436,19 $[M–OH]^+$, nađeno 436,22.

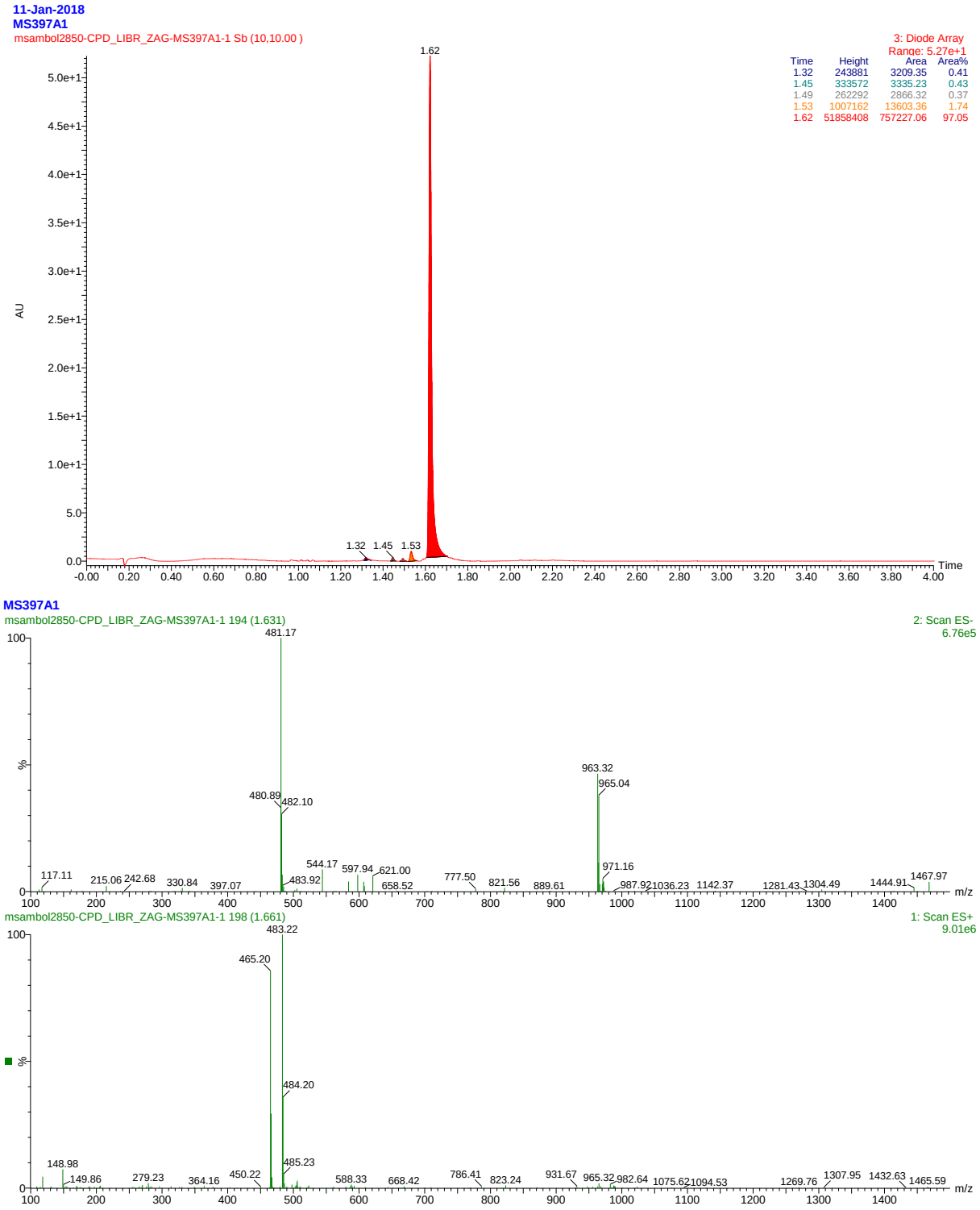


Prilog 138. Kromatogram i maseni spektar spoja **98**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**98**) = 1,64 min, *m*/*z* = 466,20 $[M–H]^-$, nađeno 466,09; *m*/*z* = 450,21 $[M–OH]^+$, nađeno 450,22.

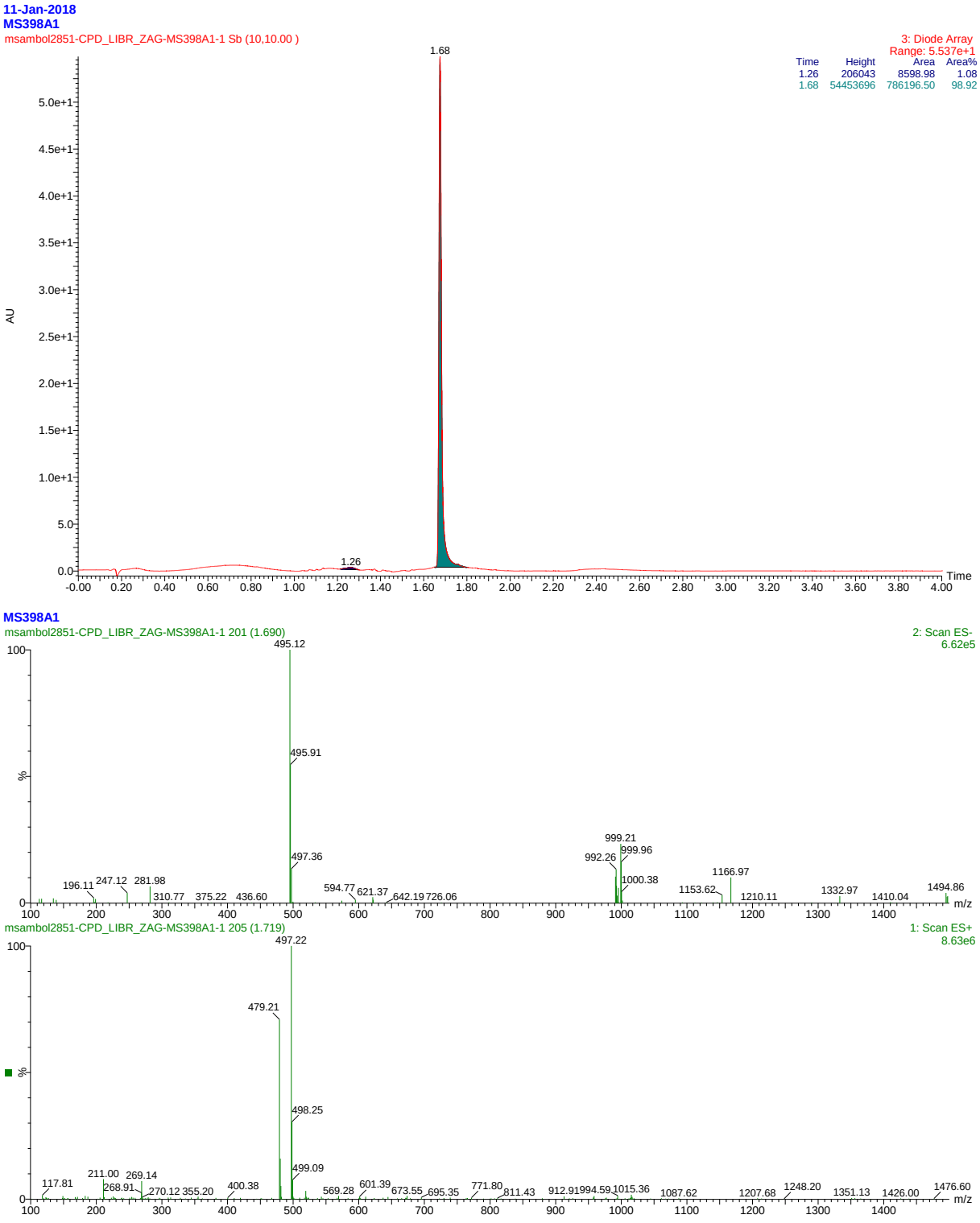


8.2.6. UPLC-MS/UV kromatogrami heterobifunkcionalnih - 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftolnih spojeva

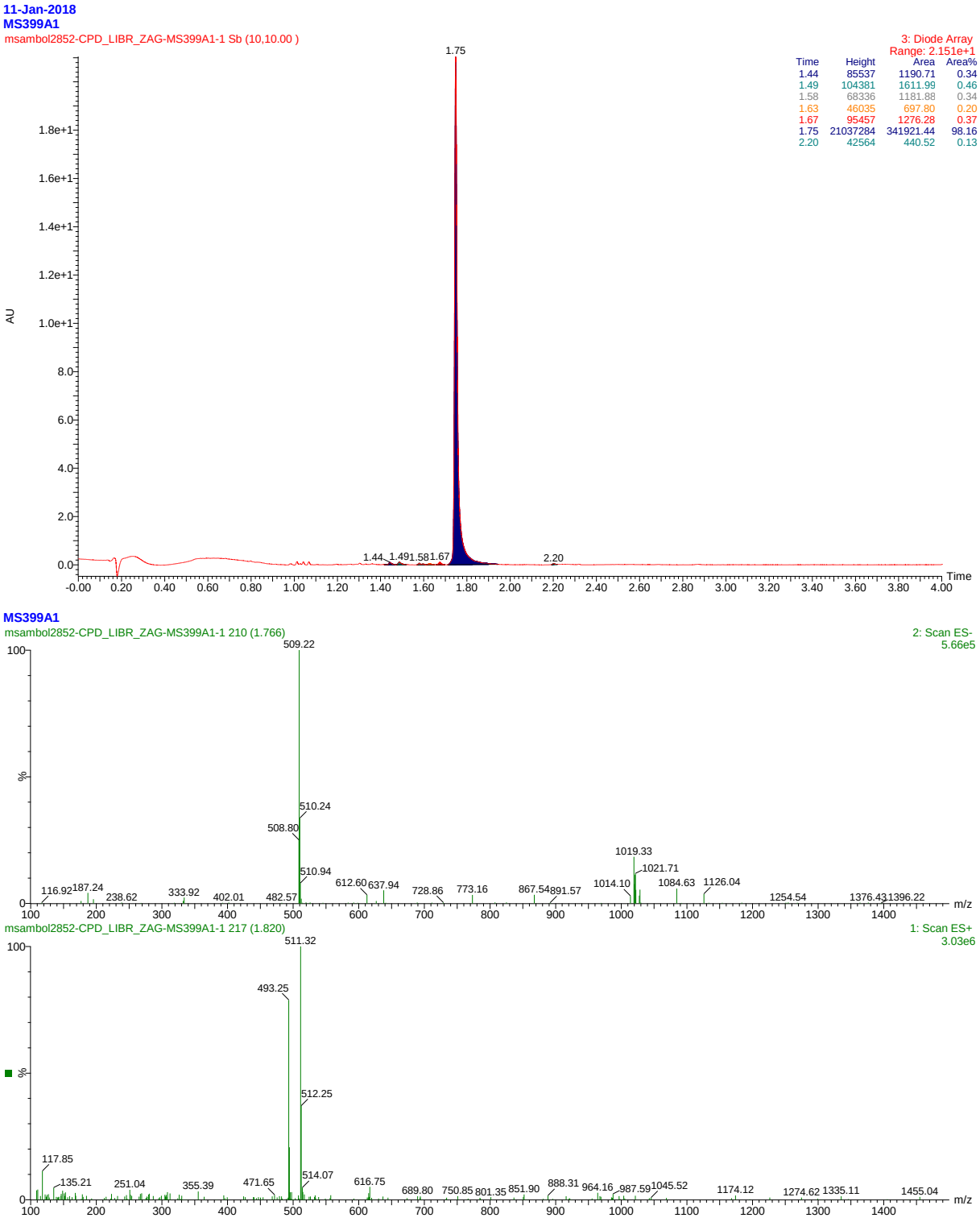
Prilog 139. Kromatogram i maseni spektar spoja **99**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**99**) = 1,62 min, *m*/*z* = 481,21 $[M–H]^-$, nađeno 481,17; *m*/*z* = 483,23 $[M+H]^+$, nađeno 483,22; *m*/*z* = 465,20 $[M–OH]^+$, nađeno 465,20.



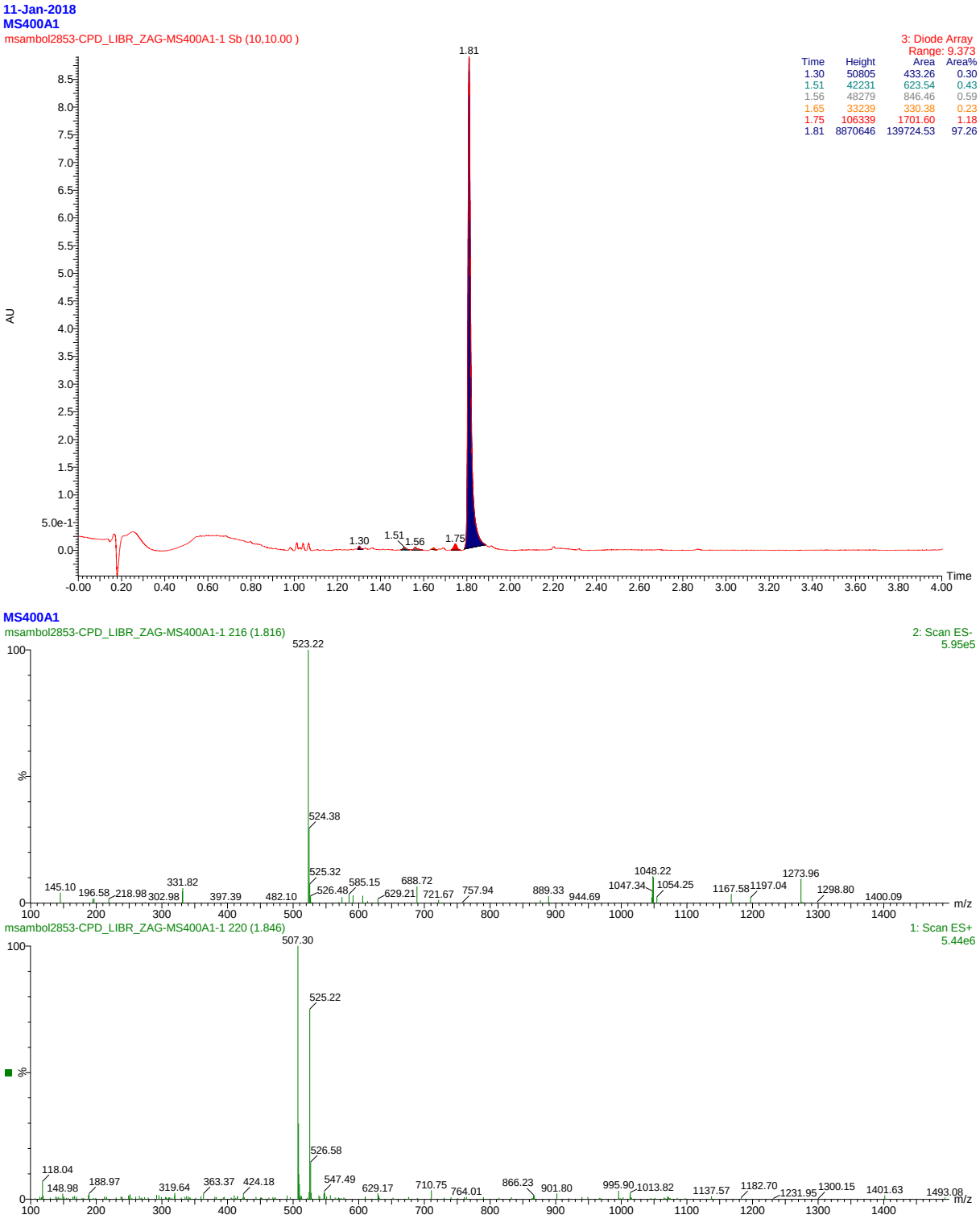
Prilog 140. Kromatogram i maseni spektar spoja **100**.UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**100**) = 1,68 min, *m*/*z* = 495,23 $[M–H]^-$, nađeno 495,12; *m*/*z* = 497,24 $[M+H]^+$, nađeno 497,22; *m*/*z* = 479,23 $[M–OH]^+$, nađeno 479,21.



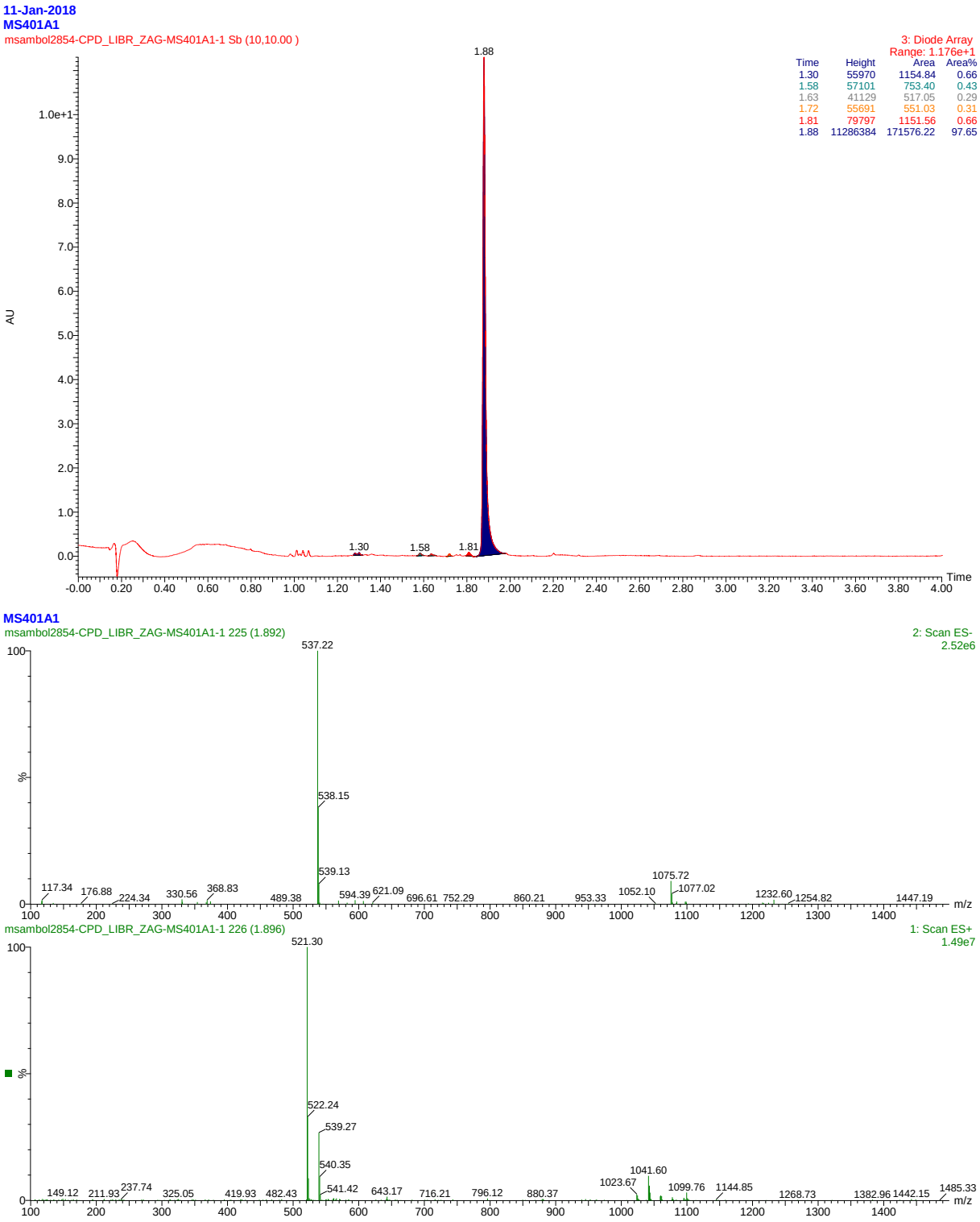
Prilog 141. Kromatogram i maseni spektar spoja **101**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**101**) = 1,75 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,22; *m*/*z* = 511,26 $[M+H]^+$, nađeno 511,32; *m*/*z* = 493,25 $[M–OH]^+$, nađeno 493,25.



Prilog 142. Kromatogram i maseni spektar spoja **102**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**102**) = 1,81 min, *m*/*z* = 523,26 $[M–H]^-$, nađeno 523,22; *m*/*z* = 525,22 $[M+H]^+$, nađeno 525,22; *m*/*z* = 507,26 $[M–OH]^+$, nađeno 507,30.

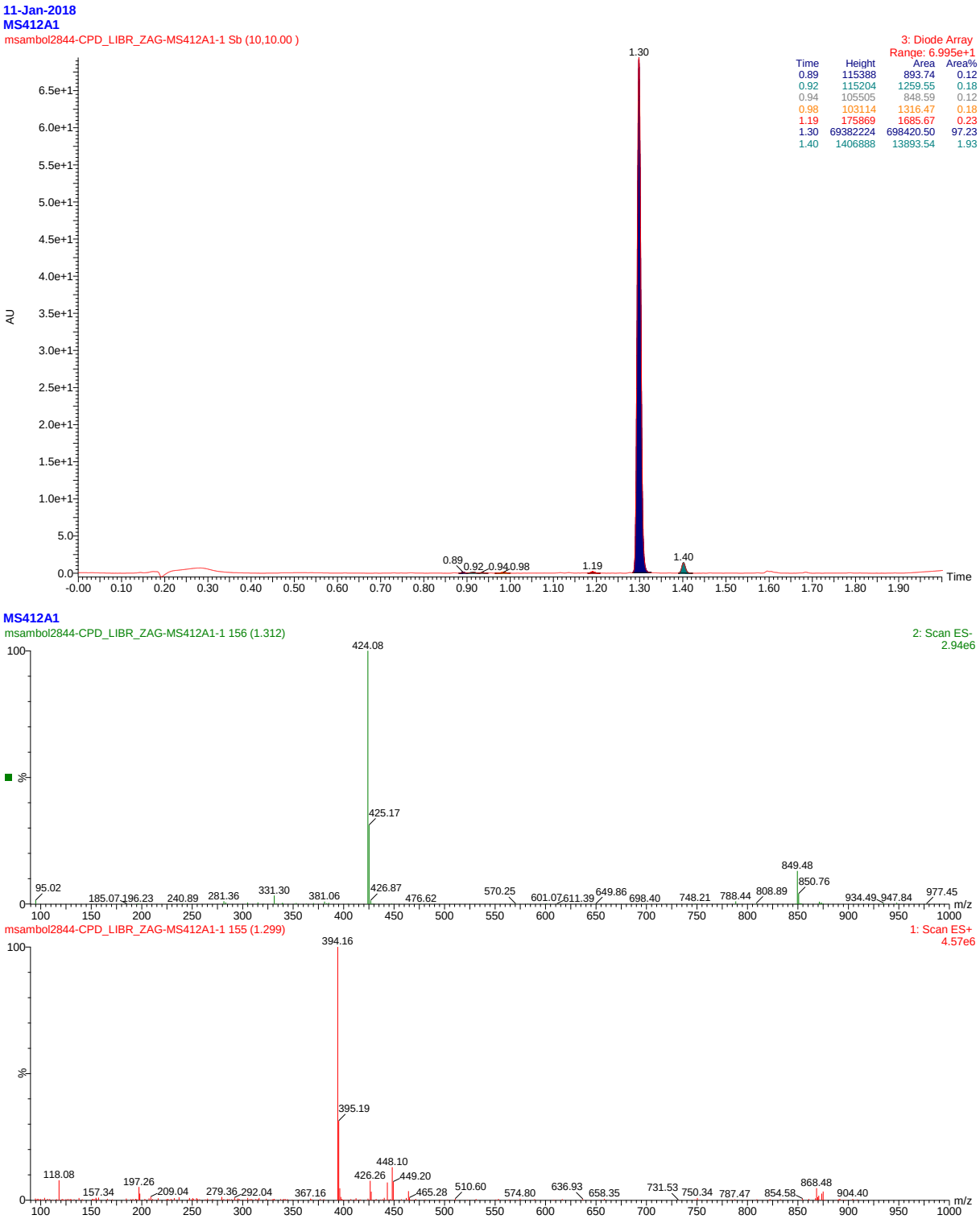


Prilog 143. Kromatogram i maseni spektar spoja **103**. UPLC-MS/UV metoda ③, t_R (**103**) = 1,88 min, *m*/*z* = 537,28 $[M–H]^-$, nađeno 537,22; *m*/*z* = 521,28 $[M–OH]^+$, nađeno 521,30.

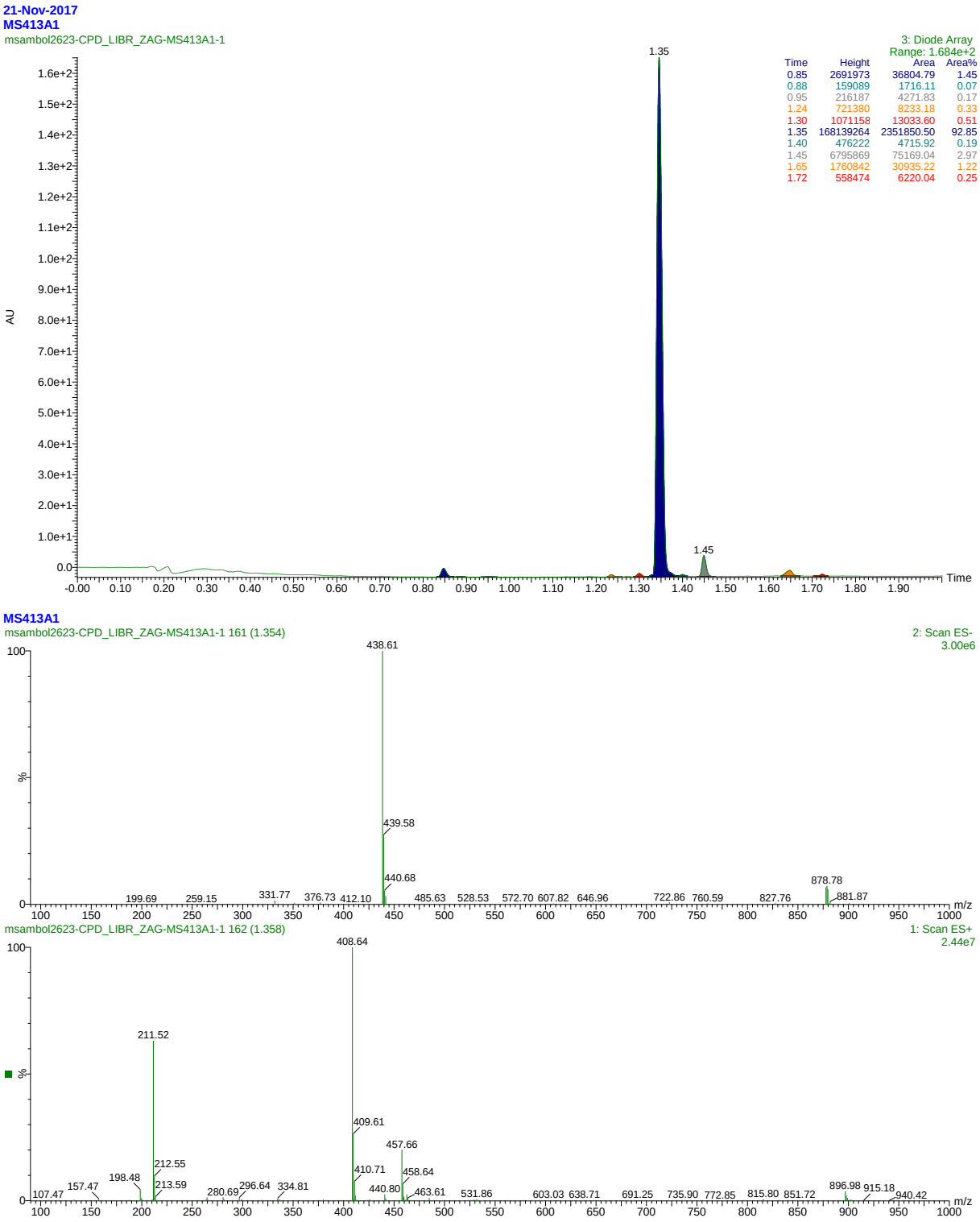


8.2.7. UPLC-MS/UV kromatogrami metoksi derivata heterobifunkcionalnih – 1,8-naftalimid-naftolnih spojeva

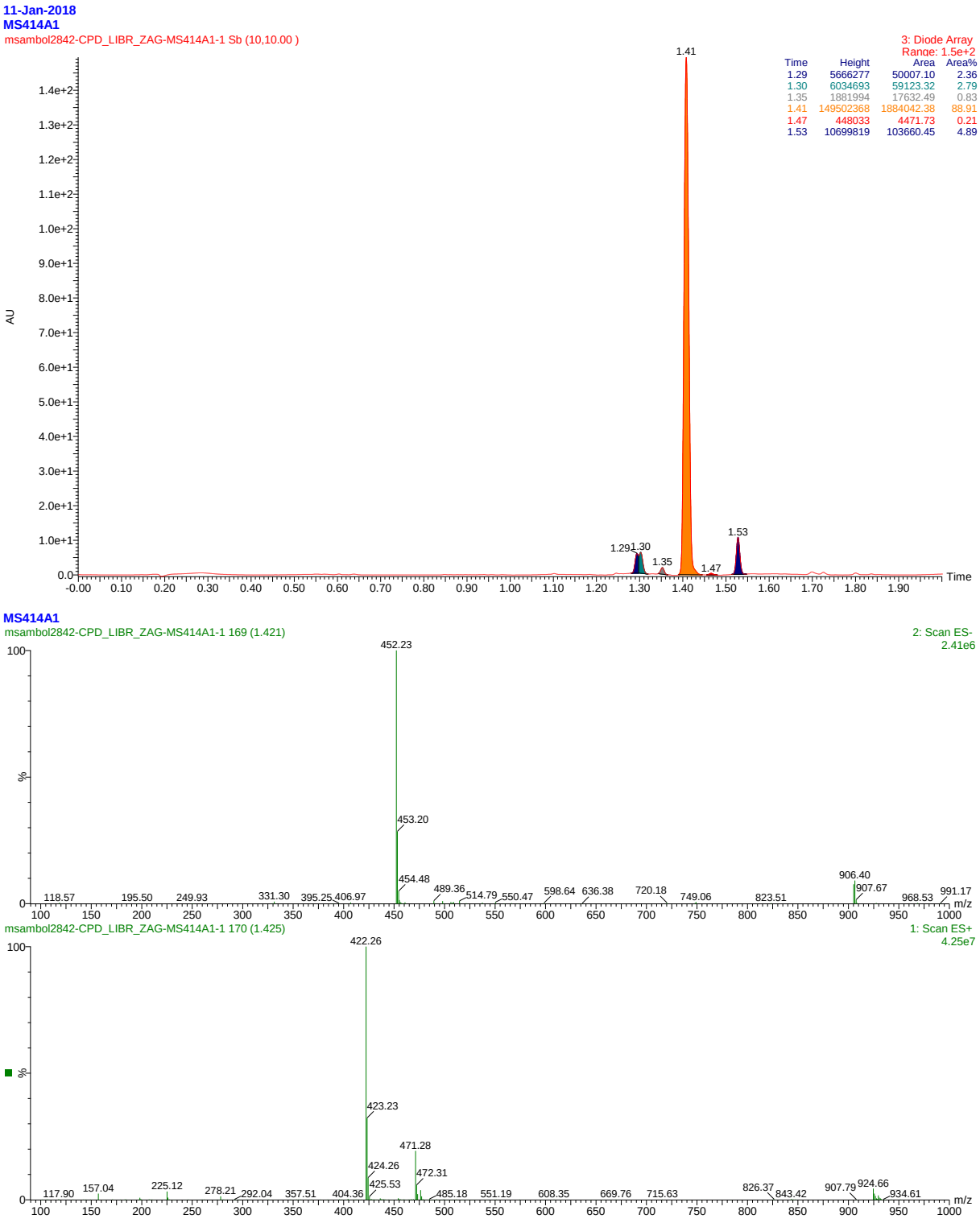
Prilog 144. Kromatogram i maseni spektar spoja **104**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**104**) = 1,30 min, *m*/*z* = 424,16 $[M–H]^-$, nađeno 424,08; *m*/*z* = 394,14 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 394,16.



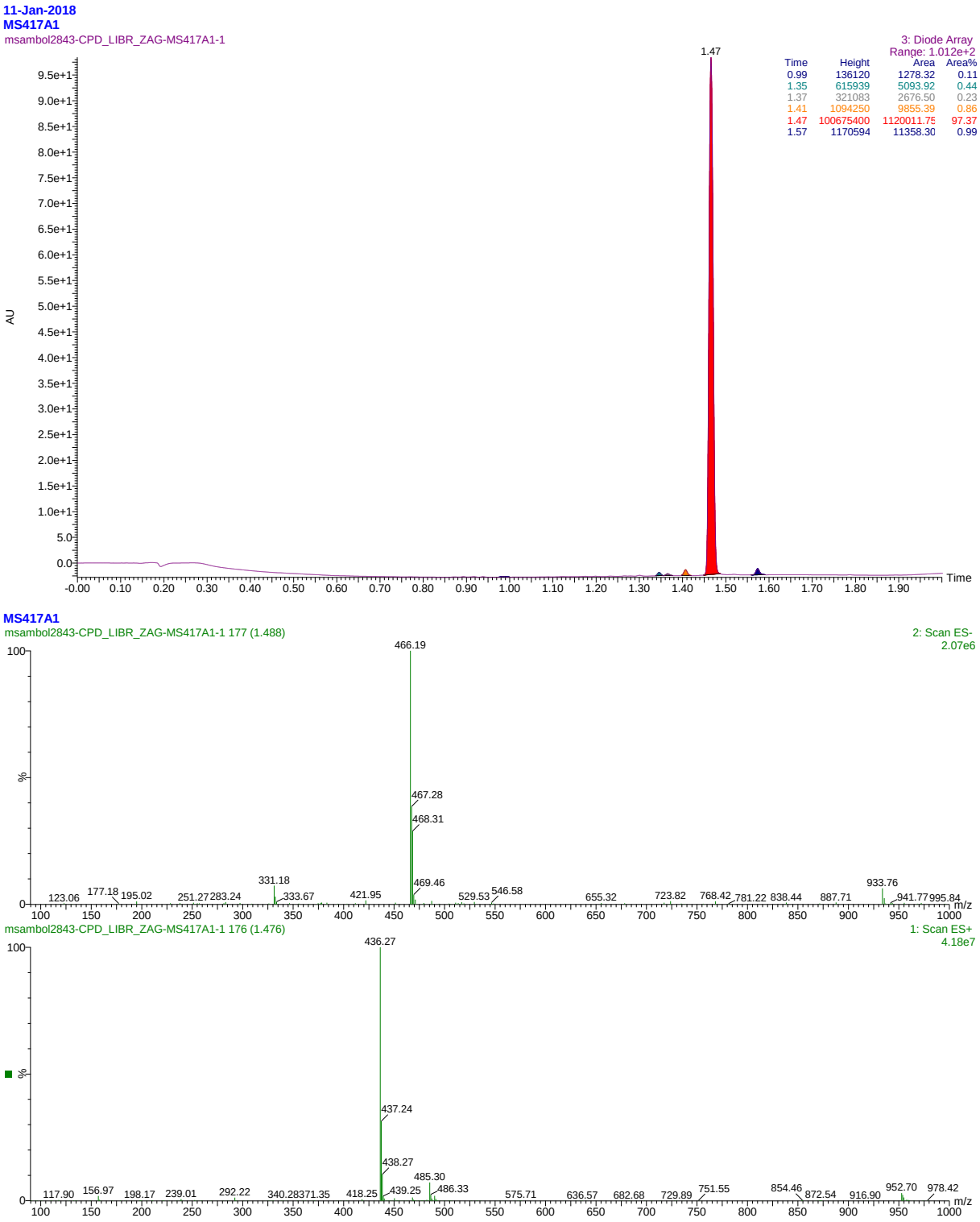
Prilog 145. Kromatogram i maseni spektar spoja **105**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**105**) = 1,35 min, *m*/*z* = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,61; *m*/*z* = 408,16 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 408,64.



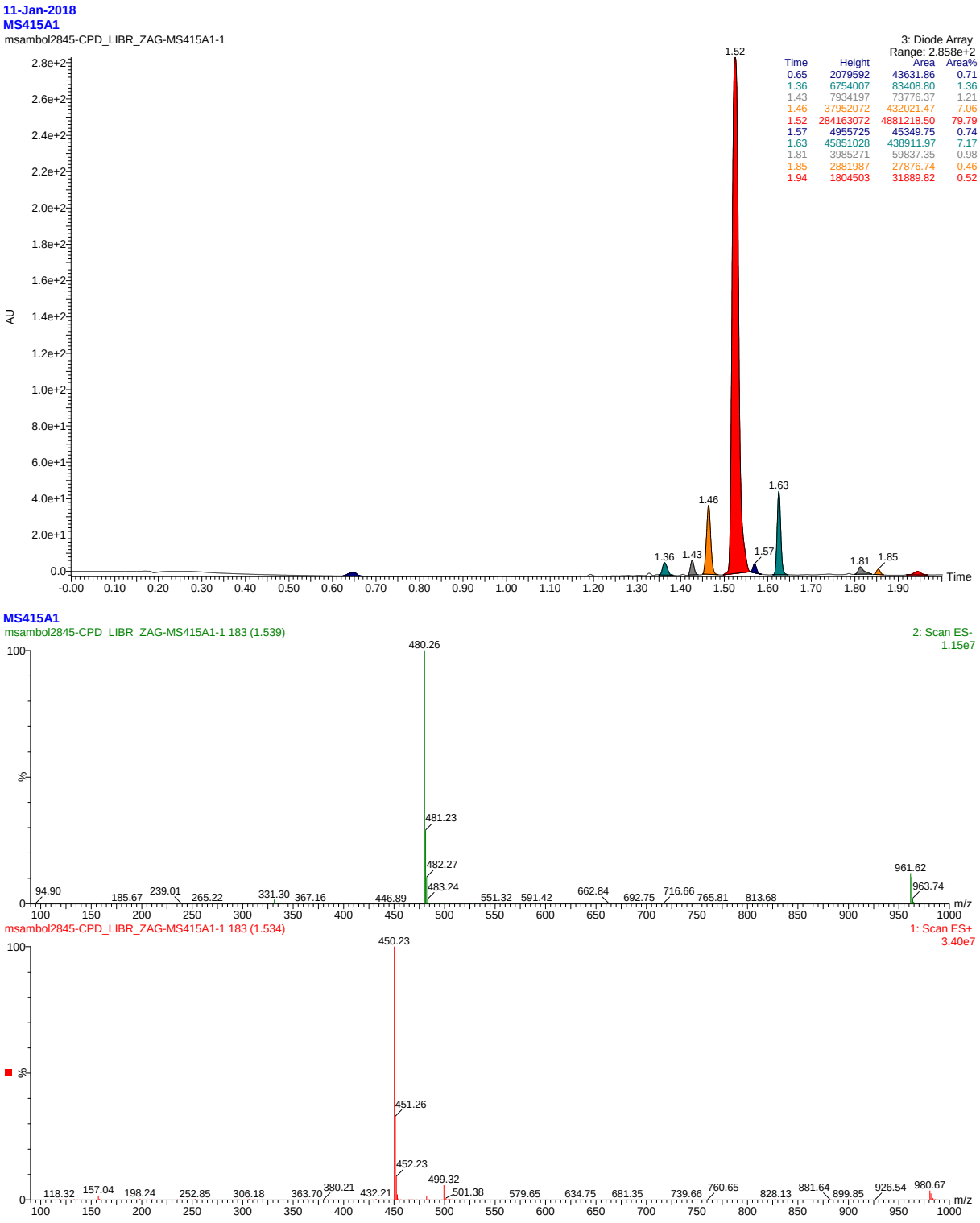
Prilog 146. Kromatogram i maseni spektar spoja **106**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**106**) = 1,41 min, *m*/*z* = 452,19 $[M–H]^-$, nađeno 452,23; *m*/*z* = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,26.



Prilog 147. Kromatogram i maseni spektar spoja **107**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**107**) = 1,47 min, *m*/*z* = 466,20 $[M–H]^-$, nađeno 466,19; *m*/*z* = 436,19 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 436,27.

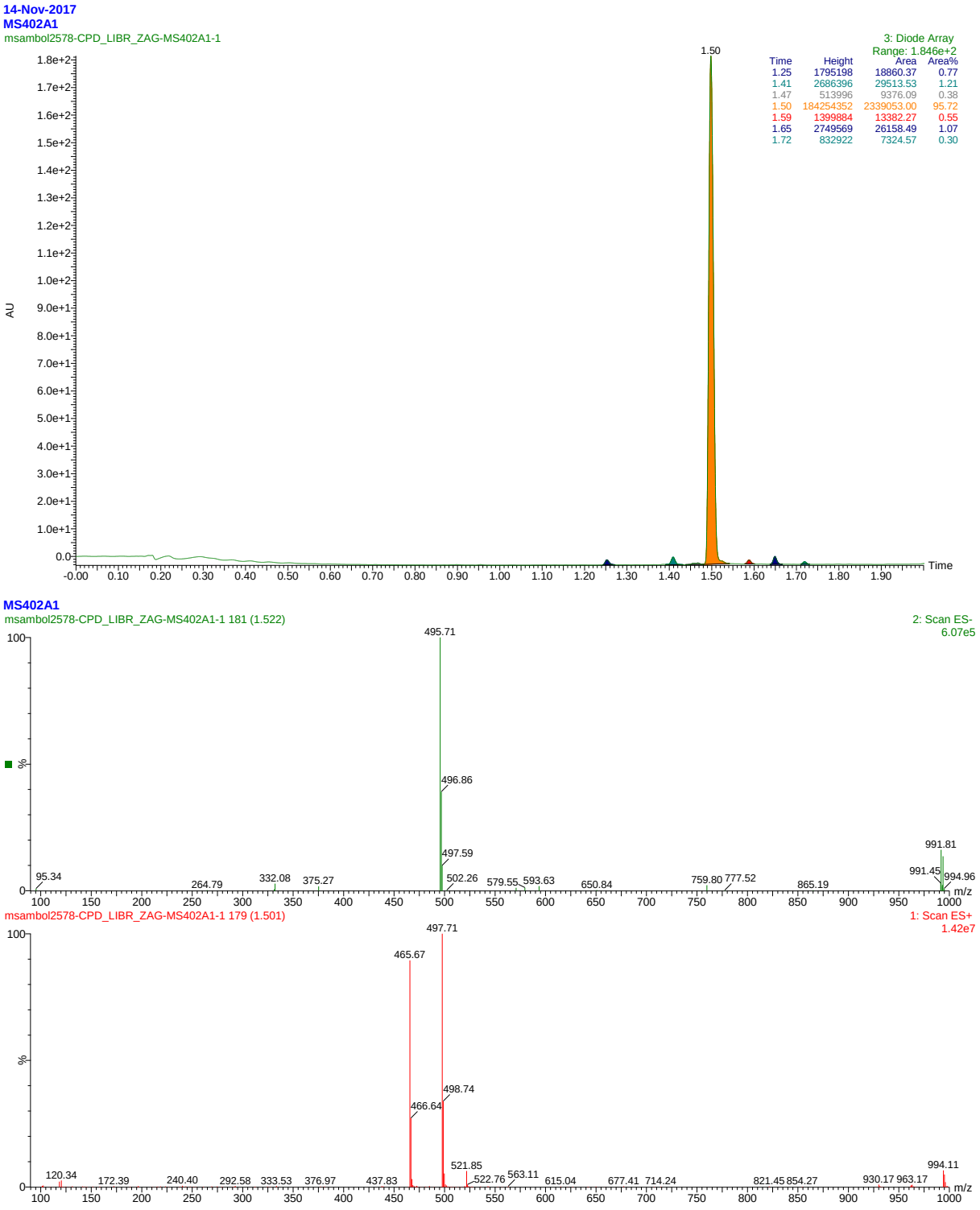


Prilog 148. Kromatogram i maseni spektar spoja **108**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**108**) = 1,52 min, *m*/*z* = 480,22 $[M–H]^-$, nađeno 480,26; *m*/*z* = 450,21 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 450,23.

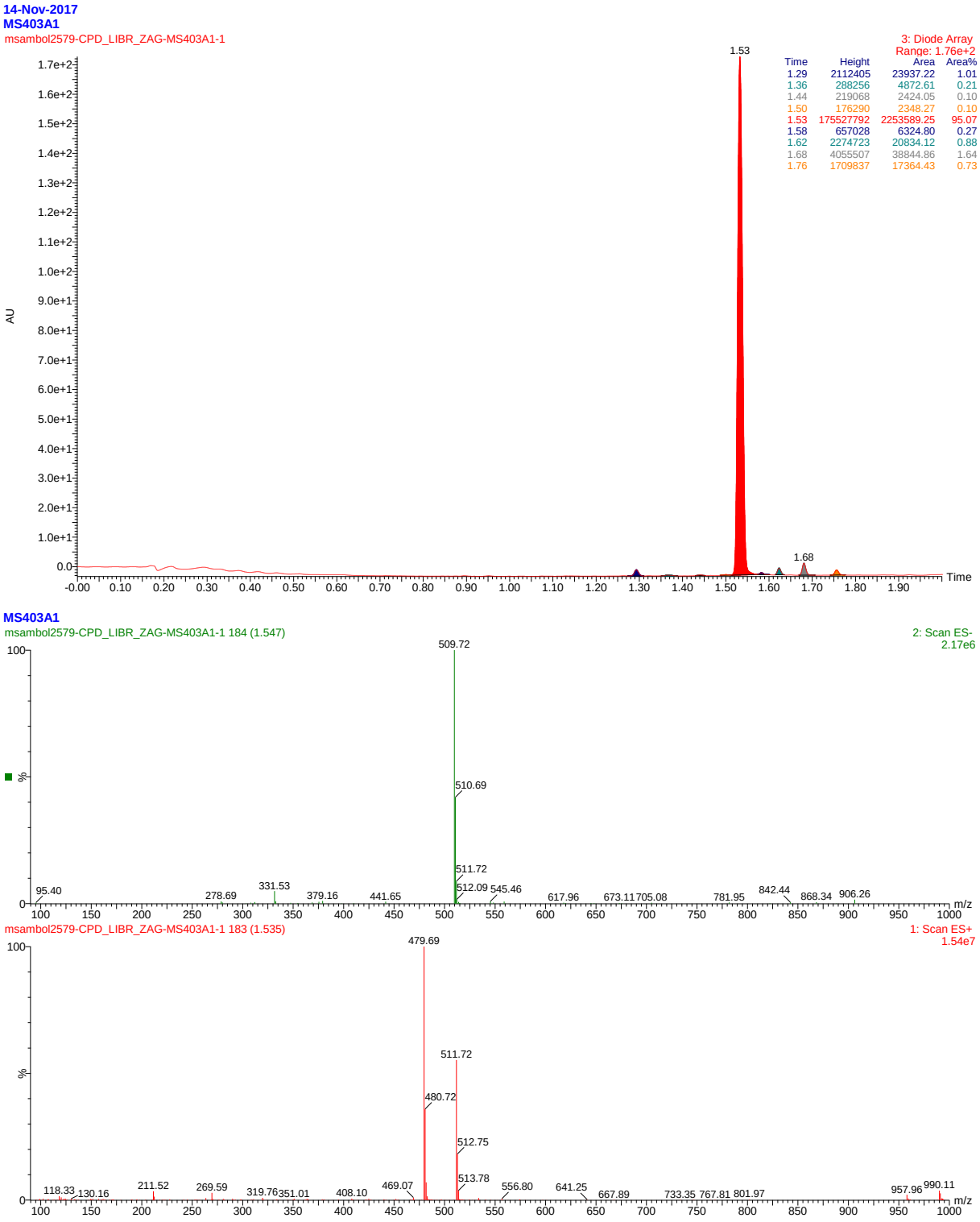


8.2.8. UPLC-MS/UV kromatogrami metoksi derivata heterobifunkcionalnih – 4-dietilamin-1,8-naftalimid-naftolnih spojeva

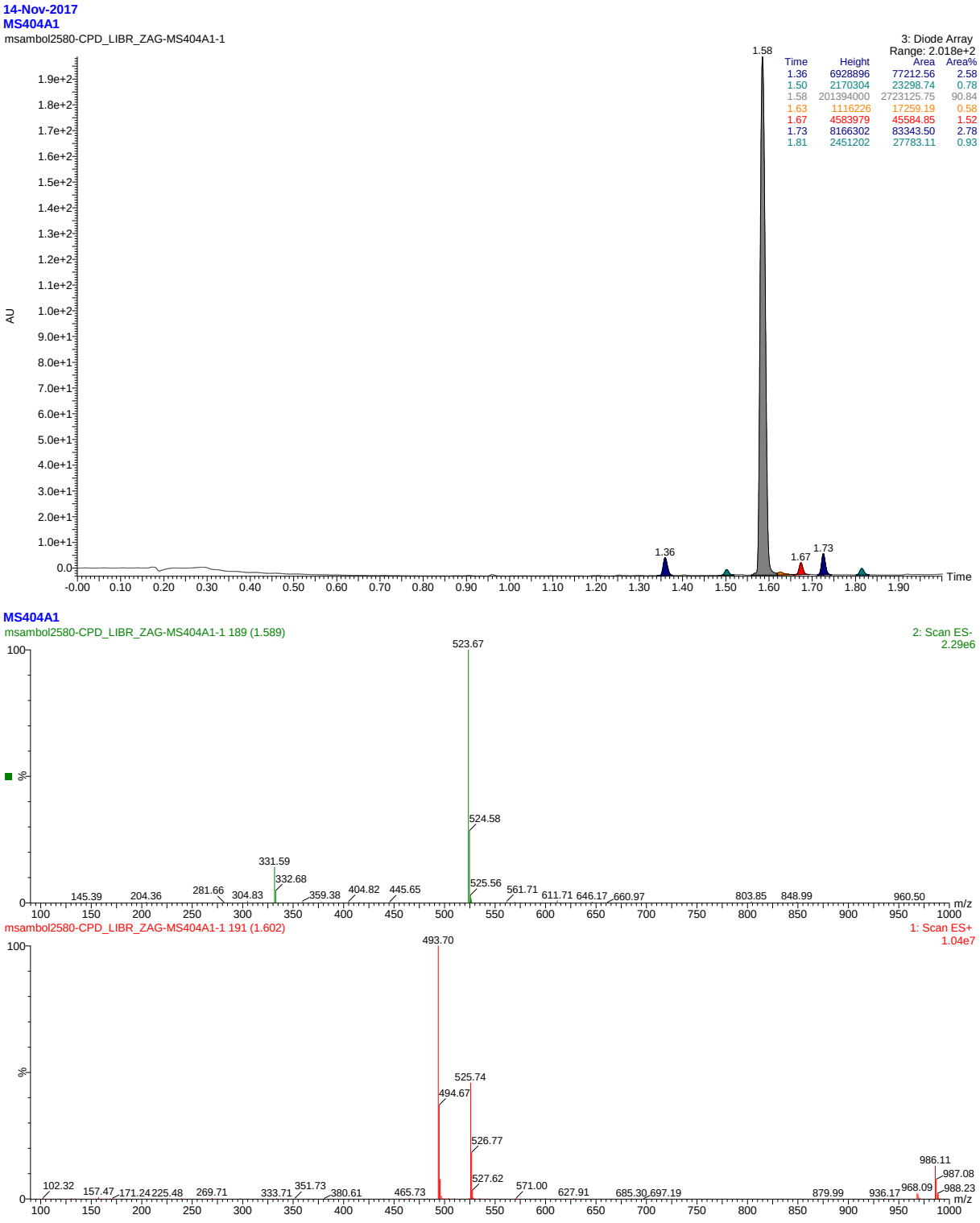
Prilog 149. Kromatogram i maseni spektar spoja **109**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**109**) = 1,50 min, *m*/*z* = 495,23 $[M–H]^-$, nađeno 495,71; *m*/*z* = 497,24 $[M+H]^+$, nađeno 497,71; *m*/*z* = 465,22 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 465,67.



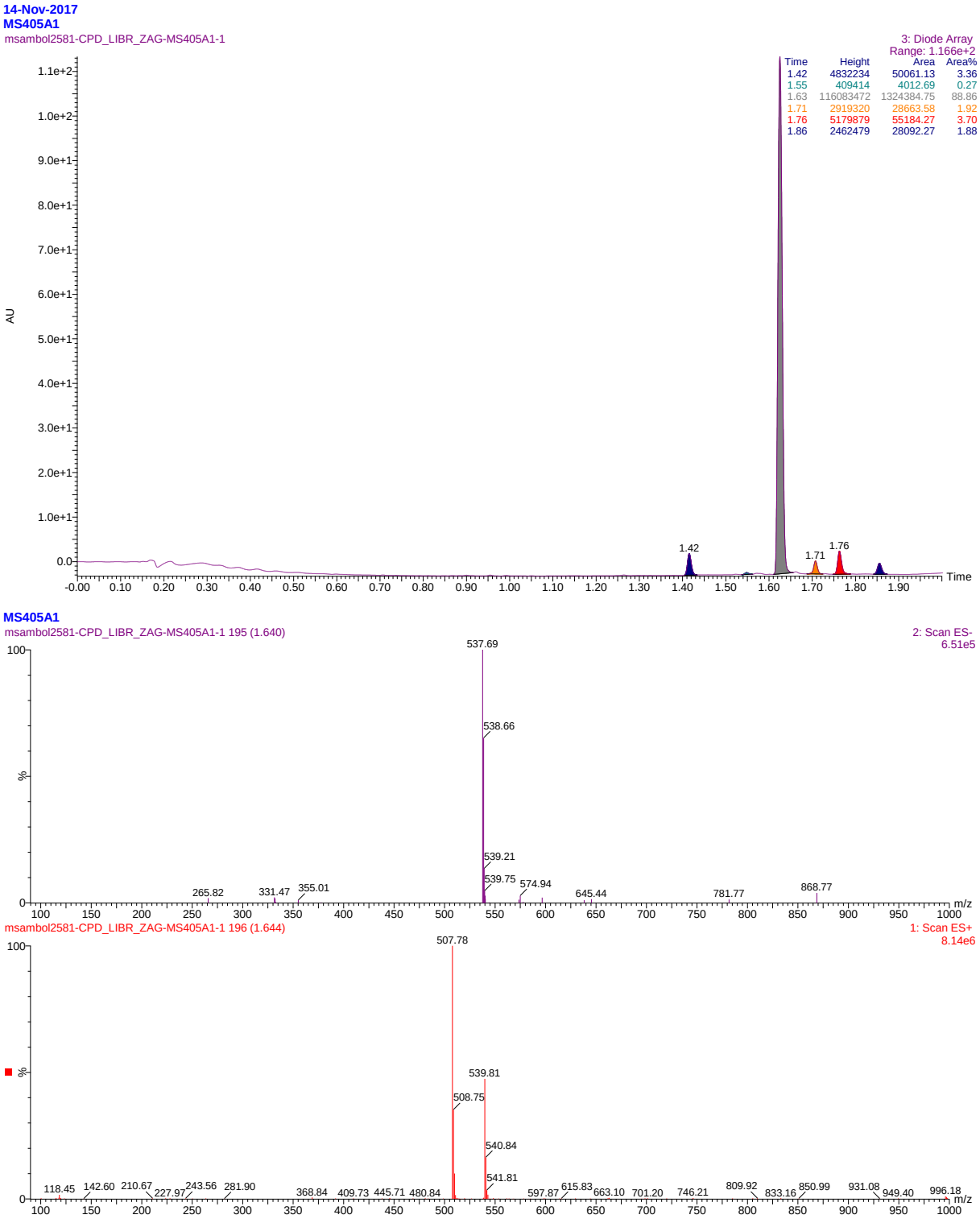
Prilog 150. Kromatogram i maseni spektar spoja **110**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**110**) = 1,53 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,72; *m*/*z* = 511,26 $[M+H]^+$, nađeno 511,72; *m*/*z* = 479,23 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 479,69.



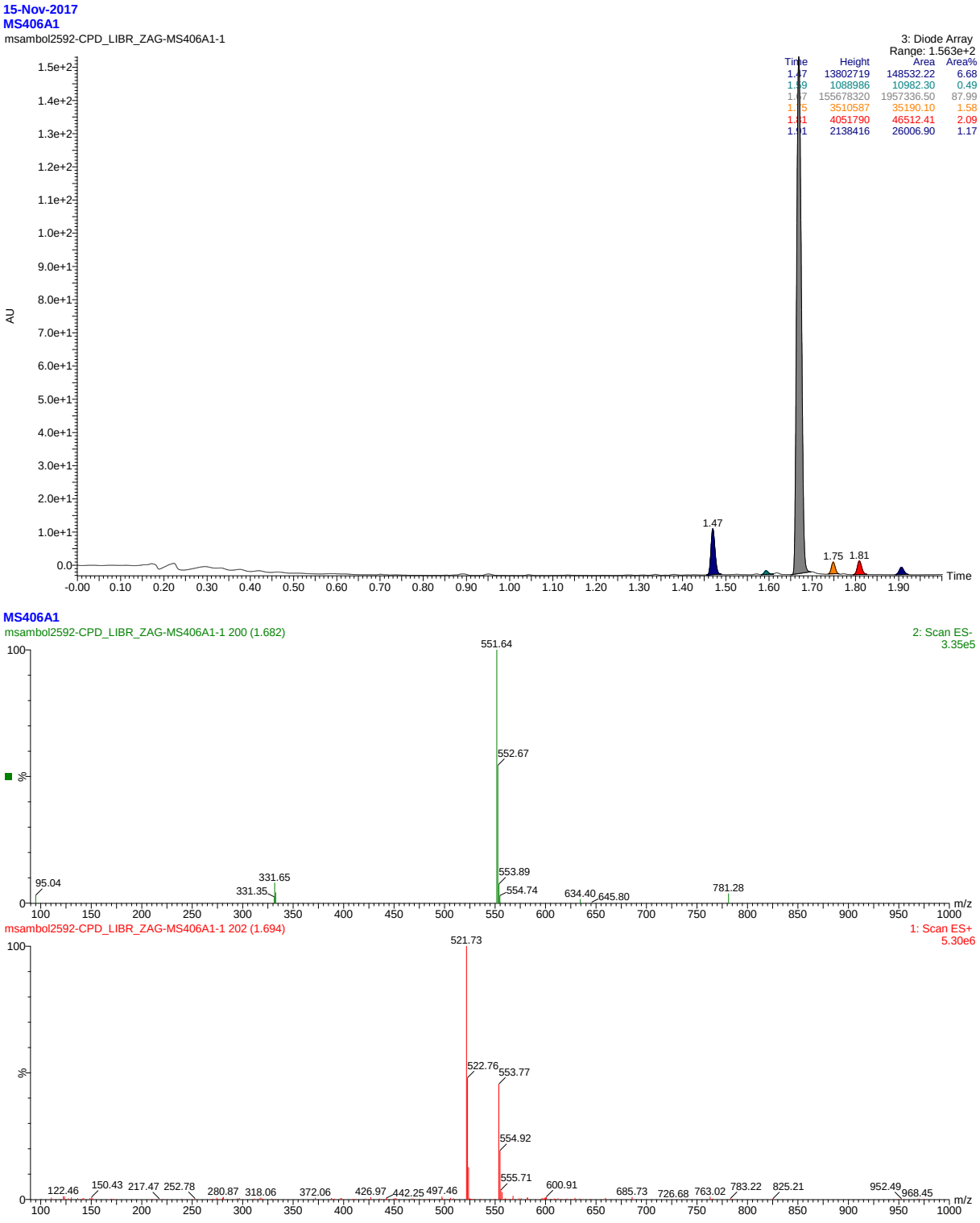
Prilog 151. Kromatogram i maseni spektar spoja **111**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**111**) = 1,58 min, *m*/*z* = 523,26 $[M–H]^-$, nađeno 523,67; *m*/*z* = 525,27 $[M+H]^+$, nađeno 525,74; *m*/*z* = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70.



Prilog 152. Kromatogram i maseni spektar spoja **112**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**112**) = 1,63 min, *m*/*z* = 537,28 $[M–H]^-$, nađeno 537,69; *m*/*z* = 539,29 $[M+H]^+$, nađeno 539,81; *m*/*z* = 507,26 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 507,78.

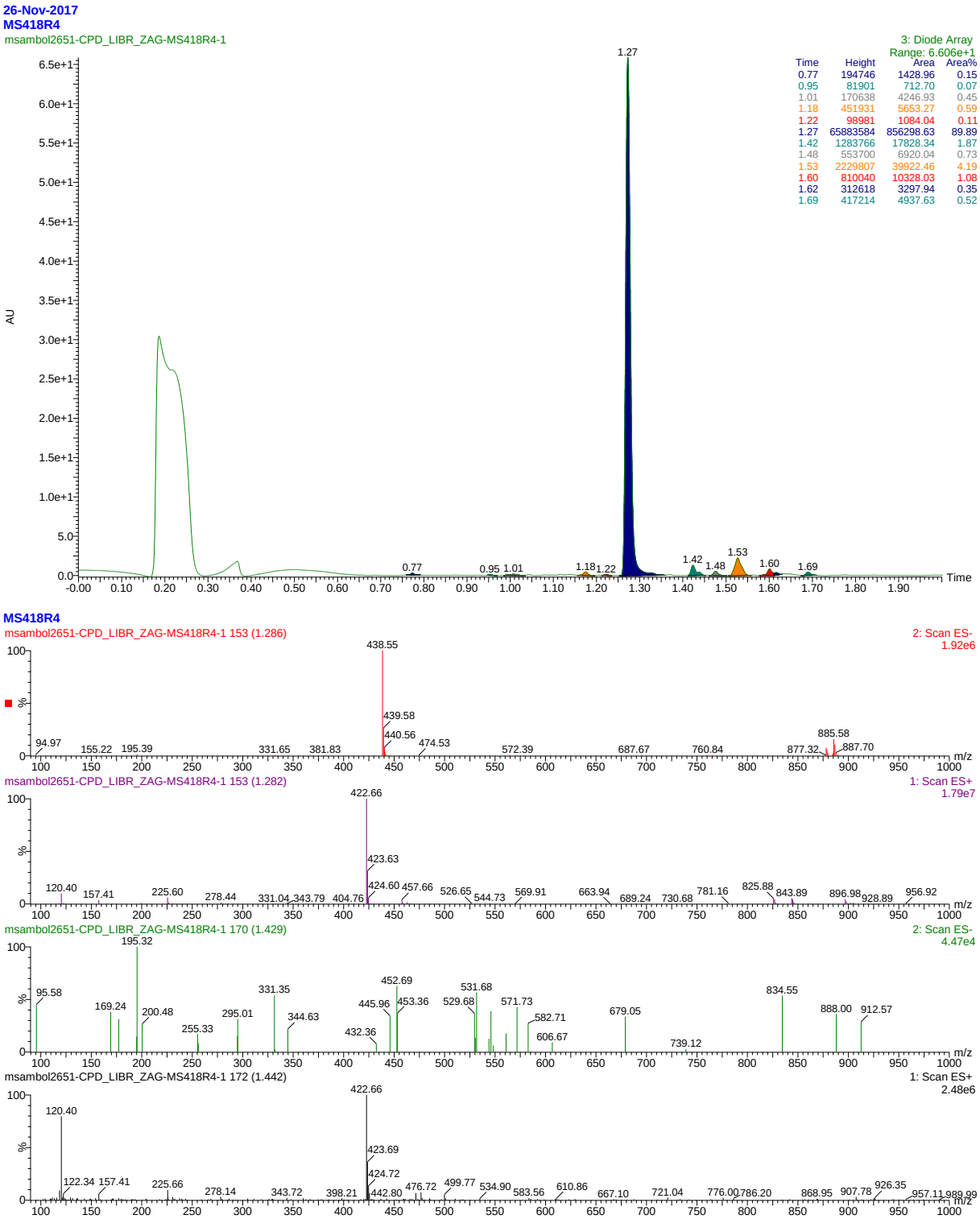


Prilog 153. Kromatogram i maseni spektar spoja **113**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**113**) = 1,67 min, *m*/*z* = 551,29 $[M–H]^-$, nađeno 551,64; *m*/*z* = 553,31 $[M+H]^+$, nađeno 553,77; *m*/*z* = 521,28 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 521,73.

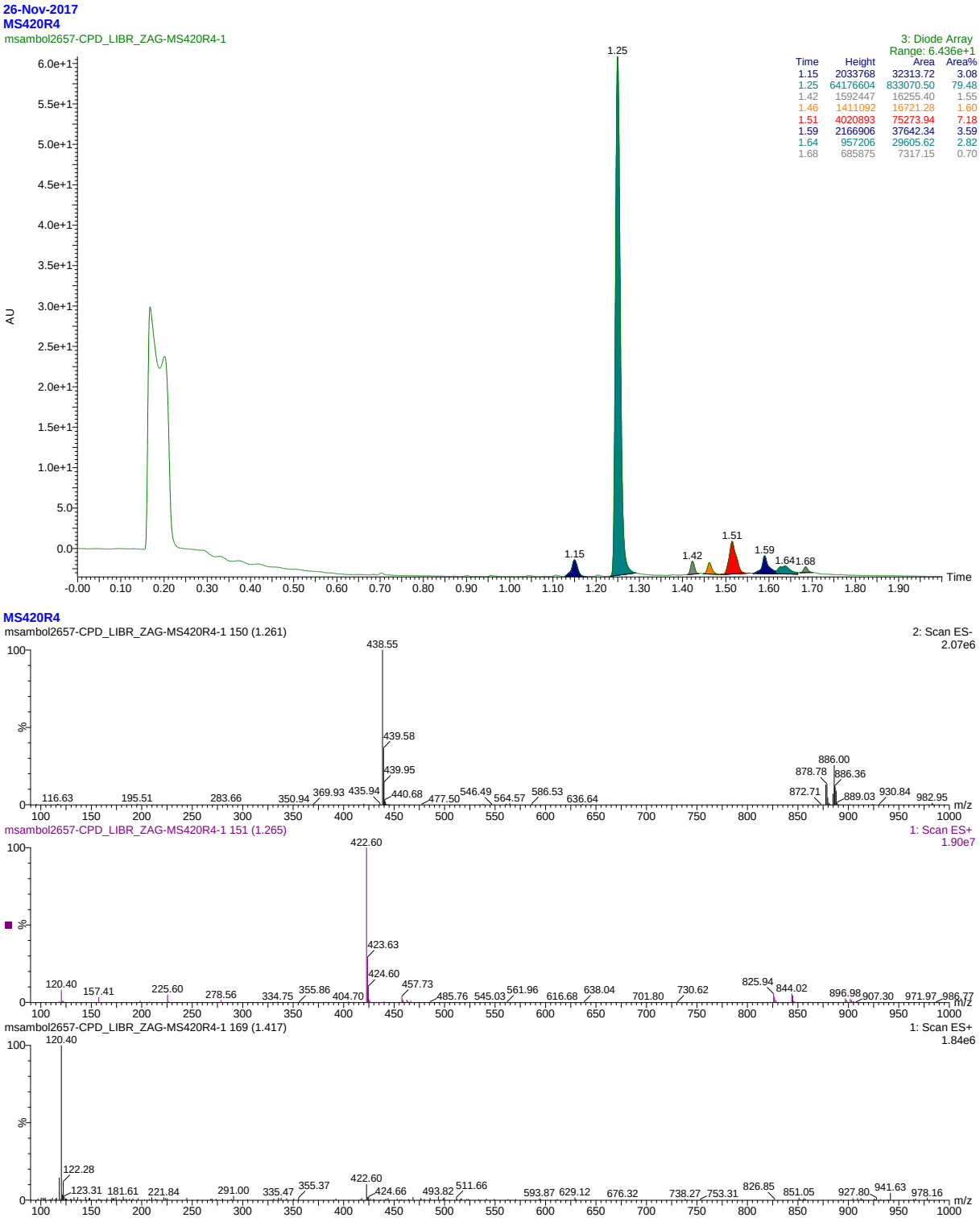


8.2.9. UPLC-MS/UV kromatogrami fotometanoliza heterobifunkcionalnih spojeva

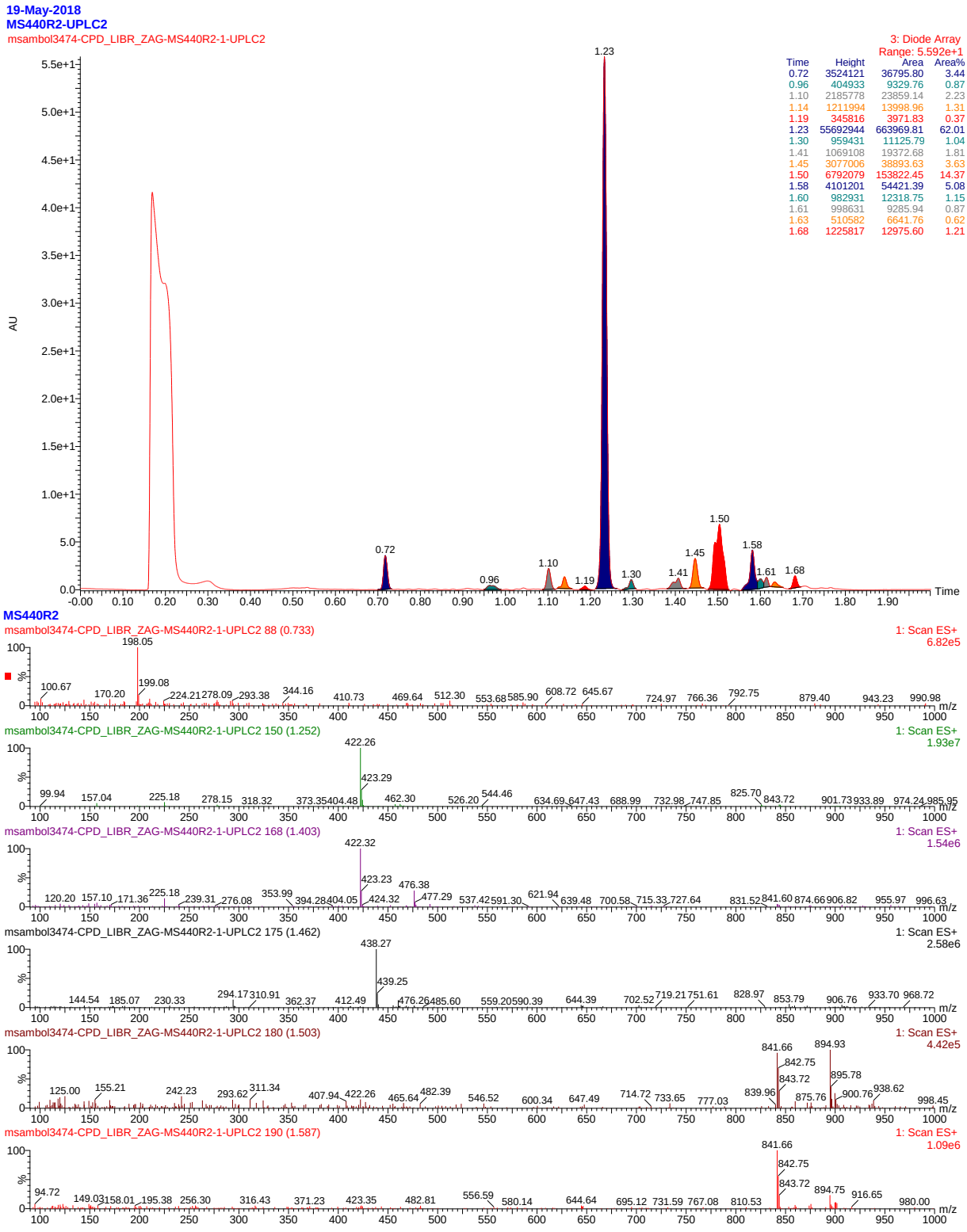
Prilog 154. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (8×8 W, λ = 254 nm, 60 min) spoja **96**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**96**) = 1,27 min, m/z = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,55; t_R (**106**) = 1,42 min, m/z = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,66.



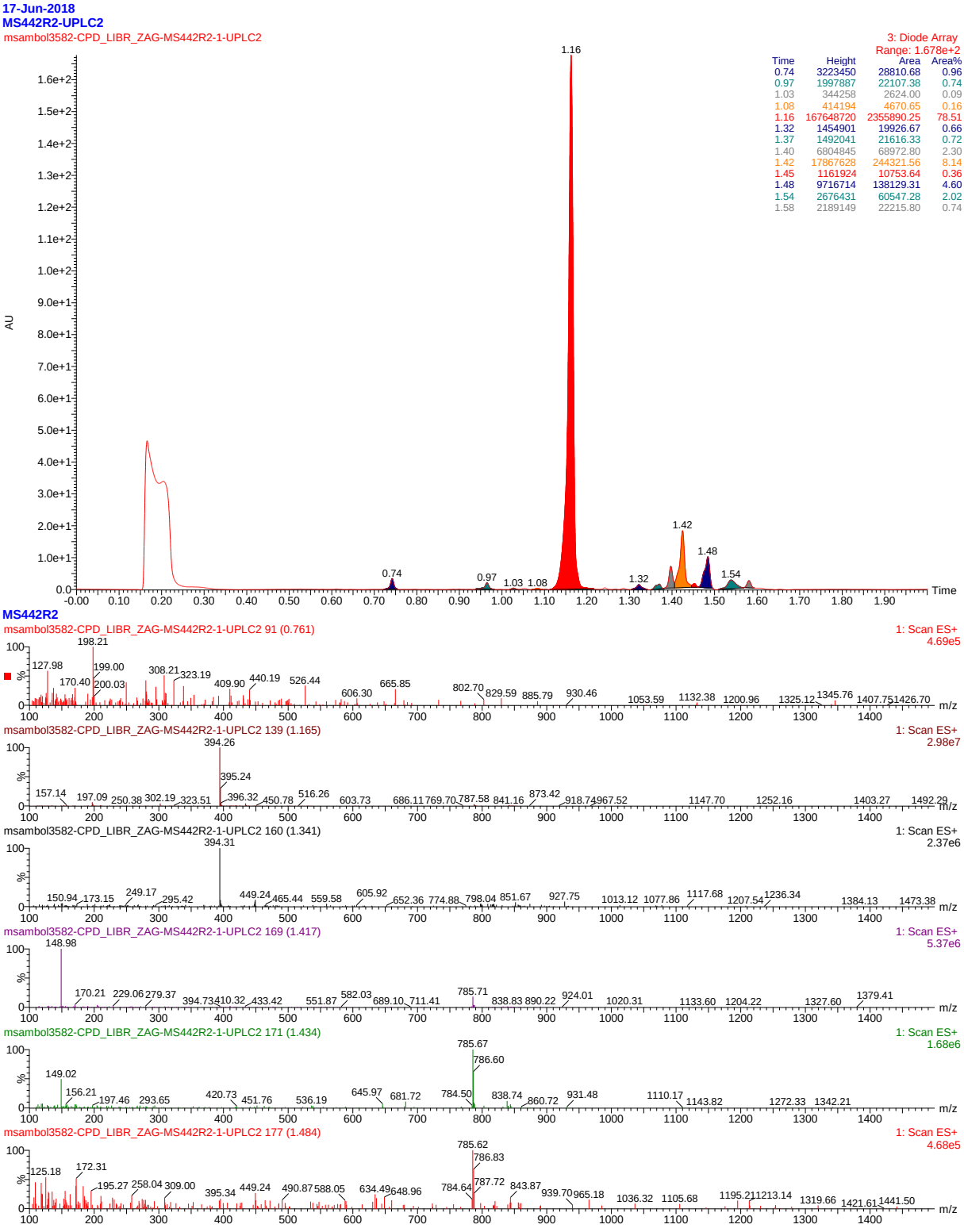
Prilog 155. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (8×8 W, λ_{max} = 350 nm, 60 min) spoja **96**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**96**) = 1,25 min, *m*/*z* = 438,17 $[M–H]^-$, nađeno 438,55; t_R (**106**) = 1,42 min, *m*/*z* = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,60.



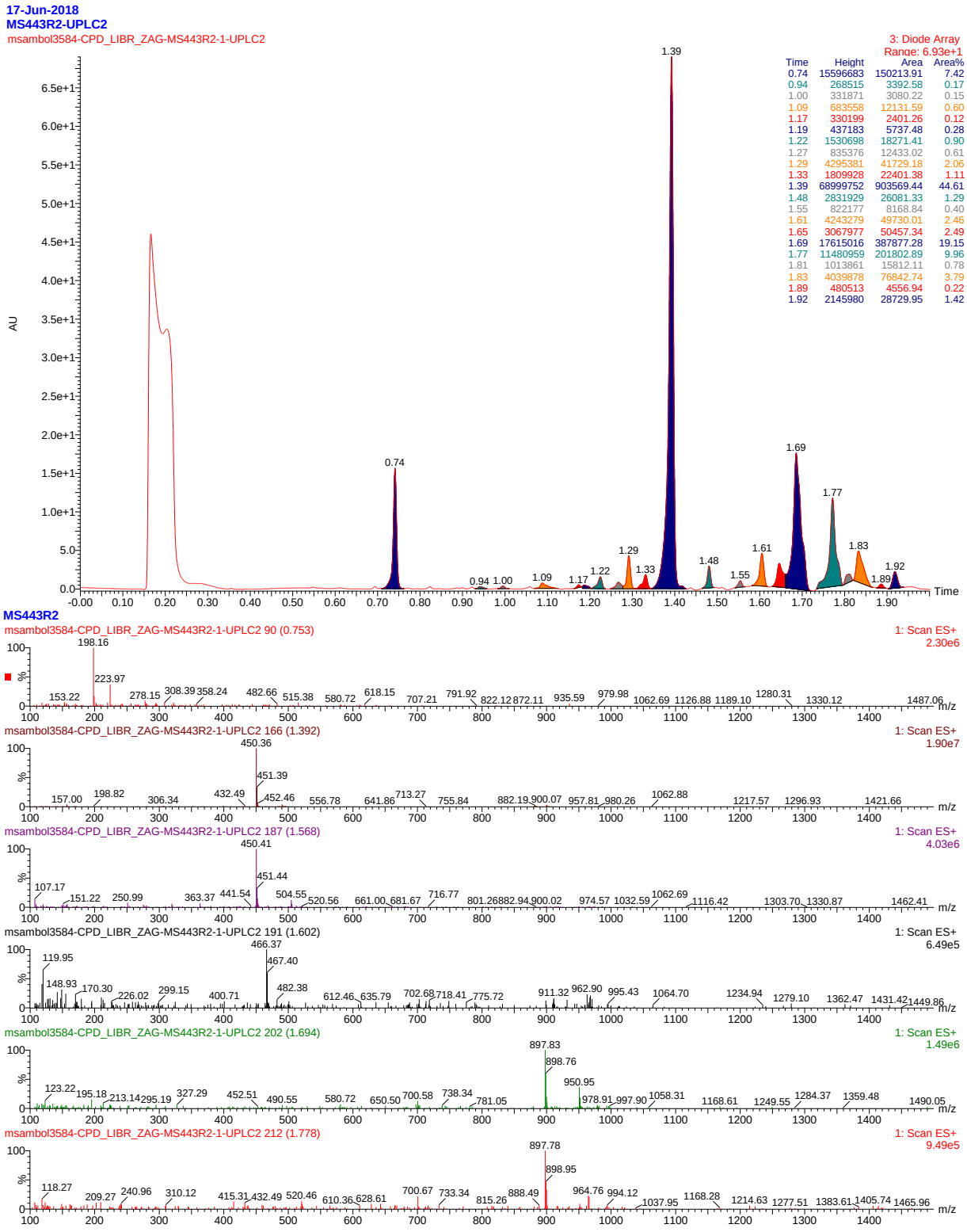
Prilog 156. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (14×8 W, λ_{max} = 350 nm, 180 min) spoja **96**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**96**) = 1,23 min, *m/z* = 422,18 $[M–OH]^+$, nađeno 422,26; t_R (**106**) = 1,41 min, *m/z* = 422,18 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 422,32; t_R (1,8-naftalimid) = 0,72 min, *m/z* = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,05.



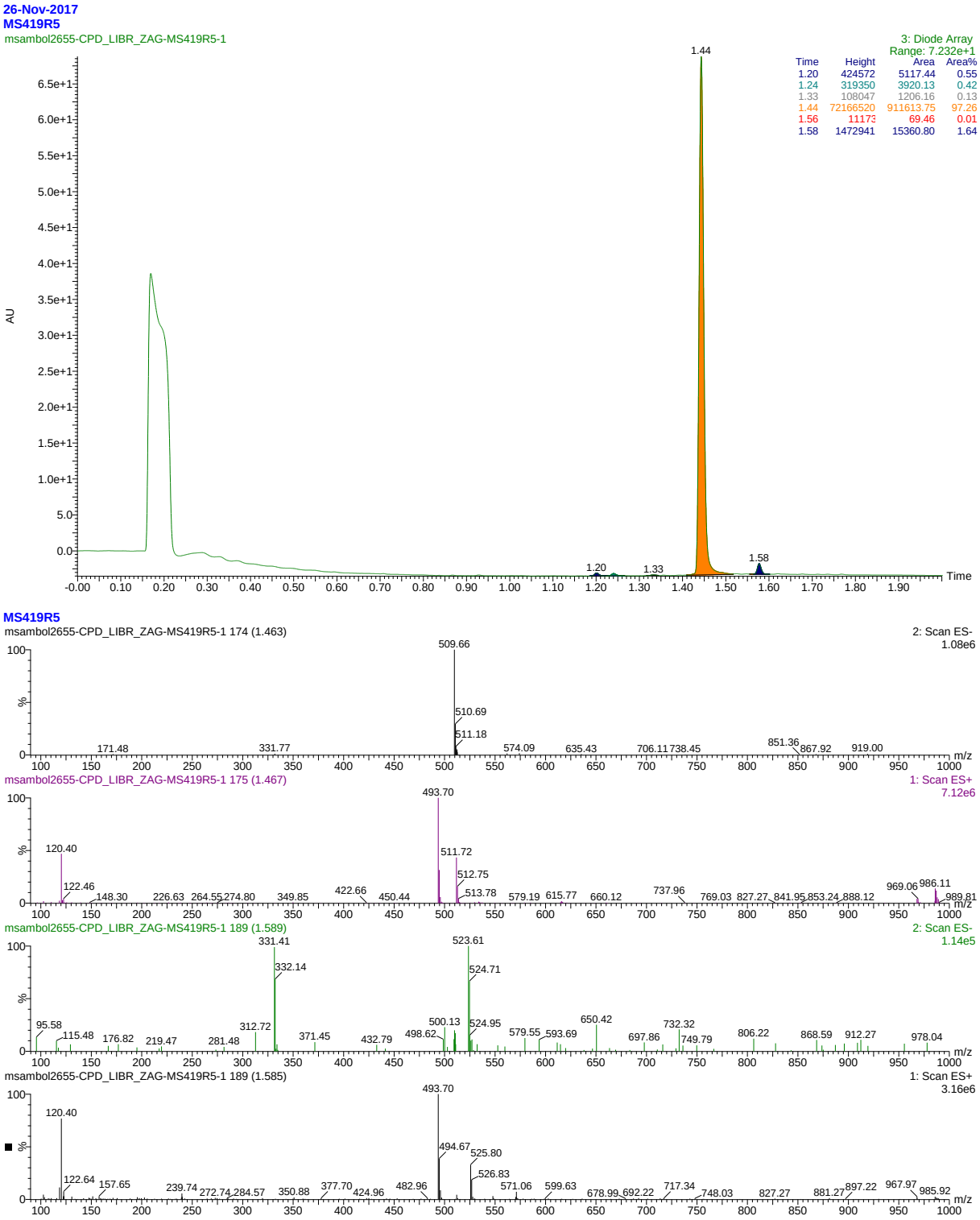
Prilog 157. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (14×8 W, λ_{max} = 350 nm, 180 min) spoja **94**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**94**) = 1,16 min, *m/z* = 394,14 $[M–OH]^+$, nađeno 394,26; t_R (**104**) = 1,32 min, *m/z* = 394,14 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 394,31; t_R (1,8-naftalimid) = 0,74 min, *m/z* = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,21.



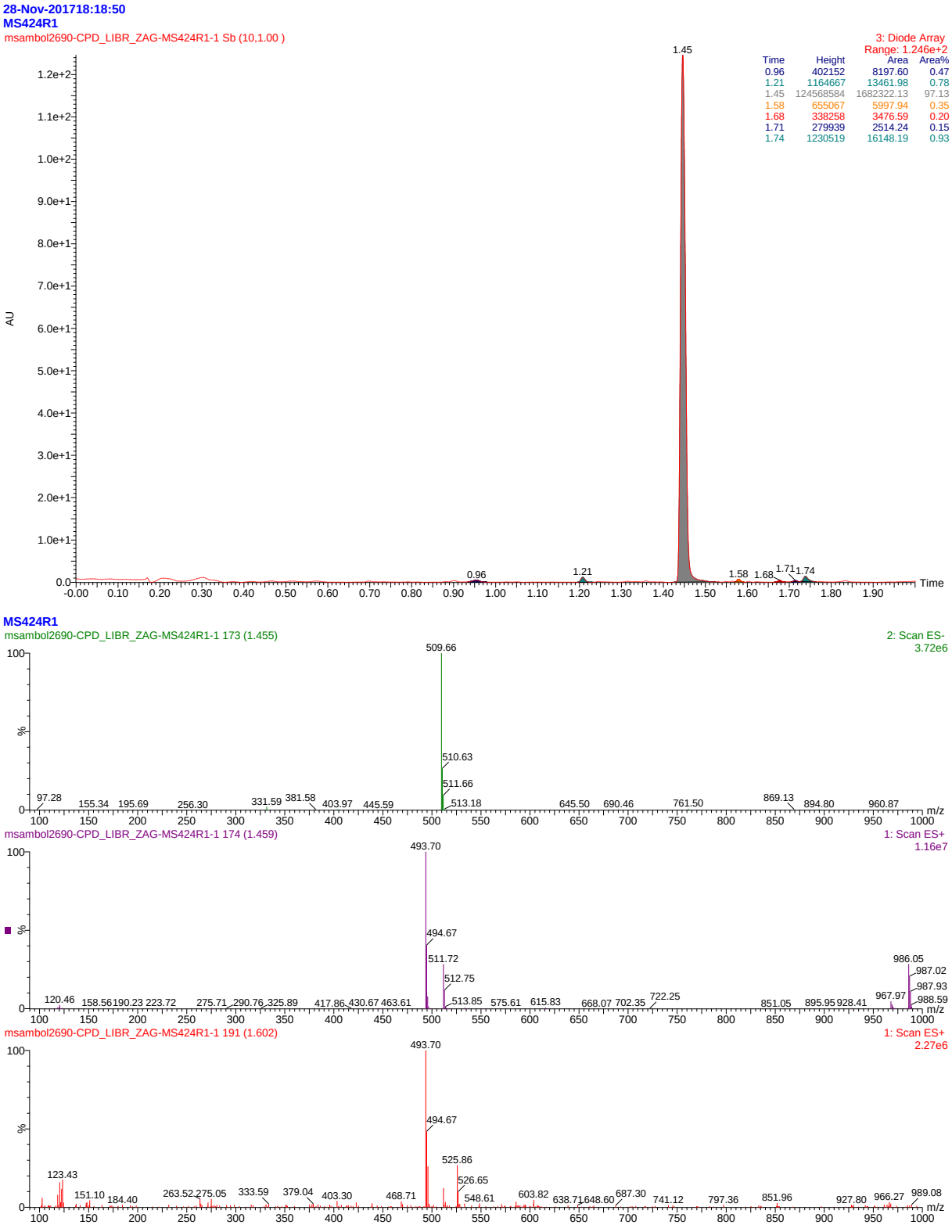
Prilog 158. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (14×8 W, λ_{max} = 350 nm, 180 min) spoja **98**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**98**) = 1,39 min, *m/z* = 450,21 $[M–OH]^+$, nađeno 450,36; t_R (**108**) = 1,55 min, *m/z* = 450,36 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 450,41; t_R (1,8-naftalimid) = 0,74 min, *m/z* = 198,05 $[M+H]^+$, nađeno 198,16.



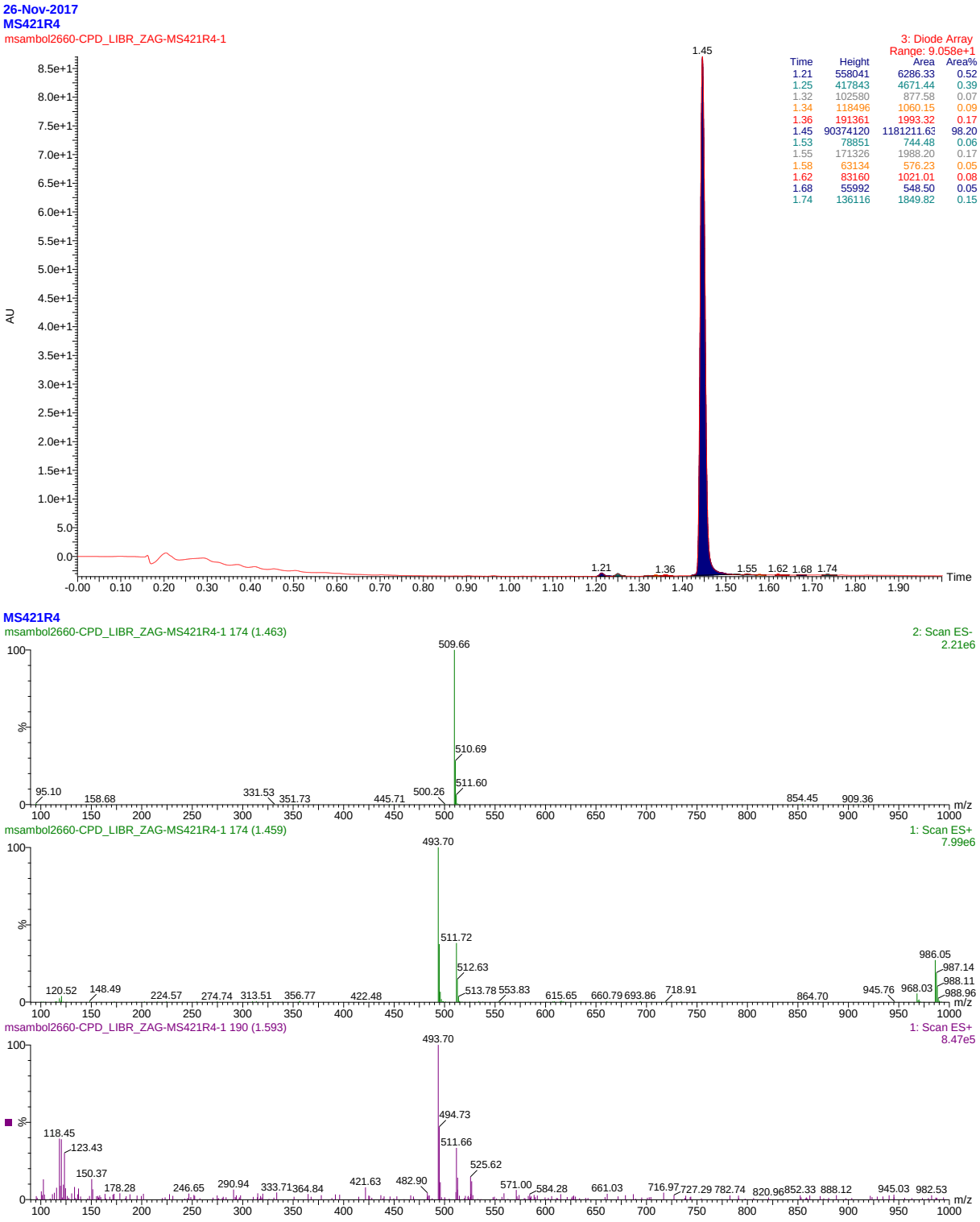
Prilog 159. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (8×8 W, λ = 254 nm, 120 min) spoja **101**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**101**) = 1,44 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66; t_R (**111**) = 1,58 min, *m*/*z* = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70.



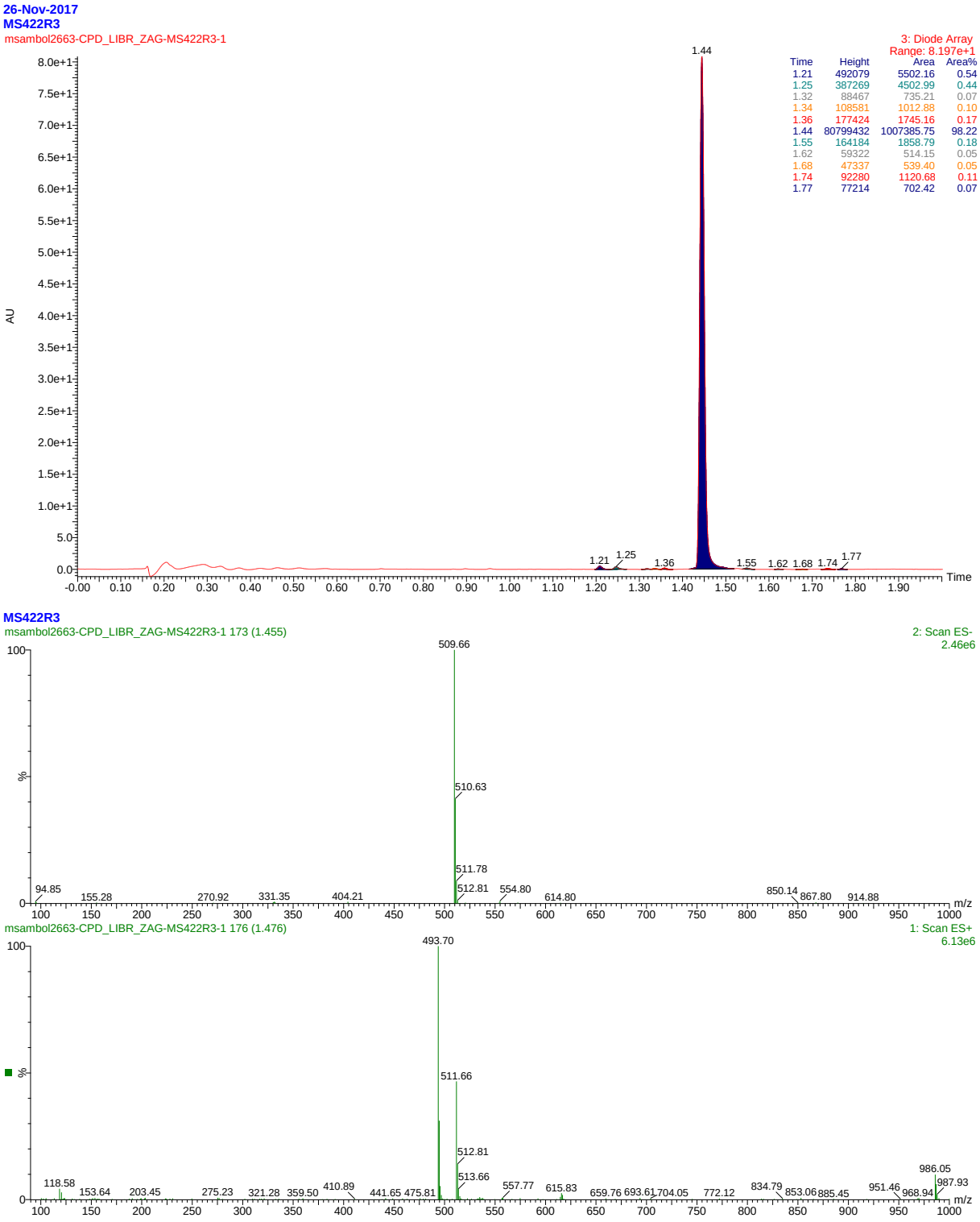
Prilog 160. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (8×8 W, λ_{max} = 300 nm, 120 min) spoja **101**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**101**) = 1,45 min, m/z = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66; t_R (**111**) = 1,58 min, m/z = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70.



Prilog 161. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (8×8 W, λ_{max} = 350 nm, 60 min) spoja **101**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**101**) = 1,45 min, m/z = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66; t_R (**111**) = 1,55 min, m/z = 493,25 $[M–OCH_3]^+$, nađeno 493,70.



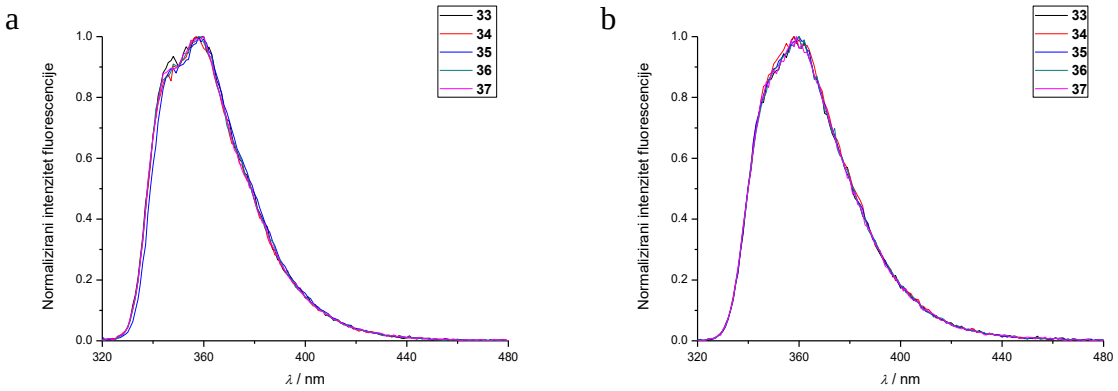
Prilog 162. Kromatogram i maseni spektar fotometanolize (8×8 W, λ_{max} = 420 nm, 60 min) spoja **101**. UPLC-MS/UV metoda ②, t_R (**101**) = 1,44 min, *m*/*z* = 509,24 $[M–H]^-$, nađeno 509,66. Nastanak spoja **111** nije uočen.



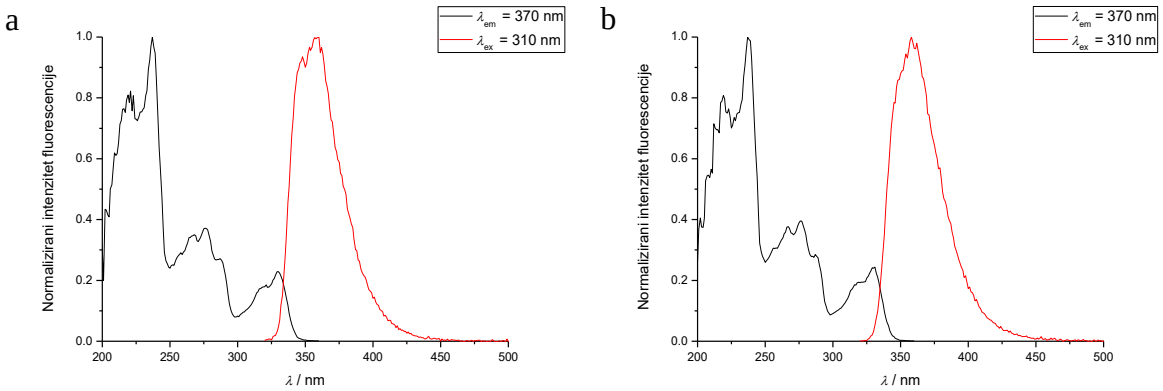
8.3. Fluorescencijski spektri

8.3.1. Fluorescencijski spektri naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

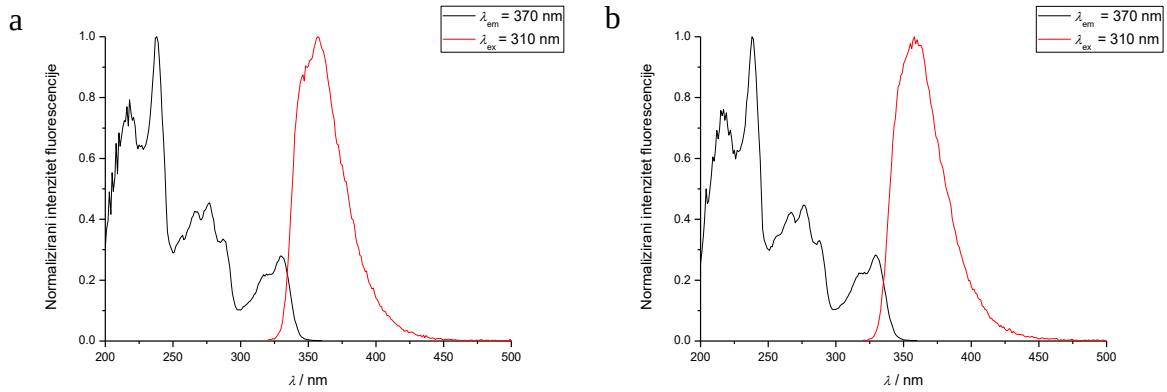
Prilog 163. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri naftolnih homobifunkcionalnih spojeva **33-37** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (3:1) uz λ_{ex} = 310 nm



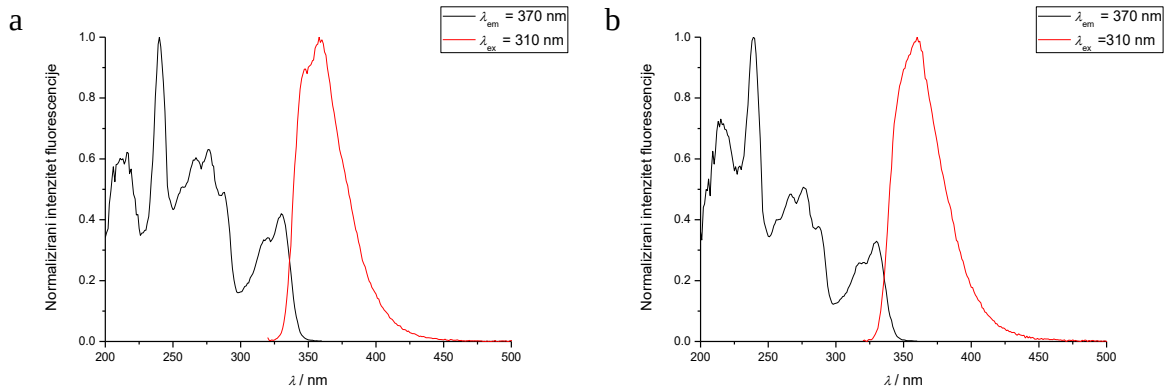
Prilog 164. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **33** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (3:1). λ_{ex} = 310 nm, λ_{em} = 370 nm



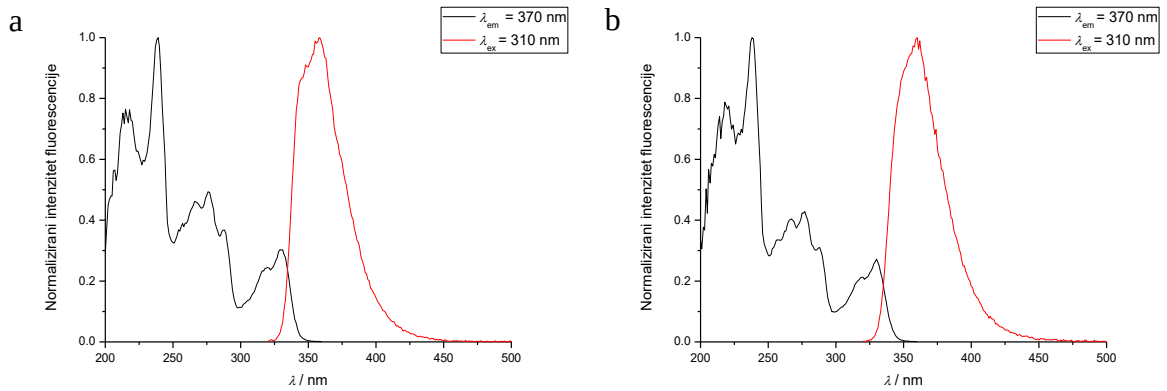
Prilog 165. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **34** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (3:1). λ_{ex} = 310 nm, λ_{em} = 370 nm



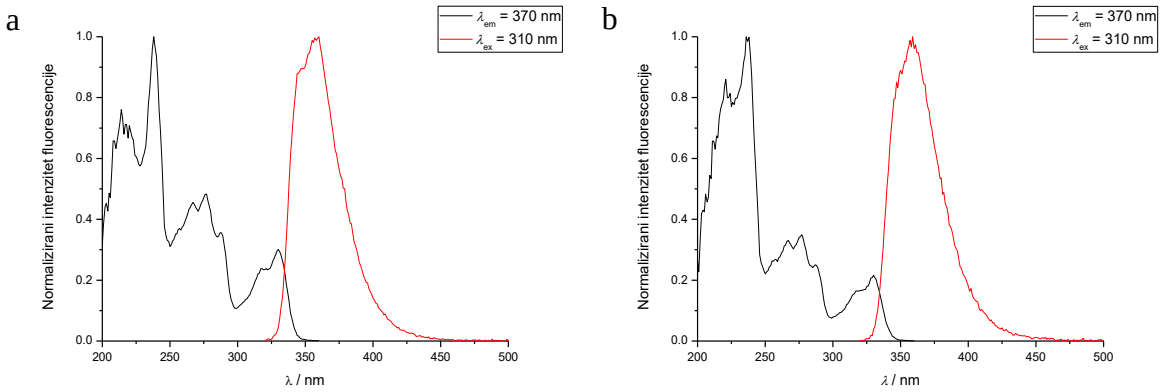
Prilog 166. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **35** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (3:1). λ_{ex} = 310 nm, λ_{em} = 370 nm



Prilog 167. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **36** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (3:1). λ_{ex} = 310 nm, λ_{em} = 370 nm

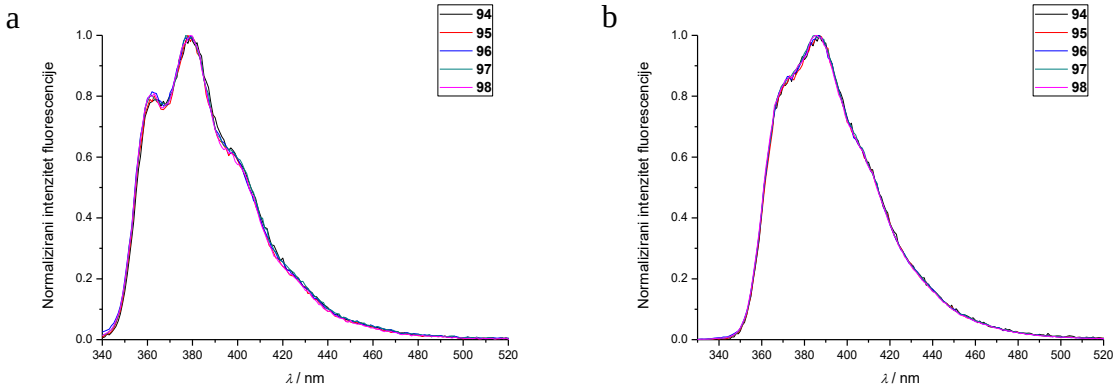


Prilog 168. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **37** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (3:1). λ_{ex} = 310 nm, λ_{em} = 370 nm

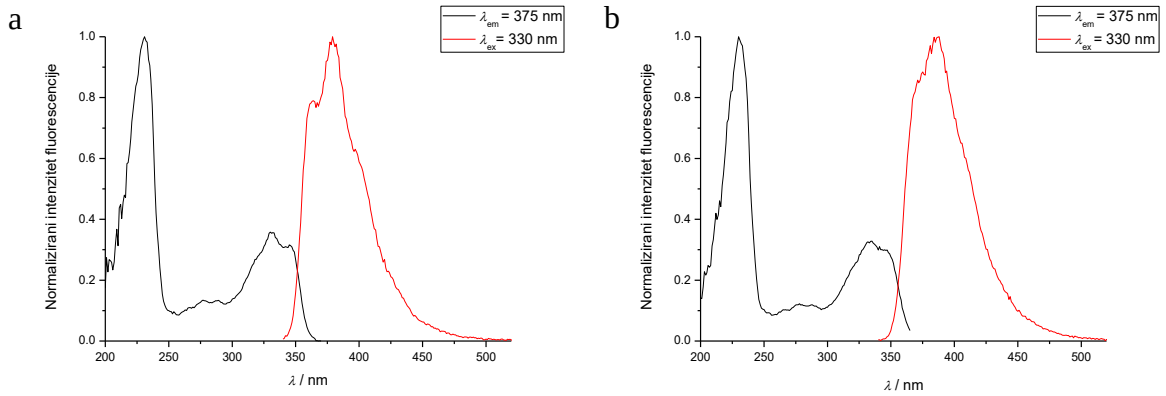


8.3.2. Fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih 1,8-naftalimd - naftolnih spojeva

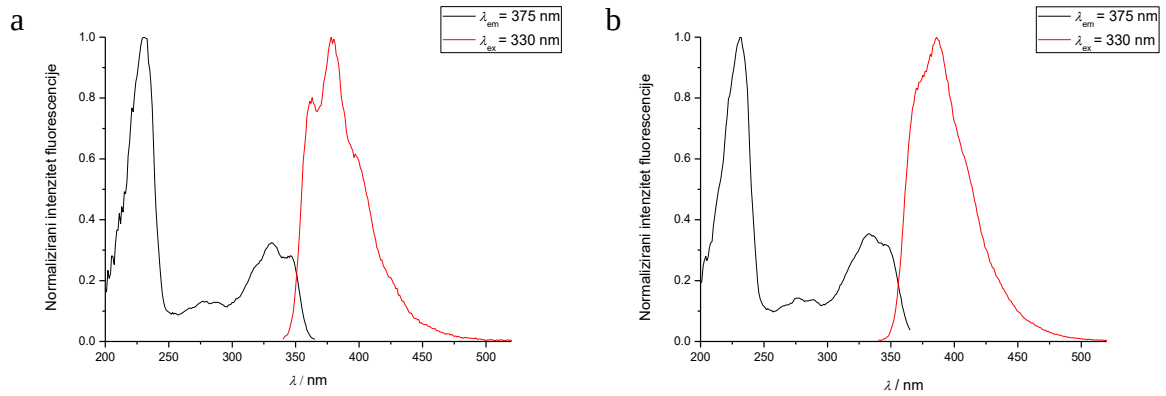
Prilog 169. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **94**-**98** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) uz λ_{ex} = 320 nm



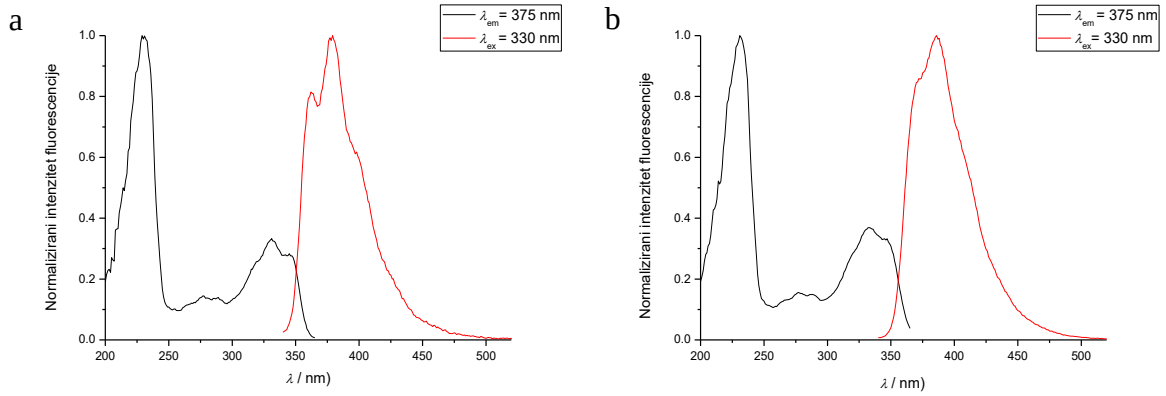
Prilog 170. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **94** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 330 nm, λ_{em} = 375 nm



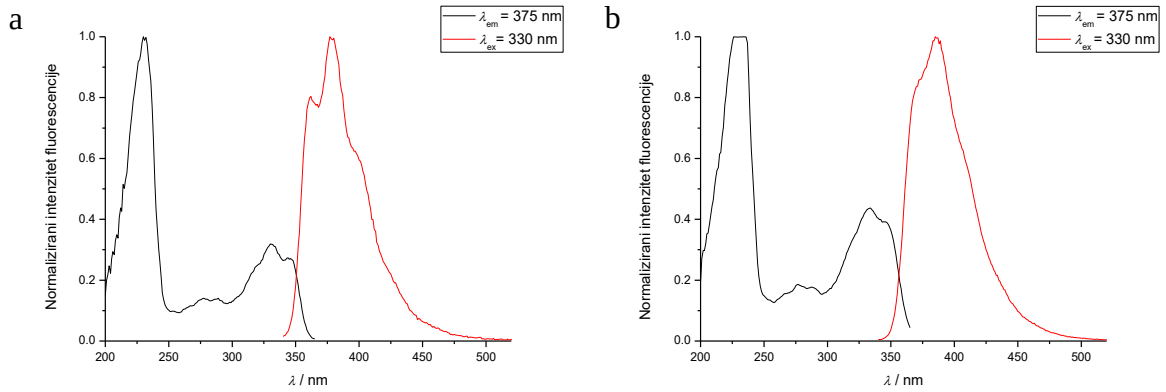
Prilog 171. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **95** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 330 nm, λ_{em} = 375 nm



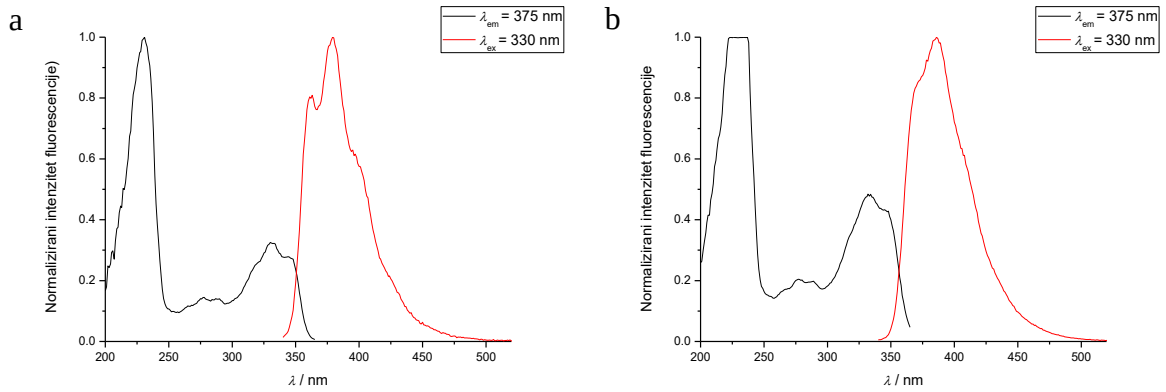
Prilog 172. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **96** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 330 nm, λ_{em} = 375 nm



Prilog 173. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **97** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 330 nm, λ_{em} = 375 nm

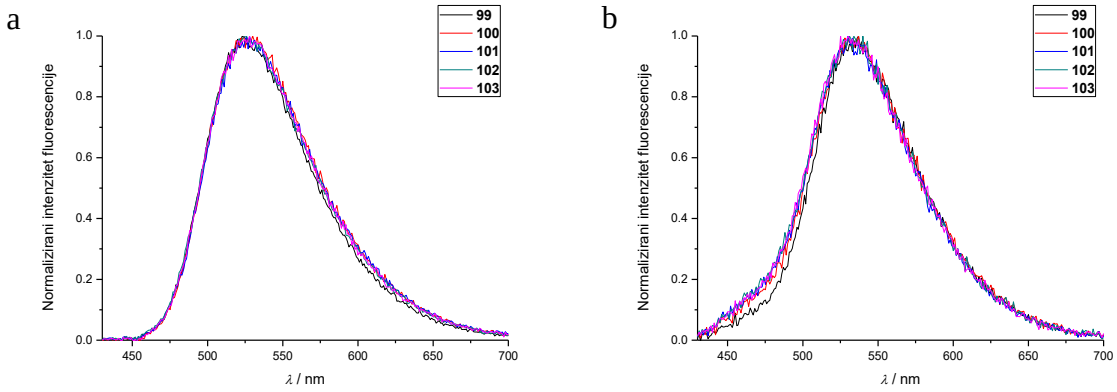


Prilog 174. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **98** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 330 nm, λ_{em} = 375 nm

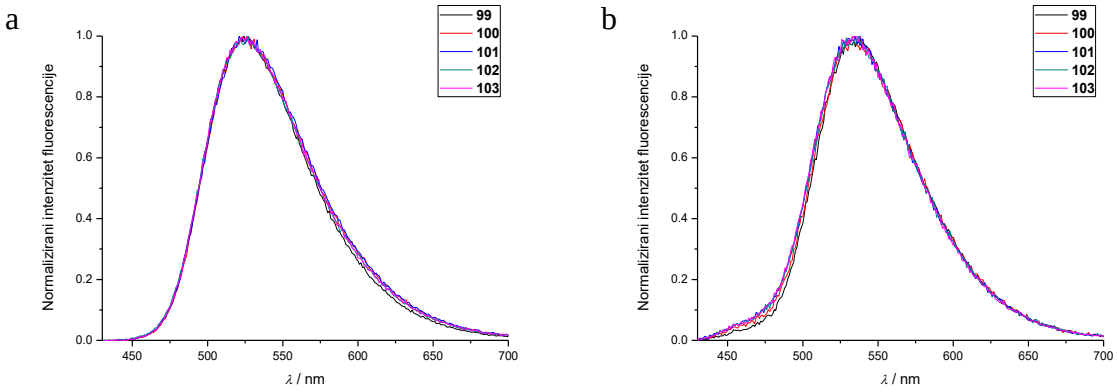


8.3.3. Fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih 4-dietilamin-1,8-naftalimd - naftolnih spojeva

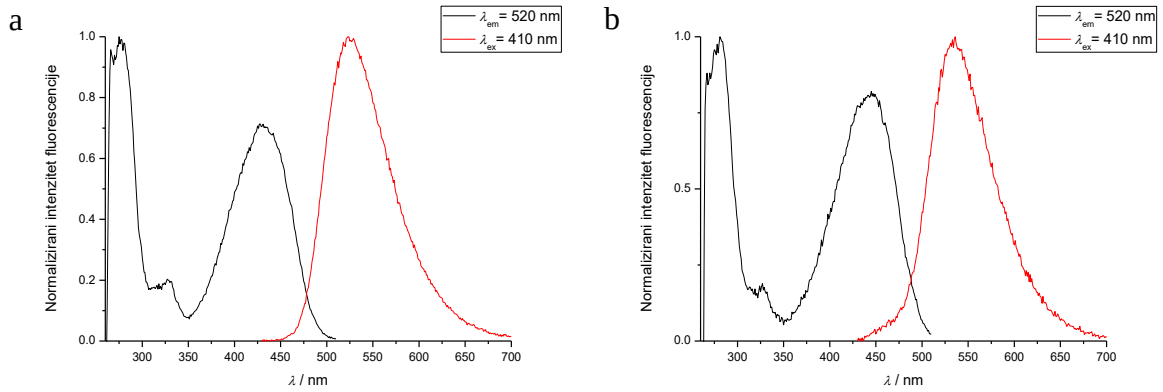
Prilog 175. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **99-103** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) uz λ_{ex} = 400 nm



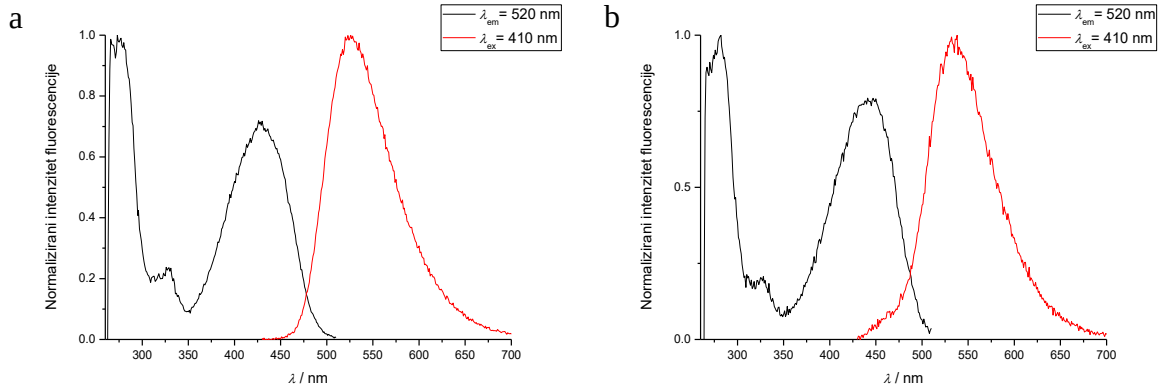
Prilog 176. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri heterobifunkcionalnih spojeva **99-103** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1) uz λ_{ex} = 420 nm



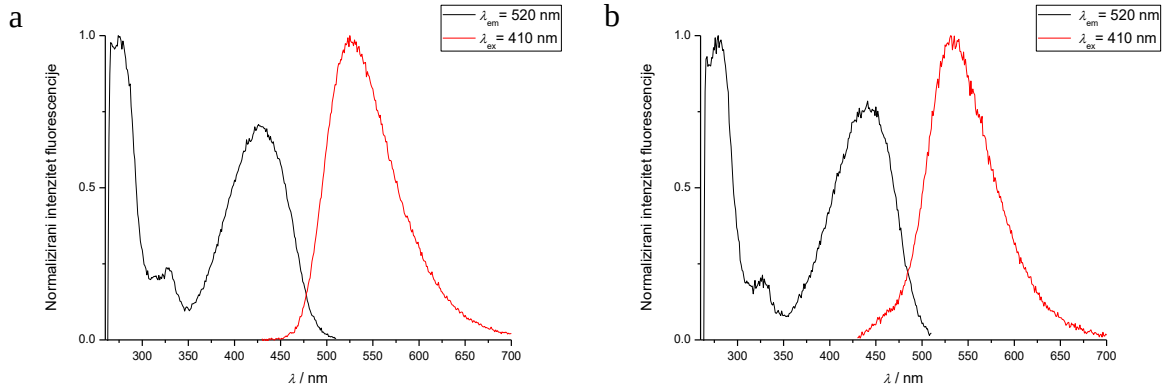
Prilog 177. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **99** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 410 nm, λ_{em} = 520 nm



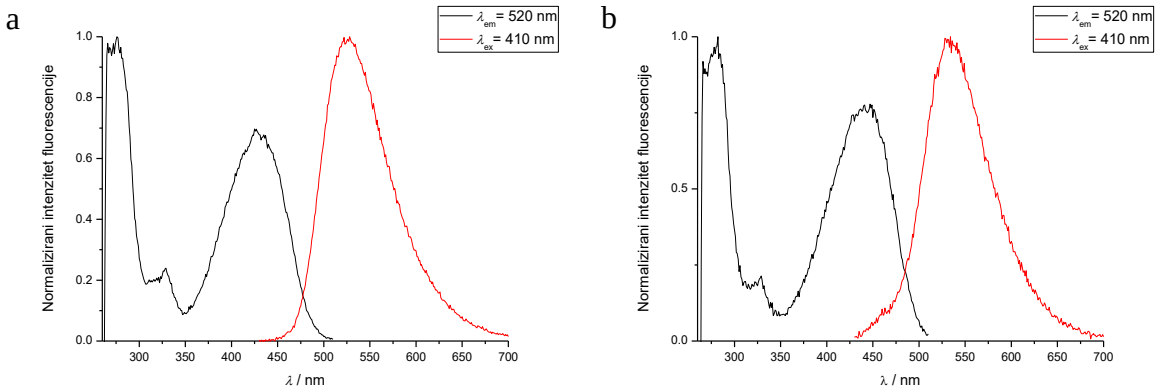
Prilog 178. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **100** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 410 nm, λ_{em} = 520 nm



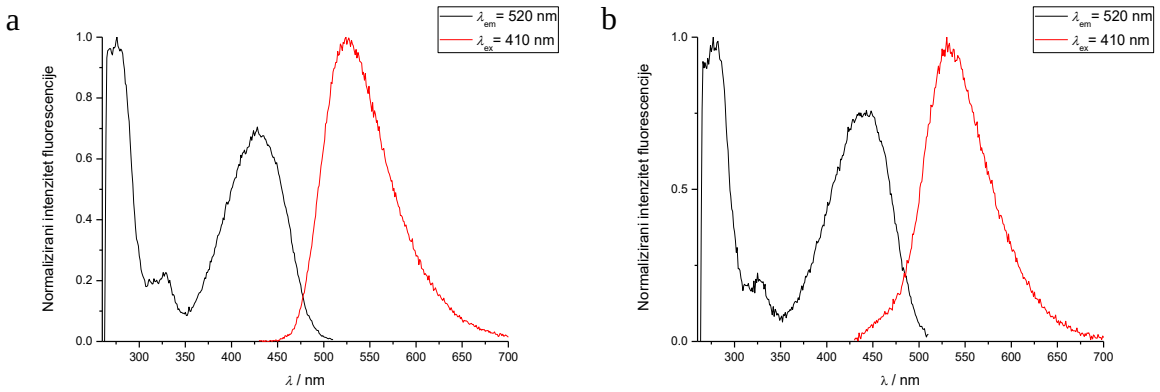
Prilog 179. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **101** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 410 nm, λ_{em} = 520 nm



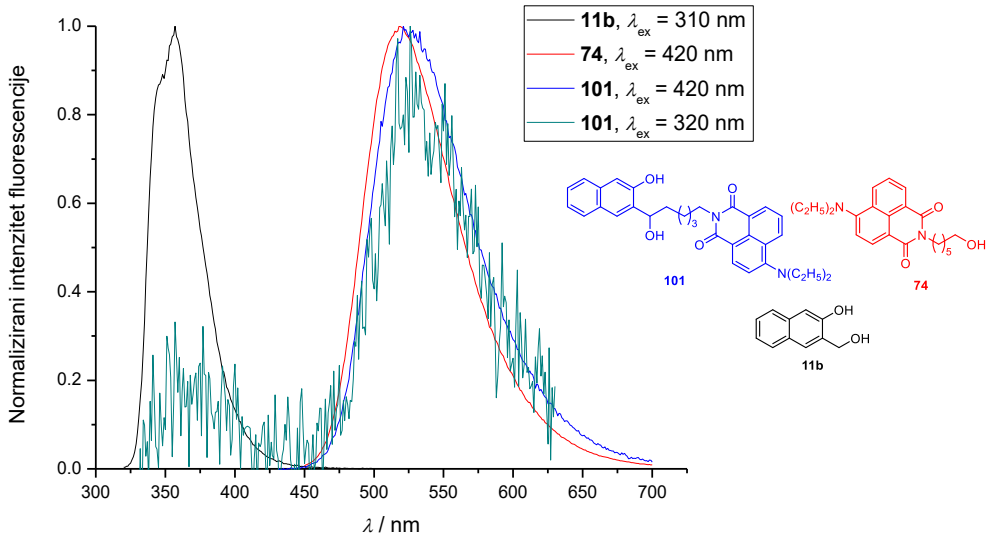
Prilog 180. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **102** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 410 nm, λ_{em} = 520 nm



Prilog 181. Normalizirani emisijski i pobudni fluorescencijski spektri spoja **103** snimljeni pri 25 °C u: (a) acetonitrilu, (b) smjesi otapala acetonitril - voda (4:1). λ_{ex} = 410 nm, λ_{em} = 520 nm



Prilog 182. Normalizirani emisijski fluorescencijski spektri spojeva **101**, **74** i **11b** snimljeni pri 25 °C u acetonitrilu uz λ_{ex} = 310 nm za **11b**, λ_{ex} = 420 nm za **74** i λ_{ex} = 420 i 320 nm za spoj **101**. Spektar crtan zelenom bojom (—) prikazuje FRET.

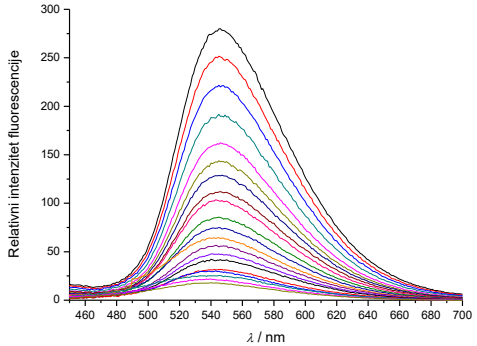


8.4. Fluorimetrijske titracije

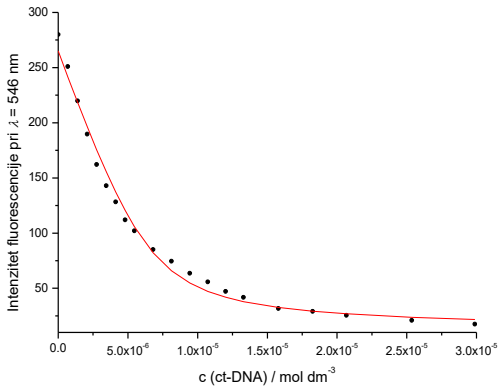
8.4.1. Spektri fluorimetrijskih titracija heterobifunkcionalnih 4-dietilamin-1,8-naftalimd - naftolnih spojeva s ct-DNA

Prilog 183. (a) Promjene u emisijskom fluorescencijskom spektru i (b) promjena intenziteta fluorescencije pri λ = 546 nm kod titracije spoja **99** (c = 2×10^{-6} mol dm^{-3}) u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) s ct-DNA (c_{DNA} = 2,78×10^{-4} mol dm^{-3}). Valna duljina pobude 410 nm. Spektri su snimljeni pri 25 °C

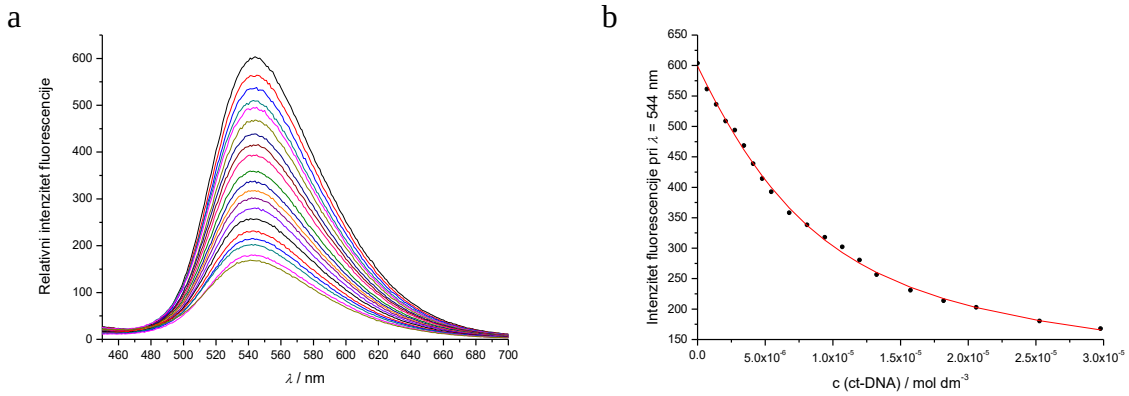
a



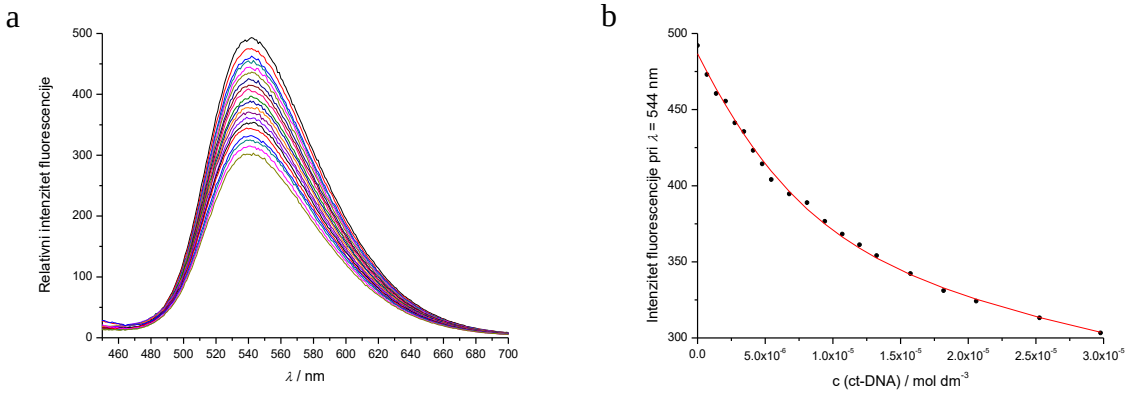
b



Prilog 184. Promjene u fluorescencijskom spektru i (b) promjena intenziteta fluorescencije pri λ = 544 nm kod titracije spoja **100** ($c = 2\times10^{-6}$ mol dm^{-3}) u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) s ct-DNA ($c_{DNA} = 2{,}78\times10^{-4}$ mol dm^{-3}). Valna duljina pobude 410 nm. Spektri su snimljeni pri 25 °C

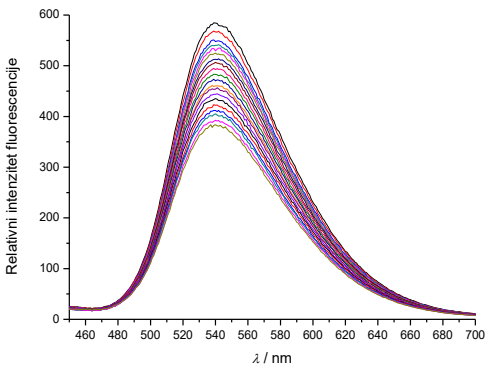


Prilog 185. (a) Promjene u fluorescencijskom spektru i (b) promjena intenziteta fluorescencije pri λ = 543 nm kod titracije spoja **102** ($c = 2\times10^{-6}$ mol dm^{-3}) u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) s ct-DNA ($c_{DNA} = 2{,}78\times10^{-4}$ mol dm^{-3}). Valna duljina pobude 410 nm. Spektri su snimljeni pri 25 °C

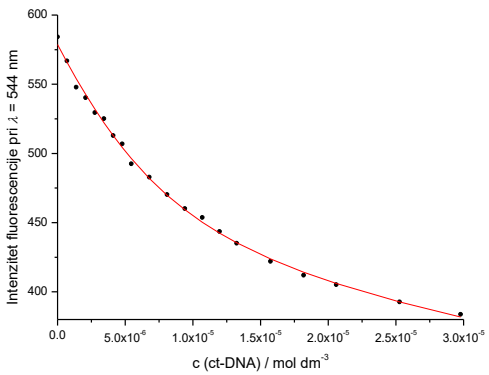


Prilog 186. (a) Promjene u fluorescencijskom spektru i (b) promjena intenziteta fluorescencije pri λ = 540 nm kod titracije spoja **103** ($c = 2\times10^{-6}$ mol dm^{-3}) u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) s ct-DNA ($c_{DNA} = 2{,}78\times10^{-4}$ mol dm^{-3}). Valna duljina pobude 410 nm. Spektri su snimljeni pri 25 °C

a



b

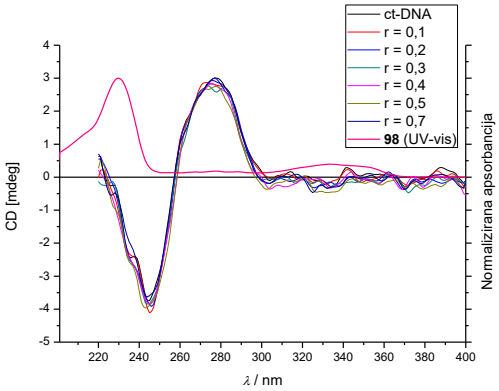


8.5. Spektri CD

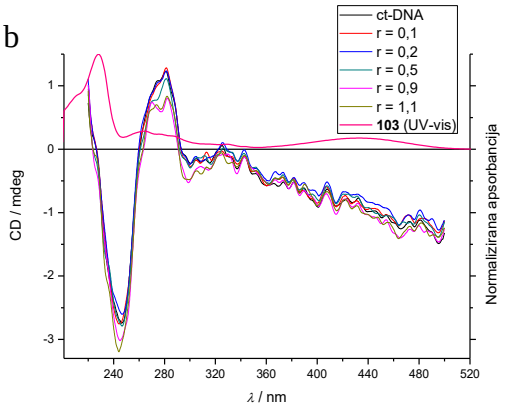
8.5.1. CD titracije heterobifunkcionalnih 1,8-naftalimd - naftolnih spojeva

Prilog 187. Spektri CD titracije ct-DNA u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) ($c_{DNA} = 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}) acetonitrilnom otopinom spoja (a) **98** ($c = 2\times10^{-2}$ mol dm^{-3}) i (b) **103** ($c = 2\times10^{-3}$ mol dm^{-3}) pri omjerima r[e]. Sa spektrima CD titracija preklopljeni su normalizirani UV-vis apsorpcijski spektri ispitivanih spojeva (a) **98** i (b) **103**

a



b

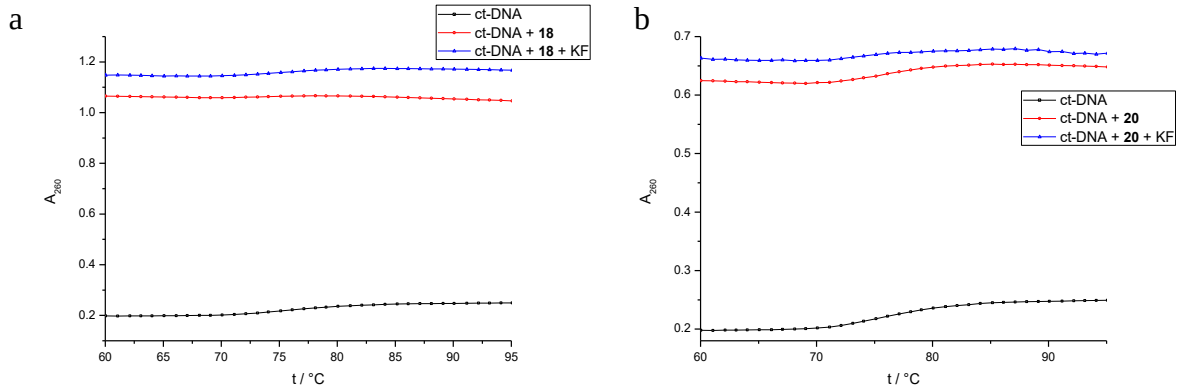


[e] $r = \frac{c_{spoj}}{c_{DNA}}$

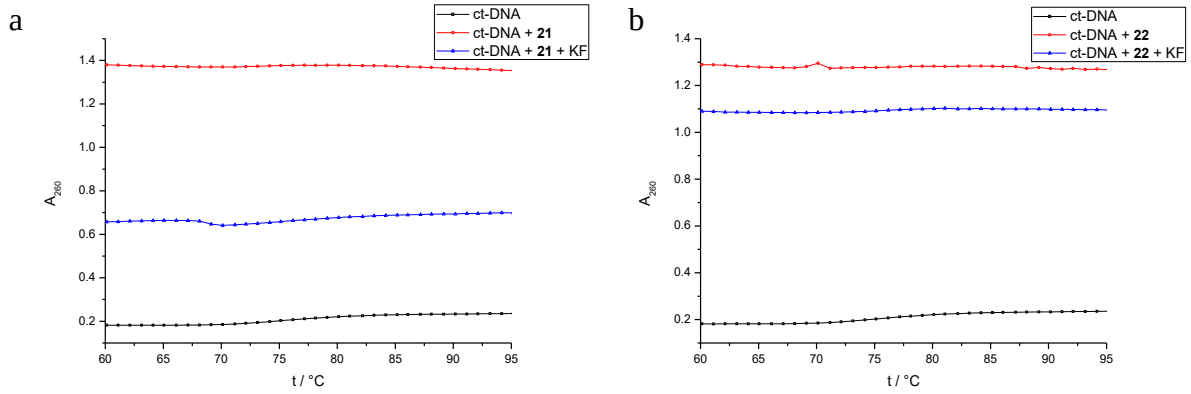
8.6. Termalna denaturacija DNA

8.6.1. Termalna denaturacija ct-DNA - fenolni homobifunkcionalni spojevi

Prilog 188. Ovisnost apsorbancije (λ = 260 nm) ct-DNA o temperaturi. (a) ct-DNA ($1{,}76\times10^{-5}$ mol dm^{-3}), ct-DNA u prisutnosti **18** ($1{,}6\times10^{-4}$ mol dm^{-3}) i ct-DNA u prisutnosti **18** ($1{,}6\times10^{-4}$ mol dm^{-3}) i KF (0,2 mol dm^{-3}) nakon 3 sata inkubacije. Eksperiment je proveden u smjesi kakodilatnog pufera (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) i DMSO (9:1). T_m = 75,1 ± 0,5 °C; ΔT_m = 1,0 ± 0,5 °C; (b) ct-DNA ($1{,}76\times10^{-5}$ mol dm^{-3}), ct-DNA u prisutnosti **20** ($1{,}6\times10^{-3}$ mol dm^{-3}) i ct-DNA u prisutnosti **20** ($1{,}6\times10^{-3}$ mol dm^{-3}) i KF (0,2 mol dm^{-3}) nakon 3 sata inkubacije. Eksperiment je proveden u smjesi kakodilatnog pufera (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) i DMSO (8:2). T_m = 75,1 ± 0,5 °C; ΔT_m = 1,0 ± 0,5 °C??

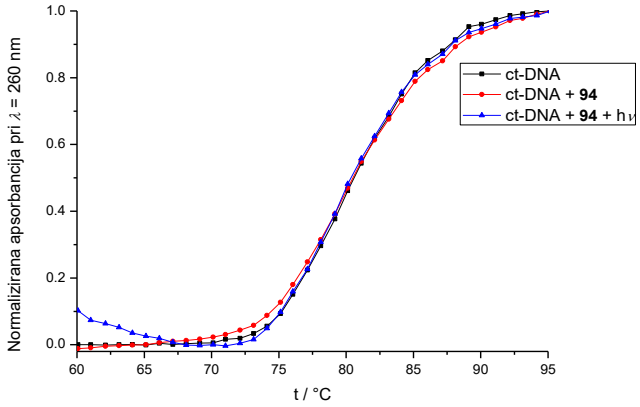


Prilog 189. Ovisnost apsorbancije (λ = 260 nm) ct-DNA o temperaturi. (a) ct-DNA ($1{,}76\times10^{-5}$ mol dm^{-3}), ct-DNA u prisutnosti **21** ($1{,}6\times10^{-4}$ mol dm^{-3}) i ct-DNA u prisutnosti **21** ($1{,}6\times10^{-4}$ mol dm^{-3}) i KF (0,2 mol dm^{-3}) nakon 3 sata inkubacije. T_m = 75,1 ± 0,5 °C; ΔT_m = 1,0 ± 0,5 °C; (b) ct-DNA ($1{,}76\times10^{-5}$ mol dm^{-3}), ct-DNA u prisutnosti **22** ($1{,}6\times10^{-4}$ mol dm^{-3}) i ct-DNA u prisutnosti **22** ($1{,}6\times10^{-3}$ mol dm^{-3}) i KF (0,2 mol dm^{-3}) nakon 3 sata inkubacije. T_m = 75,1 ± 0,5 °C, ΔT_m = 1,0 ± 0,5 °C. Eksperimenti su proveden u smjesi kakodilatnog pufera (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) i DMSO (9:1)

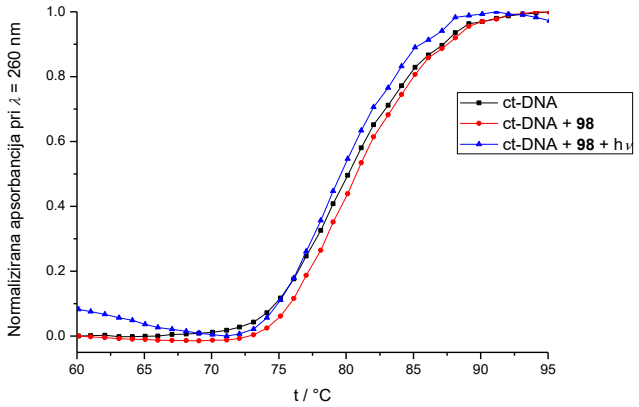


8.6.2. Termalna denaturacija ct-DNA s 1,8-naftalimid - naftolnim heterobifunkcionalnim spojevima

Prilog 190. Ovisnost normalizirane apsorbancije (λ = 260 nm) ct-DNA o temperaturi. ct-DNA, ct-DNA u prisutnosti **94** i ct-DNA u prisutnosti **94** nakon 5 min osvjetljavanja na 350 nm (c_{DNA} ≈ 3×10^{-5} mol dm^{-3}). Eksperiment je proveden u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) pri r = 0,3[f]



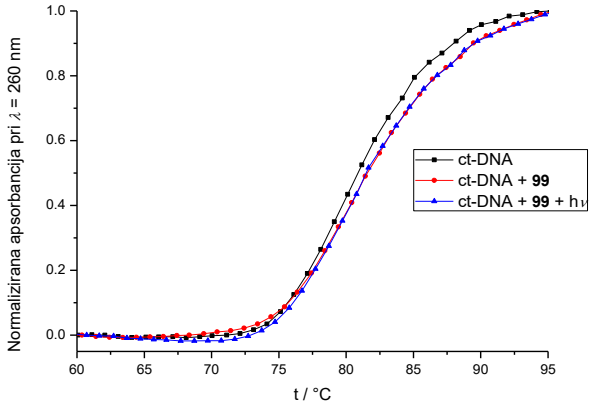
Prilog 191. Ovisnost normalizirane apsorbancije (λ = 260 nm) ct-DNA o temperaturi. ct-DNA, ct-DNA u prisutnosti **98** i ct-DNA u prisutnosti **98** nakon 5 min osvjetljavanja na 350 nm (c_{DNA} ≈ 3×10^{-5} mol dm^{-3}). Eksperiment je proveden u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) pri r = 0,3



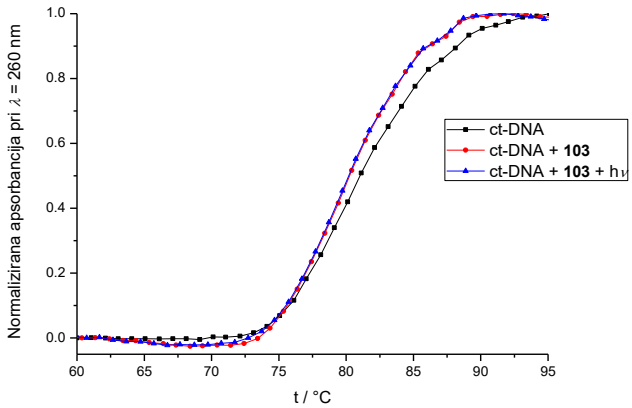
[f] $r = \frac{c_{spoj}}{c_{DNA}}$

8.6.3. Termalna denaturacija ct-DNA s 4-dietilamin-1,8-naftalimid - naftolnim heterobifunkcionalnim spojevima

Prilog 192. Ovisnost normalizirane apsorbancije (λ = 260 nm) ct-DNA o temperaturi. ct-DNA, ct-DNA u prisutnosti **99** i ct-DNA u prisutnosti **99** nakon 5 min osvjetljavanja na 350 nm ($c_{DNA} \approx 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}). Eksperiment je proveden u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) pri r = 0,3



Prilog 193. Ovisnost normalizirane apsorbancije (λ = 260 nm) ct-DNA o temperaturi. ct-DNA, ct-DNA u prisutnosti **103** i ct-DNA u prisutnosti **103** nakon 5 min osvjetljavanja na 350 nm ($c_{DNA} \approx 3\times10^{-5}$ mol dm^{-3}). Eksperiment je proveden u kakodilatnom puferu (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) pri r = 0,3



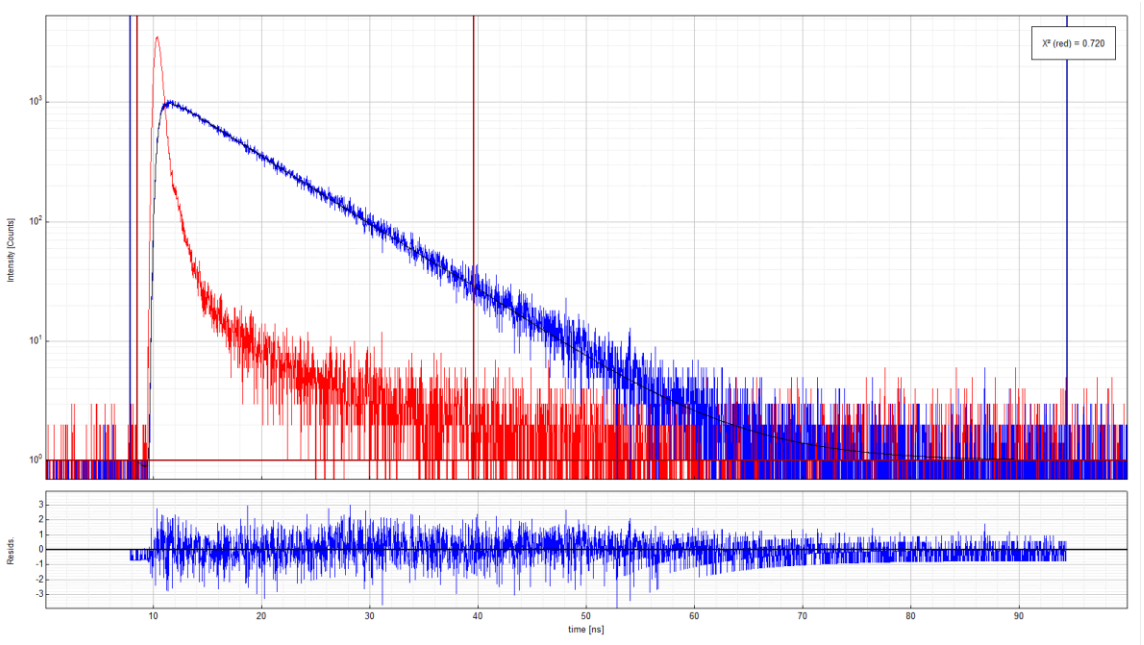
8.7. Brojenje pojedinačnih fotona (SPC)

8.7.1. SPC ispitivanja naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

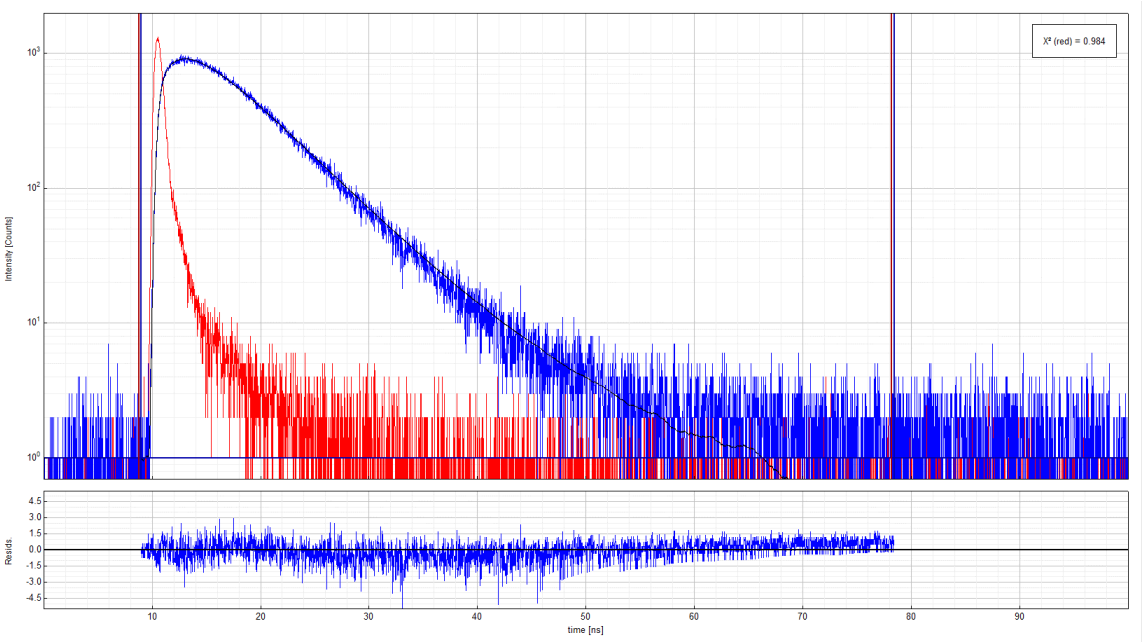
Eksperimentalno izmjereno opadanje fluorescencije kod SPC mjerenja je *fitano* koristeći nelinearnu regresijsku analizu prema modelu sume opadajućih eksponencijalnih funkcija (16).

$$F(t) = \alpha_1 exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) + \alpha_2 exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right) + \alpha_3 exp\left(-\frac{t}{\tau_3}\right) + \cdots \qquad (16)$$

Prilog 194. Opadanje intenziteta fluorescencije za acetonitrilnu otopinu spoja **33**. Uzorak je pobuđen na 267 nm, a fluorescencija je detektirana koristeći propusni filter na oko 325 nm. Crveno je IRF (funkcija odziva instrumenta), a plavo je opadanje intenziteta fluorescencije. Eksperimentalno izmjereno opadanje fluorescencije je *fitano* korištenjem izraza 16. Donji dio slike su usrednjene razlike računate i mjerene vrijednosti (*weighted residuals*).



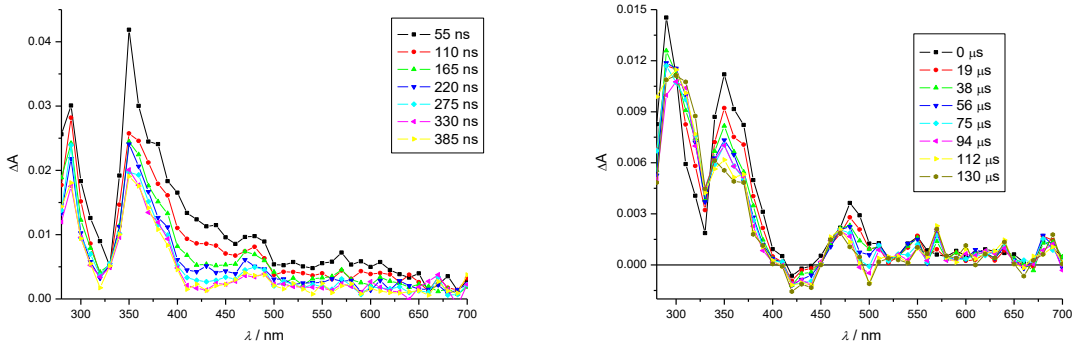
Prilog 195. Opadanje intenziteta fluorescencije otopine spoja **33** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,1 mol dm^{-3}) (1:1). Uzorak je pobuđen na 267 nm, a fluorescencija je detektirana koristeći odsječni filter (*cut off filter*) na 425 nm. Crveno je IRF (funkcija odziva instrumenta), a plavo opadanje intenziteta fluorescencije. Eksperimentalno izmjereno opadanje fluorescencije je *fitano* korištenjem izraza 16. Donji dio slike su usrednjene razlike računate i mjerene vrijednosti (*weighted residuals*).



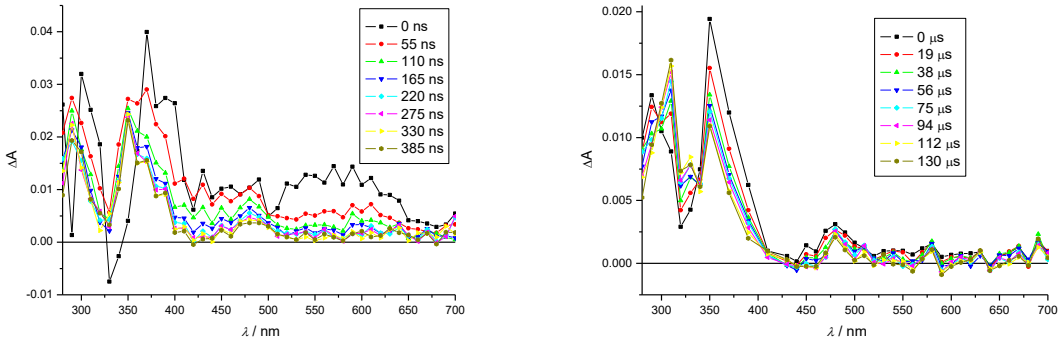
8.8. Laserska pulsna fotoliza (LFP)

8.8.1. LFP ispitivanja naftolnih homobifunkcionalnih spojeva

Prilog 196. Tranzijentni apsorpcijski spektri argonom propuhane acetonitrilne otopine spoja **33** (c = 5,05×10^{-5} mol dm^{-3}) snimljeni pri dvije različite vremenske skale



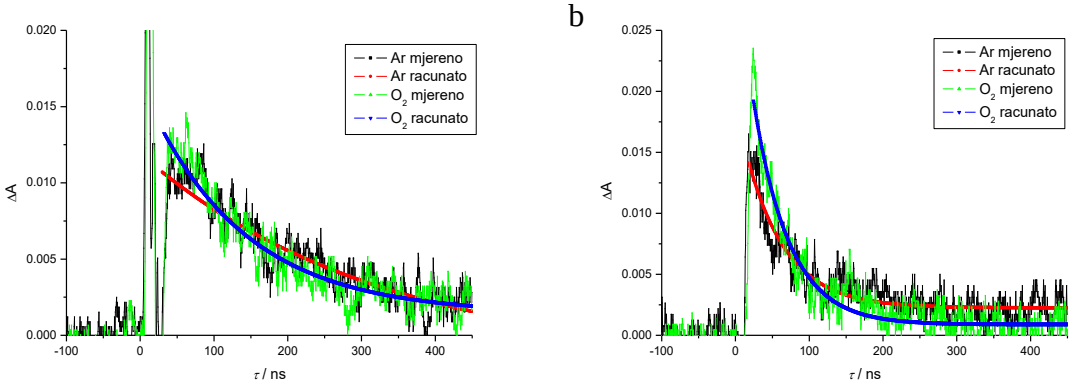
Prilog 197. Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom propuhane acetonitrilne otopine spoja **33** ($c = 5{,}05\times10^{-5}$ mol dm^{-3}) snimljeni pri dvije različite vremenske skale



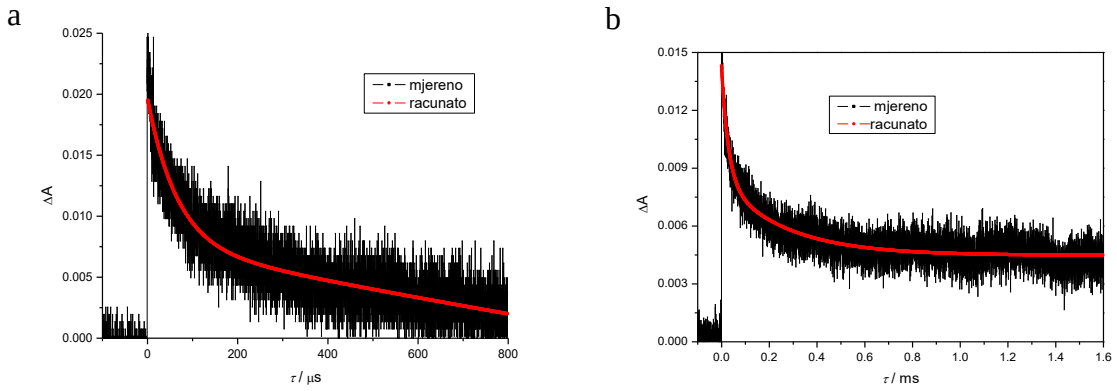
Prilog 198. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na (a) 450 nm i (b) 550 nm u argonom i kisikom propuhanim acetonitrilnim otopinama spoja **33**. Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste: 450 nm $\tau_{Ar} = 320 \pm 20$ ns i $\tau_{O_2} = 130 \pm 10$ ns; 550 nm $\tau_{Ar} = 54 \pm 1$ ns i $\tau_{O_2} = 48 \pm 1$ ns

a

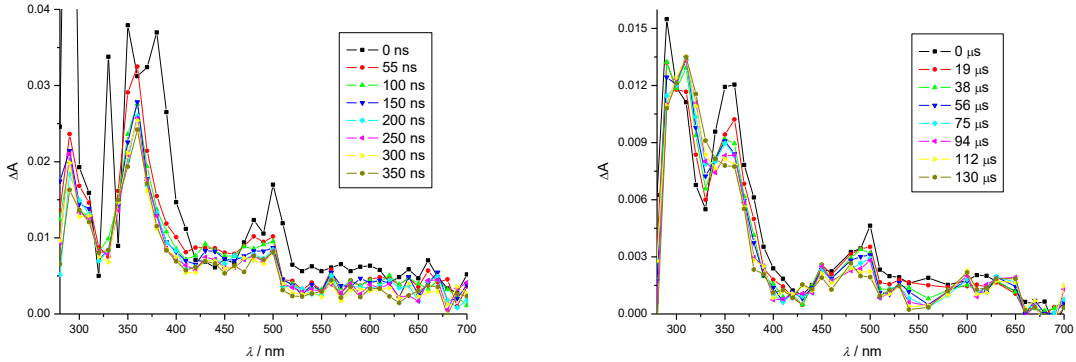
b



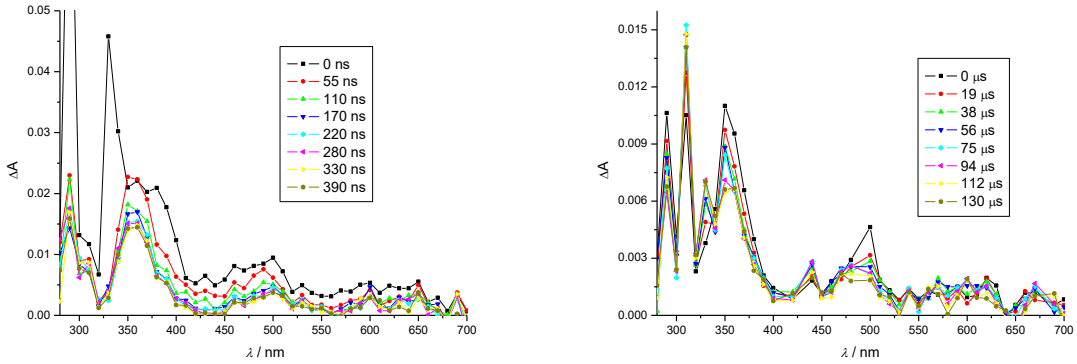
Prilog 199. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na 350 nm u (a) argonom i (b) kisikom propuhanim acetonitrilnim otopinama spoja **33**. Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su dvije vrijednosti vremena nestajanja tranzijentne vrste: τ_{Ar} = 26 ± 2 μs i 280 ± 10 μs; τ_{O_2} = 60 ± 2 μs i 720 ± 70 μs



Prilog 200. Tranzijentni apsorpcijski spektri argonom propuhane otopine spoja **33** (c = 5,05× 10^{-5} mol dm^{-3}) u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3})(1:1) snimljeni pri dvije različite vremenske skale



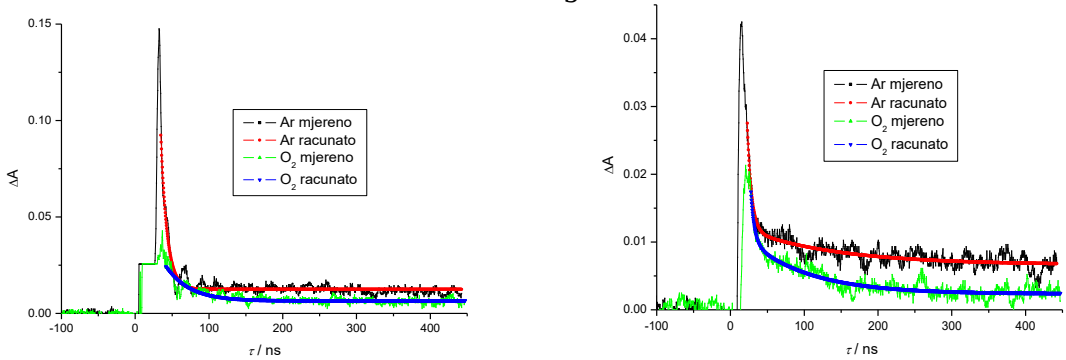
Prilog 201. Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom propuhane otopine spoja **33** (c = 5,05× 10^{-5} mol dm^{-3}) u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1) snimljeni pri dvije različite vremenske skale



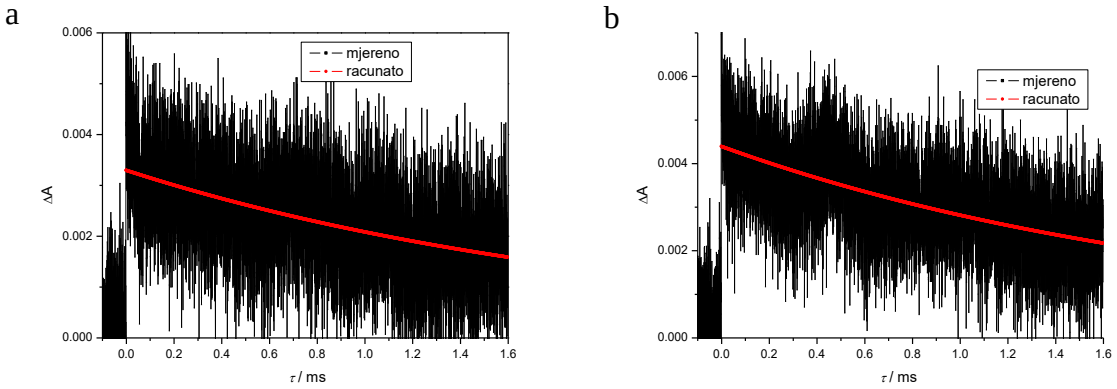
Prilog 202. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na (a) 380 nm i (b) 480 nm u argonom i kisikom propuhanim otopinama spoja **33** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1). Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena nestajanja tranzijentne vrste: 380 nm $\tau_{Ar} \approx$ 10 ns i $\tau_{O_2} \approx 32 \pm 1$ ns; 480 nm τ_{Ar} = 5 ns i 120 ± 10 ns i τ_{O_2} = 5 ns i 83 ± 3 ns

a

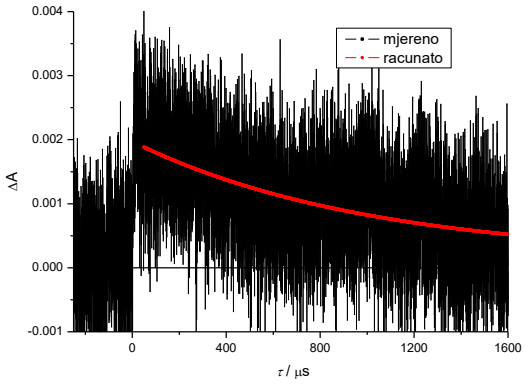
b



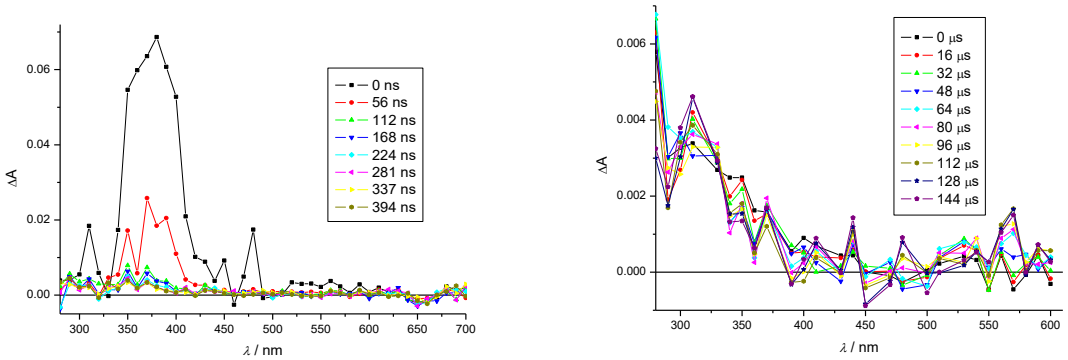
Prilog 203. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na 350 nm u (a) argonom i (b) kisikom propuhanim otopinama spoja **33** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1). Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobiveno je vrijeme nestajanja tranzijentne vrste: τ_{Ar} = 2,1 ± 0,6 ms; $\tau_{\mathrm{O_2}}$ = 2,8 ± 0,8 ms



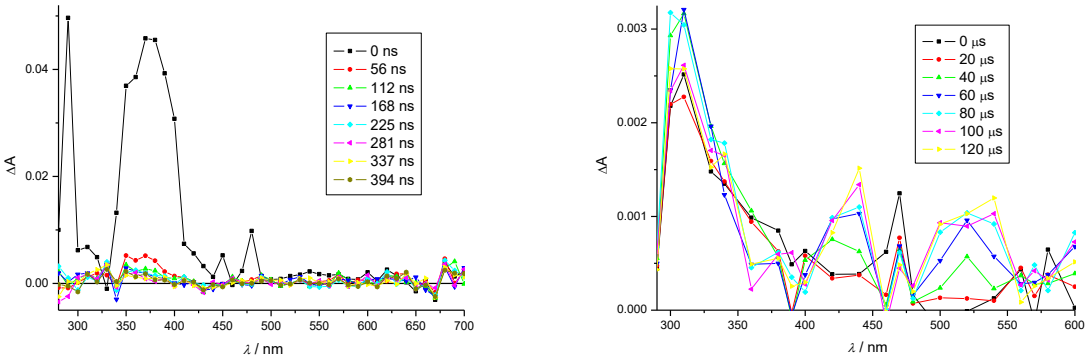
Prilog 204. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na 350 nm u ne propuhanoj otopini spoja **33** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1) u prisutnosti natrijevog azida (c = 0,010 mol dm^{-3}). Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobiveno je vrijeme života tranzijentne vrste: $\tau_{\mathrm{qNaN_3}}$ = 230 ± 80 μs. Vrijednost konstante gašenja (k_{q}) azidom je procijenjena na $k_{\mathrm{q\ NaN_3}} \approx 4\times10^5$ dm^3 mol^{-1} s^{-1}



Prilog 205. Tranzijentni apsorpcijski spektri argonom propuhane acetonitrilne otopine spoja **37** ($c = 4{,}79\times10^{-5}$ mol dm^{-3}) snimljeni pri dvije različite vremenske skale

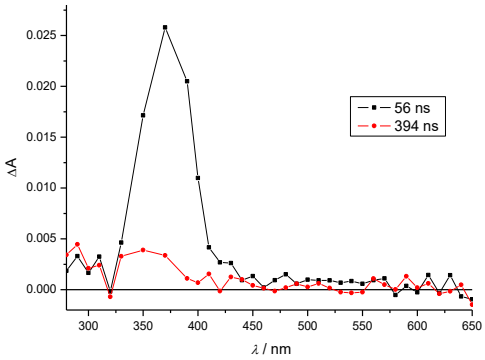


Prilog 206. Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom propuhane acetonitrilne otopine spoja **37** ($c = 4{,}79\times10^{-5}$ mol dm^{-3}) snimljeni pri dvije različite vremenske skale

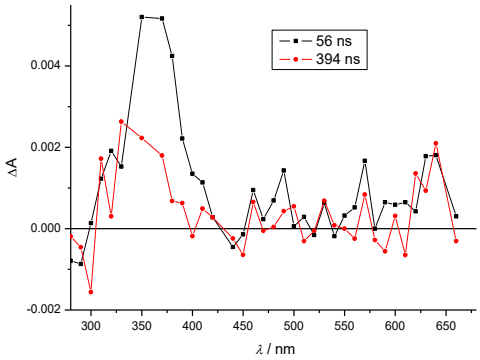


Prilog 207. Tranzijentni apsorpcijski spektri (a) argonom i (b) kisikom propuhanih acetonitrilnih otopina spoja **37** (c = 4,79×10^{-5} mol dm^{-3}) snimljeni nakon 56 ns i nakon 394 ns od laserskog pulsa

a

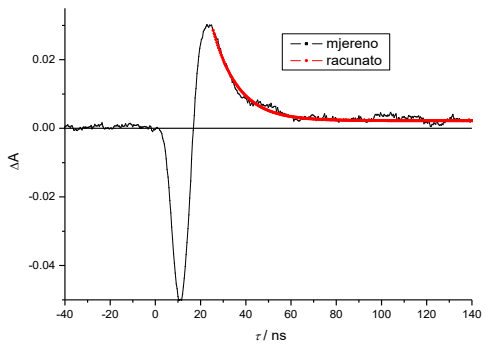


b

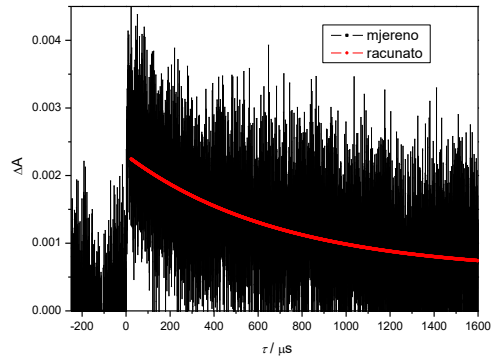


Prilog 208. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na (a) 470 nm i (b) 350 nm u argonom propuhanim acetonitrilnim otopinama spoja **37**. Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste: 470 nm τ_{Ar} = 11 ± 1 ns; 350 nm τ_{Ar} = 900 ± 100 μs

a

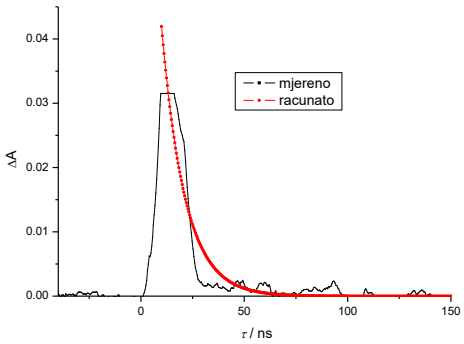


b

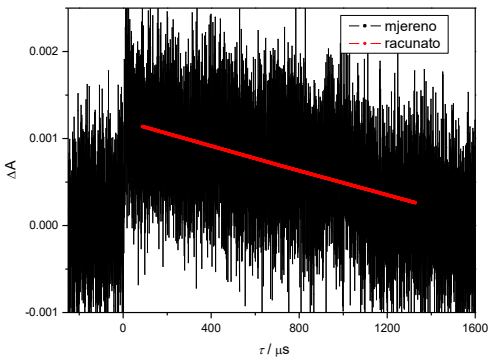


Prilog 209. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na (a) 480 nm i (b) 350 nm u kisikom propuhanim acetonitrilnim otopinama spoja **37**. Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste: 480 nm $\tau_{O_2} \approx 10 \pm 1$ ns; 350 nm $\tau_{O_2} \approx 8 \pm 2$ ms

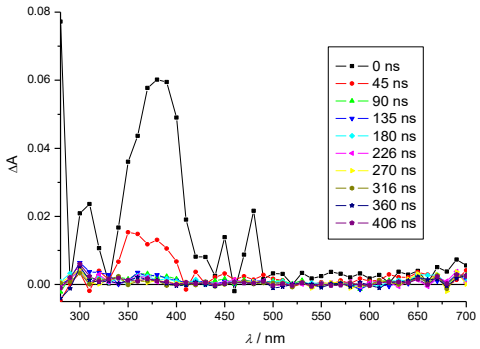
a

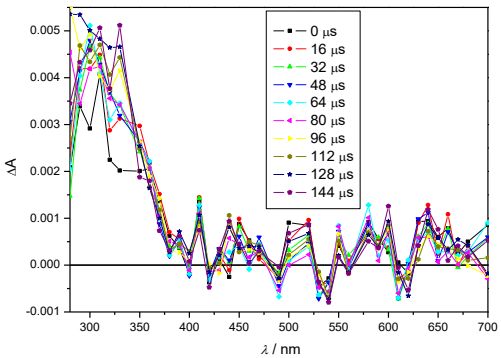


b

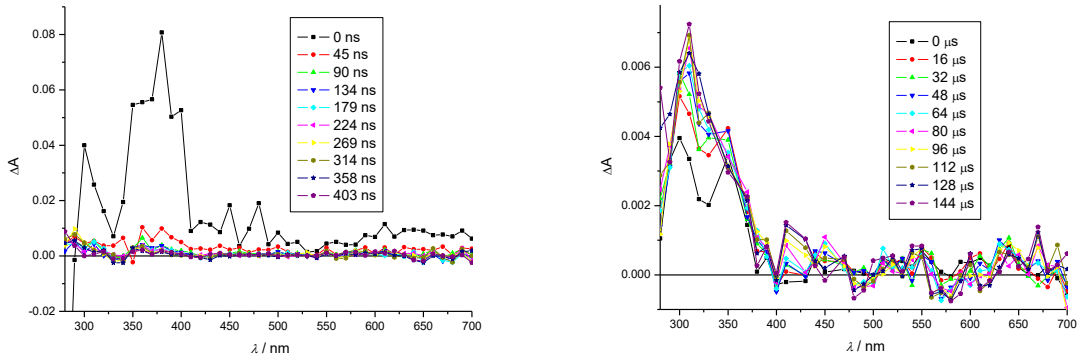


Prilog 210. Tranzijentni apsorpcijski spektri argonom propuhane otopine spoja **37** (c = 4,79× 10^{-5} mol dm^{-3}) u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1) snimljeni pri dvije različite vremenske skale





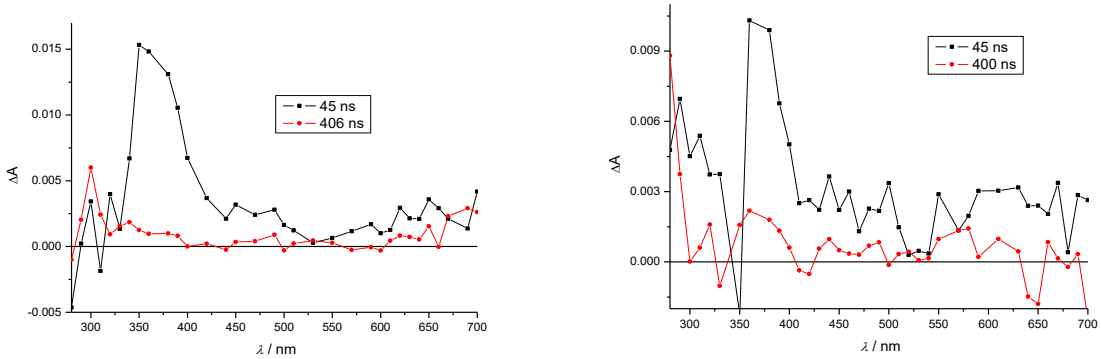
Prilog 211. Tranzijentni apsorpcijski spektri kisikom propuhane otopine spoja **37** (c = 4,79×10^{-5} mol dm^{-3}) u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1) snimljeni pri dvije različite vremenske skale



Prilog 212. Tranzijentni apsorpcijski spektri (a) argonom i (b) kisikom propuhanih otopina spoja **37** (c = 4,79×10^{-5} mol dm^{-3}) u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1) snimljeni nakon 45 ns i nakon 406 i/ili 400 ns od laserskog pulsa

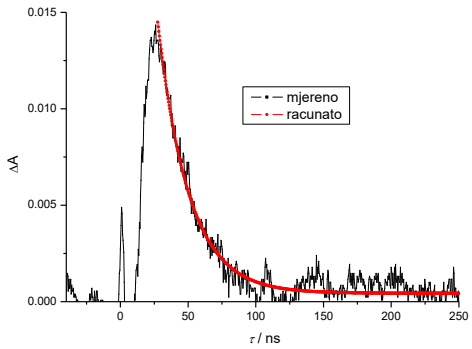
a

b

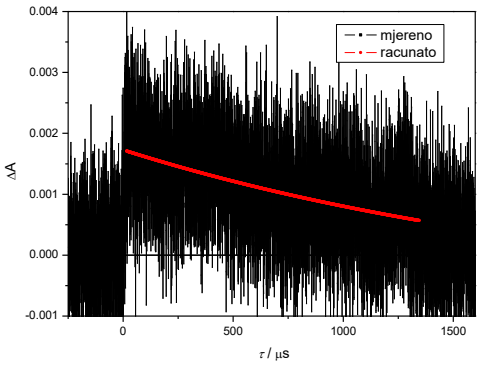


Prilog 213. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na (a) 470 nm i (b) 350 nm u argonom propuhanim otopinama spoja **37** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1). Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste: 470 nm $\tau_{Ar} \approx 23 \pm 1$ ns; 350 nm $\tau_{Ar} \approx 2{,}2 \pm 0{,}7$ ms

a

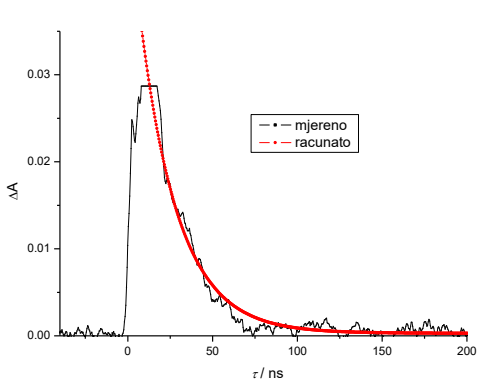


b

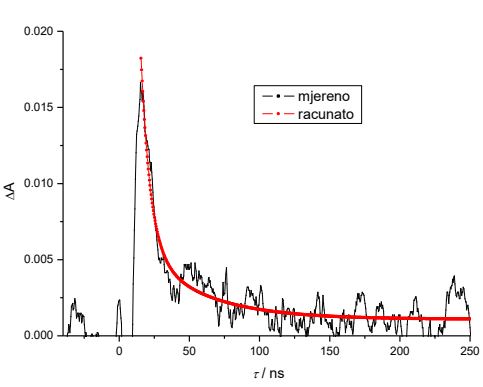


Prilog 214. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na (a) 470 nm i (b) 550 nm u kisikom propuhanim otopinama spoja **37** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1). Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste: 470 nm $\tau_{O_2} \approx 24 \pm 1$ ns; 550 nm $\tau_{O_2} \approx 6 \pm 1$ ns u 43 ± 1 ns

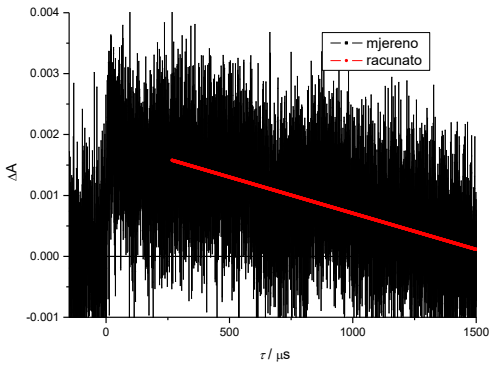
a



b



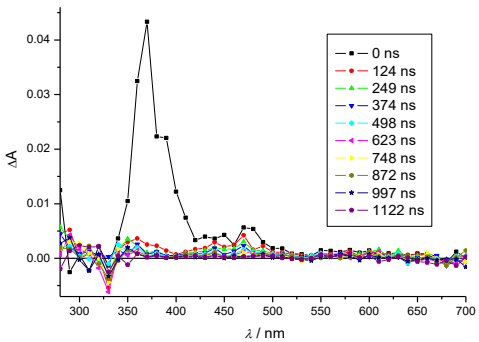
Prilog 215. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na 350 nm u kisikom propuhanoj otopini spoja **37** u smjesi otapala acetonitril - fosfatni pufer (pH = 7,0, c = 0,05 mol dm^{-3}) (1:1). Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste na 350 nm $\tau_{O_2} \approx 1 \pm 0{,}1$ ms



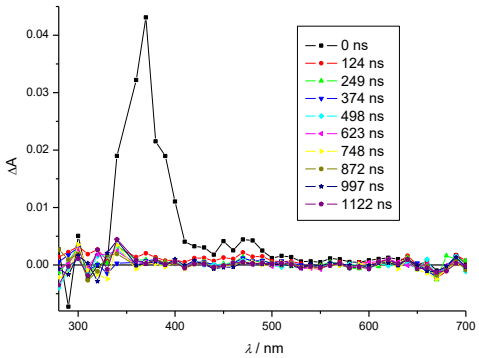
8.8.2. LFP ispitivanja 1,8-naftalimid - naftolnih heterobifunkcionalnih spojeva

Prilog 216. Tranzijentni apsorpcijski spektri (a) argonom i (b) kisikom propuhane acetonitrilne otopine spoja **94** (c = 7,23×10^{-5} mol dm^{-3})

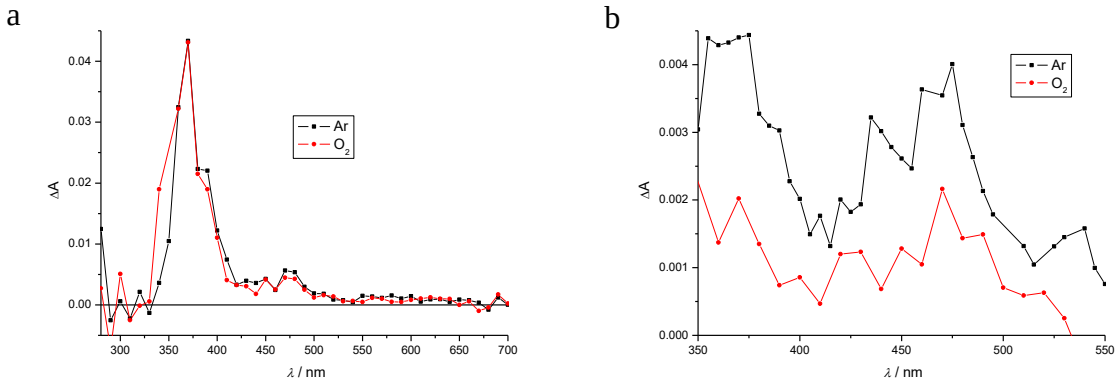
a



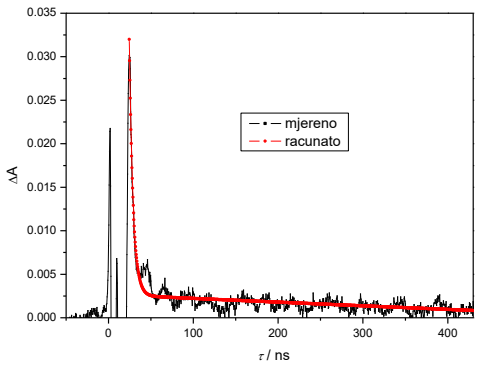
b



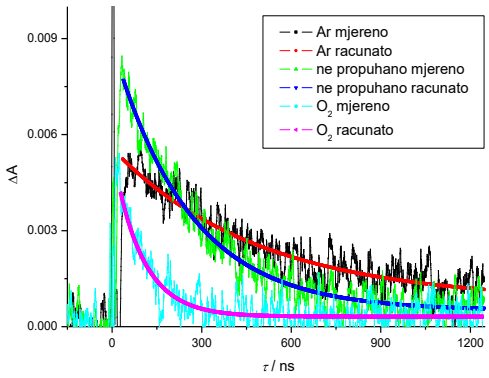
Prilog 217. Tranzijentni apsorpcijski spektri argonom i kisikom propuhanih acetonitrilnih otopina spoja **94** (c = 7,23×10^{-5} mol dm^{-3}) snimljenih (a) nakon laserskog pulsa i (b) 120 ns nakon laserskog pulsa



Prilog 218. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na 400 nm u argonom propuhanoj acetonitrilnoj otopini spoja **94**. Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena nestajanja tranzijentne vrste: τ_{Ar} = 2,6 ± 0,1 ns i τ_{Ar} = 23,1 ± 0,8 ns



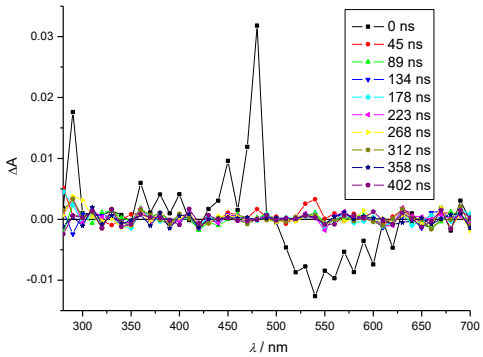
Prilog 219. Kinetika nestajanja tranzijentne vrste s maksimumom na 470 nm u argonom i kisikom propuhanim i ne propuhanoj acetonitrilnoj otopini spoja **94**. Nelinearnom regresijskom analizom (*fitanjem*) dobivenih mjernih podataka dobivene su vrijednosti vremena života tranzijentne vrste τ_{Ar} = 460 ± 20 ns, τ_{O_2} = 100 ± 3 ns i τ_{zrak} = 290 ± 20 ns



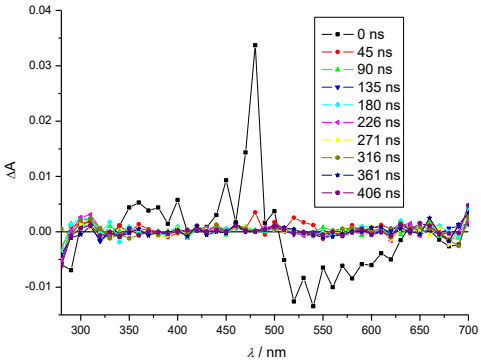
8.8.3. LFP ispitivanja 4-dietilamin-1,8-naftalimid - naftolnih heterobifunkcionalnih spojeva

Prilog 220. Tranzijentni apsorpcijski spektri (a) argonom i (b) kisikom propuhanih acetonitrilnih otopina spoja **99** (c = 4,88×10^{-5} mol dm^{-3})

a



b



§ 9. ŽIVOTOPIS

OSOBNE INFORMACIJE

Matija Sambol

Datum rođenja: 1 listopada 1988. | Mjesto rođenja: Zagreb

OBRAZOVANJE

2013 – 2018	Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij kemije Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek, Zagreb
2011 – 2013	Diplomski sveučilišni studij kemije Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek, Zagreb, grane organska i analitička kemija magistar kemije (mag. chem.)
2007– 2011	Preddiplomski sveučilišni studij kemije Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek, Zagreb, Sveučilišni prvostupnik kemije (univ. bacc. chem.)
2003 – 2007	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb, kemijski tehničar - opći

RADNO ISKUSTVO

06/2017 –	Fidelta d. o. o. Prilaz baruna Filipovića 29, 10000 Zagreb (Hrvatska) znanstvenik – medicinski kemičar
07/2015 – 06/2017	Fidelta d. o. o. Prilaz baruna Filipovića 29, 10000 Zagreb (Hrvatska) mlađi znanstvenik – medicinski kemičar
05/2014 – 09/2014	Institut Ruđer Bošković Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb (Hrvatska) suradnik u pripremi projekta
09/2013 – 05/2014	Institut Ruđer Bošković Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb (Hrvatska) stručni suradnik

AKADEMSKO ISKUSTVO

AKAD. GOD. 2014. / 2015.	Prirodoslovno – matematički fakultet, Kemijski odsjek Horvatovac 102a, 10000 Zagreb (Hrvatska) naslovni asistent na Zavodu za organsku kemiju (41058 *Praktikum organske kemije 1*, 60 sati vježbi; 35806 *Organska kemija*, 30 sati vježbi; 73779 *Organska kemija*, 45 sati vježbi)

ZNANSTVENI RADOVI U CC ČASOPISIMA

● Škalamera, Đani; Veljković, Jelena; Ptiček, Lucija; Sambol, Matija; Mlinarić-Majerski, Kata; Basarić, Nikola. *Synthesis of asymmetrically disubstituted anthracenes*. // *Tetrahedron*. **73** (2017) 5892-5899 (članak, znanstveni).

● Sambol, Matija; Ester, Katja; Husak, Antonija; Škalamera, Đani; Piantanida, Ivo; Kralj, Marijeta; Basarić, Nikola. *Bifunctional Phenol Quinone Methide Precursors: Synthesis and Biological Activity.* // (rad poslan na recenziju)

● Sambol, Matija; Ester, Katja; Landgraf, Stephan; Mihaljević, Branka; Kralj, Marijeta; Basarić, Nikola. *Competing photochemical reactions of bis-naphthols and their photoinduced antiproliferative activity.* // (rad poslan na recenziju)

SUDJELOVANJE NA ZNANSTVENIM SKUPOVIMA, ŠKOLAMA I RADIONICAMA

● Sambol, Matija; Ester, Katja; Kralj, Marijeta; Mlinarić-Majerski, Kata; Basarić, Nikola. Antiproliferative activity of photogrenerated naphthalene and antracene bis(quinone methides) derivatives // 4th EFMC Young Medicinal Chemist Symposium / Beč, Austrija. 2017. (poster).

● Sambol, Matija; Mlinarić-Majerski, Kata; Basarić, Nikola. Synthesis of benzene and naphthalene derivatives of bis(quinone methides) // Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a. / Zagreb, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2016. (poster).

● Sambol, Matija; Škalamera, Đani; Basarić, Nikola; Mlinarić-Majerski, Kata; Martin- Kleiner, Irena; Kralj, Marijeta. Synthesis and antiproliferative activity of anthrols and the corresponding quinone methides // Macrocycles - synthesis, medicinal chemistry and biological activity / Zagreb, Fidelta, 2014. (poster).

● Škalamera, Đani; Sambol, Matija; Veljković, Jelena; Mlinarić-Majerski, Kata; Basarić, Nikola. Optimized synthetic pathway to anthrol carbaldehydes // 23. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera / Osijek, 2013. (poster).

● 1. radionica HDKI-HKD: Intelektualno vlasništvo i komercijalni nastup za novo eksperimentalno i tehnološko rješenje u organskoj kemiji / Zagreb, Hrvatska, 2017.

● NMR Pharma Day / Zagreb, Hrvatska, 2017.

● 2nd Anglo-Croatian Medicinal Symposium on Macrocycles / Zagreb, Hrvatska, 2016.

● European school of medicinal chemistry / Urbino, Italija, 2016.

● The InnoMol Molecular Interactions Workshop / Zagreb, Hrvatska, 2015.

● 15th International Chromatography School / Zagreb, Hrvatska, 2014.

NAGRADE I PRIZNANJA

● 2013. Posebna Rektorova nagrada
● 2007. dobitnik stipendije Ru-Ve

ZNANJE STRANIH JEZIKA

engleski jezik