

# Priprava novih heterocikličkih inhibitora butirilkolinesteraze temeljenih na imidazolu

---

**Kaurinović, Maria-Magdalena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:830383>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-23**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Maria-Magdalena Kaurinović

# **Priprava novih heterocikličkih inhibitora butirilkolinesteraze temeljenih na imidazolu**

## **Diplomski rad**

predložen Kemijском odsjeku  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu  
radi stjecanja akademskog zvanja  
magistre kemije

Zagreb, 2024.



Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za organsku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Ines Primožič i neposrednim voditeljstvom Tonija Divjaka, mag. chem.

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta „*Metom usmjerena sinteza inhibitora kolinesteraza podržana strojnim učenjem*“ financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost (IP-2022-10-9525).



## Zahvale

*Zahvaljujem se prof. dr. sc. Ines Primožič na mogućnosti izrade diplomskog rada te pomoći pri pisanju istoga. Veliko hvala mojem neposrednom voditelju Toniju Divjaku. Hvala na strpljenju, ugodnoj radnoj atmosferi u labosu, na svakom odgovorenom pitanju, koliko god se ono činilo trivijalnim, te veliko hvala za svaki asignirani spektar.*

*Također, želim se zahvaliti svojoj familiji i svim prijateljima koji su me pratili kroz ove studentske dane. Kroz lijepe i teške trenutke, kroz padove i prolaze. Najveće hvala Mirku i Tei bez kojih bi ova diploma bila nezamisliva. Hvala vam na pomoći, ali najviše na prijateljstvu. Zahvaljujem se mojoj Pepi koja je svojom pojavom uljepšala sve trenutke studiranja. Vidim da mi ipak želiš uspjeh. ;)*

*Želim zahvaliti samoj sebi na ustrajnosti, strpljenju i odricanju. Hvala ti MMK što nisi odustala, Megi ti je jako zahvalna.*

*Za kraj se želim zahvaliti mojim najvećim supporterima koji nikada nisi sumnjali u mene te me uvijek bodrili. Mama, teta, baka i dida hvala vam na bezuvjetnoj ljubavi, podršci i potpori tijekom studiranja.*



## Sadržaj

<b>SAŽETAK</b> .....	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XI</b>
<b>§ 1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. Imidazol i njegovi derivati</b> .....	<b>3</b>
2.1.1. <i>Struktura i reaktivnost imidazola</i> .....	3
2.1.2. <i>Struktura i reaktivnost oksima</i> .....	6
<b>2.2. Višekomponentne reakcije</b> .....	<b>7</b>
2.2.1. <i>Ugijeva reakcija</i> .....	8
<b>2.3. Butirilkolinesteraza</b> .....	<b>9</b>
2.3.1. <i>Inhibitori butirilkolinesteraze</i> .....	11
2.3.2. <i>Povezanost butirilkolinesteraze i Alzheimerove bolesti</i> .....	13
<b>2.4. Ellmanova metoda</b> .....	<b>13</b>
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1. Materijali i instrumentne metode</b> .....	<b>15</b>
3.1.1. <i>Materijali</i> .....	15
3.1.2. <i>Instrumentne metode</i> .....	15
<b>3.2. Priprava N-metilimidazol-2-karbaldehida (1)</b> .....	<b>16</b>
<b>3.3. Priprava N-metilimidazol-2-karbaldehid-oksima-O-metil-etera (2)</b> .....	<b>16</b>
<b>3.4. Priprava N-kvaternih derivata imidazol-2-karbaldehida</b> .....	<b>17</b>
3.4.1. <i>Opći postupak kvaternizacije etera oksima pri povišenoj temperaturi</i> .....	17
3.4.2. <i>Priprava 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijeva jodida (3)</i> .....	17
3.4.3. <i>Priprava 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (4)</i> .....	18
3.4.4. <i>Priprava 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (5)</i> .....	18
3.4.5. <i>Priprava 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (6)</i> .....	19
3.4.6. <i>Priprava 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (7) pri povišenoj temperaturi</i> .....	19
3.4.7. <i>Priprava 3-(4-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (8)</i> .....	20
3.4.8. <i>Priprava 3-(3-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (9)</i> .....	20
3.4.9. <i>Priprava 3-(4-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (10)</i> .....	21
3.4.10. <i>Priprava 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (11)</i> .....	21
3.4.11. <i>Priprava 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (12)</i> .....	22
<b>3.5. Ugijeva reakcija</b> .....	<b>22</b>



3.5.1. Općeniti postupak priprave Ugijeva reakcije u otopini .....	22
3.5.2. Priprava <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-( <i>tert</i> -butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida ( <b>13</b> ).....	23
3.5.3. Priprava <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida ( <b>14</b> ).....	24
3.6. Određivanje inhibitorne aktivnosti (IC <sub>50</sub> vrijednosti) pripremljenih spojeva .....	25
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>27</b>
4.1. Uvod .....	27
4.2. Priprava <i>N</i> -metilimidazol-2-karbaldehida (1) .....	28
4.3. Priprava <i>N</i> -metilimidazol-2-karbaldehid-oksim- <i>O</i> -metil-etera (2) .....	29
4.4. Priprava <i>N</i> -kvaternih derivata imidazol-2-karbaldehida .....	29
4.5. Analiza NMR spektara kvaternih oksima derivata imidazola.....	30
4.6. Ugijeva reakcija.....	31
4.7. Određivanje tališta.....	34
4.8. Određivanje inhibitorne aktivnosti.....	35
<b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>39</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....</b>	<b>40</b>
<b>§ 7. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>42</b>
<b>§ 8. DODATAK .....</b>	<b>XV</b>
8.1. NMR spektri .....	xv
8.2. IR spektri .....	xxix
8.3. HRMS spektri.....	xxxvii
<b>§ 9. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>XLIV</b>



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Diplomski rad

## SAŽETAK

### PRIPRAVA NOVIH HETEROCIKLIČKIH INHIBITORA BUTIRILKOLINESTERAZE TEMELJENIH NA IMIDAZOLU

Maria-Magdalena Kaurinović

U okviru ovog diplomskog rada sintetizirani su *N*-metilimidazol-2-karbaldehid počevši od *N*-metilimidazola. Zatim je uslijedila sinteza *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksima-*O*-metil-etera koristeći *N*-metilimidazol-2-karbaldehid i *O*-metilhidroksilamonijevog klorida. Dobiveni eter oksima je u sljedećem koraku kvaterniziran Menshutkinovom reakcijom korištenjem odgovarajućega alkil-halogenida (metil-jodida, benzil-bromida te različito supstituiranih benzil-bromidima sa supstituentima kao što su nitro skupina i atom halogena u *meta* i *para* položaju). Također je provedena Ugijeva reakcija imidazol-2-karbaldehida odnosno *N*-metilimidazol-2-karbaldehida s benzojevom kiselinom, benzilaminom te *tert*-butil-izocijanidom ili cikloheksil-izocijanidom. Tijek reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom, a pripremljeni spojevi pročišćeni kromatografijom na stupcu te karakterizirani dostupnim analitičkim metodama (<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR, FTIR, HRMS). Svim pripremljenim spojevima (deset kvaternih etera oksima i tri Ugijeva produkta) određen je inhibitorski potencijal prema enzimu butirilkolinesterazi (BChE, E.C. 3.1.1.8.) izoliranoj iz konjskoga seruma korištenjem Ellmanove metode.

(45 + XLIV stranica, 25 + D58 slika, 4 tablice, 43 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: butirilkolinesteraza, imidazol, eteri oksima, Ugijeva reakcija

Mentor: prof. dr. sc. Ines Primožič  
Neposredni voditelj: Toni Divjak, mag. chem.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Ines Primožič
  2. izv. prof. dr. sc. Aleksandra Maršavelski
  3. doc. dr. sc. Adriana Kendel
- Zamjena: doc. dr. sc. Nikola Cindro

Datum diplomskog ispita: 24. rujna 2024.





University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### SYNTHESIS OF NOVEL HETEROCYCLIC BUTYRYLCHOLINESTERASE INHIBITORS BASED ON IMIDAZOLE

Maria-Magdalena Kaurinović

In this diploma thesis, *N*-methylimidazole-2-carbaldehyde was synthesized starting from *N*-methylimidazole. The synthesis of *N*-methylimidazole-2-carbaldehyde-oxime-*O*-methyl using *N*-methylimidazole-2-carbaldehyde and *O*-methylhydroxylamine hydrochloride was followed. The resulting oxime was quaternized in the next step using the appropriate alkyl halogenide (methyl iodide, benzyl bromide and differently substituted benzyl bromides with substituents such as a nitro group and halogen atoms in the *meta* and *para* positions) by the Menschutkin reaction. The Ugi reaction of imidazole-2-carbaldehyde or *N*-methylimidazole-2-carbaldehyde, with benzoic acid, benzylamine and *tert*-butyl isocyanide or cyclohexyl isocyanide was also carried out. This reaction was monitored by thin-layer chromatography, and the prepared compounds were purified by column chromatography and characterized by available analytical methods (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, FTIR, HRMS). For all prepared compounds (ten quaternary oxime ethers and three Ugi products), the inhibitory potential against butyrylcholinesterase (BChE, E.C. 3.1.1.8.) isolated from horse serum using the Ellman method was determined.

(86 pages, 79 figures, 4 tables, 43 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: butyrylcholinesterase, imidazole, oximes, Ugi reaction

Mentor: Dr. Ines Primožič, Professor  
Assistant mentor: Toni Divjak, mag. chem.

Reviewers:

1. Dr. Ines Primožič, Professor
  2. Dr. Aleksandra Maršavelski, Associate Professor
  3. Dr. Adriana Kendel, Assistant Professor
- Substitute: Dr. Nikola Cindro, Assistant Professor

Date of exam: September 24, 2024



## § 1. UVOD

Prijenosnik živčanih impulsa, acetilkolin, u središnjem živčanom sustavu ima važnu ulogu u održavanju stanja svijesti i procesima učenja i pamćenja.<sup>1</sup> Samim time, smanjena razina acetilkolina, koja nastaje djelovanjem kolinesteraza u sinaptičkoj pukotini, dovodi do razvoja brojnih neurodegenerativnih bolesti. Acetilkolinesteraza (AChE, E.C. 3.1.1.7.) i butirilkolinesteraze (BChE, E.C. 3.1.1.8.) su serinske hidrolaze čiji je supstrat acetilkolin. Pojačana ekspresija navedenih enzima uočena je kod neurodegenerativnih bolesti kao što je Alzheimerova bolest (AD). Iako su AChE i BChE važne mete kod tretmana AD bolesti, njihova uloga u patologiji AD bolesti nije u potpunosti razjašnjena.<sup>2</sup>

Kod AD-a izražen je nedostatak neurotransmitera acetilkolina zbog gubitka kolinergičkih neurona i taloženja netopljivih amiloidnih plakova u izvanstaničnom prostoru mozga.<sup>3</sup> Postoji velik broj spojeva koji se mogu vezati za BChE i tako inhibirati njegovu aktivnost, no samo se nekoliko spojeva koriste kao lijekovi koji utječu na kolinergički sustav ljudi. Trenutno odobreni lijekovi za liječenje AD-a djeluju na ublažavanje simptoma bolesti inhibicijom kolinesteraza. Postoji velik broj spojeva koji se mogu vezati za BChE i tako inhibirati njegovu aktivnost, no samo se nekoliko spojeva koriste kao lijekovi koji utječu na kolinergički sustav ljudi.<sup>4</sup>

Cilj ovog diplomskog rada je provesti sintezu i testirati nove bioaktivne etere oksima imidazola budući da su kao dobri inhibitori kolinesteraza poznati i razni derivati heterocikličkih spojeva s oksimskom skupinom.<sup>5</sup> Derivati imidazola od velike su važnosti u medicinskoj kemiji te njihova sinteza igra veliku ulogu u otkrivanju novih lijekova koji imaju brojna djelovanja poput protuupalnog, antikancerogenog, antivirusnog itd. Sintetizirani su *N*-metilimidazol-2-karbaldehid počevši od *N*-metilimidazola i *n*-butillitija. Zatim je uslijedila sinteza *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksim-*O*-metil-etera koristeći *N*-metilimidazol-2-karbaldehid i *O*-metilhidroksilamin-hidroklorid. Dobiveni eter oksima je u sljedećem koraku kvaterniziran s pomoću različitih alkil-halogenida poput metil-jodida, benzil-bromida te različito supstituiranih benzil-bromida sa supstituentima kao što su nitro skupina i atomi halogena u *meta* i *para* položaju. Također, provedena je Ugijeva reakcija imidazol-2-karbaldehida odnosno *N*-metilimidazol-2-karbaldehida s benzojevom kiselinom, benzil-aminom te *tert*-butil-izocijanidom ili cikloheksil-izocijanidom. Tijek reakcija praćen je tankoslojnom

kromatografijom, a pripremljeni spojevi pročišćeni kromatografijom na stupcu te karakterizirani dostupnim analitičkim metodama ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR, FTIR, HRMS). Čistoća spojeva provjerena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Svim pripremljenim spojevima određen je inhibitorski potencijal prema BChE izoliranoj iz konjskoga seruma korištenjem Ellmanove metode.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

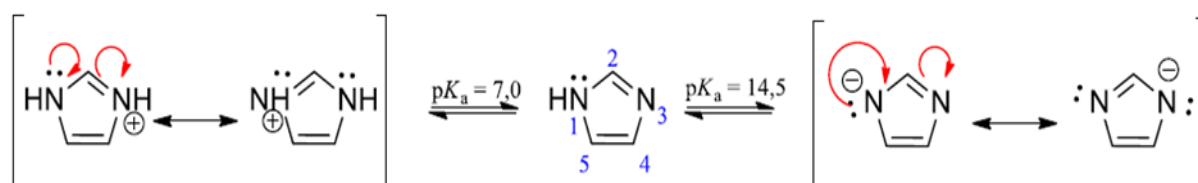
### 2.1. Imidazol i njegovi derivati

#### 2.1.1. Struktura i reaktivnost imidazola

Imidazol peteročlani je heterociklički spoj planarne geometrije. Dipolni moment mu iznosi 3,61 D što ga čini izuzetno polarnim i samim tim topivim u vodi. Zbog svojih kiselobaznih svojstava svrstava se i u amfoterne spojeve. Prisutnost  $6\pi$  elektrona čine ga aromatskim spojem. Nevezni elektronski par na N3 atomu nalazi se u  $sp^2$  – orbitali i ne sudjeluje u aromatskom sustavu pa taj elektronski par čini dušik bazičnim (slika 1). Imidazol tvori stabilne kristalne soli s jakim kiselinama protoniranjem dušika N3, poznate kao imidazolijeve soli. Zbog svoje  $pK_a$  vrijednosti od 7,0 djeluje kao jaka baza, a konstanta disocijacije protona s atoma dušika iznosi  $pK_a$  14,5 (slika 2).<sup>6</sup>



Slika 1. Prikaz orbitala imidazola. Ljubičastom bojom prikazan je nevezni elektronski par koji odgovarajući dušikov atom čini bazičnim.

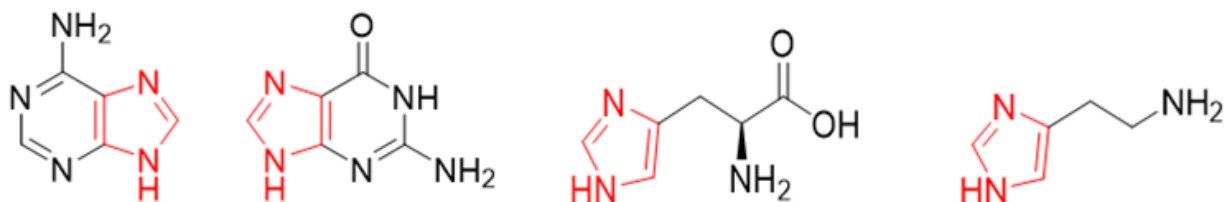


Slika 2. Kiselo-bazna svojstva imidazola te  $pK_a$  vrijednosti protonacije i deprotonacije dušikovih atoma. Na slici je prikazana numeracija atoma imidazola.<sup>7,8</sup>

Imidazolski prsten sastavni je dio nekoliko važnih spojeva poput histamina, histidina te nukleotida poput adenina i gvanina (slika 3). Derivati imidazola od velike su važnosti u medicinskoj kemiji te njihova sinteza igra veliku ulogu u otkrivanju novih lijekova koji imaju

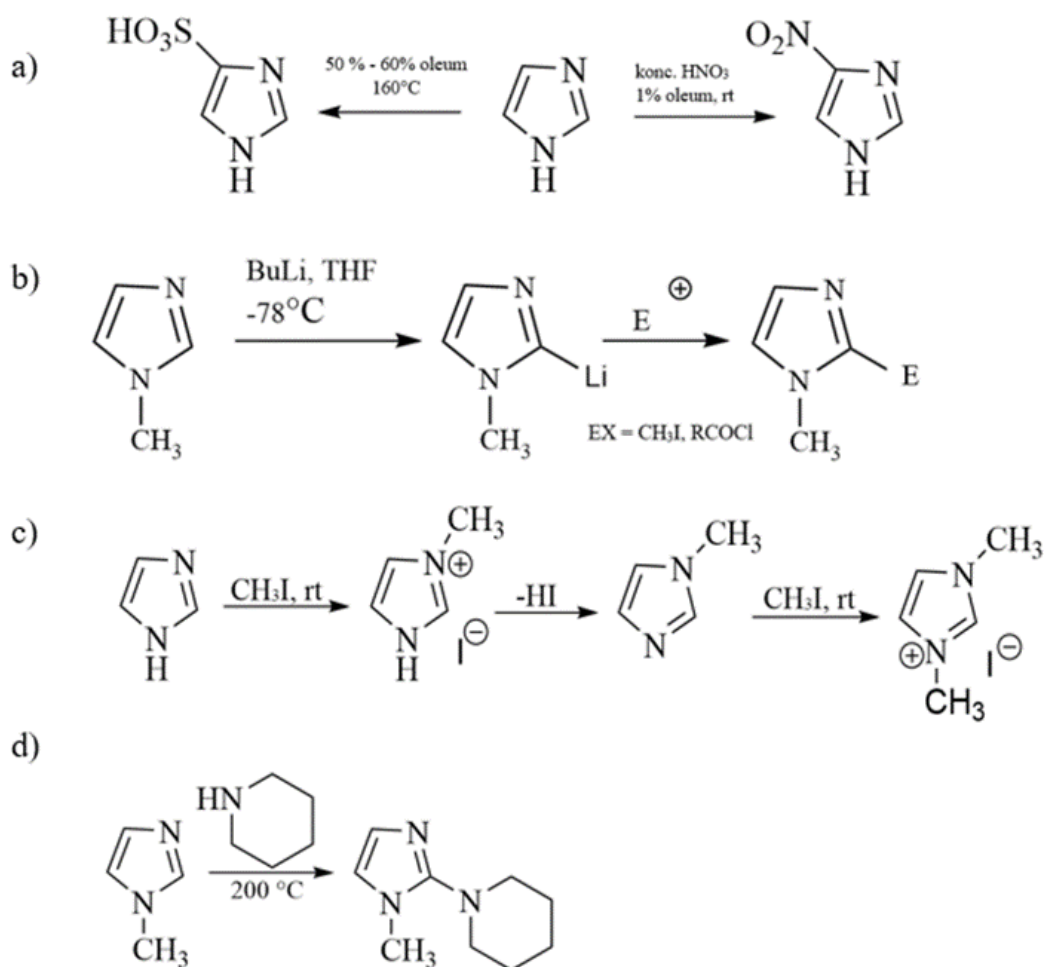


antiupalno, antikancerogeno, antivirusno i mnoga druga djelovanja. Poznati su lijekovi Detimedac<sup>®</sup>, Azafalk<sup>®</sup>, Néo-Mercazole<sup>®</sup> itd.<sup>9</sup> Aktivnost se navedenih lijekova može poboljšati promjenom supstituenata na imidazolnoj jezgri. Budući da imidazol ima strukturne sličnosti s histidinom, može se s lakoćom vezati za brojne proteine za razliku od drugih heterocikličkih spojeva.<sup>10</sup>



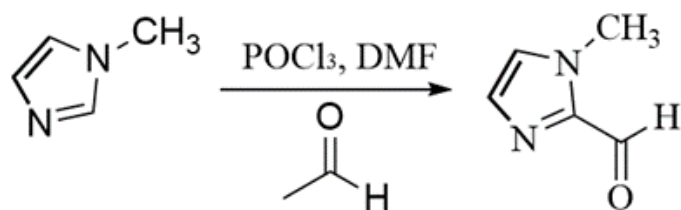
Slika 3. Prisutnost imidazolne jezgre u biološki aktivnim molekulama – s lijeva na desno: adenin, gvanin, histidin i histamin.

Imidazol podliježe reakcijama elektrofilne aromatske supstitucije na položaju 5, *N*-alkilaciji, regioselektivnoj litiaciji na položaju 2 te nukleofilnoj aromatskoj supstituciji za koju su potrebni dobar nukleofil i dobra izlazna skupina. Primjeri navedenih reakcija prikazani su na slici 4. *N*-alkilaciju imidazola moguće je provesti uz KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ili NaH koje djeluje kao baze i uzrokuju deprotonaciju čime nastaje imidazolidni anion. Kao izvor alkila, halogenalkan se dodaje u reakciju koji potom u supstitucijskoj reakciji reagira s anionom imidazola, odnosno nukleofilom.<sup>11</sup> Friedel-Craftsovo aciliranje i alkiliranje nije moguće provesti na imidazolu jer dolazi do stvaranja adukta s Lewisovim kiselinama korištenim u reakciji te se na taj način nukleofil deaktivira. Upotrebom organolitijevih reagensa (slika 4b) ipak je moguće uvesti alkilne ili acilne skupine na pojedine ugljikove atome.<sup>12</sup>



Slika 4. Karakteristične reakcije imidazola: a) elektrofilna aromatska supstitucija, b) litiacija koja vodi do alkiliranja ili aciliranja, c) *N*-alkilacija, d) nukleofilna aromatska supstitucija.

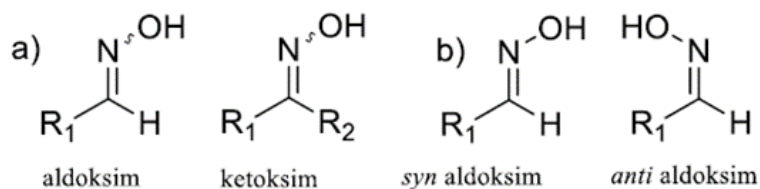
Aciliranje, odnosno formiliranje imidazola moguće je provesti Vilsmeier - Haackovim formiliranjem (slika 5.). Ova elektrofilna supstitucija odvija se pomoću klormetileniminijeve soli na položajima 2 ili 5.<sup>13</sup> Karbonilnu je skupinu također moguće uvesti pomoću organolitijevih reagensa te izvora karbonilne skupine. Tako pripremljeni derivati imidazola odlični su polazni spojevi za daljnje organske sinteze budući da karbonilna skupina podliježe brojnim reakcijama.



Slika 5. Vilsmeier-Haackovo formiliranje imidazola.

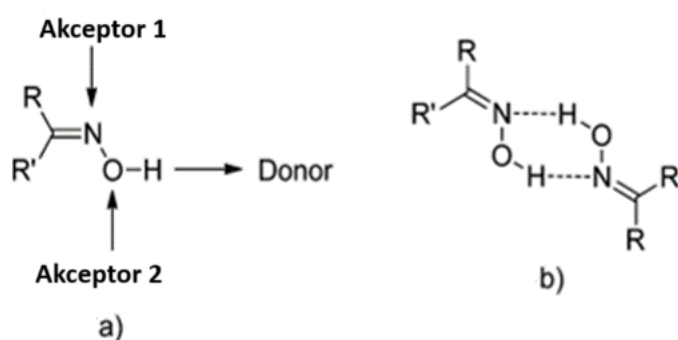
### 2.1.2. Struktura i reaktivnost oksima

Oksimi imaju opću formulu  $R_1R_2C=NOH$  gdje je  $R_1$  organski bočni ogranak. Podijeliti ih možemo na aldoksime ukoliko je  $R_2=H$ , no ako je  $R_2$  bilo koji ugljikovodični lanac, onda je riječ o ketoksima. Kako oksimi posjeduju dvostruku  $C=N$  vezu, postoji mogućnosti dvaju geometrijskih izomera – *syn* i *anti*, odnosno *E* ili *Z* prema IUPAC nomenklaturi. Ukoliko se hidroksilna skupina nalazi na istoj strani ravnine s vodikovim atomom, riječ je o *syn* izomeru, dok *anti* označava da se hidroksilna skupina i vodikov atom nalaze na suprotnim stranama ravnine (slika 6).<sup>14</sup>



Slika 6. a) Općeniti prikaz dviju vrsta oksima – aldoksima i ketoksima te b) dvaju izomera aldoksima – *syn* i *anti*<sup>15</sup>

S obzirom na to da oksimi mogu djelovati kao slaba kiselina ( $pK_a \approx 11$ ), oksimski anioni odlični su polazni spojevi za sintezu različitih derivata kao što su eteri oksima. Nakon deprotonacije, oksimi mogu djelovati kao koordinirajući ligandi. Također mogu djelovati kao donori (preko  $-O-H$ ) i kao akceptori vodikove veze (preko  $-C=N$  i  $-OH$ ) i stoga mogu tvoriti dimere (slika 7b).<sup>16</sup>



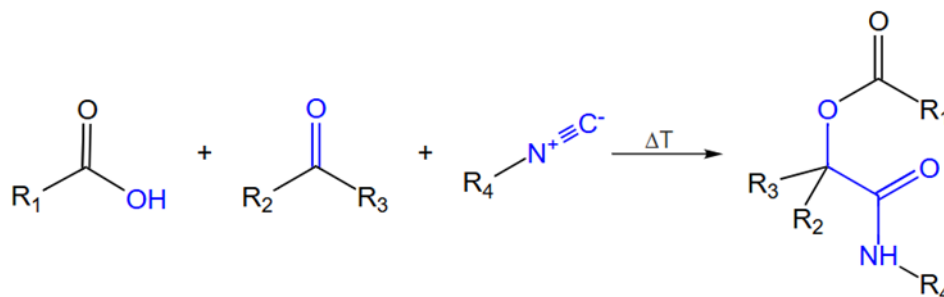
Slika 7. a) Prikaz donorskog i akceptorskog mjesta oksima te b) prikaz dimera oksima nastao povezivanjem vodikovim vezama<sup>16</sup>

Iako postoji nekoliko načina sinteze oksima, najzastupljeniji oblik sinteze je pomoću hidroksilamonijeva hidroklorida ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ) te aldehida ili ketona u polarnim protičnim otapalima poput vode ili alkohola. Za dobivanje neutralnog oblika hidroksilamina posebno je upotrijebiti baze kao što su NaOH, NaOAc ili  $\text{NaHCO}_3$ . Kako imidazol ne sadrži karbonilnu skupinu, potreban je njegov derivat *N*-metilimidazol-2-karbaldehid za dobivanje željenog oksima imidazola. Sinteza se provodi u etanolu kao otapalu uz dodatak natrijeva karbonata kao baze za dobivanje neutralnog *O*-metilhidroksilamina. Kvaternizaciju tako sintetiziranog etera oksima imidazola moguće je postići vezanjem alkil-halogenida (RX) na slobodni dušikov atom uz nastanak kvaterne soli.<sup>17</sup> Navedenu supstitucijsku reakciju dobivanja kvaterne amonijeve soli iz terciarnog amina prvi je definirao Nikolai Menshutkin reakcija 1890. godine stoga je ona još poznata pod nazivom Menshutkinova reakcija.<sup>18</sup>

## 2.2. Višekomponentne reakcije

Kako bi se smanjio broj sintetskih koraka, a istovremeno povećala složenost produkata i molekularna raznolikost, koriste se višekomponentne reakcije (engl. *multicomponent reaction*, MCR). Za takve reakcije potrebna su više od dva reaktanta te se one odvijaju u jednoj reakcijskoj posudi (tzv. *one-pot* reakcije) što pridonosi jednostavnosti izvođenja eksperimentalnog postupka. Zbog toga te niske cijene i visoke učinkovitosti, MCR izuzetno su dobar način za sintetiziranje mnogih farmaceutskih spojeva. Prvu višekomponentnu reakciju temeljenu na izocijanidu (engl. *isocyanide multicomponent reaction*, IMCR) razvio je Mario Passerini 1921. koja je poznata kao Passerinijeva trokomponentna reakcija (P-3CR), gdje reakcijom aldehida ili ketona, karboksilne kiseline i izocijanida nastaje  $\alpha$ -aciloksikarboksamid

(slika 8). Prvi korak je nukleofilna adicija izocijanida na protonirani aldehid ili keton, nakon čega slijedi adicija karboksilata popraćeno pregradnjom rezultirajući  $\alpha$ -aciloksikarboksamidom.<sup>19</sup>



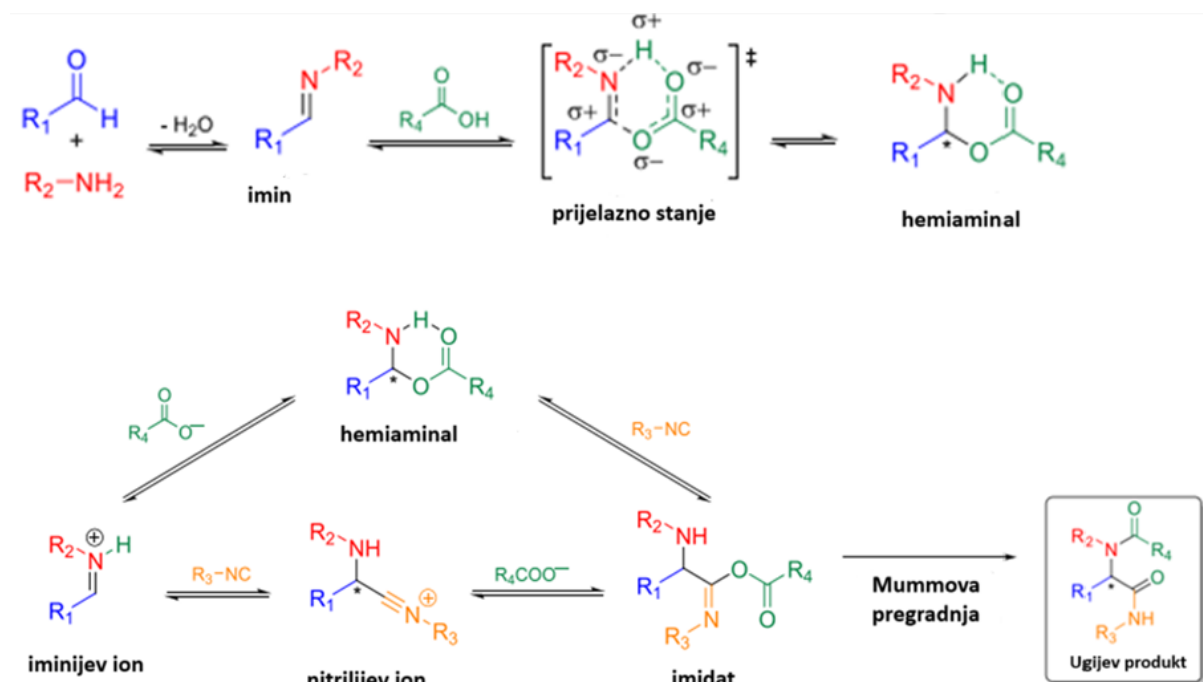
Slika 8. Shematski prikaz Passerinijeve trokomponentne reakcije.

### 2.2.1. Ugijeva reakcija

Godine 1959. nova era kemije izocijanida započela je kada je Ivar Ugi otkrio da reakcija između amina (najčešće primarnog), karbonilnog spoja (aldehida ili ketona), karboksilne kiseline i izocijanida stvara visoko supstituirane  $\alpha$ -aminoacil amide s visokom biološkom aktivnošću i strukturnom raznolikošću. Ugijeva četiri komponentna reakcija (U-4CR) daje strukturu sličnu peptidu (poznati kao peptidomimetici ili bis-amidi) koji ima obećavajuća farmakološka svojstva. Ekonomična je i ekološki prihvatljiva reakcija jer se također može provoditi u vodi kao otapalu. Zbog mogućnosti provođenja Ugijeve reakcije s različitim funkcionalnim skupinama, koristi se u sintezi linearnih ili cikličkih peptida te heterocikličkih spojeva s različitim veličinama prstena. Nadalje, brojne biološki aktivne molekule se mogu sintetizirati putem U-4CR što je dovelo do pojave mnogih važnih lijekova kao što je, primjerice, Crixivan®. Ipak, potrebno je obratiti pažnju pri odabiru reaktanata. Odabir amonijaka kao amino komponentne uzrokovao bi nastajanje imina u reakciji s aldehidom. Također, povećana elektrofilnost karbonilne skupine alifatskih i aromatskih aldehida, u odnosu na alifatske i arilne ketone, favorizira uporabu aldehida kao karbonilne komponentne.<sup>20</sup>

Kao što je uobičajeno za MCR, postoji više od jednog mogućeg reakcijskog puta pa su sintetičari trenutnog mišljenja kako Ugijeva reakcija može proći kroz dva konkurentna reakcijska puta. Reakcijski mehanizam započinje stvaranjem imina kondenzacijom amina s aldehidom, nakon čega slijedi dodavanje karboksilne kiseline čime nastaje hemiaminal u kojem su prisutne vodikove veze između vodika amino skupine i kisika karboksilata. Dvije su daljnje mogućnosti odvijanja mehanizma. Dodavanje izocijanida na hemiaminal čime se dobiva

nitriljev ion ili protoniranje čime odlazi karboksilatna skupina te se dobiva iminijev ion koji se dodatkom izocijanida pretvara u nitriljev ion. Adicijom karboksilnog aniona nastaje imidat koji se onda ireverzibilnom Mummovom pregradnjom pregrađuje u finalni Ugijev produkt. Korištenjem nesimetričnog ketona ili monosupstituiranog aldehida, dolazi do nastanka kiralnog središta označenog simbolom zvjezdice (\*) na slici 9.<sup>15,21</sup>



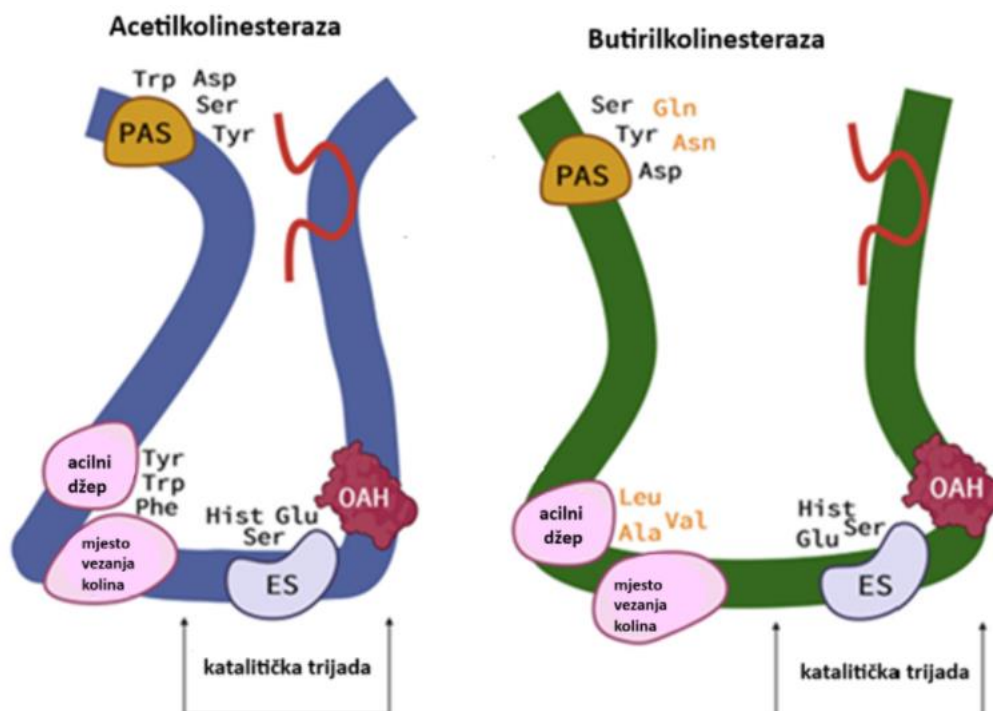
Slika 9. Shema Ugijeve reakcije – nastanak hemiaminalnog međuprodukta te dvije mogućnosti daljnjeg odvijanja reakcije koja završava Mummovom pregradnjom koja rezultira nastanku Ugijevog produkta.<sup>21</sup>

### 2.3. Butirilkolinesteraza

Butirilkolinesteraza ili pseudokolinesteraza je enzim koji spada u skupinu serinskih hidrolaza te se nalazi u serumu gdje hidrolizira butiratne estere. Građena je od 574 aminokiselina te masa iznosi 65,64 kDa (slika 10).<sup>22</sup>

Slika 10. 3D prikaz strukture butirilkolinesteraze.<sup>23</sup>

Glikozilacija ima ulogu u smatanju, izlučivanju i stabilnosti proteina pa tako i BChE, a smatra se da upravo visoki stupanj glikozilacije omogućava dugotrajnu stabilnost BChE u plazmi, tj. cirkulaciji, gdje je njezina aktivnost najizraženija. Kako se BChE većim dijelom nalazi u plazmi, gdje djeluje kao sakupljač raznih štetnih tvari poput organofosfata i karbamata, prije nego dođu do AChE i uzrokuju njenu inhibiciju, BChE u organizmu ima detoksikacijsko djelovanje od spojeva koji inhibiraju AChE i na taj ju način štiti. Uloga BChE nije bitno izražena u neurotransmisiji, ali u određenim slučajevima može zamijeniti AChE u hidrolizi acetilkolina, naravno manje učinkovito. Bez obzira na to što fiziološka uloga BChE nije esencijalna poput uloge AChE, svejedno je od iznimne biološke važnosti za organizam.<sup>24</sup> Navedena dva enzima pokazuju oko 64 % homologije aminokiselinske sekvence te su slična u ukupnoj strukturi i katalitičkom mehanizmu. Razlikuju u specifičnosti supstrata i afinitetu prema različitim inhibitorima zbog razlike u strukturi aktivnog mjesta. Aktivno mjesto AChE građeno je od 14 aromatskih aminokiselina, dok je kod BChE njih šest zamijenjeno alifatskim aminokiselinama (slika 11). Upravo je ta činjenica zaslužna za interakciju BChE s većim brojem supstrata i inhibitora, zbog čega je ona manje specifičan enzim s obzirom da je volumen njegovog aktivnog mjesta 200 Å<sup>3</sup> veći u odnosu na aktivno mjesto AChE. Ova činjenica omogućava i smještanje butirilkolina u aktivno mjesto enzima.<sup>2,25,26</sup>



Slika 11. Strukturne razlike aktivnog mjesta acetilkolinesteraze i butirilkolinesteraze: triptofan (Trp) u P-veznom mjestu (PAS) AChE-a zamijenjen glutaminom (Gln) i asparaginom (Asn) u BChE.<sup>4</sup>

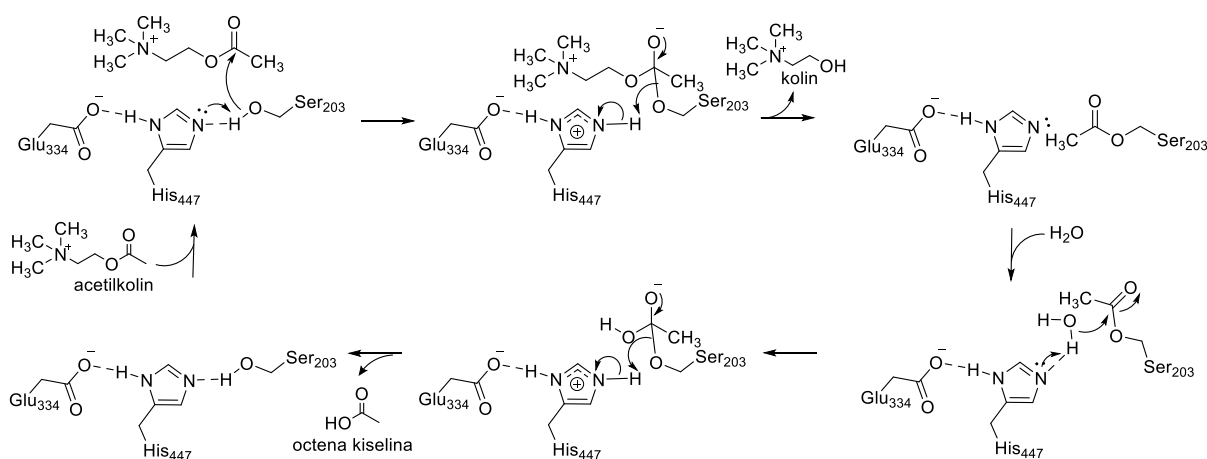
Nakon smještanja supstrata u aktivno mjesto, katalitička trijada Ser198, His438 i Glu325 hidrolizira supstrat. Oksoanionska šupljina (OAH), koja je građena od Gly116, Gly117 i Ala199, važna je za stabilizaciju karbonilnog kisika supstrata stvaranjem vodikovih veza pri formiranju tetraedarskog prijelaznog stanja. Acilni džep, u kojem se nalaze Leu286 i Tyr288, važan je za smještanje acilnog dijela supstrata te on određuje veličinu supstrata koji se može smjestiti u ždrijelo aktivnog mjesta enzima. Trp82 u mjestu vezanja kolina ima ulogu u orijentaciji i smještanju nabijenog dijela supstrata čime se ubrzava hidroliza kolinskih supstrata. Tyr332 i Asp70 u P-veznom mjestu imaju ulogu selektivne inhibicije enzima i inhibicije enzima supstratom, u slučaju njegove visoke koncentracije.<sup>27,28</sup>

### 2.3.1. Inhibitori butirilkolinesteraze

Novija istraživanja pokazuju kako inhibitori BChE imaju veliku važnost u liječenju od Alzheimerove bolesti. Zbog svoje rasprostranjenosti u cjelokupnome životinjskom, ali i biljnom svijetu te svoje važne uloge u organizmu, ovaj se enzima od samog svog otkrića pa do danas intenzivno istražuju unutar područja biokemije i toksikologije.



Organofosforni spojevi su inhibitori AChE i BChE koji lako prolaze krvno-moždanu barijeru i samim time smanjuju aktivnost hidrolize acetilkolina.<sup>26,27</sup> U aktivno mjesto kolinesteraza također ulaze i razni derivati imidazola te su oni od prije poznati kao njihovi reverzibilni inhibitori. Postoji velik broj spojeva koji se mogu vezati za BChE i tako inhibirati njegovu aktivnost, no samo se nekoliko spojeva koriste kao lijekovi koji utječu na kolinergički sustav ljudi. Za postizanje željenog farmakološkog učinka, ovi lijekovi moraju kratkotrajno inhibirati butirilkolinesterazu tako da se spontanom hidrolizom mogu ukloniti iz aktivnog mjesta enzima.<sup>4</sup> Inhibicija kolinesteraza postiže se vezanjem spojeva nekovalentnim interakcijama (reverzibilna inhibicija) ili kovalentnim vezanjem za serin katalitičke trijade (ireverzibilna inhibicija). Da bi neki kolinesterazni inhibitor bio ireverzibilan, on u aktivnome mjestu enzima mora formirati Michaelisov tip kompleksa s katalitičkim serinom, a zatim se inhibitor kovalentno veže s katalitičkim serinom, pri čemu se prijelazno stanje stabilizira interakcijama s aminokiselinama u oksianionskoj šupljini<sup>26</sup>. Bez obzira strukturne razlike aktivnog mjesta različitih kolinesteraza, mehanizam hidrolize supstrata je identičan i odvija se u tri koraka (slika 12). Najprije dolazi do nastajanja reverzibilnog Michaelis-Menten-inog kompleksa između katalitičkog serina i acetilkolina nakon čega se dobiva tetraedarsko prijelazno stanje. Zatim se acilna skupina supstrata prenosi na kolinesterazu što rezultira aciliranim enzimom te oslobađanjem kolina. Nukleofilnim napadom molekule vode na acilirani enzim nastaju octena kiselina i slobodna kolinesteraza koja može katalizirati novi ciklus hidrolize supstrata.<sup>28</sup>



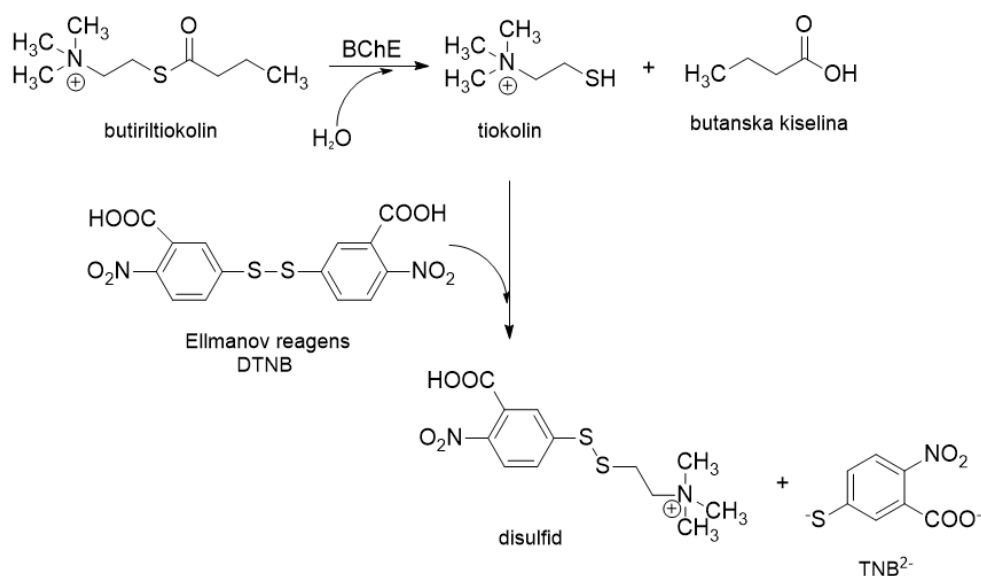
Slika 12. Mehaniizam hidrolize acetilkolina kataliziran kolinesterazom (broj aminokiselina odnosi se na položaj aminokiseline u ljudskoj AChE).<sup>2</sup>

### 2.3.2. Povezanost butirilkolinesteraze i Alzheimerove bolesti

U središnjem živčanom sustavu acetilkolin ima važnu ulogu u održavanju stanja svijesti i procesima učenja i pamćenja. Tijekom Alzheimerove bolesti (AD), aktivnost BChE postupno raste što je vjerojatno posljedica povećanja broja glija pozitivnih na sam enzim.<sup>29</sup> Neuron pozitivni na BChE projiciraju se specifično u frontalni korteks i imaju ulogu u pažnji, izvršnoj funkciji, emocionalnom pamćenju i ponašanju. Trenutno odobreni lijekovi za liječenje AD-a djeluju na ublažavanje simptoma bolesti inhibicijom kolinesteraza te postoji konstantna potreba za definiranjem novih spojeva s poboljšanim svojstvima. Budući da su kao dobri inhibitori kolinesteraza poznati i razni derivati heterocikličkih spojeva s oksimskom skupinom, veliki se fokus u današnjem vremenu stavlja na otkrivanje lijekova koji sadrže oksimsku skupinu. Oksimi reagiraju s esterima tiokolina pri čemu dolazi do oslobađanja tiokolina. Navedene reakcija poznata pod nazivom oksimoliza ometa aktivnost kolinesteraze.<sup>30</sup>

## 2.4. Ellmanova metoda

Određivanje inhibicijske sposobnosti kolinesteraza (AChE i BuChE) može se vršiti *in vivo* i *in vitro*. Najpoznatija *in vitro* metoda je spektrofotometrijska metoda po Ellmanu iz 1961. godine. Metoda se temelji na određivanju koncentracije tiolnih skupina iz tiokolinskih estera pomoću čega se može doći do aktivnosti kolinesteraze. Ellmanov reagens, 5,5-ditiobis-(2-nitrobenzojeva kiselina), DTNB reagira s tiolnim skupinama supstrata, koji su nastali djelovanjem BChE. Pri neutralnim ili alkalnim pH vrijednostima zatim nastaje 2-nitro-5-merkaptobenzoat (TNB<sup>2-</sup>) intezivno žute boje (slika 13).<sup>31</sup>



Slika 13. Ellmanova metoda određivanja brzine hidrolize estera tiokolina s kolinesterazama.<sup>32</sup>

Aktivnost kolinesteraza mjeri se neizravno kvantificiranjem koncentracije iona TNB<sup>2-</sup> budući da se njegova aktivnost može izračunati kao brzina reakcije iz nagiba linearne ovisnosti vremena o apsorbanciji. Ova se reakcija odvija relativno brzo pa brzina enzimske hidrolize supstrata mora biti sporiji od Ellmanove reakcije između tiola i DTNB. Kako je ovo spektrofotometrijska metoda, vidljivi su apsorpcijski maksimumi DTNB-a pri valnoj duljini od 320 nm, dok se količina oslobođenog TNB<sup>2-</sup> mjeri pri valnoj duljini od 414 nm.<sup>33</sup>

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali i instrumentne metode

#### 3.1.1. Materijali

Za izradu diplomskog rada korištene su komercijalno dostupne kemikalije analitičke čistoće proizvođača *Sigma*: imidazol-2-karbaldehid, benzil-amin, *tert*-butil-izocijanid, metil-jodid, cikloheksil-izocijanid, *n*-butillitij, 3-klorbenzil-bromid, 4-klorbenzil-bromid, 3-brombenzil-bromid, 4-brombenzil-bromid, 3-fluorbenzil-bromid, 4-fluorbenzil-bromid, 3-nitrobenzil-bromid, 4-nitrobenzil-bromid te benzil-bromid. Korišteni su i benzojeva kiselina (*Lach:ner*) te *N*-metilimidazol-2-karbaldehid i *O*-metilhidroksilamin-hidroklorid (*BLD pharm*). Korištena su otapala bez prethodnog pročišćavanja ili su pročišćena klasičnim postupcima.<sup>34</sup>

#### 3.1.2. Instrumentne metode

Tankoslojna kromatografija (TLC) na pločicama silikagela 60 F<sub>254</sub> (*Merck*) korištena je u svrhu praćenje tijekom reakcije, određivanja čistoće frakcija i sintetiziranih produkata uz detekciju UV lampom ( $\lambda = 254$  nm). Tankoslojna je kromatografija provedena u različitim sustavima otapala navedenim u poglavljima karakterističnima za svaki spoj. Sintetizirani produkti karakterizirani su metodama IR i NMR spektroskopije te spektroskopijom masa visoke razlučivosti (HRMS). Snimanje IR spektara provedeno je na *PerkinElmer UATR Two* spektrometru u području od 4000 do 400 cm<sup>-1</sup> uz spektralno razlučivanje od 4 cm<sup>-1</sup> za čiju je vizualizaciju korišten program *Spectrum*, verzija 10.03.05.0099 (*PerkinElmer*). Spektri <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR snimani su na uređaju *Bruker Avance III HD* pri frekvenciji 400 MHz u deuteriranom kloroformu (CDCl<sub>3</sub>), te deuteriranom dimetilsulfoksidu (DMSO-d<sub>6</sub>) za <sup>1</sup>H NMR, dok se <sup>13</sup>C NMR snimao pri 100 MHz. Program *TopSpin*, verzija 4.3.0. (*Bruker*) korišten je za vizualizaciju spektara dobivenih spektroskopijom NMR. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) označeni su kao s = singlet, bs = široki singlet, d = dublet, t = triplet, dd = dublet dubleta, tt = triplet tripleta, dt = dublet tripleta, m = multiplet, dok su konstante sprege (*J*) su izražene u Hertzima (Hz). Prilikom asignacije NMR spektara vodikovi i ugljikovi atomi označeni su brojevima prema ustaljenim pravilima numeriranja. Atomi benzilnog prstena označeni su s *bzl*, a atomi fenilne skupine s *Ph*. Atomi imidazola

označeni su s *im*, dok su atomi *tert*-butilne skupine označeni su s *tBu* i cikloheksila s *Chex*. Sintetiziranim produktima u čvrstom stanju određeno je talište uređajem Büchi Melting Point B-540 (*Büchi Labortechnik AG, Flawil, Švicarska*). Tališta su izmjerena dva puta u otvorenim kapilarama i vrijednosti nisu korigirane.

### 3.2. Priprava *N*-metilimidazol-2-karbaldehida (1)

*N*-metilimidazol (3,33 mL, 0,041 mol) otopljen je u suhom THF-u (29 mL) u inertnoj atmosferi dušika. Takvoj se smjesi polako dodaje *n*-butillitij (25,0 mL, 0,075 mol, 2,5 mol dm<sup>-3</sup> u heksanu) održavajući temperaturu od -64 °C. Reakcijska se smjesa ostavi jedan sat pri -64 °C, nakon čega se dokapava suhi DMF (9,66 mL, 0,075 mol). Reakcija se smjesa ostavi 24 sata pri sobnoj temperaturi. Nastaloj bijeloj suspenziji dodaje se HCl (20 mL, 0,003 mol) čime se temperatura podiže. Nastala se reakcijska smjesa ekstrahira tri puta s 50 mL kloroforma. Organski se ekstrakti skupe i suše na bezvodnom natrijevom sulfatu, nakon čega se filtriraju preko vate. Nakon uparavanja otapala iz filtrate, nastaje bezbojna krutina<sup>35</sup> (1,9 g, 17,93 mmol,  $\eta = 42,5$  %). Sirovi produkt nije bilo moguće pročistiti kromatografijom u sustavu otapala 9%-tni metanol u DCM.

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$ : 3125 ( $\nu =\text{C-H}$ ), 2952 ( $\nu_{\text{as}} \text{C-H CH}_3$ ), 2868 ( $\nu_{\text{s}} \text{C-H CH}_3$ ), 1705  $\nu$  (C=O), 1666, 1620, 1491 ( $\nu$  *im* prstena).

### 3.3. Priprava *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksim-*O*-metil-etera (2)

Pripravi se otopina *N*-metilimidazol-2-karbaldehida (200,0 mg, 1,80 mmol) u etanolu (2,0 mL) te se doda *O*-metilhidroksilamin-hidroklorid (166,9 mg, 1,99 mmol). S pomoću vodene otopine natrijeva karbonata (0,49 mol dm<sup>-3</sup>) podesi se pH reakcijske smjese na pH = 8. Reakcijska se smjesa ostavi 24 sata pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici te se reakcija prati pomoću TLC-a (u sustavu otapala etil-acetat : heksan = 8 : 2). Zatim se reakcijska smjesa prenese s 10 mL vode u lijevak za odjeljivanje te ekstrahira s 10 mL etil-acetata. Slojevi se odijele i organski se sloj ekstrahira zasićenom vodenom otopinom natrijeva karbonata. Organski sloj se suši na bezvodnom natrijevom sulfatu, filtrira te se otapalo upari na rotacijskom uparivaču. Produkt **2** je žuto ulje (226,3 mg, 1,63 mmol,  $\eta = 89,6$  %).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ /ppm: 3,94 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,92 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 7,02 (d,  $J = 1,0$  Hz, 1H, H5 *im*), 7,31 (s, 1H, H4 *im*), 8,13 (s, 1H, CHNO).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ /ppm: 34,70 (N-CH<sub>3</sub>), 61,91 (NO-CH<sub>3</sub>), 125,13 (C5 *im*), 129,02 (C4 *im*), 138,99 (C2 *im*), 141,44 (CHNO).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}$  / cm<sup>-1</sup>: 3397 ( $\nu$  O-CH<sub>3</sub>), 3110 ( $\nu$  =C-H), 2940 ( $\nu_{as}$  C-H CH<sub>3</sub>), 2819 ( $\nu_s$  C-H CH<sub>3</sub>), 1679 ( $\nu$  C=N-OCH<sub>3</sub>), 1519, 1468, 1442 ( $\nu$  *im* prstena), 919 (N-O).

**HRMS** (m/z): izračunato 140,0819 (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) dobiveno 140,0818.

### 3.4. Priprava *N*-kvaternih derivata imidazol-2-karbaldehida

#### 3.4.1. Opći postupak kvaternizacije etera oksima pri povišenoj temperaturi

Pripremi se otopina spoja **2** (0,3 mmol, 1 ekvivalent) u suhom acetonu (4 mL) te se doda reagens za kvaternizaciju u 10 % suvišku (0,33 mmol, 1,1 ekvivalent). Reakcijska se smjesa zagrijava pri 56 °C uz povratno hladilo tijekom 48 sati. Nastali produkt filtrira se ispiranjem s hladnim eterom.

#### 3.4.2. Priprava 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijeva jodida (**3**)

Pripremi se otopina spoja **2** (43,1 mg, 0,3 mmol, 1 ekvivalent) u suhom acetonu (4 mL) te se doda metil-jodid (57,8  $\mu$ dm<sup>-3</sup>, 0,93 mmol, 1,1 ekvivalent). Tikvica se ostavi 48 sati pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici. Nastali produkt filtrira se ispiranjem s hladnim eterom. Produkt **3** je krutina bijele boje (38,1 mg, 0,14 mmol,  $\eta = 43,8$  %).

$t_f = 215,0 - 218,0$  °C.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ /ppm: 3,93 (s, 6H, N-CH<sub>3</sub>), 4,09 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 7,83 (s, 2H, H4 *im*), 8,64 (s, 1H, CHNO).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ /ppm: 36,96 (N-CH<sub>3</sub>), 63,58 (NO-CH<sub>3</sub>), 124,73 (C4 *im*), 136,04 (CHNO).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}$  / cm<sup>-1</sup>: 3067 ( $\nu$  =C-H *im*), 2984 ( $\nu_{as}$  C-H CH<sub>3</sub>), 2942 ( $\nu_s$  C-H CH<sub>3</sub>), 1748 ( $\nu$  C=N-OCH<sub>3</sub>), 1654, 1606, 1584 ( $\nu$  =C-C aromat), 1524, 1449, 1430 ( $\nu$  *im* prstena), 1038 (N-O), 928, 825, 779, 453 ( $\nu$  jod).

**HRMS** (m/z): izračunato 154,0975 (C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) dobiveno 154,0975.

### 3.4.3. Priprava 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (4)

Pripremi se otopina spoja **2** (39,5 mg, 0,28 mmol) u suhom acetonu (4 mL) te se doda benzil-bromid ( $37,1 \mu\text{dm}^{-3}$ , 0,31 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1.** Produkt **4** je krutina bijele boje (60,4 mg, 0,19 mmol,  $\eta = 62,4 \%$ ).

$t_t = 177,8 - 181,2 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  /ppm: 3,95 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,04 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 5,63 (s, 2H, CH<sub>2</sub> bzl), 7,29 – 7,44 (m, 5H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub> bzl), 7,93 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H, H<sub>5</sub> im), 7,98 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H<sub>4</sub> im), 8,69 (s, 1H, CHNO).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 36,87 (N-CH<sub>3</sub>), 51,78 (CH<sub>2</sub> bzl), 63,58 (NO-CH<sub>3</sub>), 124,09 (C<sub>5</sub> im), 125,49 (C<sub>4</sub> im), 127,67 (C<sub>4</sub> bzl), 128,45 (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub> bzl), 128,86 (C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub> bzl), 134,69 (C<sub>1</sub> bzl), 135,69 (CHNO), 135,81 (C<sub>2</sub> im).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}$ /  $\text{cm}^{-1}$ : 3112 ( $\nu = \text{C-H}$  im), 3097 ( $\nu = \text{C-H}$  aromat), 2944 ( $\nu_{\text{as}} \text{C-H}$  CH<sub>3</sub>), 1666 ( $\nu \text{C}=\text{N-OCH}_3$ ), 1605, 1576 ( $\nu = \text{C-C}$  aromat), 1513, 1481, 1447 ( $\nu$  im prstena), 1033 (N-O).

**HRMS** (m/z): izračunato 230,1288 (C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) dobiveno 230,1287.

### 3.4.4. Priprava 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (5)

Pripremi se otopina spoja **2** (33,3 mg, 0,24 mmol) u suhom acetone (4 mL) te se doda 3-fluorbenzil-bromid ( $32,3 \mu\text{dm}^{-3}$ , 0,26 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1.** Dobiveni je produkt krutina bijele boje (43,3 mg, 0,13 mmol,  $\eta = 55,1 \%$ ).

$t_t = 186,8 - 190,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 3,95 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,04 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 5,66 (s, 2H, CH<sub>2</sub> bzl), 7,28 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H, H<sub>5</sub> bzl), 7,30 (d,  $J = 4,3$  Hz, 1H, H<sub>6</sub> bzl), 7,61 (t,  $J = 2,5$  Hz, 1H, H<sub>4</sub> bzl), 7,63 (t,  $J = 2,5$  Hz, 1H, H<sub>2</sub> bzl), 7,95 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H<sub>5</sub> im), 8,01 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H<sub>4</sub> im), 8,69 (s, 1H, CHNO).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 36,78 (N-CH<sub>3</sub>), 51,25 (CH<sub>2</sub> bzl), 63,56 (NO-CH<sub>3</sub>), 114,57 (d,  $J = 21,4$  Hz, C<sub>2</sub> bzl), 115,23 (d,  $J = 20,4$  Hz, C<sub>4</sub> bzl), 123,69 (d,  $J = 2,1$  Hz, C<sub>6</sub> bzl), 124,13 (C<sub>5</sub> im), 125,48 (C<sub>4</sub> im), 130,89 (d,  $J = 8,5$  Hz, C<sub>5</sub> bzl), 135,67 (CHNO), 136,01 (C<sub>2</sub> im), 137,40 (d,  $J = 7,4$  Hz, C<sub>1</sub> bzl), 162,19 (d,  $J = 243,0$  Hz, C<sub>3</sub> bzl).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}$ /  $\text{cm}^{-1}$ : 3112 ( $\nu = \text{C-H}$  im), 3067 ( $\nu = \text{C-H}$  aromat), 2949 ( $\nu \text{C-H}$  CH<sub>3</sub>), 1668 ( $\nu \text{C}=\text{N-OCH}_3$ ), 1593, 1577, 1514 ( $\nu = \text{C-C}$  aromat), 1461, 1446 ( $\nu$  im prstena), 1242 ( $\nu \text{C-F}$ ), 1033 (N-O).

**HRMS** (m/z): izračunato 248,1194 (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) dobiveno 248,1193.

### 3.4.5. Priprava 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (6)

Pripremi se otopina spoja **2** (41,7 mg, 0,30 mmol) u suhom acetonu (4 mL) te se doda 4-fluorbenzil-bromid (41,1  $\mu\text{dm}^{-3}$ , 0,33 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1.** Produkt **6** je krutina bijele boje (68,2 mg, 0,21 mmol,  $\eta = 69,4\%$ ).

$t_t = 167,0 - 172,7\text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 3,95 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 4,06 (s, 3H, NO- $\text{CH}_3$ ), 5,61 (s, 2H,  $\text{CH}_2$  bzl), 7,27 (tt,  $J_1 = 8,8\text{ Hz}$ ,  $J_2 = 1,9\text{ Hz}$ , 2H, H3 i H5 bzl), 7,42 (dd,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , 2H, H2 i H6 bzl), 7,93 (d,  $J = 1,9\text{ Hz}$ , 1H, H5 im), 7,98 (d,  $J = 2,0\text{ Hz}$ , 1H, H4 im), 8,71 (s, 1H, CHNO).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 36,80 (N- $\text{CH}_3$ ), 51,05 ( $\text{CH}_2$  bzl), 63,56 (NO- $\text{CH}_3$ ), 115,69 (d,  $J = 24,5\text{ Hz}$ , C3, C5 bzl), 123,93 (C5 im), 125,47 (C4 im), 130,18 (d,  $J = 8,6\text{ Hz}$ , C2, C6 bzl), 130,91 (d,  $J = 2,7\text{ Hz}$ , C1 bzl), 135,71 (CHNO), 135,81 (C2 im), 161,99 (d,  $J = 245,0\text{ Hz}$ , C4 bzl).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3113 ( $\nu = \text{C-H im}$ ), 3068 ( $\nu = \text{C-H aromat}$ ), 2947 ( $\nu \text{C-H CH}_3$ ), 1672 ( $\nu \text{C=N-OCH}_3$ ), 1606, 1577, 1512 ( $\nu = \text{C-C aromat}$ ), 1461, 1446 ( $\nu$  im prstena), 1244 ( $\nu \text{C-F}$ ), 1034 (N-O).

**HRMS** ( $m/z$ ): izračunato 248,1194 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{FN}_3\text{O}^+$ ) dobiveno 248,1194.

### 3.4.6. Priprava 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (7)

Pripremi se otopina spoja **2** (37,2 mg, 0,27 mmol za postupak **3.4.1.**; odnosno 41,50 mg, 0,29 mmol za postupak **3.4.2.**) u suhom acetone (1 mL za postupak **3.4.1.**; odnosno 4 mL za postupak **3.4.2.**) te se otopini doda 3-klorbenzil-bromid (38,7  $\mu\text{dm}^{-3}$ , 0,29 mmol za postupak **3.4.1.**; odnosno 43,2  $\mu\text{dm}^{-3}$ , 0,33 mmol za postupak **3.4.2.**). Dobiveni spoj **7** je krutina bijele boje prema postupku **3.4.1.** (71,7 mg, 0,21 mmol,  $\eta = 79,9\%$ ), a prema postupku **3.4.2.** (17,3 mg, 0,05 mmol,  $\eta = 16,8\%$ ).

$t_t = 131,0 - 133,9\text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 3,95 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 4,04 (s, 3H, NO- $\text{CH}_3$ ), 5,65 (s, 2H,  $\text{CH}_2$  bzl), 7,28 - 7,32 (m, 3H, H6 bzl), 7,44 (d,  $J = 3,6\text{ Hz}$ , 1H, H2, H3, H4 bzl), 7,96 (d,  $J = 1,9\text{ Hz}$ , 1H, H5 im), 8,03 (d,  $J = 2,0\text{ Hz}$ , 1H, H4 im), 8,70 (s, 1H, CHNO).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 36,74 (N- $\text{CH}_3$ ), 51,12 ( $\text{CH}_2$  bzl), 63,55 (NO- $\text{CH}_3$ ), 126,41 (C5 im), 127,61 (C4 im), 127,73 (C6 bzl), 128,44 (C4 bzl), 130,74 (C3 bzl), 130,95 (C1 bzl), 133,36 (C5 bzl), 135,62, 135,77 (C2 bzl), 136,06 (C2 im), 137,27 (CHNO).



**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3110 ( $\nu =\text{C-H im}$ ), 3065 ( $\nu =\text{C-H aromat}$ ), 2945 ( $\nu \text{C-H CH}_3$ ), 1717 ( $\nu \text{C=N-OCH}_3$ ), 1601, 1577, 1512 ( $\nu =\text{C-C aromat}$ ), 1485, 1438 ( $\nu im$  prstena), 1031 (N-O), 682 ( $\nu \text{C-Cl}$ ).

**HRMS** (m/z): izračunato 264,0899 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClN}_3\text{O}^+$ ) dobiveno 264,0898.

#### 3.4.7. Priprava 3-(4-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**8**)

Pripremi se otopina spoja **2** (36,2 mg, 0,26 mmol) u suhom acetonu (4 mL) te se doda 4-klorbenzil-bromid (58,8 mg, 0,29 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1**. Dobiveni je produkt **8** krutina je bijele boje (70,6 mg, 0,20 mmol,  $\eta = 78,8 \%$ ).

$t_f = 199,0 - 202,2 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 3,94 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 4,04 (s, 3H, NO- $\text{CH}_3$ ), 5,62 (s, 2H,  $\text{CH}_2$  bzl), 7,35 (d,  $J = 8,5 \text{ Hz}$ , 2H, H2 i H6 bzl), 7,49 (d,  $J = 8,4 \text{ Hz}$ , 2H, H3 i H5 bzl), 7,93 (d,  $J = 1,8 \text{ Hz}$ , 1H, H5 im), 7,98 (d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ , 1H, H4 im), 8,69 (s, 1H, CHNO).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 36,78 (N- $\text{CH}_3$ ), 51,15 ( $\text{CH}_2$  bzl), 63,58 (NO- $\text{CH}_3$ ), 124,07 (C5 im), 125,46 (C4 im), 128,79 (C2, C6 bzl), 129,68 (C3, C5 bzl), 133,11 (C4 bzl), 133,68 (C1 bzl), 135,65 (C2 im), 135,91 (CHNO).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3112 ( $\nu =\text{C-H im}$ ), 3077 ( $\nu =\text{C-H aromat}$ ), 2923 ( $\nu \text{C-H CH}_3$ ), 1714 ( $\nu \text{C=N-OCH}_3$ ), 1609,1579,1515 ( $\nu =\text{C-C aromat}$ ), 1491,1453 ( $\nu im$  prstena), 1041 (N-O), 695 ( $\nu \text{C-Cl}$ ).

**HRMS** (m/z): izračunato 264,0899 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClN}_3\text{O}^+$ ) dobiveno 264,0898.

#### 3.4.8. Priprava 3-(3-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**9**)

Pripremi se otopina spoja **2** (34,3 mg, 0,24 mmol) u suhom acetone (4 mL) te se doda 3-brombenzil-bromid (67,7 mg, 0,27 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1**. Produkt **9** je krutina bijele boje (67,4 mg, 0,21 mmol,  $\eta = 65,4 \%$ ).

$t_f = 141,8 - 143,9 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 3,94 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 4,05 (s, 3H, NO- $\text{CH}_3$ ), 5,62 (s, 2H,  $\text{CH}_2$  bzl), 7,32 (d,  $J = 7,8 \text{ Hz}$ , 1H, H2 bzl), 7,37 (t,  $J = 7,9 \text{ Hz}$ , 1H, H5 bzl), 7,56 (d,  $J = 1,2 \text{ Hz}$ , 1H, H6 bzl), 7,58 (d,  $J = 1,1 \text{ Hz}$ , 1H, H4 bzl), 7,92 (d,  $J = 1,9 \text{ Hz}$ , 1H, H5 im), 7,99 (d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ , 1H, H4 im), 8,69 (s, 1H, CHNO).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 36,74 (N-CH<sub>3</sub>), 51,12 (CH<sub>2</sub> bzl), 63,55 (NO-CH<sub>3</sub>), 121,91 (C3 bzl), 124,08 (C5 im), 125,47 (C4 im), 126,81 (C6 bzl), 130,60 (C4 bzl), 130,95 (C5 bzl), 131,28 (C2 bzl), 135,71 (CHNO), 136,01 (C2 im), 137,27 (C1 bzl).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3114 ( $\nu$  =C-H im), 3067 ( $\nu$  =C-H aromat), 2949 ( $\nu$  C-H CH<sub>3</sub>), 1670 ( $\nu$  C=N-OCH<sub>3</sub>), 1597, 1512 ( $\nu$  =C-C aromat), 1481, 1433 ( $\nu$  im prstena), 1031 (N-O), 760 ( $\nu$  C-Br).

**HRMS** (m/z): izračunato 308,0394 (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) dobiveno 308,0394.

#### 3.4.9. Priprava 3-(4-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**10**)

Pripremi se otopina spoja **2** (34,5 mg, 0,24 mmol) u suhom acetonu (4 mL) te se doda 4-brombenzil-bromid (68,5 mg, 0,27 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1.**. Produkt **10** je krutina bijele boje (50,6 mg, 0,13 mmol,  $\eta = 52,7\%$ ).

$t_t = 209,4 - 211,3$  °C °C.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 3,94 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,05 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 5,61 (s, 2H, CH<sub>2</sub> bzl), 7,29 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H, H3 i H5 bzl), 7,63 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H, H2 i H6 bzl), 7,93 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H5 im), 7,98 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H, H4 im), 8,69 (s, 1H, CHNO).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 36,77 (N-CH<sub>3</sub>), 51,20 (CH<sub>2</sub> bzl), 63,58 (NO-CH<sub>3</sub>), 121,68 (C4 bzl), 124,08 (C5 im), 124,46 (C4 im), 129,96 (C2, C6 bzl), 131,70 (C3, C5 bzl), 134,09 (C1 bzl), 135,64 (CHNO), 135,92 (C2 im).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3114 ( $\nu$  =C-H im), 3075 ( $\nu$  =C-H aromat), 2937 ( $\nu$  C-H CH<sub>3</sub>), 1630 ( $\nu$  C=N-OCH<sub>3</sub>), 1576, 1515 ( $\nu$  =C-C aromat), 1487, 1451 ( $\nu$  im prstena), 1041 (N-O), 768 ( $\nu$  C-Br).

**HRMS** (m/z): izračunato 308,0394 (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) dobiveno 308,0393.

#### 3.4.10. Priprava 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**11**)

Pripremi se otopina spoja **2** (33,6 mg, 0,24 mmol) u suhom acetonu (4 mL) te se doda 3-nitrobenzil-bromid (57,4 mg, 0,27 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1.**. Produkt **11** je krutina bijele boje (56,5 mg, 0,16 mmol,  $\eta = 65,9\%$ ).

$t_t = 161,2 - 164,0$  °C.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 3,94 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,04 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 5,77 (s, 2H, CH<sub>2</sub> bzl), 7,72 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H5 bzl), 7,78 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H6 bzl), 7,95 (d,  $J = 1,9$

Hz, 1H, H5 *im*), 8,06 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H, H4 *im*), 8,23 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H4 *bzl*), 8,28 (s, 1H, H2 *bzl*), 8,71 (s, 1H, CHNO).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 36,62 (N-CH<sub>3</sub>), 51,13 (CH<sub>2</sub> *bzl*), 63,55 (NO-CH<sub>3</sub>), 122,97 (C5 *im*), 123,32 (C4 *im*), 124,29 (C2 *bzl*), 125,45 (C4 *bzl*), 130,39 (C5 *bzl*), 134,53 (C6 *bzl*), 135,72 (C1 *bzl*), 136,18 (C2 *im*), 136,77 (CHNO), 147,85 (C3 *bzl*).

IR (ATR)  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3117 ( $\nu =\text{C-H}$  *im*), 3066 ( $\nu =\text{C-H}$  aromat), 2949 ( $\nu \text{C-H}$  CH<sub>3</sub>), 1668 ( $\nu \text{C=N-OCH}_3$ ), 1606, 1574, 1538 ( $\nu =\text{C-C}$  aromat), 1481 ( $\nu$  *im* prstena), 1033 (N-O), 686 ( $\nu \text{NO}_2$ ).

HRMS (m/z): izračunato 275,1139 (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>) dobiveno 275,1138.

#### 3.4.11. Priprava 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**12**)

Pripremi se otopina spoja **2** (36,5 mg, 0,26 mmol) u suhom acetonu (4 mL) te se doda 4-nitrobenzil-bromid (62,3 mg, 0,29 mmol). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1**. Spoj **12** je krutina bijele boje (65,1 mg, 0,18 mmol,  $\eta = 69,9$  %).

$t_i = 197,9 - 198,5$  °C.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 3,96 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,99 (s, 3H, NO-CH<sub>3</sub>), 5,79 (s, 2H, CH<sub>2</sub> *bzl*), 7,54 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H2 i H6 *bzl*), 7,99 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H, H5 *im*), 8,03 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H, H4 *im*), 8,26 (dt,  $J_1 = 8,8$  Hz,  $J_2 = 2,2$  Hz, 2H, H3 i H5 *bzl*), 8,67 (s, 1H, CHNO).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm: 36,67 (N-CH<sub>3</sub>), 51,42 (CH<sub>2</sub> *bzl*), 63,58 (NO-CH<sub>3</sub>), 123,80 (C3, C5 *bzl*), 124,44 (C5 *im*), 125,48 (C4 *im*), 128,67 (C2, C6 *bzl*), 135,56 (CHNO), 136,26 (C2 *im*), 142,21 (C1 *bzl*), 147,27 (C4 *bzl*).

IR (ATR)  $\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$ : 3115 ( $\nu =\text{C-H}$  *im*), 3066 ( $\nu =\text{C-H}$  aromat), 2943 ( $\nu \text{C-H}$  CH<sub>3</sub>), 1672 ( $\nu \text{C=N-OCH}_3$ ), 1603, 1576, 1513 ( $\nu =\text{C-C}$  aromat), 1481, 1445 ( $\nu$  *im* prstena), 1034 (N-O), 687 ( $\nu \text{NO}_2$ ).

HRMS (m/z): izračunato 275,1139 (C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>) dobiveno 275,1137.

### 3.5. Ugijeva reakcija

#### 3.5.1. Općeniti postupak priprave Ugijeve reakcije u otopini

Imidazol-2-karbaldehid, odnosno *N*-metilimidazol-2-karbaldehid (0,4 mmol) otopi se u metanolu (1 mL) te se dodaju benzil-amin (0,5 mmol) i bezvodni natrijev sulfat (0,5 mmol). Nakon polusatnog miješanja na magnetskoj miješalici pri sobnoj temperaturi, doda se benzojeva kiselina (0,5 mmol) i *tert*-butil-izocijanid (0,5 mmol), odnosno cikloheksil-izocijanid

(0,5 mmol). Reakcijska se smjesa ostavi 24 sata pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici. Tijek reakcije praćen je pomoću TLC-a (u sustavu otapala MeOH : DCM = 1 : 9). Nakon završetka reakcije, otapalo iz reakcijske smjese se upari. Reakcijska smjesa je otopljena u kloroformu, te se ekstrahira zasićenom otopinom natrijeva klorida. Slojevi se odjele, a organski ekstrakt suši se na bezvodnom natrijevom sulfatu, filtrira i upari rotacijskim uparivačem pri sniženom tlaku. Sirovi produkt se pročisti kromatografijom na stupcu (u navedenom sustavu eluensa).

### 3.5.2. Priprava N-benzil-N-[2-(*tert*-butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**13**)

U otopinu imidazol-2-karbaldehida, benzojeve kiseline, benzil-amina i natrijeva sulfata pripravljenu prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.1., doda se *tert*-butil-izocijanid (56,6  $\mu\text{dm}^{-3}$ , 0,5 mmol). Reakcijska se smjesa miješa na magnetskoj miješalici 24 sata pri sobnoj temperaturi te se nakon toga obradi prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.1. Sirovi produkt se pročisti kromatografijom na stupcu (u sustavu otapala 3%-tni metanol u  $\text{CHCl}_3$ ). Frakcije koje odgovaraju željenom produktu upare se na rotacijskom uparivaču, pri čemu je dobiven uljasti produkt bijele boje (121,2 mg, 0,31 mmol,  $\eta = 77,6\%$ ).

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 1,30 (s, 9H,  $\text{CH}_3$  *tBu*), 4,49 – 4,69 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  *bzl*), 5,54 (s, 1H,  $\text{C}^1$ ), 6,71 (s, 1H, NH), 7,00 (bs, 4H, H2, H3, H5, H6 *bzl*), 7,21 (s, 3H, H3,H5 *Ph*, H4 *bzl*), 7,35 – 7,43 (m, 3H, H2, H4, H6 *Ph*), 7,55 (d,  $J = 7,1$  Hz, 2H, H4, H5 *im*), 10,80 (s, 1H, NH *im*).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 28,65 ( $\text{CH}_3$  *tBu*), 51,72, 54,03 ( $\text{CH}_2$  *bzl*), 58,63 ( $\text{C}^1$ ), 116,78 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$  *im*), 127,23 ( $\text{C}_4$  *bzl*), 127,41 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  *bzl*), 127,65 ( $\text{C}_4$  *Ph*,  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$  *bzl*), 128,67 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  *Ph*), 130,44 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$  *Ph*), 135,37 ( $\text{C}_1$  *bzl*), 136,18 ( $\text{C}_4$  *Ph*), 143,49 ( $\text{C}_2$  *im*), 165,80 ( $\text{C}=\text{O}$  *tBu*), 174,33 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3316 ( $\nu$  N-H amid), 3064 ( $\nu$  =C–H *im*), 3027 ( $\nu$  =C–H aromat), 2972, 2904, 2877 ( $\nu_{\text{as}}$  C–H  $\text{CH}_3$ ), 1669 ( $\nu$  C=O, amid), 1631 ( $\nu$  *im* prstena).

**HRMS** ( $m/z$ ): izračunato 391,2129 ( $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2^+$ ) dobiveno 391,2125.

**HPLC**  $t_r = 12,027$  min, 95,3 %.

### 3.5.3. Priprava N-benzil-N-[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (14)

U otopinu imidazol-2-karbaldehida, benzojeve kiseline, benzil-amina i natrijeva sulfata pripravljenu prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.1., doda se cikloheksil-izocijanid ( $61,3 \mu\text{dm}^{-3}$ , 0,5 mmol). Reakcijska se smjesa ostavi 24 sata pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici te se nakon toga obradi prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.1. Sirovi produkt se pročisti kromatografijom na stupcu (u sustavu eluensa 3%-tni metanol u  $\text{CHCl}_3$ ). Frakcije koje odgovaraju željenom produktu upare se na rotacijskom uparivaču, pri čemu je dobiven spoj 14 krutina žute boje (105,9 mg, 0,25 mmol,  $\eta = 63,6 \%$ ).

$t_t = 114,5 - 122,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 1,04 – 1,42 (m, 6H, H2,H4,H6  $\text{CH}_2$  Chex), 1,51 – 1,71 (m, 3H, H3,H5  $\text{CH}_2$  Chex), 1,83 (bs, 2H, H3, H5  $\text{CH}_2$  Chex), 2,00 (s, 1H, H3  $\text{CH}_2$  Chex), 3,71 – 3,81 (m, 1H, H1 Chex), 4,53 – 4,66 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  bz1), 5,61 (s, 1H,  $\text{C}^1$ ), 6,79 (s, 1H, NH), 6,94 – 7,10 (m, 4H, H2, H3, H5, H6 bz1), 7,21 (s, 3H, H3,H5 Ph, H4 bz1), 7,33 – 7,46 (m, 3H, H2, H4, H6 Ph), 7,54 (d,  $J = 7,1 \text{ Hz}$ , H4, H5 im), 10,91 (s, 1H, NH im).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 24,70 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  Chex), 25,60 ( $\text{C}_4$  Chex), 32,58, 32,80 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$ , Chex), 48,74 ( $\text{C}_1$  Chex), 54,20 ( $\text{CH}_2$  bz1), 58,37 ( $\text{C}^1$ ), 116,86 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$  im), 127,29 ( $\text{C}_4$  bz1), 127,40 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  bz1), 127,74 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$  bz1), 128,24 ( $\text{C}_4$  Ph), 128,70 ( $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$  Ph), 130,54 ( $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_6$  Ph), 135,26 ( $\text{C}_1$  bz1), 136,08 ( $\text{C}_1$  Ph), 143,37 ( $\text{C}_2$  im), 165,90 ( $\text{C}=\text{O}$  Chex), 174,43 ( $\text{C}=\text{O}$  Ph).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3283 ( $\nu$  N-H amid), 3064 ( $\nu$  =C–H im), 3029 ( $\nu$  =C–H aromat), 2930, 2853 ( $\nu_{\text{as}}$  C–H  $\text{CH}_3$ ), 1705 ( $\nu$  C=O), 1666 ( $\nu$  C=C aromat), 1620 ( $\nu$  im prstena).

**HRMS** (m/z): izračunato 417,2286 ( $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_2^+$ ) dobiveno 417,2285.

$t_r = 12,705 \text{ min}$ , 98,9 %.

### 3.5.4. N-benzil-N-[2-(cikloheksilamino)-1-(N-metilimidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (15)

U otopinu N-metil-imidazol-2-karbaldehid, metanola, benzil-amina i natrijeva sulfata pripravljenu prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.1., doda se cikloheksil-izocijanid ( $61,3 \mu\text{dm}^{-3}$ , 0,5 mmol). Reakcijska se smjesa ostavi 24 sata pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici te se nakon toga obradi prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.1.. Sirovi se produkt pročisti kromatografijom na stupcu (u sustavu eluensa etil-acetat : heksan = 8 : 2). Frakcije koje odgovaraju željenom produktu upare se na rotacijskom uparivaču, pri

čemu je dobiveni produkt prozirno ulje u kojemu su vidljivi sitni kristalići (119,2 mg, 0,69 mmol,  $\eta = 69,2 \%$ ).

$t_t = 55,2 - 58,1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 1,13 – 1,45 (m, 6H, H2,H4,H6  $\text{CH}_2$  *Chex*), 1,52 – 1,75 (m, 3H, H3,H5  $\text{CH}_2$  *Chex*), 1,87 (bs, 2H, H3, H5  $\text{CH}_2$  *Chex*), 2,00, 2,17 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 3,05 (bs, 1H, H1 *Chex*), 3,60 (bs, 1H,  $\text{C}^1$ ), 3,80 (s, 1H,  $\text{CH}_2$  *bzl*), 4,36 (d,  $J = 15,2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2$  *bzl*), 4,70 (s, 1H, NH), 6,49 – 6,73 (m, 3H, H2, H3, H6 *bzl*), 6,89 (s, 1H, H5 *bzl*), 7,05 (bs, 4H, H2, H3, H5, H6 *Ph*), 7,35 (bs, 4H, H4 *bzl*, H4 *Ph*), H4, H5 *im*).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 24,77 (C3, C5 *Chex*), 25,74 (C4 *Chex*), 31,07 (C1 *Chex*), 32,75 (C2, C6 *Chex*), 33,17 (N- $\text{CH}_3$ ), 49,00 ( $\text{C}^1$ ), 50,73 ( $\text{CH}_2$  *bzl*), 122,19 (C4, C5 *im*), 126,86 (C4 *bzl*), 127,50 (C3, C5 *bzl*), 128,06 (C4 *Ph*, C2, C6 *bzl*), 128,57 (C3, C5 *Ph*), 129,78 (C2, C6 *Ph*), 136,17 (C1 *bzl*), 137,40 (C1 *Ph*), 145,14 (C2 *im*), 165,60 (C=O *Ph*).

**IR (ATR)**  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 3278 ( $\nu$  N-H amid), 3062 ( $\nu$  =C-H *im*), 3031 ( $\nu$  =C-H arom), 2930, 2853 ( $\nu_{\text{as}}$  C-H  $\text{CH}_3$ ), 1682 ( $\nu$  C=O, amid), 1617 ( $\nu$  *im* prstena), 1443, 1410 ( $\nu$  C-H  $\text{CH}_2$ ), 1280 ( $\nu$  N- $\text{CH}_3$ ).

**HRMS** (m/z): izračunato 431,2443 ( $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_2^+$ ) dobiveno 431,2443.

$t_r = 12,863 \text{ min}$ , 98,8 %.

### 3.6. Određivanje inhibitorne aktivnosti ( $\text{IC}_{50}$ vrijednosti) pripremljenih spojeva

Za mjerenje inhibitorne aktivnosti pripremljenih spojeva korištene su komercijalno dostupne kemikalije analitičke čistoće: dinatrijev fosfat (*Kemika*), mononatrijev fosfat (*Sigma*), 5,5-ditiobis-(2-nitrobenzojeva kiselina) (DTNB, *Sigma*) i acetiltiokolin-jodid (ATCh, *Sigma*). Mjerenje je provedeno prema Ellmanovoj metodi na enzimu butirilkolinesterazi (BChE, EC 3.1.1.8) izoliranoj iz konjskog seruma (*Sigma-Aldrich Chemie GmbH*, Taufkirchen, Njemačka).<sup>31,36</sup> Mjerenja su provedena na mikrotitarskim pločicama s 96 jažica na uređaju *Molecular Devices SpectraMax iD3 Multi-Mode Microplate Reader* pri valnoj duljini od 414 nm na 25  $^\circ\text{C}$ .

Pripremljeni spojevi **2 – 12** otopljeni su u fosfatnom puferu (pH 7,4), a spojevi **13 – 15** u metanolu. Reakcijska smjesa u jažicama bila je ukupnog volumena 300  $\mu\text{dm}^{-3}$ , pri čemu su reagensi dodavani u redosljed: pufer, enzim BChE, otopina inhibitora **2 – 15**, DTNB i na kraju supstrat, ATCh (tablica 1). Tijek enzimske reakcije praćen je kroz 4 minute dodatkom

supstrata. Kao pozitivne kontrole korištene su enzimski reakcija bez dodanog inhibitora te enzimski reakcija uz dodatak  $20 \mu\text{dm}^{-3}$  kootapala (metanola).<sup>37</sup> Mjerenje su izvedena u duplikatima te su dva puta ponovljena. Prilikom prvog mjerenja inhibitorne aktivnosti korištene su koncentracije inhibitora u širom rasponu ( $0,1 \mu\text{mol dm}^{-3} - 1 \text{mmol dm}^{-3}$ ), dok su tijekom drugog mjerenja inhibitorne aktivnosti koncentracije inhibitora prilagođene (dvostruka razrijeđenja) s ciljem utočnjavanja  $\text{IC}_{50}$  vrijednosti.

Tablica 1. Koncentracije korištenih otopina i volumeni reagensa u reakcijskoj smjesi u jažicama za određivanje inhibitorne aktivnosti.

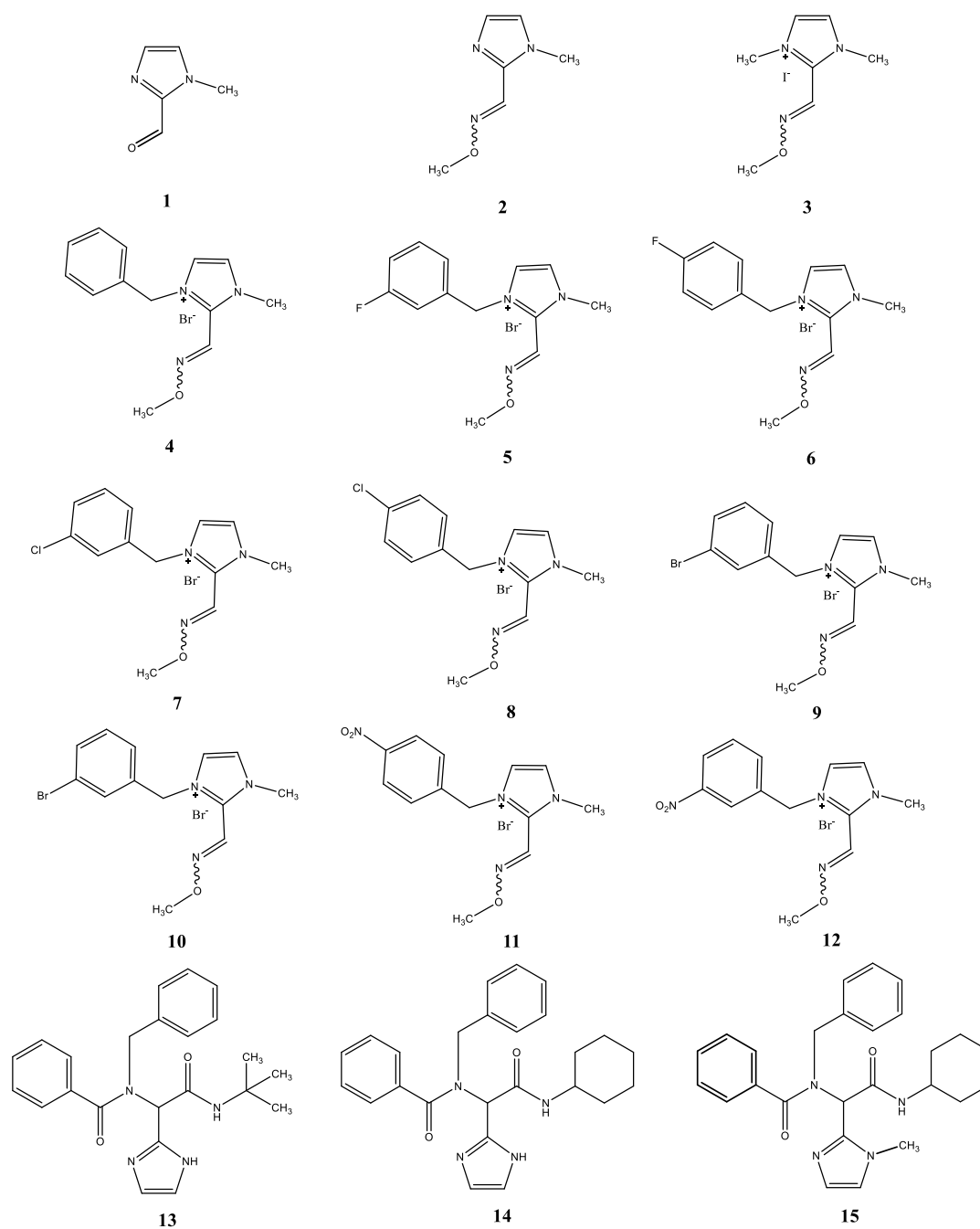
reagens	otopina	V(jažica) / $\mu\text{dm}^{-3}$
pufer	fosfatni pufer, $0,1 \text{mmol dm}^{-3}$ , pH = 7,4	165
BChE	1,00 mg u 10 mL pufera	50
spojevi <b>2 – 15</b>	različite koncentracije	20
DTNB	$52,3 \text{mg u } 20 \text{cm}^{-3}$ pufera	15
ATCh	$79,1 \text{mg u } 20 \text{cm}^{-3}$ deionizirane vode	50

Eksperimentalni podaci provedenih mjerenja obrađeni su u Excelu, pri čemu je za svaku koncentraciju inhibitora izračunat postotak enzimski aktivnosti kao omjer konstante brzine reakcije s inhibitorom i konstante brzine reakcije bez inhibitora. Za određivanje  $\text{IC}_{50}$  vrijednosti korištena je linearna ovisnost izmjerene enzimski aktivnosti o  $\log_{10}[\text{I}]$ .

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Uvod

Ovaj se rad temelji na sintezi i karakterizaciji bioaktivnih derivata imidazola (slika 14).



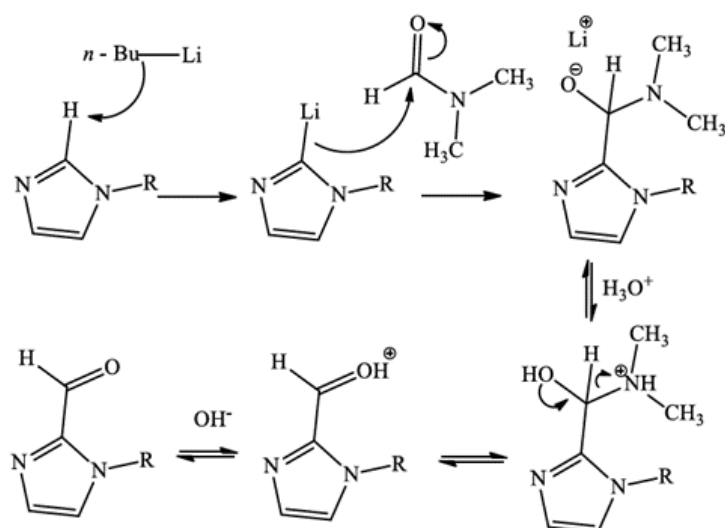
Slika 14. Strukture sintetiziranih spojeva 1-15.



Počevši od *N*-metilimidazol-2-karbaldehida, sve do njegovih derivata koji sadrže oksimsku skupinu. Nadalje, dobiveni eter oksim kvaterniziran je nizom alkil-halogenida kao što su metil-jodid, benzil-bromid te različito supstituirani benzil-bromidi (sa supstuentima poput nitro skupine i atoma halogena u *meta* i *para* položaju). Također, provedena je Ugijeva reakcija u otopini u kojoj su polazni spojevi bili imidazol-2-karbaldehid ili komercijalno dostupan *N*-metilimidazol-2-karbaldehid, benzojeva kiselina, benzil-amina s *tert*-butil-izocijanidom ili cikloheksil-izocijanidom.

#### 4.2. Priprava *N*-metilimidazol-2-karbaldehida (1)

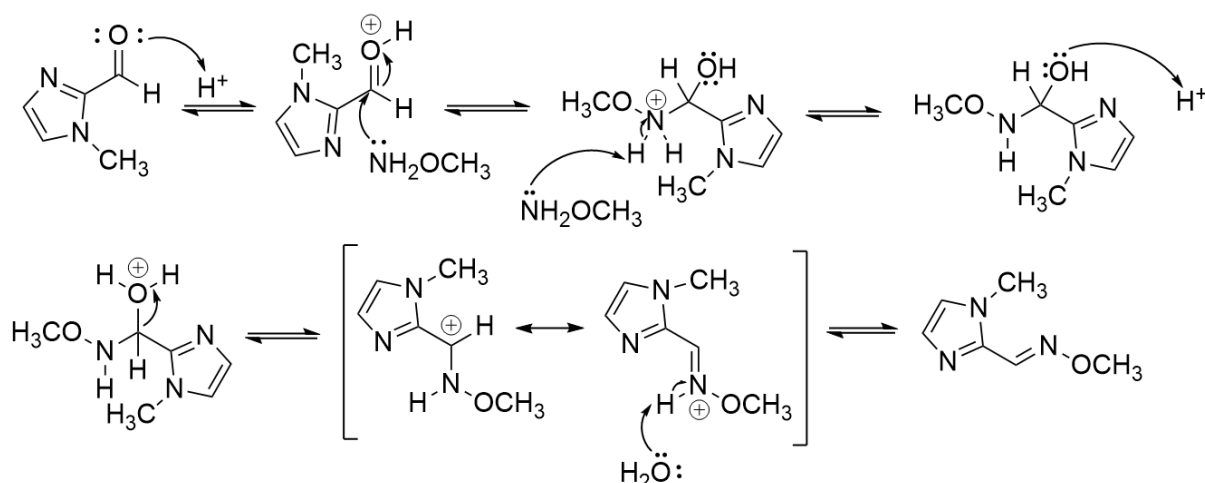
*N*-metilimidazol-2-karbaldehid (1) pripremljen je prema literaturno opisanoj proceduri<sup>35</sup> pri čemu *N*-metilimidazol reagira s *n*-BuLi u THF-u koji djeluje kao jaka baza i deprotonira *N*-metilimidazol na poziciji 2 (slika 15). On zatim u nukleofilnom napadu napada elektrofilni ugljikov atom DMF-a dajući acilirani derivat imidazola. Dodavanjem HCl-a dolazi do nastanka aldehidne skupine na imidazolu. THF služi kao aprotično polarno otapalo, koje je pogodno za reakcije s organolitijevim reagensima jer stabilizira nastale međuprodukte i omogućava efikasnu deprotonaciju i nukleofilne napade. Nažalost, dobiveni je sirovi produkt kojeg nije bilo moguće pročistiti kromatografijom na stupcu (provedenim u različitim sustavima otapala).



Slika 15. Mehanizam formilacije *N*-supstuiranih imidazola.<sup>38</sup>

### 4.3. Priprava *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksima-*O*-metil etera (2)

Sinteza etera oksima (2) provodila se dodatkom vodene otopine natrijeva karbonata (pH = 8), *O*-metilhidrosilamin-hidroklorida u etanolnu otopinu komercijalno dostupnoga *N*-metilimidazol-2-karbaldehida (slika 16). Otopina natrijeva karbonata potrebna je za dobivanje neutralnoga oblika hidrosilamina, koji potom djeluje kao nukleofil i napada karbonilni kisikov atom. Moguće je dobivanje dvaju izomera oksima *E* i *Z*, odnosno *syn* ili *anti*. Reakcijska je smjesa nakon 24 sata miješanja obrađena te je dobiven eter oksima uz visoko iskorištenje od 89,6% (Ferri i suradnici sintetizirali su navedeni u produktu u iskorištenju od 74%).<sup>39</sup> Analizom NMR spektara etera oksima te usporedbom s literaturno poznatim vrijednosti pomaka može se zaključiti da se radi o *syn* izomeru (poglavlje 4.5.).

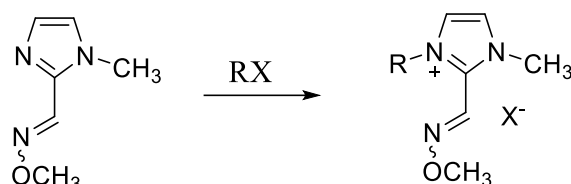


Slika 16. Predloženi mehanizam dobivanja oksima iz *N*-metilimidazol-2-karbaldehida.

### 4.4. Priprava *N*-kvaternih derivata imidazol-2-karbaldehida

Kvaterni produkti etera oksima pripremljeni su dodatkom reagensa za kvaternizaciju u 10 %-tnom suvišku otopini spoja 2 u suhom acetonu (slika 17). Upotrijebljeni reagensi za kvaternizaciju bili su metil-jodid, benzil-bromid te različito supstituirani benzil-bromidi (sa supstituentima poput nitro skupine i atoma halogena u *meta* i *para* položaju). Reakcijska se smjesa nakon zagrijavanja od 48 sati obradila. Dobiveni su kvaterni produkti s različitim iskorištenjima. Sinteza spoja 7 provela se pri sobnoj temperaturi kao i zagrijavanjem uz povratno hladilo pri 56 °C. Uočava se iskorištenje od 16,8 % pri provođenju reakcije pri sobnoj

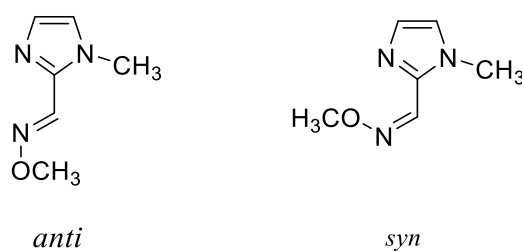
temperaturi te 79,9 % pri 56 °C. Budući da je ravnoteža reakcije više pomaknuta prema produktu kada se ona odvija pri povišenoj temperaturi, sve ostale reakcije kvaternizacije provodile su se zagrijavanjem uz povratno hladilo.



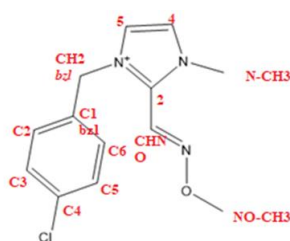
Slika 17. Shematski prikaz kvaternizacije etera oksima **2** uz alkil-halogenid (RX).

#### 4.5. Analiza NMR spektara kvaternih etera oksima derivata imidazola

Analizom snimljenih  $^1\text{H}$  NMR spektara spoja **2** moguće je utvrditi pripadaju li signali *syn* ili *anti* izomeru. Literaturno je poznato<sup>40</sup> da aldehydni proton *syn* oksima ( $H_{syn}$ ) ima veći pomak od aldehydnog protona *anti* oksima ( $H_{anti}$ ). Uočeni  $^1\text{H}$  NMR pomak aldehydnog protona je 8,13 ppm, što se slaže se s literaturnom vrijednosti (oko 8 ppm), pa se pretpostavlja da je eter oksim (**2**) i njegovi *N*-kvaterni derivati *syn* konformacije. Također je pomoću navedenog rada provedena je asignacija odgovarajućih vodikovih ili ugljikovih atoma imidazolnog prstena.



Slika 18. Geometrijski izomeri spoja **2** – *anti* i *syn*.



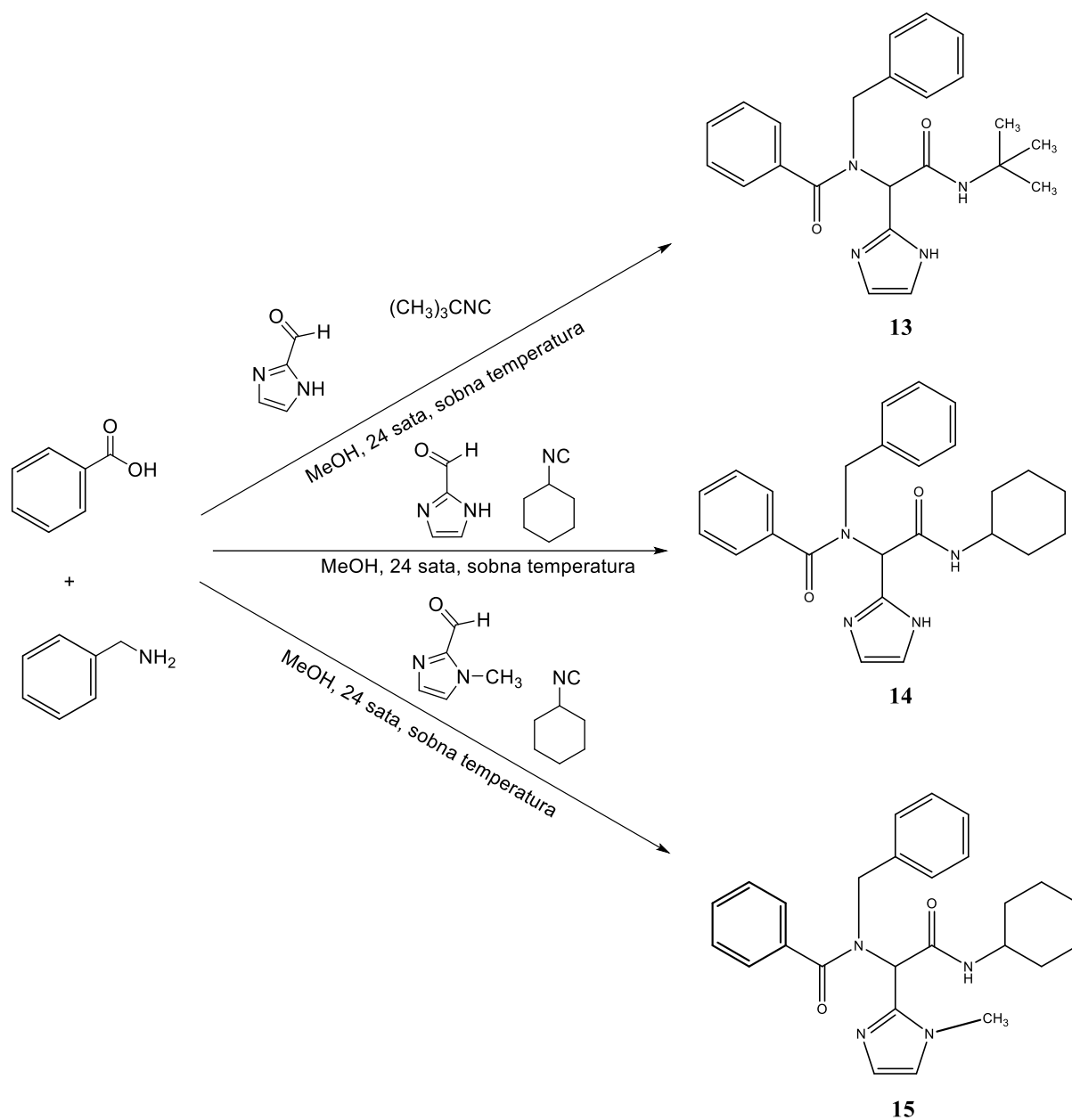
Slika 19. Asignacija svih ugljikovih atoma, korištenih u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru, na primjeru spoja

**8.**

Konstante sprege dobivene snimanjem  $^1\text{H}$  NMR spektara benzilnog dijela produkata **5** i **6**, uspoređene su s literaturnim vrijednostima konstanti sprege<sup>41</sup>  $\text{H} - \text{F}$  kako bismo mogli zaključiti koji signal pripada kojem vodikovom atomu. Literaturne vrijednosti ukazuju na to da se s fluorom kao supstituentom, najveća konstanta sprege u  $^1\text{H}$  NMR spektru može očekivati u *ortho* položaju (u derivatima: 6-10 Hz), zatim u *meta* (u derivatima: 4-8 Hz), a najmanja u *para* položaju s vrijednostima između 0 i 3 Hz. Osim toga, konstante sprege dobivene snimanjem  $^{13}\text{C}$  NMR spektara benzilnog dijela produkata **5** i **6**, uspoređene su s literaturnim vrijednostima konstanti sprege<sup>41</sup>  $\text{C} - \text{F}$  kako bismo mogli zaključiti koji signal pripada kojem ugljikovom atomu. Literaturne vrijednosti ukazuju na to da se s fluorom kao supstituentom, najveća konstanta sprege u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru može očekivati u *ipso* položaju (u derivati 245 Hz), *ortho* položaju (u derivatima: 21 Hz), zatim u *meta* (u derivatima: 8 Hz), a najmanja u *para* položaju s vrijednostima 3 Hz.

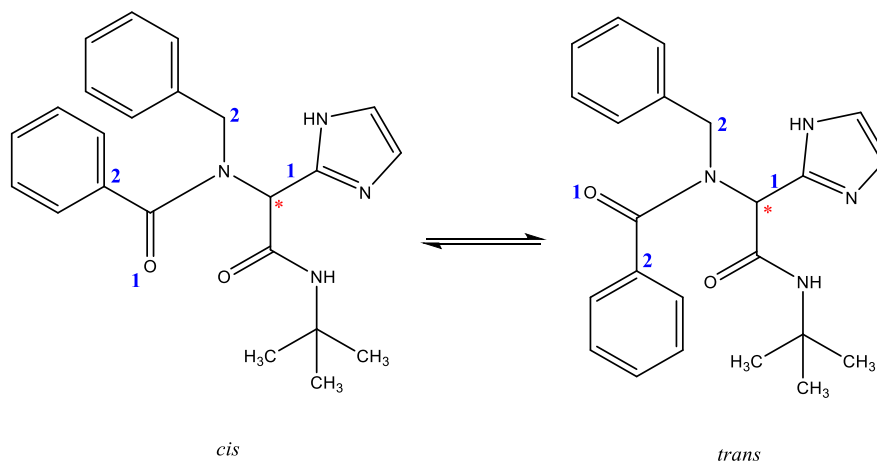
#### 4.6. Ugijeva reakcija

Kako je Ugijeva reakcija četverokomponentna reakcija, kao aldehidne komponente koristili su se imidazol-2-karbaldehid ili *N*-metilimidazol-2-karbaldehid, amino komponenta je bio benzil-amin, izvor izocijanida *tert*-butil-izocijanid ili cikloheksil-izocijanid, a odgovarajuća karboksilna kiselina bila je benzojeva kiselina (slika 20). Produkti su pročišćeni kromatografijom na stupcu te su određena iskorištenja od 77,6 % za spoj **13**, 63,6 % za spoj **14** te 69,2 % za spoj **15**.

Slika 20. Prikaz sinteza Ugijejih produkata **13**, **14** i **15**.

U Ugijevoj reakciji se koristio monosupstituirani aldehid (imidazol-2-karbaldehid ili *N*-metilimidazol-2-karbaldehid), pa su produkti **13** – **15** dobiveni u obliku racemata. Do nastanka kiralnog središta dolazi zbog stvaranja imina kondenzacijom amina s monosupstituiranim aldehidom (slika 9). Navedena reakcija je povratna reakcija u kojoj nastaje

voda kao nusprodukt, pa dodatak bezvodnog natrijeva sulfata pomiče ravnotežu prema dobivanju imina.<sup>42</sup>

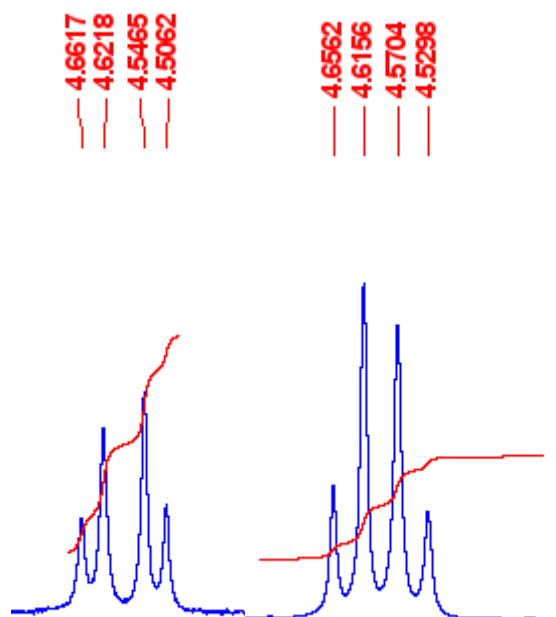


Slika 21. Strukture *cis* i *trans* konformera Ugijevog produkta **13**. Označeni je kiralni centar u molekuli crvenim simbolom zvjezdice (\*).

Osim toga, u <sup>1</sup>H NMR spektrima Ugijevih produkata uočavaju se dvostruki signali benzilne skupine, što se može objasniti postojanjem *cis* i *trans* konformera  $\alpha$ -acilamino benzamida (slike 21 i 22).<sup>42,43</sup> Udio *cis* i *trans* konformera može se izračunati na temelju integrala signala u <sup>1</sup>H NMR spektru te je utvrđeno da udio iznosi ~ 50 % : 50 %. (tablica 2)

Tablica 2. Omjer *cis* i *trans* izomera opažen u <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spektrima spojeva **13** – **15** određen na temelju integrala signala benzilne skupine.

spoj	omjer <i>cis</i> i <i>trans</i> konformera
<b>13</b>	49,9 % : 50,1 %
<b>14</b>	48,5 % : 51,5 %
<b>15</b>	48,7 % : 51,3 %



Slika 22. Dio  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektra a) spoja **13** i b) spoja **14**. Usporedbom integrala vrpce određeno je da udio *cis* i *trans* konformera iznosi ~ 50% : 50%.

#### 4.7. Određivanje tališta

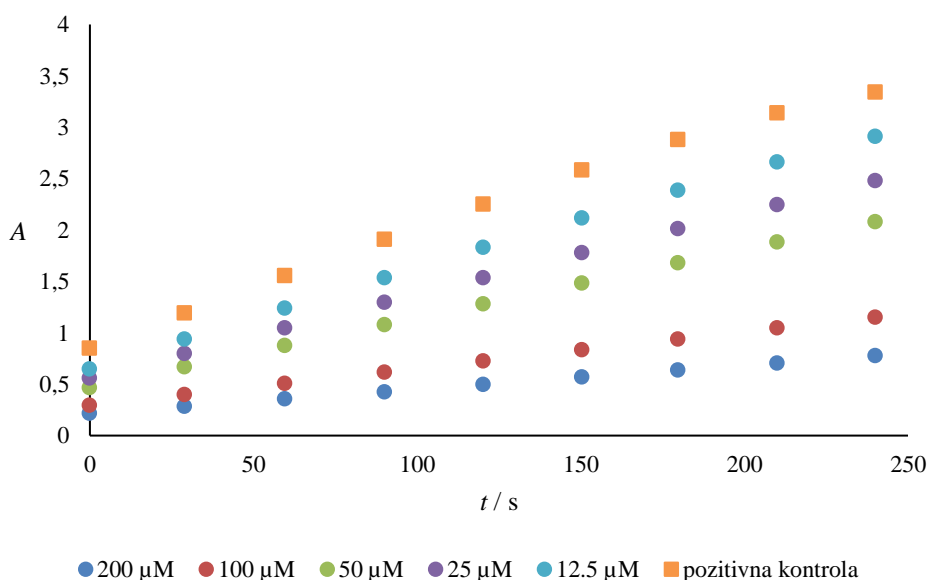
Temperature tališta su određene dvostrukim ponavljanjem kako bi se dobili što točniji podaci. U tablici 3 poredani su svi produkti prema rastućem talištu. Uočavamo kako su tališta *para* supstituiranih benzil-halogenida veća od onih u *meta* položaju u slučaju klora, broma i nitro skupine kao supstituenata. To možemo pripisati njihovoj simetriji zbog čega postižu bolje slaganje u kristalnoj rešetki, a samim time i bolje međumolekulske interakcije koje zahtijevaju više energije kako bi se kristalna rešetka razorila i produkt prešao u tekuće stanje. Također možemo uočiti kako spoj **5** ima veće talište od spoja **6**. Spoj **5** s atomom fluora u *meta* položaju na benzenskom prstenu ima veće talište od onoga u *para* položaju. Uzrok tome možemo pripisati elektronegativnošću atoma fluora, jer on uveliko može utjecati na raspodjelu elektronske gustoće kroz benzenski prsten zbog svojih induktivnih i rezonantnih efekata. U *meta*-položaju induktivni efekt fluora može smanjiti elektronsku gustoću na određenim mjestima prstena, što može dovesti do dodatnih stabilizacijskih efekata u kristalnoj rešetki. To dodatno doprinosi višem talištu spoja s *m*-fluorbenzilnom skupinom.

Tablica 3. Eksperimentalno određena tališta sintetiziranih spojeva u čvrstom stanju.

Spoj	Talište / °C	Spoj	Talište / °C
<b>3</b>	215,0 – 218,0	<b>9</b>	141,8 – 143,9
<b>4</b>	177,8 – 181,2	<b>10</b>	209,4 – 211,3
<b>5</b>	186,8 – 190,0	<b>11</b>	161,2 – 164,0
<b>6</b>	167,0 – 172,6	<b>12</b>	197,9 – 198,5
<b>7</b>	131,0 – 133,9	<b>14</b>	114,5 – 122,0
<b>8</b>	199,0 – 202,2	<b>15</b>	55,2 – 58,1

#### 4.8. Određivanje inhibitorne aktivnosti

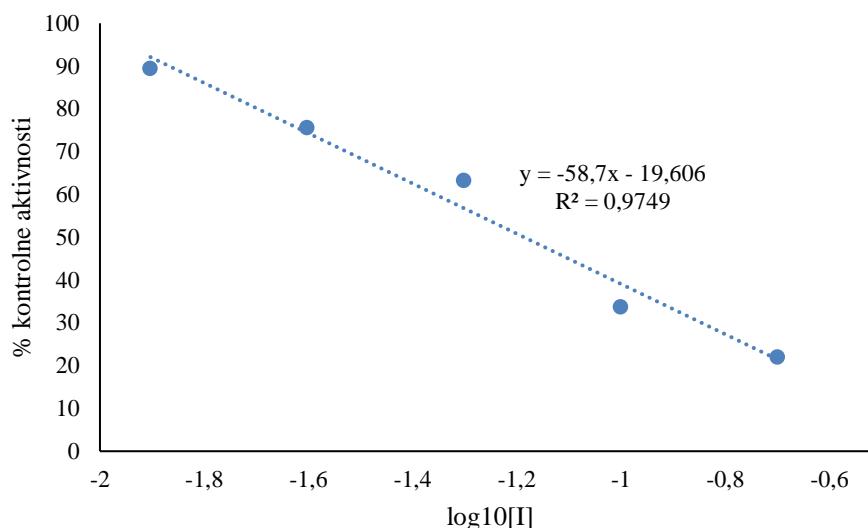
Provedeno je mjerenje inhibitorne aktivnosti (određivanje  $IC_{50}$  vrijednosti) spojeva **2** – **15** prema enzimu BChE izoliranoj iz konjskog seruma Ellmanovom metodom. Nakon provedenog mjerenja prikazana je vremenska ovisnost apsorbancije pri 414 nm za svaku koncentraciju određenog inhibitora te pozitivnu kontrolu (slika 23 za produkt **9**) iz čijeg se nagiba pravca za svaku koncentraciju inhibitora određuje opažena konstanta inhibicije prvog reda.



Slika 23. Prikaz vremenski ovisne inhibicije BChE inhibirane produktom **9**: nagib pravca određuje opaženu konstantu inhibicije prvog reda.

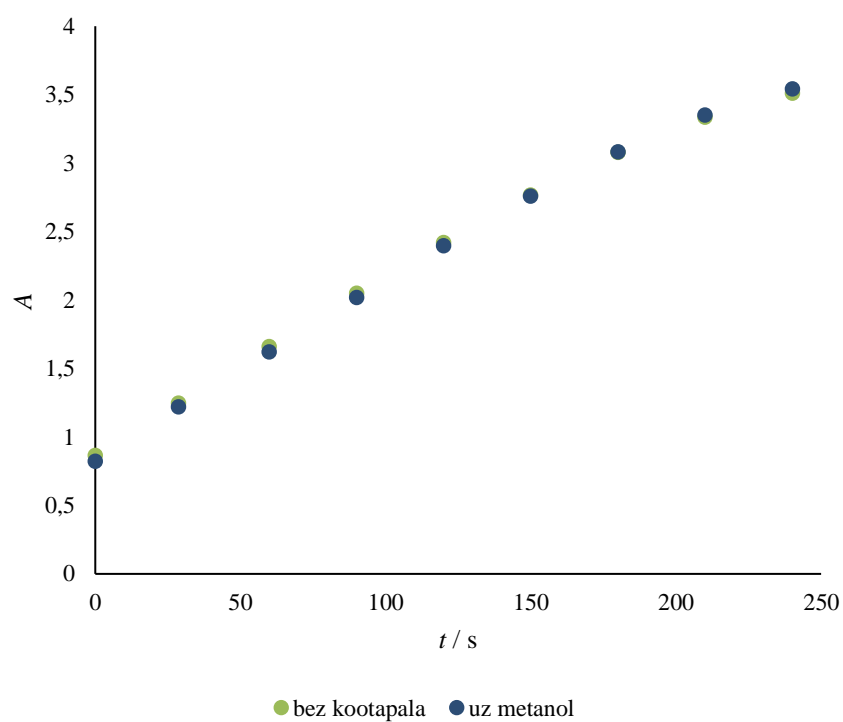


Iz omjera konstante brzine reakcije s inhibitorom i konstante brzine reakcije bez inhibitora (pozitivna kontrola) može se izračunati postotak izmjerene enzimске aktivnosti.  $IC_{50}$  vrijednost (tablica 4) određuju se iz linearne ovisnosti postotka izmjerene enzimске aktivnosti i  $\log_{10}[I]$  (slika 24 za produkt **9**).



Slika 24. Ovisnost postotka izmjerene enzimске aktivnosti o  $\log_{10}[I]$  za produkt **9**.

Kao pozitivne kontrole korištene su enzimska reakcija bez dodanog inhibitora za spojeve **2** – **12** čije su ishodne otopine pripravane u puferu ili enzimska reakcija uz dodatak  $20 \mu\text{dm}^{-3}$  kootapala (metanola)<sup>37</sup> za spojeve **13** – **15** čije su ishodne otopine pripravane u metanolu. Iako upotreba organskih kootapala inhibira AChE i BChE i smanjuje njihovu enzimsku aktivnost, pokazano je da korištenje do 5 % volumnog udjela metanola<sup>37</sup> u reakcijskoj smjesi ima minimalan utjecaj na enzim BChE. Minimalan utjecaj kootapala metanola na enzim BChE prikazan je na slici 25 gdje se uočava podudaranje pozitivne kontrole enzimске reakcije uz i bez dodatak kootapala metanola.



Slika 25. Prikaz vremenski ovisne enzimske reakcije bez dodanog inhibitora (bez kootapala) te uz dodatak  $20 \mu\text{dm}^{-3}$  metanola: nagib pravca korišten kao pozitivna kontrola tijekom obrade rezultata mjerenja.

Opisanim načinom izvedena su sva mjerenja te obrađeni rezultati, pri čemu su dobivene  $\text{IC}_{50}$  vrijednosti koje su prikazane u tablici 4.

Tablica 4. IC<sub>50</sub> vrijednosti izračunate za spojeve **2** – **15** u reakciji inhibicije BChE. IC<sub>50</sub> vrijednost izražena je kao srednja vrijednost ( $\pm$  standardna pogreška) i određena iz najmanje dva pokusa.

Spoj	IC <sub>50</sub> / $\mu\text{mol dm}^{-3}$
<b>2</b>	9000 $\pm$ 500
<b>3</b>	4900 $\pm$ 100
<b>4</b>	630,6 $\pm$ 7,3
<b>5</b>	346,8 $\pm$ 7,8
<b>6</b>	424,3 $\pm$ 2,1
<b>7</b>	27,5 $\pm$ 1,5
<b>8</b>	238,5 $\pm$ 2,3
<b>9</b>	62,5 $\pm$ 3,8
<b>10</b>	179,5 $\pm$ 7,1
<b>11</b>	65,2 $\pm$ 7,4
<b>12</b>	330,4 $\pm$ 31,3
<b>13</b>	55,1 $\pm$ 2,4
<b>14</b>	176,8 $\pm$ 5,3
<b>15</b>	345,1 $\pm$ 49,4

Određene IC<sub>50</sub> vrijednosti pripremljenih spojeva **2** – **15** prema enzimu BChE bile su u širokom rasponu od 27,5  $\mu\text{mol dm}^{-3}$  do 9,0 mmol dm<sup>-3</sup>, pri čemu se kao najbolji inhibitor pokazao produkt **7** s IC<sub>50</sub> vrijednost 27,5  $\mu\text{mol dm}^{-3}$   $\pm$  1,5 mmol dm<sup>-3</sup>. Zanimljivo je primijetiti da nesupstituirani eter oksima ne pokazuje značajnu aktivnost prema enzimu, pri čemu se pripravom *N*-kvaternih derivata etera oksima aktivnost poboljšava (supstituirani benzilni kvaterni eteri oksima imaju niže IC<sub>50</sub> vrijednosti od supstituiranog *N*-benzilnog kvaternog etera oksima ili *N*-metilnog kvaternog etera oksima). Osim toga, 3-supstituirani kvaterni eteri oksima pokazali su se kao bolji inhibitori od 4-supstituiranih kvaternih oksima. Najveća razlika u aktivnosti opažena je kod nitro-supstituiranih kvaternih etera oksima, pri čemu je 3-nitro supstituiranom kvaternom eteru oksimu određena IC<sub>50</sub> vrijednost 65,2  $\mu\text{mol dm}^{-3}$ , a 4-nitro derivatu 330,4  $\mu\text{mol dm}^{-3}$ . Ugijevi produkti ispitani su u obliku racemata te imaju IC<sub>50</sub> vrijednosti u rasponu 55,1  $\mu\text{mol dm}^{-3}$  do 851,7 mmol dm<sup>-3</sup>, pri čemu se kao najbolji inhibitor pokazao Ugijev produkt **13**.

## § 5. ZAKLJUČAK

U ovom su radu pripremljeni spojevi: *N*-metilimidazol-2-karbaldehid (**1**), *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksimo-*O*-metil-eter (**2**), 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijev jodid (**3**), 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**4**), 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**5**), 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**6**), 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**7**), 3-(4-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**8**), 3-(3-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**9**), 3-(4-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijev bromid (**10**), 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijev bromid (**11**), 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijev bromid (**12**), *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamid (**13**), *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamid (**14**) i *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(*N*-metilimidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamid (**15**).

*N*-metilimidazol-2-karbaldehid (**1**) sintetiziran je iz *N*-metilimidazola u reakciji s *n*-butillitijem. Zatim je slijedila sinteza etera oksima **2** koji je u sljedećem koraku kvaterniziran s odgovarajućim alkil-halogenidom, pri čemu su dobiveni produkti **3** – **12**.

U nastavku istraživanja provedena je Ugijeva reakcija koristeći imidazol-2-karbaldehid, benzojevu kiselinu, benzil-amin i *tert*-butil-izocijanid. Nadalje, sintetizirani su i Ugijevi produkti imidazol-2-karbaldehida odnosno *N*-metilimidazol-2-karbaldehidom s benzojevom kiselinom, benzil-aminom i cikloheksil-izocijanidom. Pripremljeni spojevi **13** - **15** prisutni su u otopini kao smjesa *cis* i *trans* konformera u udjelu 50 % : 50 % izračunatom na temelju integrala signala u <sup>1</sup>H NMR spektru. Svi sintetizirani spojevi **2** – **15** karakterizirani su dostupnim analitičkim metodama (<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR, FTIR, HRMS), a krutim produktima određeno je talište.

Pripremljeni spojevi **2** - **15** ispitani su kao potencijalni inhibitori BChE korištenjem Ellmanove metode, pri čemu se kao najbolji inhibitor pokazao spoj **7**.

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

3D struktura – trodimenzijska struktura

ACh – acetilkolin

AChE – acetilkolinesteraza

AD – Alzheimerova bolest (engl. *Alzheimer's disease*)

Ala – alanin

Asn – asparagin

Asp – aspartat

BChE – butirilkolinesteraza

CDCl<sub>3</sub> – deuterirani kloroform

δ – kemijski pomak

d – dublet

DCM – diklormetan

DMF – dimetilformamid

DMSO – dimetil-sulfoksid

DTNB – 5,5 -ditiobis-(2-nitrobenzojeva kiselina)

EtOAc – etil-acetat

EtOH – etanol

Gln – glutamin

Glu – glutamat

Gly – glicin

His – histidin

HRMS – spektroskopija masa visoke razlučivosti (engl. *High Resolution Mass Spectrometry*)

IMCR – izocijanidna višekomponentna reakcija (engl. *isocyanide multicomponent reaction*)

IR spektroskopija – infracrvena spektroskopija

IUPAC – Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (engl. *International Union for Pure and Applied Chemistry*)

J – konstanta sprege

Leu – leucin

m – multiplet

MCR – višekomponentna reakcija (engl. *multicomponent reaction*)

MeOH – metanol

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

OAH – oksoanionska šupljina (engl. *oxyanion hole*)

P-3CR – Passerinijeva trokomponentna reakcija (engl. *Passerini three-component reaction*)

P-mjesto – periferno vezno mjesto (engl. *peripheral anionic site*)

q – kvartet

s – singlet

Ser – serin

S<sub>N</sub>2 - bimolekulska nukleofilna supstitucija

t – triplet

THF – tetrahidrofuran

TLC – tankoslojna kromatografija (engl. *thin-layer chromatography*)

TMS – tetrametilsilan

TNB<sup>2-</sup> - 2-nitro-5-merkaptobenzoat

Trp – triptofan

Tyr – tirozin

U-4CR – Ugijeva četiri komponentna reakcija (engl. *Ugi four-component reaction*)

UV lampa – ultraljubičasta lampa

## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. G. M. Kapalka, *Nutritional and herbal therapies for children and adolescents*, Academic Press, London, 2010, str. 71–99.
2. A. Bosak, M. Katalinić, Z. Kovarik, *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **62** (2011) 175–190.
3. T. Guo, D. Zhang, Y. Zeng, T. Y. Huang, H. Xu, Y. Zhao, *Mol. Neurodegener.* **15** (2020) 40.
4. N. Žnidaršič, M. Štrbenc, N. Grgurevič, T. Snoj, *Front. Vet. Sci.* **10** (2023) 1125618
5. M. Katalinić, N. Maček Hrvat, K. Baumann, S. Morasi Piperčić, S. Makarić, S. Tomić, O. Jović, T. Hrenar, A. Miličević, D. Jelić, S. Žunec, I. Primožič, Z. Kovarik, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **310** (2016) 195–204.
6. H. V. Tolomeu, C. A. M. Fraga, *Molecules* **28** (2023) 838.
7. J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, Wiley, West Sussex, 2010, str. 461–483.
8. V. J. Ram, A. Sethi, M. Nath, R. Pratap, *The Chemistry of Heterocycles Nomenclature and Chemistry of Three to Five Membered Heterocycles*, Elsevier, London, 2019, str. 149–478.
9. A. Siwach, P. K. Verma, *BMC Chem.* **15** (2021) 12.
10. K. Shalini, P. K. Sharma, N. Kumar, *Chem. Sin.* **1** (2010) 36–47.
11. M. R. Grimmett, u A. R. Katritzky, C. W. Rees, E. F. V. Scriven (ur.), *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Vol. 5, Pergamon Press, New York, 1984, str. 106.
12. A. R. Katritzky, J. N. Lam, S. Sengupta, G. W. Rewcastle, u H. Suschitzky, E. F. V. Scriven (ur.), *Progress in Heterocyclic Chemistry*, Vol. 1, Pergamon Press, Oxford, 1989, str. 1–29.
13. O. Meth-Cohn, S. P. Stanforth, u C. H. Heathcock, *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 2, Pergamon Press, Oxford, 1991, str. 777–794.
14. A. Porcheddu, G. Giacomelli, u Z. Rappoport, J. F. Liebman (ur.), *The Chemistry of Hydroxylamines, Oximes and Hydroxamic Acids*, Vol. 1, Wiley Interscience, West Sussex, 2009, str. 163.
15. T. Divjak, *Dizajn i priprava imidazolnih, pirazolnih i 5-metilsatinskih reaktivatora acetilkolinesteraze*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2023, str. 10–19.

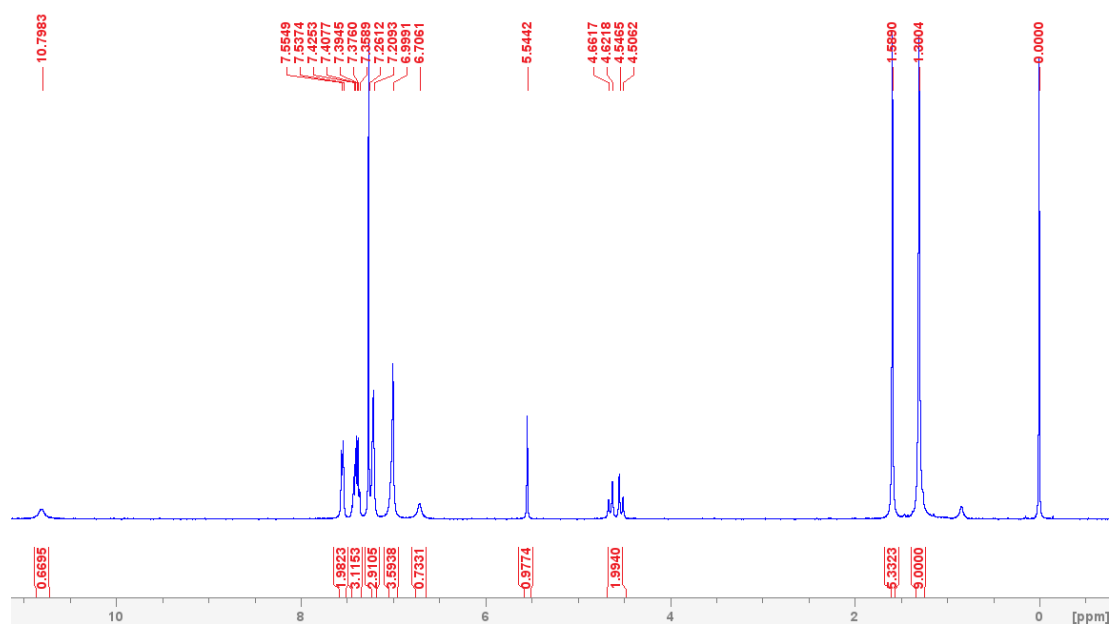
16. C. B. Aakeröy, A. S. Sinha, K. N. Epa, P. D. Chopade, M. M. Smith, J. Desper, *Cryst. Growth Des.* **13** (2013) 2687–2695.
17. R. Odžak, M. Skočibušić, A. Maravić, *Bioorg. Med. Chem.* **21** (2013) 7499–7506.
18. S. Giri, R. Inostroza-Rivera, B. Herrera, A. S. Núñez, F. Lund, A. Toro-Labbé, *J. Mol. Model.* **20** (2014) 2353.
19. L. Banfi, A. Basso, G. Guanti, R. Riva, u J. Zhu, H. Bienayme (ur.), *Multicomponent Reactions*, Vol. 1, Wiley-VCH, Weinheim, 2005, str. 5.
20. M. A. Fouad, H. Abdel-Hamid, M. S. Ayoup, *RSC Adv.* **10** (2020) 42644–42681.
21. R. O. Rocha, M. O. Rodrigues, B. A. D. Neto, *ACS Omega* **7** (2020) 972–979.
22. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/21362409> (datum pristupa 20. svibnja 2024.)
23. <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/P81908> (datum pristupa: 20. svibnja 2024.)
24. N. Maček Hrvat, *Kolinesteraze i oksimi kao pseudokatalitička čistila živčanih bojnih otrova*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2015, str. 11–14.
25. L. Fang, Y. Pan, J. L. Muzyka, C.-G. Zhan, *J. Phys. Chem. B.* **115** (2011) 8797–8805.
26. Y. Y. Yücel, Ö. Tacal, I. Özer, *Arch. Biochem. Biophys.* **478** (2008) 201–205.
27. Y. Nicolet, O. Lockridge, P. Masson, J. C. Fontecellia-Camps, F. Nachon, *J. Biol. Chem.* **278** (2003) 41141–41147.
28. P. Taylor, Z. Radić, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **34** (1994) 281–320.
29. *Acetylcholinesterases, 2007.*, *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, Elsevier, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780080552323605392> (datum pristupa 20. svibnja 2024.)
30. Z. Kovarik, M. Katalinić, A. Bosak, G. Šinko, *Curr. Bioact. Compd.* **6** (2010) 9–15.
31. G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **7** (1961) 88–95.
32. J. Zeman, D. Vetchý, A. Franc, S. Pavloková, V. Pitschmann, L. Matějovský, *Eur. J. Pharm. Sci.* **109** (2017) 548–555.
33. A. Komersová, K. Komers, A. Čegan, *Z. Naturforsch., C: J. Biosci.* **62** (2007) 150–154.
34. A. I. Vogel, *Practical organic chemistry*, Longman Scientific & Technical, New York, 1989, str. 407–410.
35. N. Ortega-Villar, V. M. Ugalde-Saldívar, B. Flores-Pérez, M. Flores-Alamo, J. A. Real, R. Moreno-Esparza, *Inorg. Chim. Acta.* **375** (2011) 213–219.



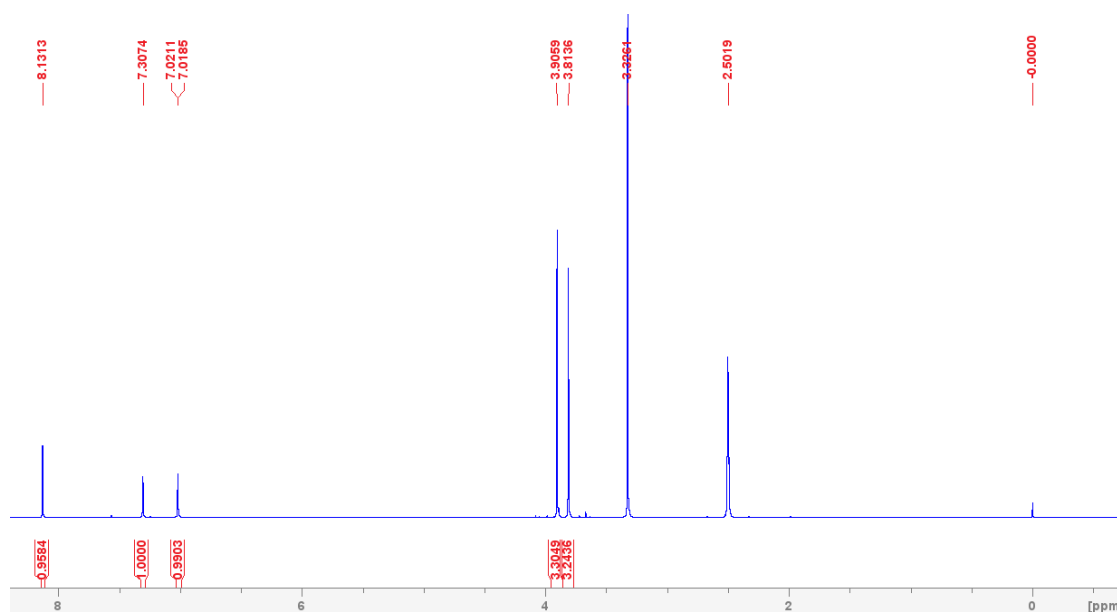
36. K. Locock, H. Tran, R. Codd, R. Allan, *J. Chem. Educ.* **92** (2015) 1745–1750.
37. N. A. Novales, J. P. Schwans, *Anal. Biochem.* **654** (2022) 114796
38. Z. Spahić, *Novi pristup sintezi bioaktivnih spojeva kinuklidina i imidazola*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2022, str. 69.
39. N. Ferri, S. Cazzaniga, L. Mazzarella, G. Curigliano, G. Lucchini, D. Zerla, R. Gandolfi, G. Facchetti, M. Pellizzoni, I. Rimoldi, *Bioorg. Med. Chem.* **21** (2013) 2379–2386.
40. J. M. L. Martínez, P. N. Romasanta, A. K. Chattah, G. Y. Buldain, *J. Org. Chem.* **75** (2010) 3208–3213.
41. E. Pertsch, T. Clerc, J. Seibl, W. Simon, *Tablice za određivanje strukture organskih spojeva spektroskopskim metodama*, SKTH Kemija u industriji, Zagreb, 1982, str. 355.
42. Z. Li, L. Legras, A. Kumar, D. D. Vachhani, S. K. Sharma, V. S. Parmar, E. V. V. der Eycken, *Tetrahedron Lett.* **55** (2014) 2070–2074.
43. M. C. de Koning, M. J. A. Joosen, F. Worek, F. Nachon, M. van Grol, S. D. Klaassen, D. P. W. Alkema, T. Wille, H. M. de Bruijn, *J. Med. Chem.* **60** (2017) 9376–9392.

## § 8. DODATAK

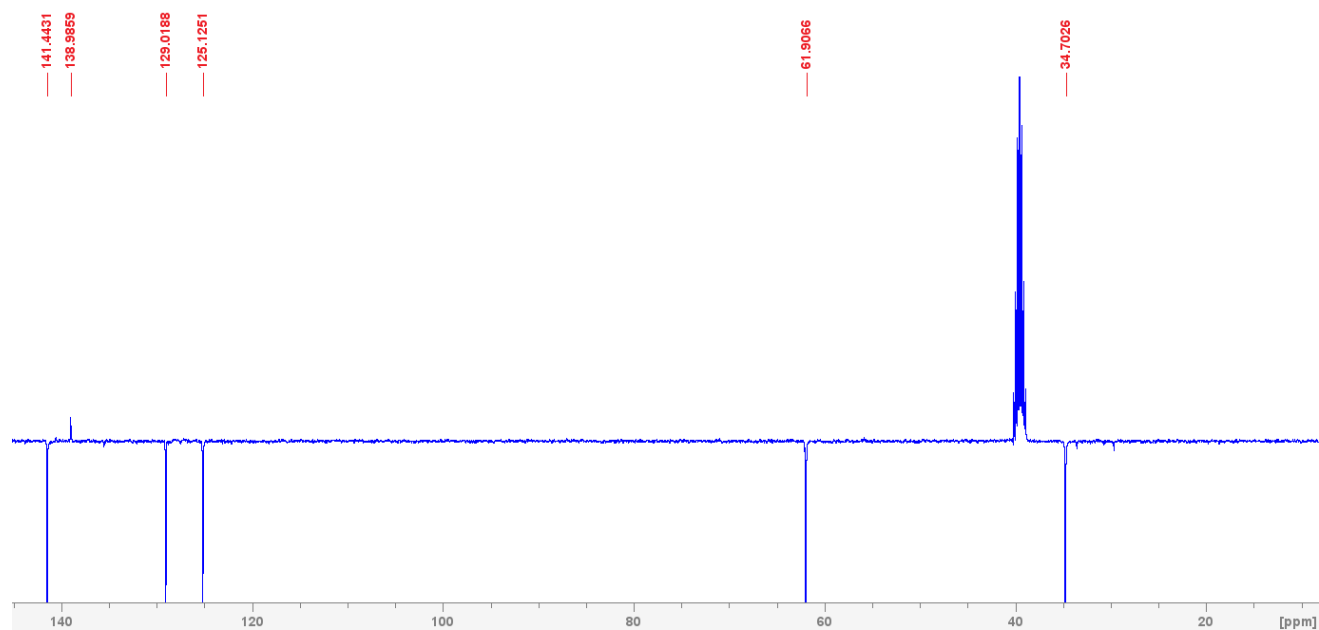
### 8.1. NMR spektri



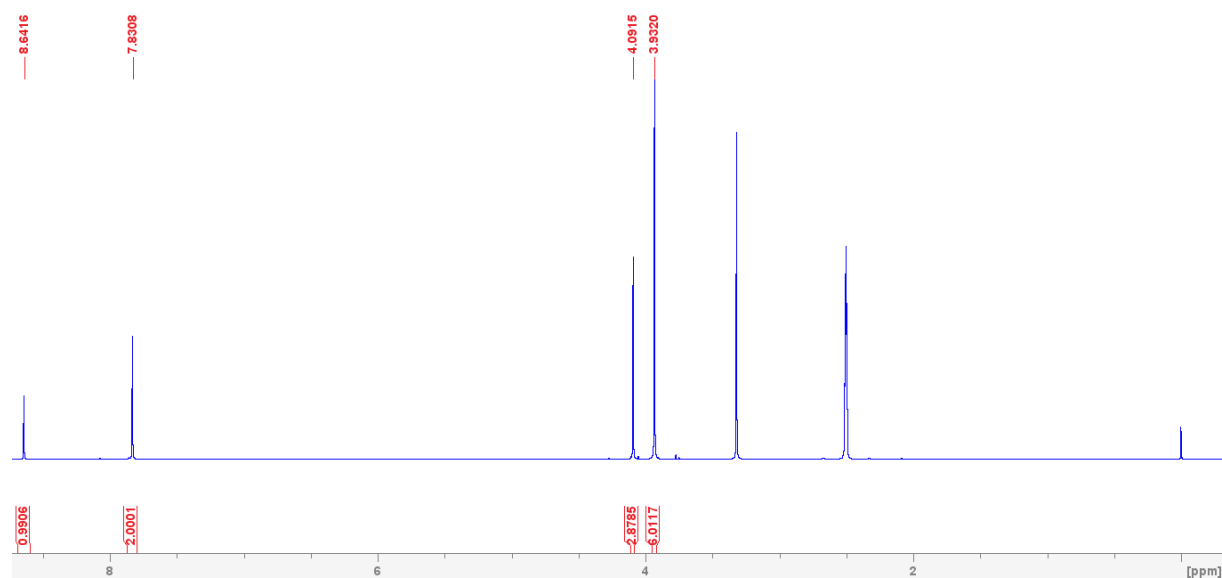
Slika D1.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar sirovog *N*-metilimidazol-2-karbaldehida (**1**).



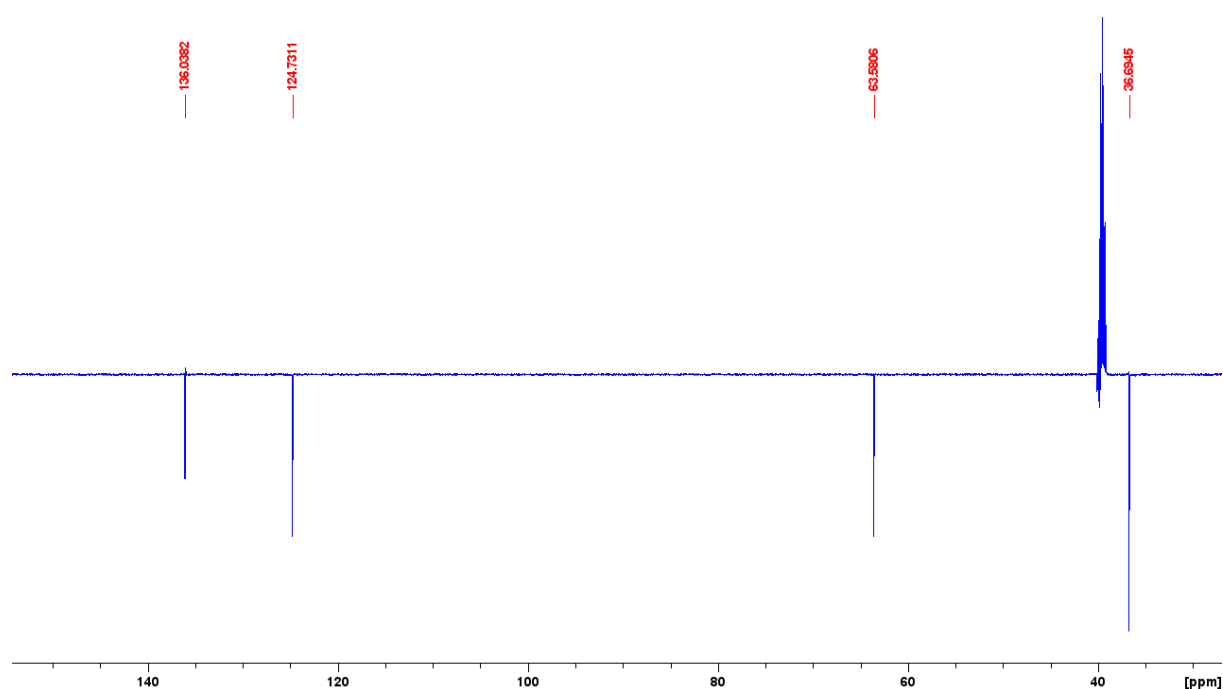
Slika D2.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksimo-*O*-metil etera (**2**).



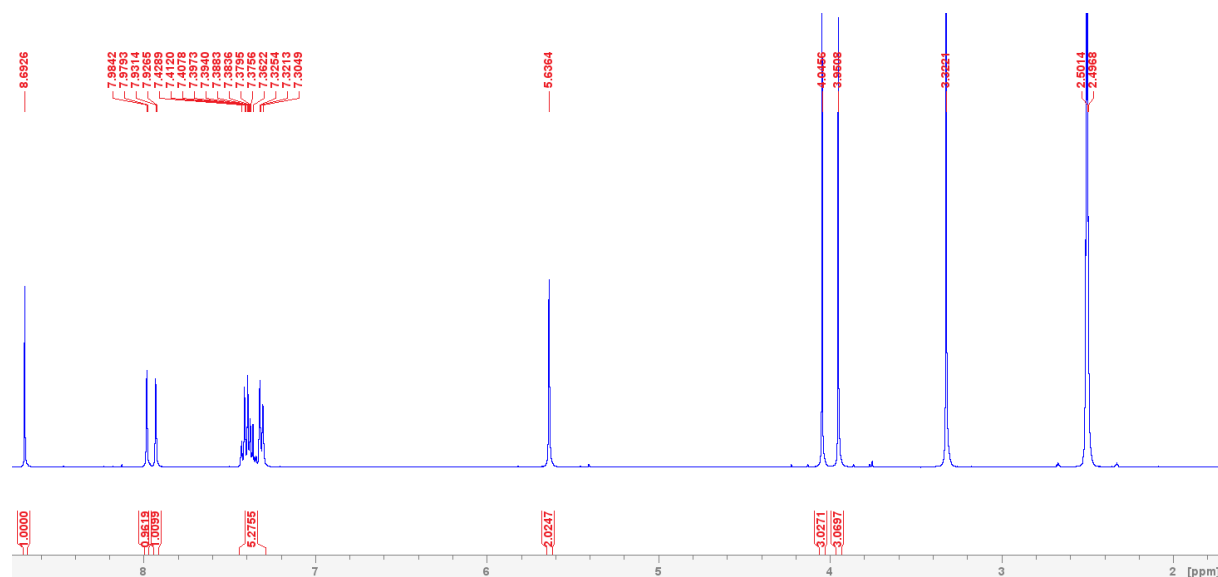
Slika D3.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar *N*-metilimidazol-2-karbalhid-oksimo-*O*-metil etera (**2**).



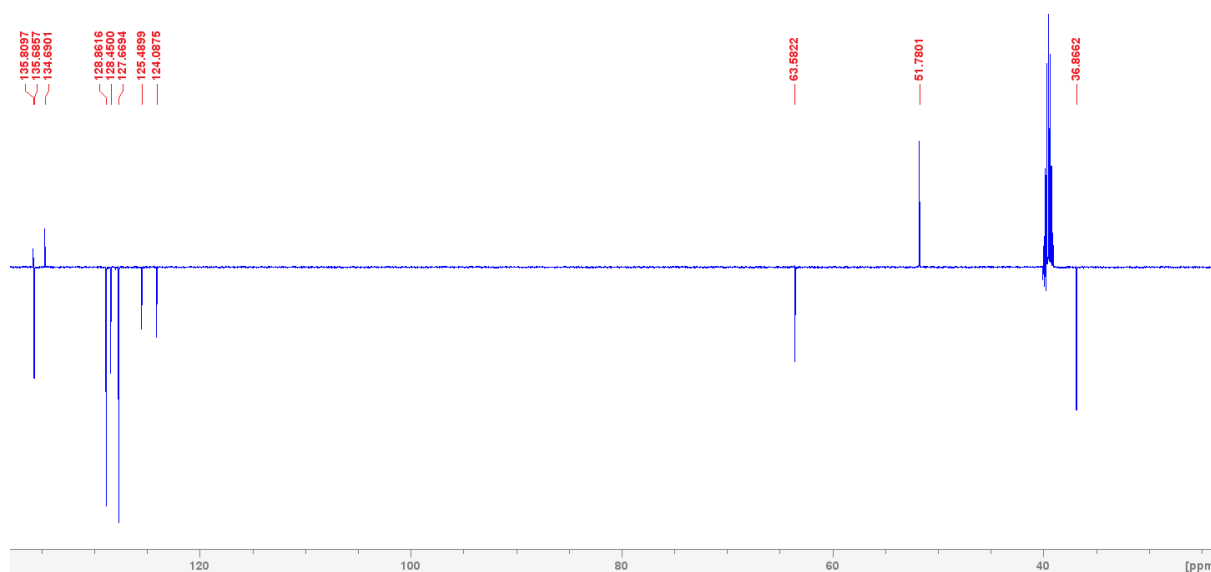
Slika D4.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijeva jodida (**3**).



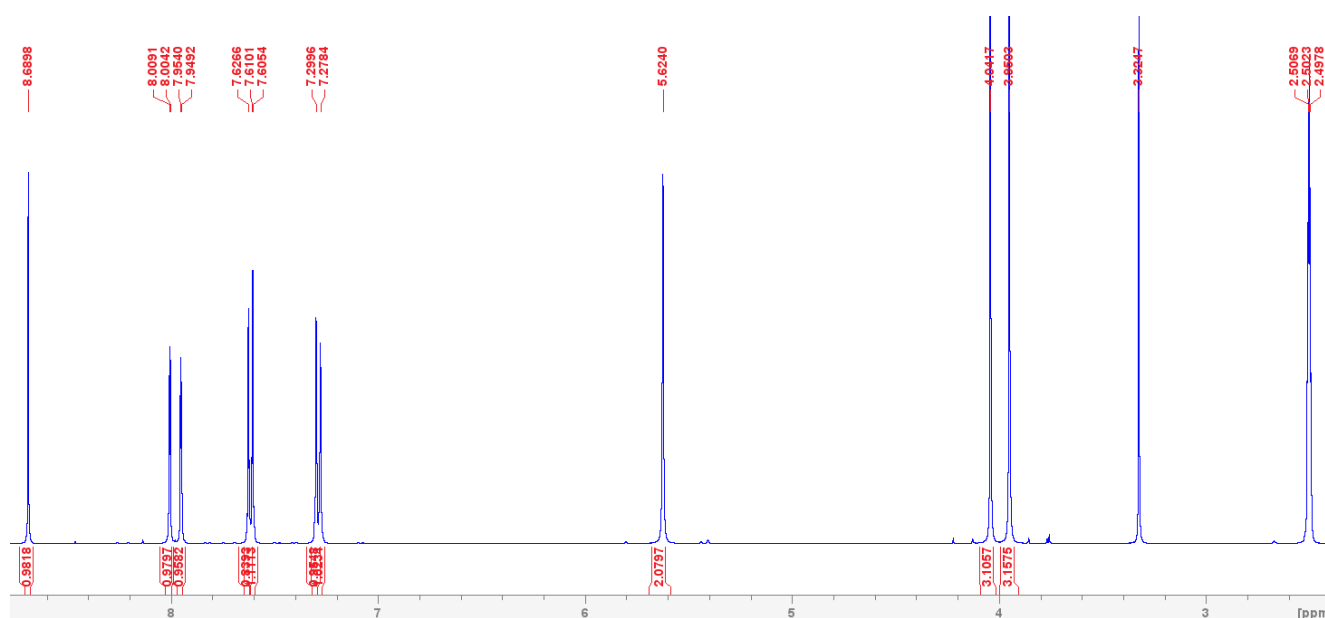
Slika D5.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijeva jodida (**3**).



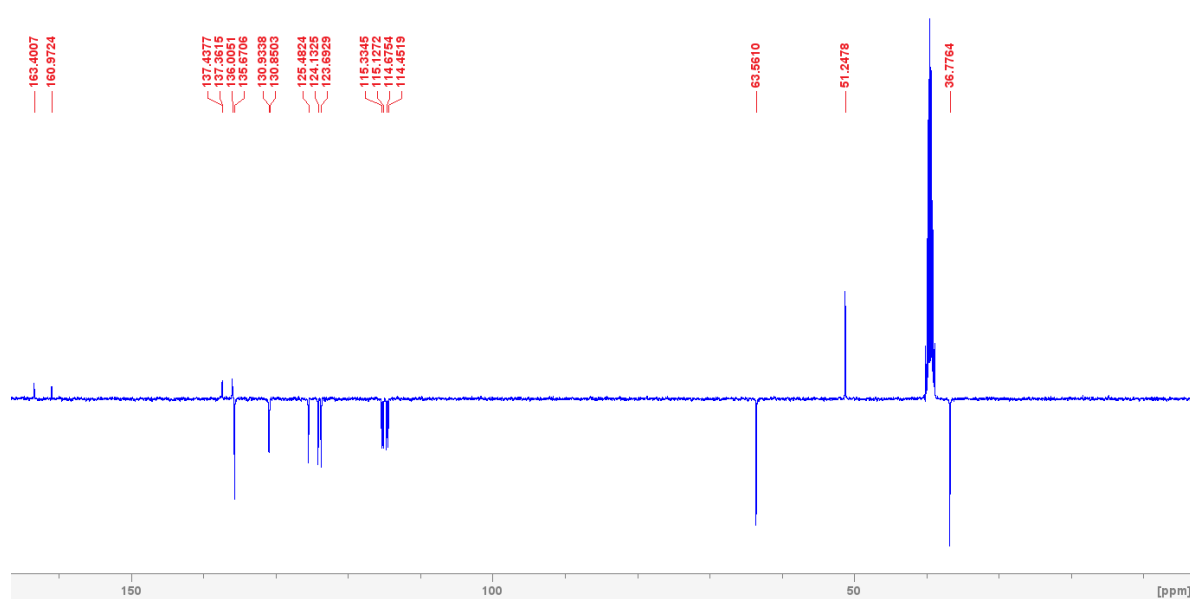
Slika D6.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**4**).



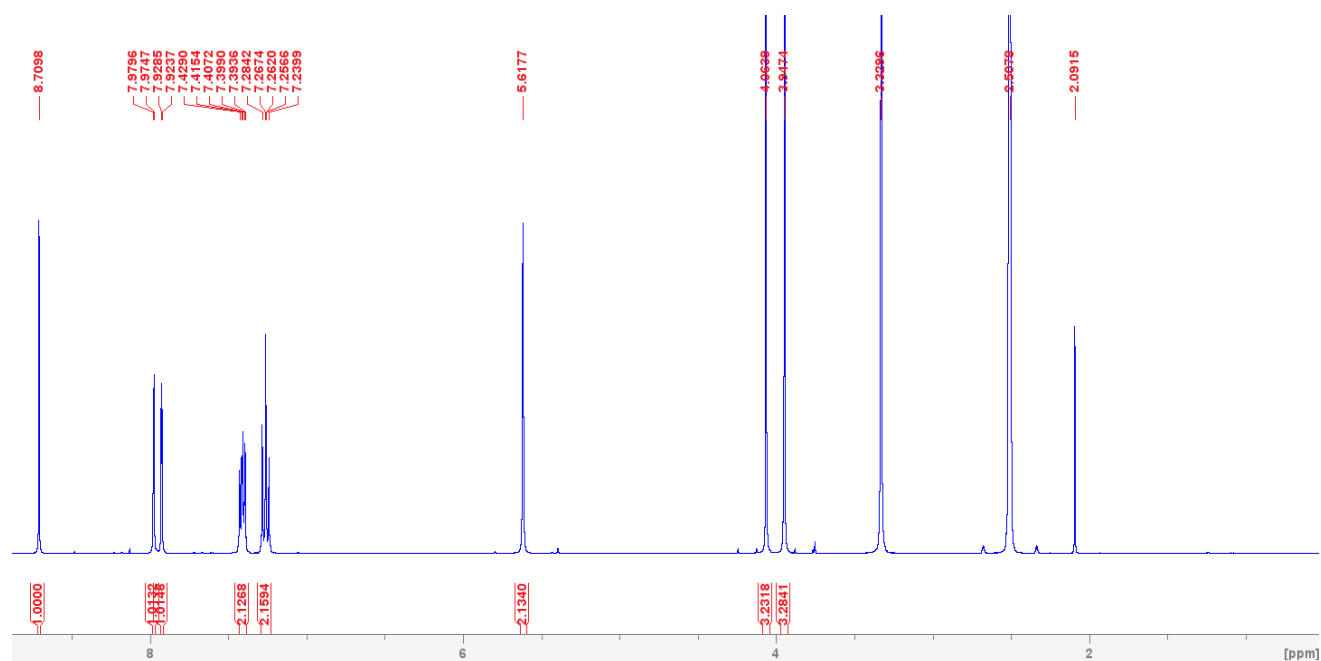
Slika D7.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida (**4**).



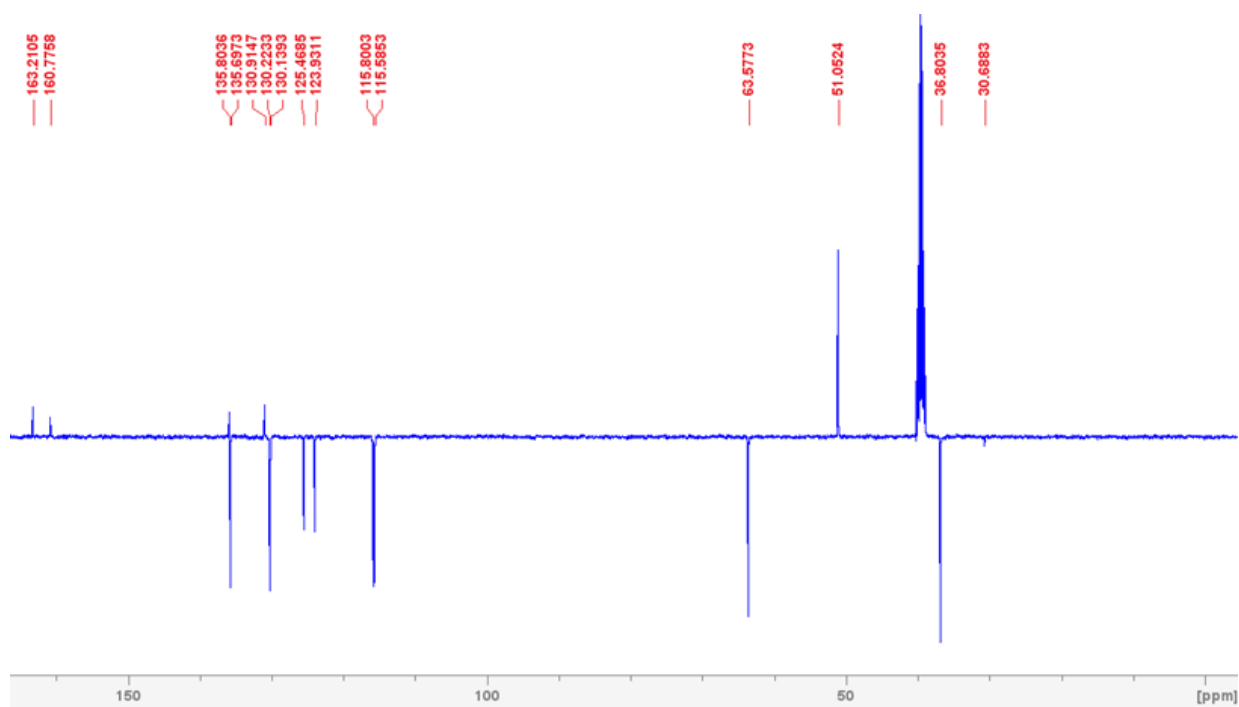
Slika D8.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida (**5**).



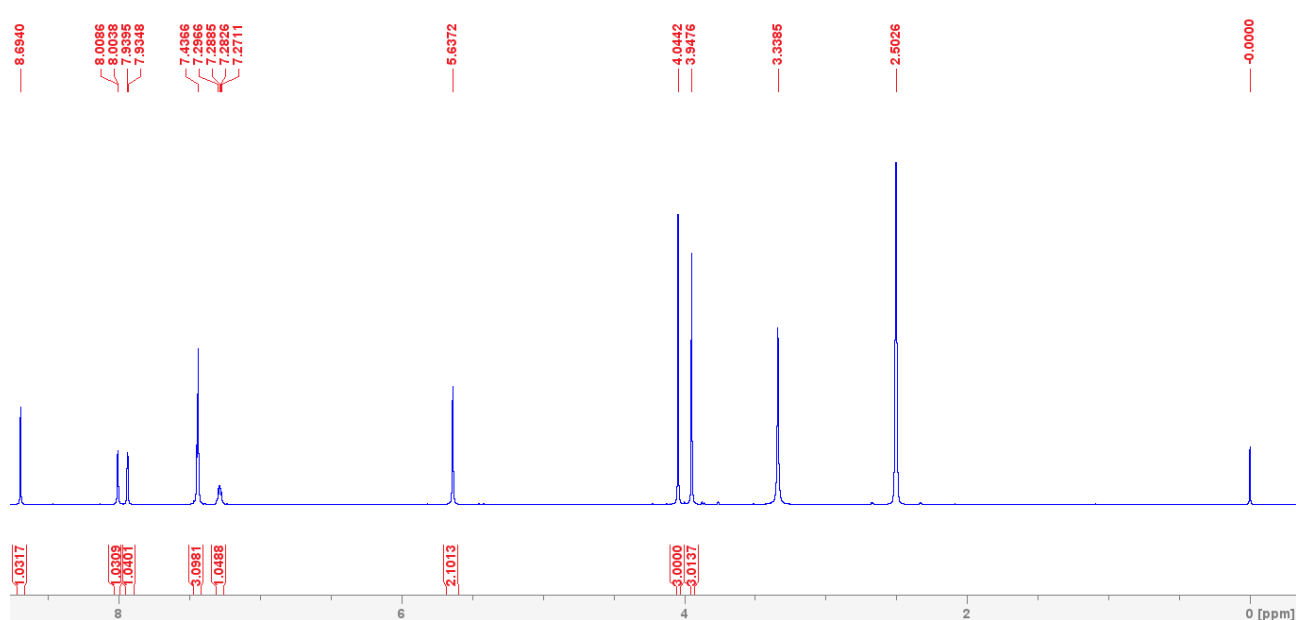
Slika D9. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (5).



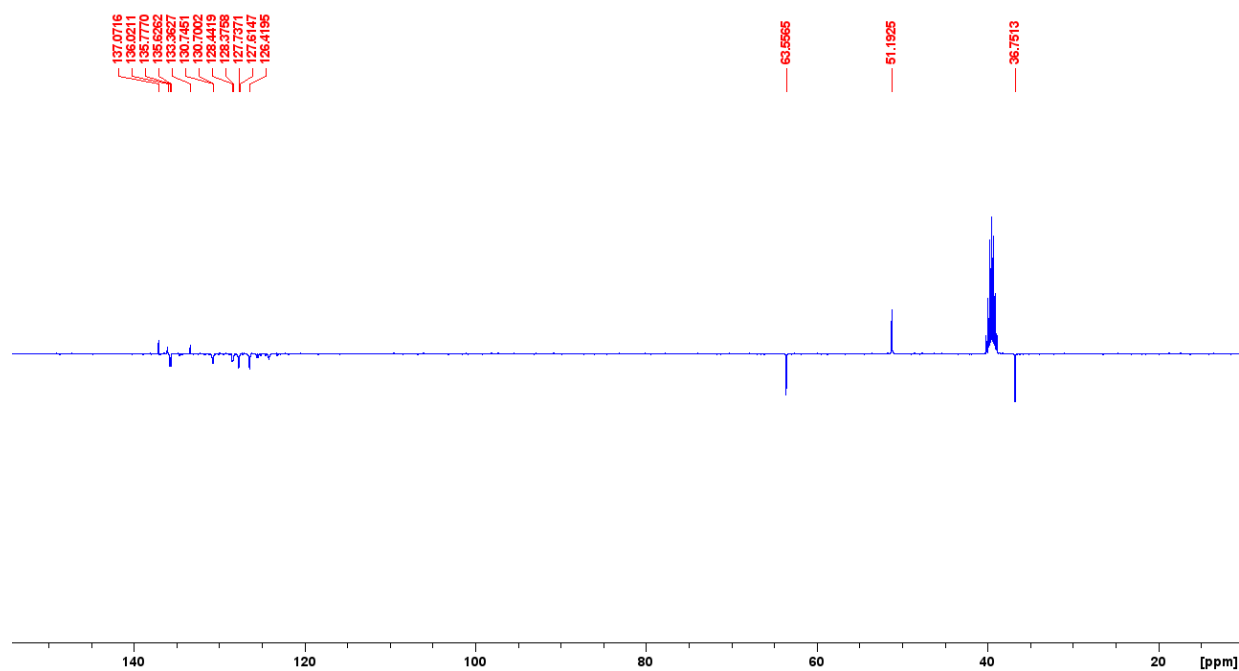
Slika D10. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (6).



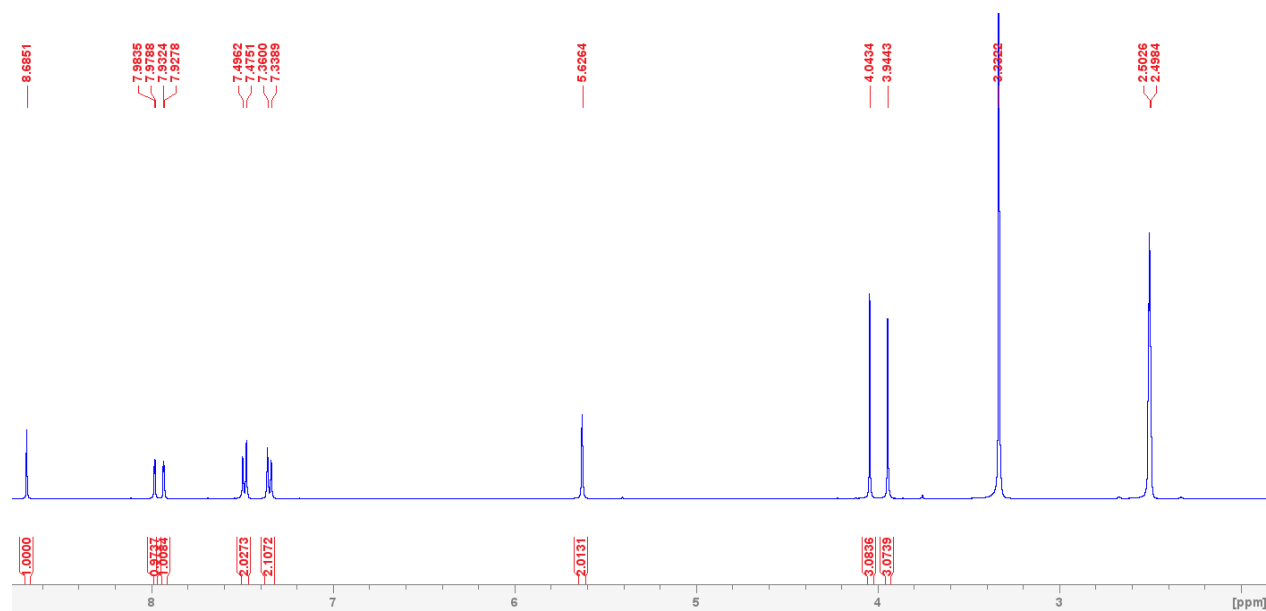
Slika D11. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (6).



Slika D12. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (7).

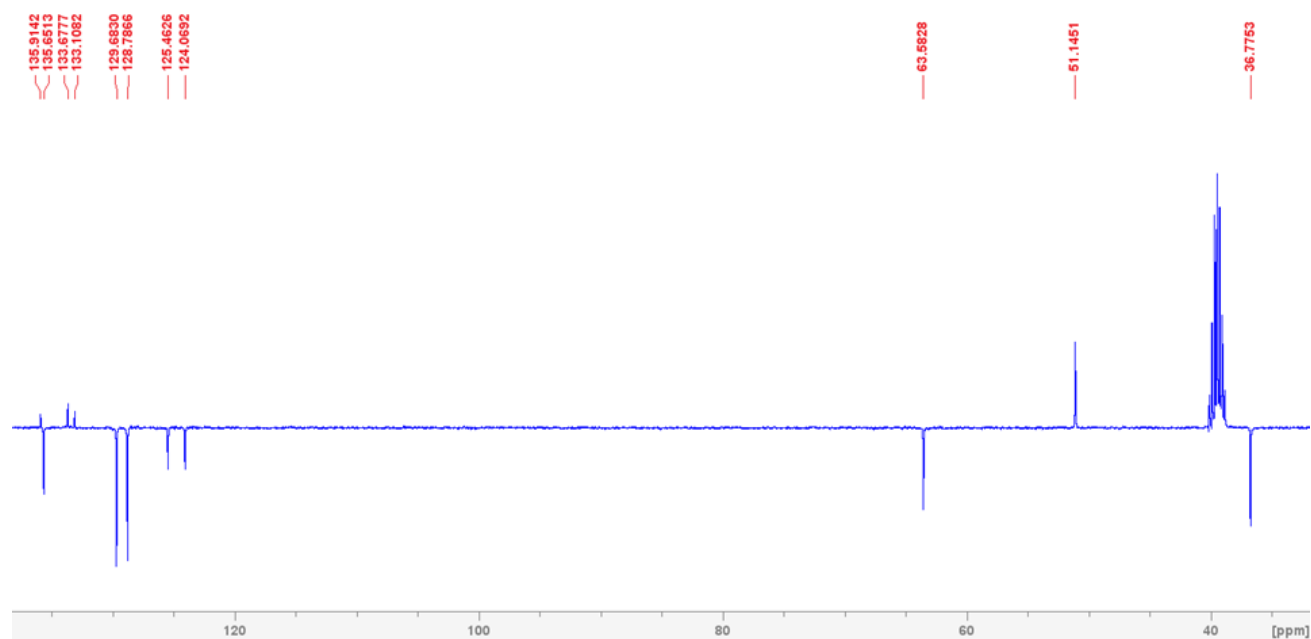


Slika D13. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida (7).

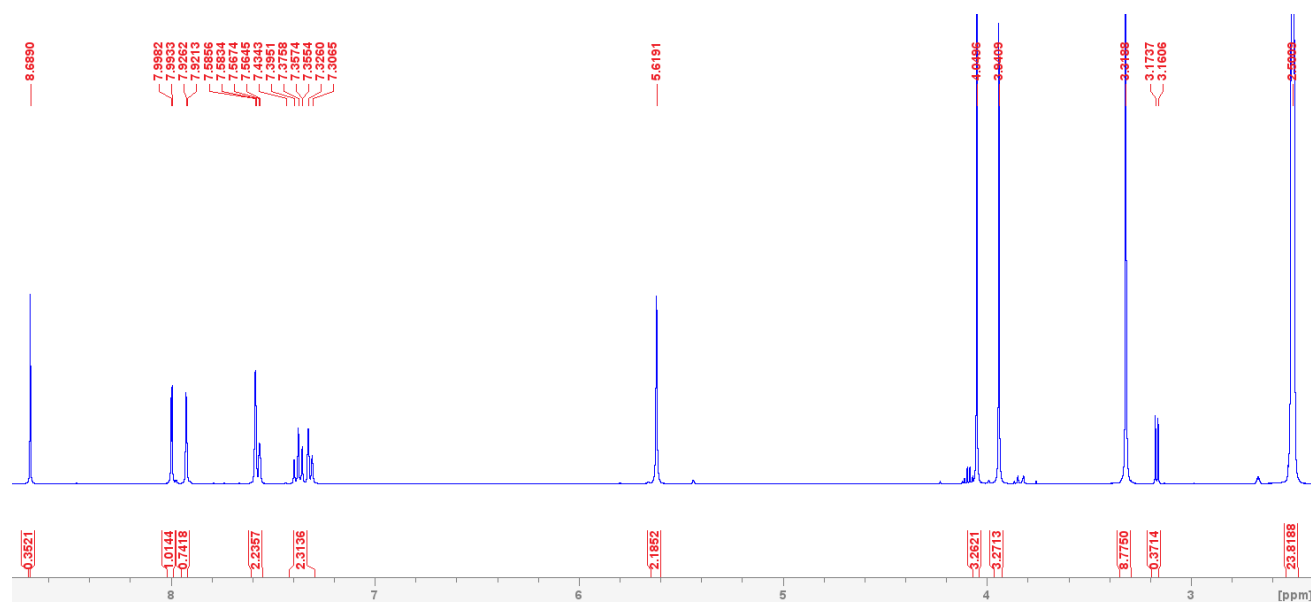


Slika D14. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(4-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida (8).

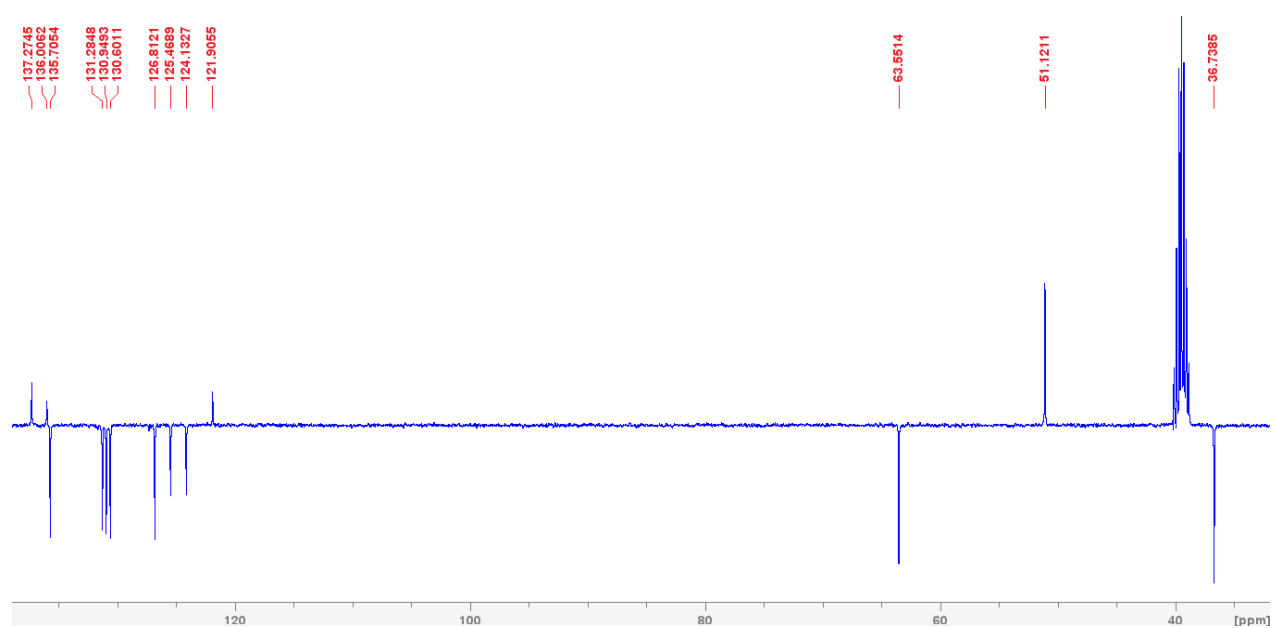




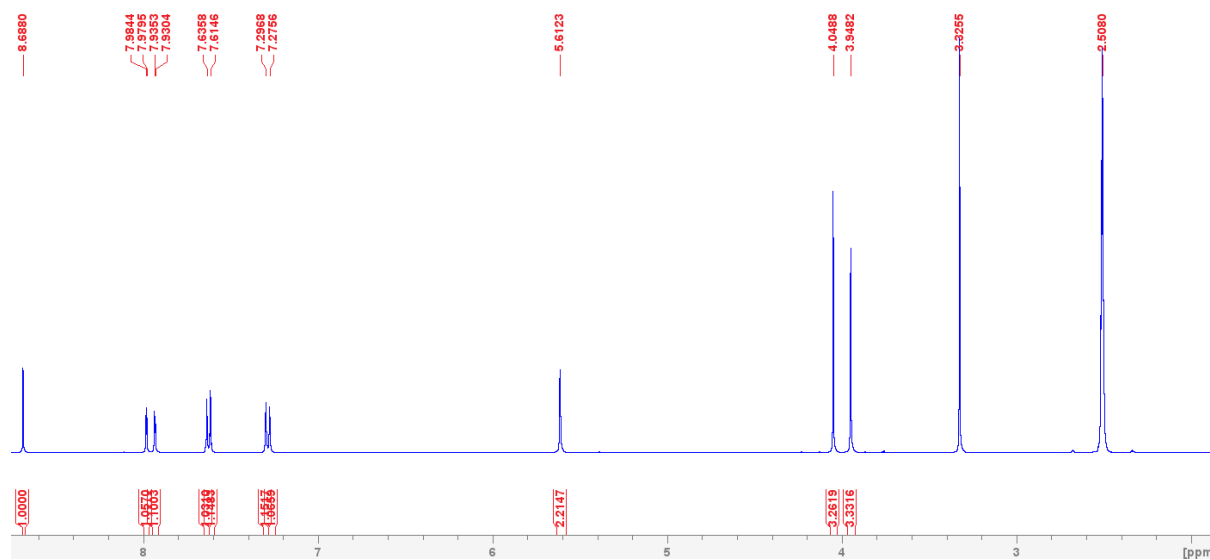
Slika D15.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 3-(4-klorbenzil)-2-  
[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida (**8**).



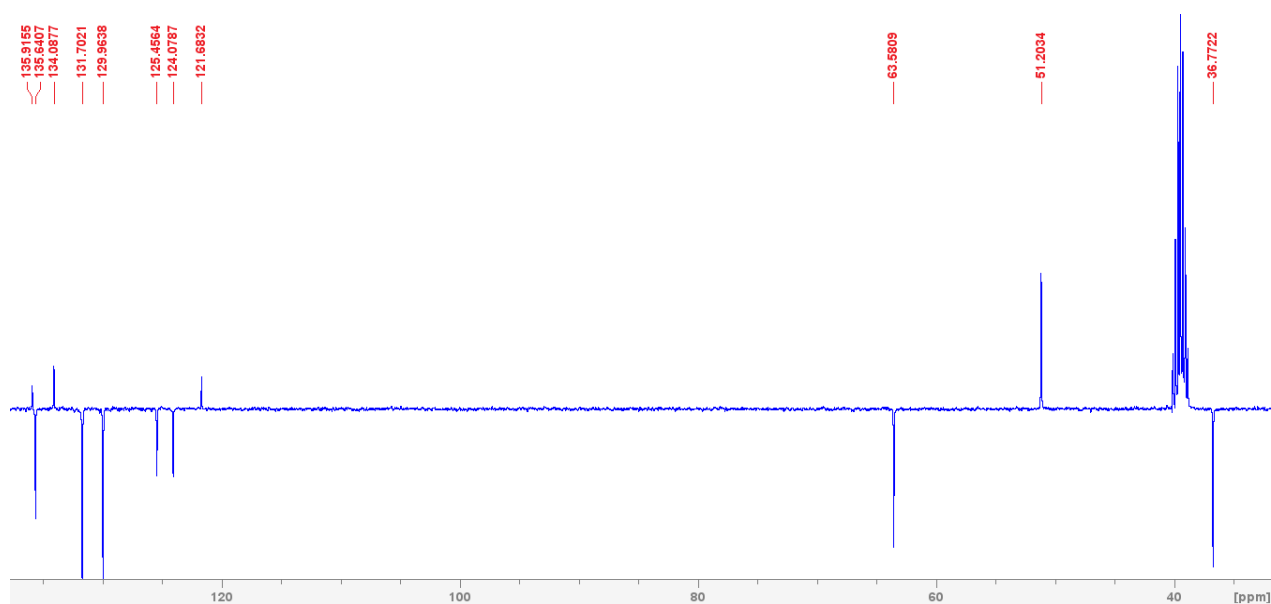
Slika D16.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 3-(3-brombenzil)-2-  
[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida (**9**).



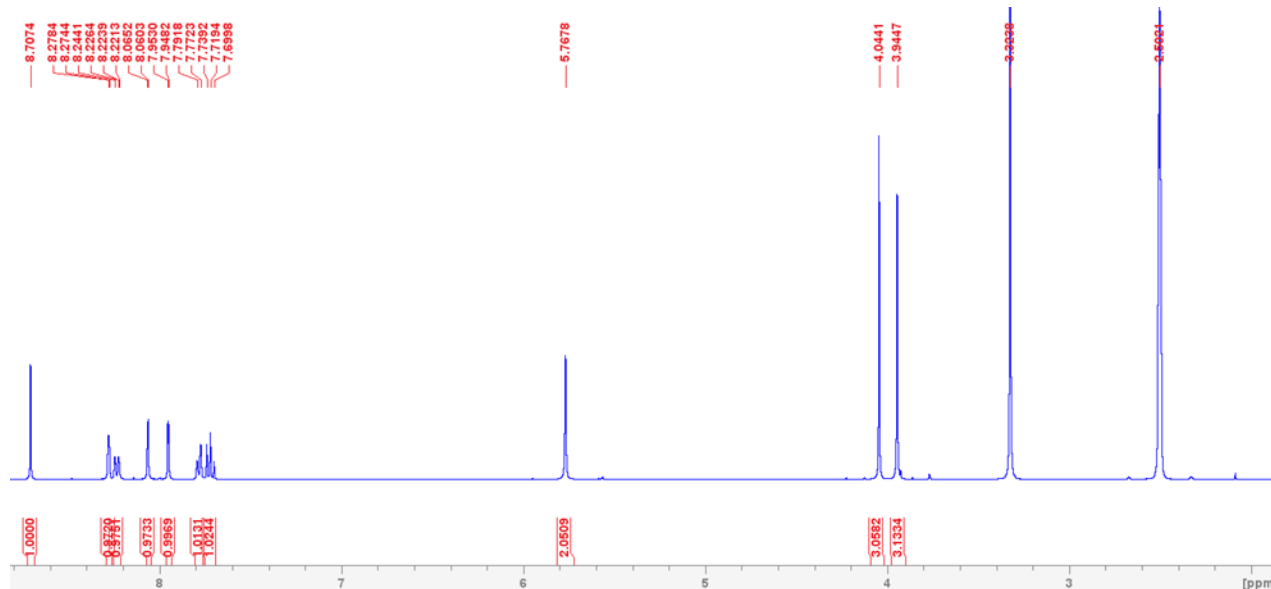
Slika D17. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(3-brombenzil)-2-((metoksiimino)metil)-1-metilimidazolijeva bromida (**9**).



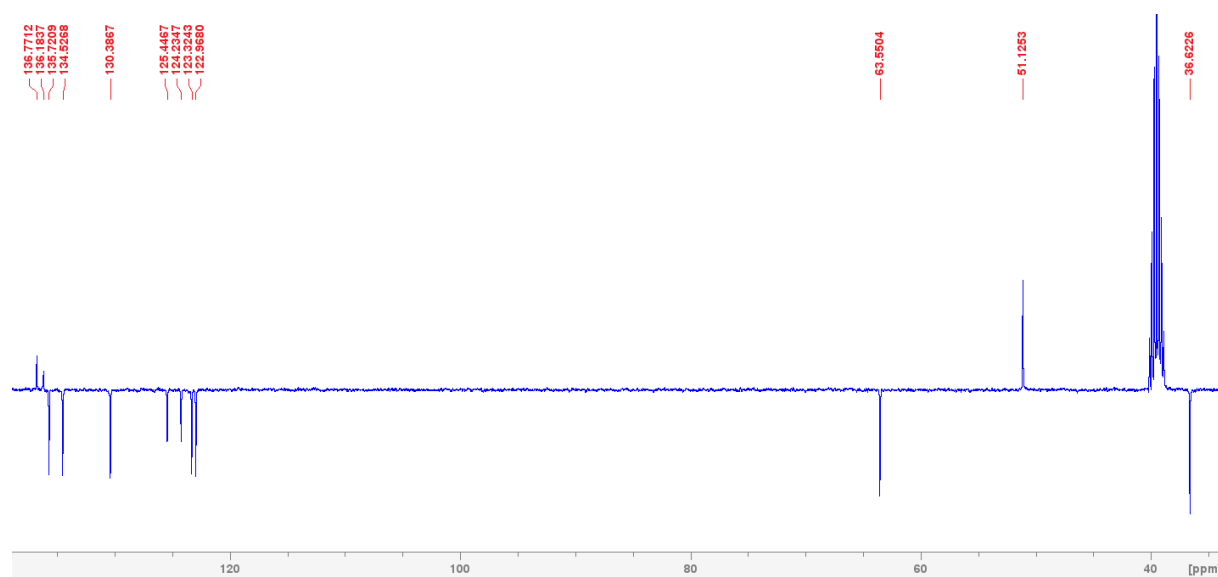
Slika D18. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 3-(4-brombenzil)-2-((metoksiimino)metil)-1-metilimidazolijeva bromida (**10**).



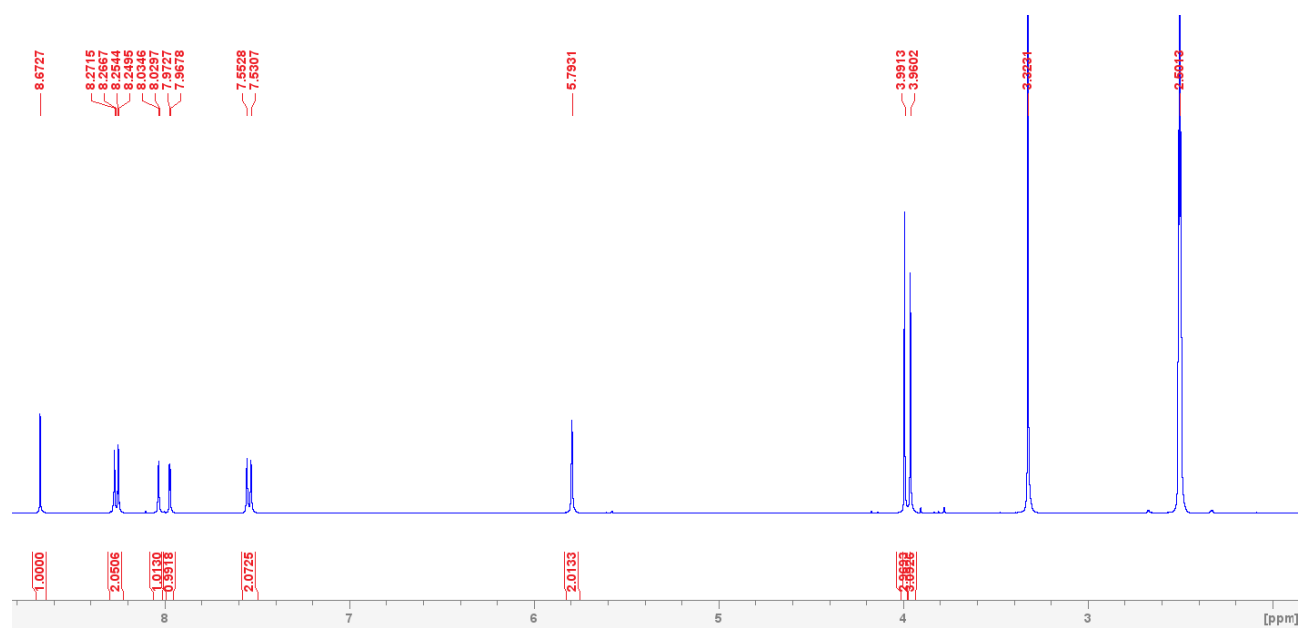
Slika D19.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 3-(4-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**10**).



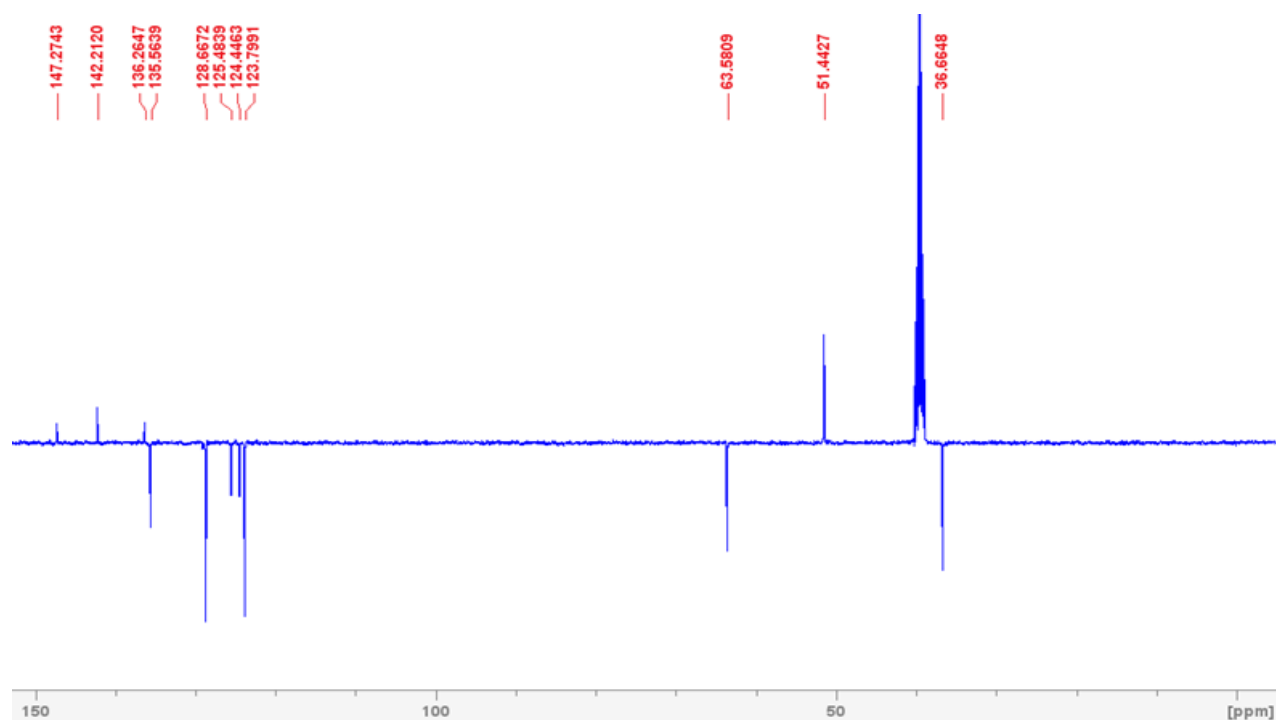
Slika D20.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**11**).



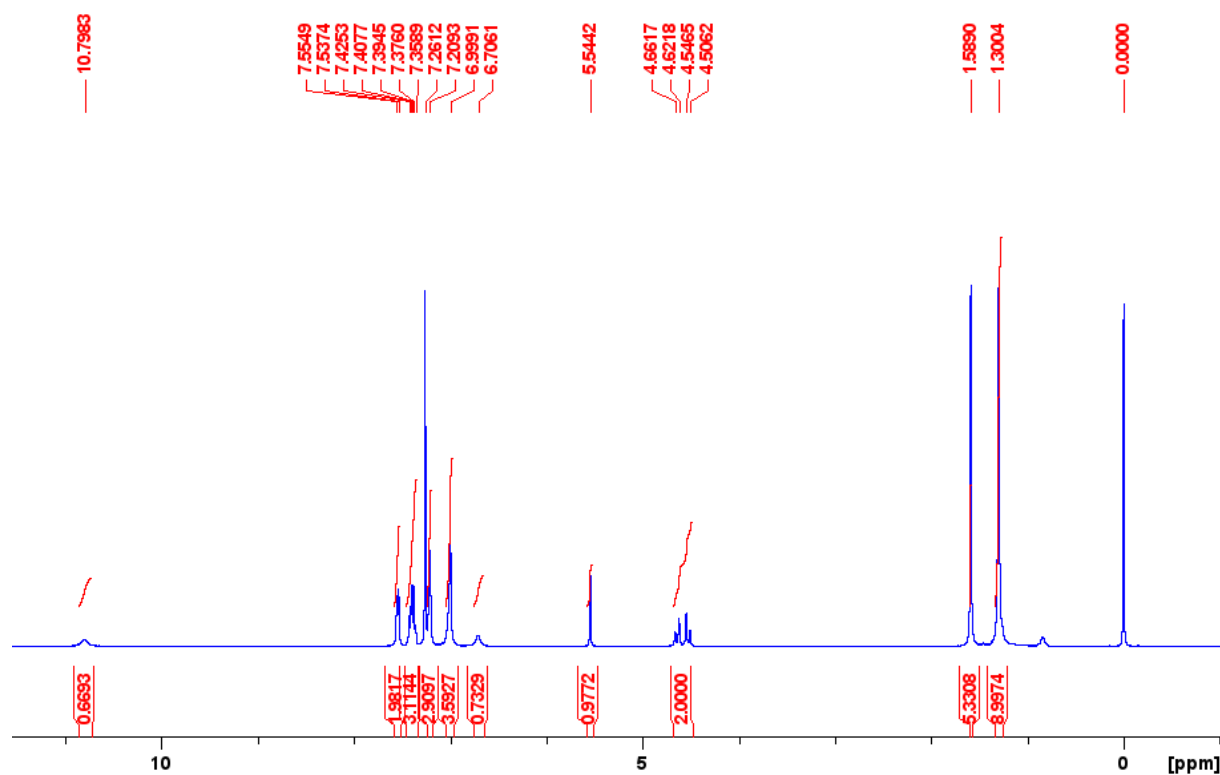
Slika D21. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**11**).



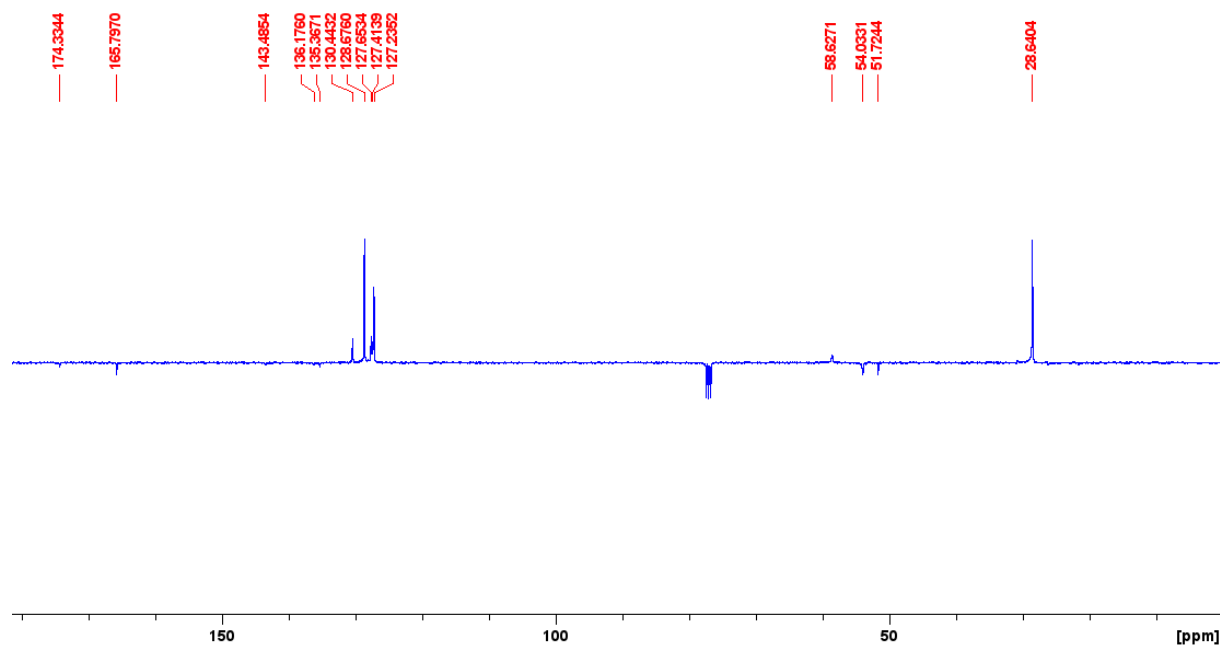
Slika D22. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**12**).



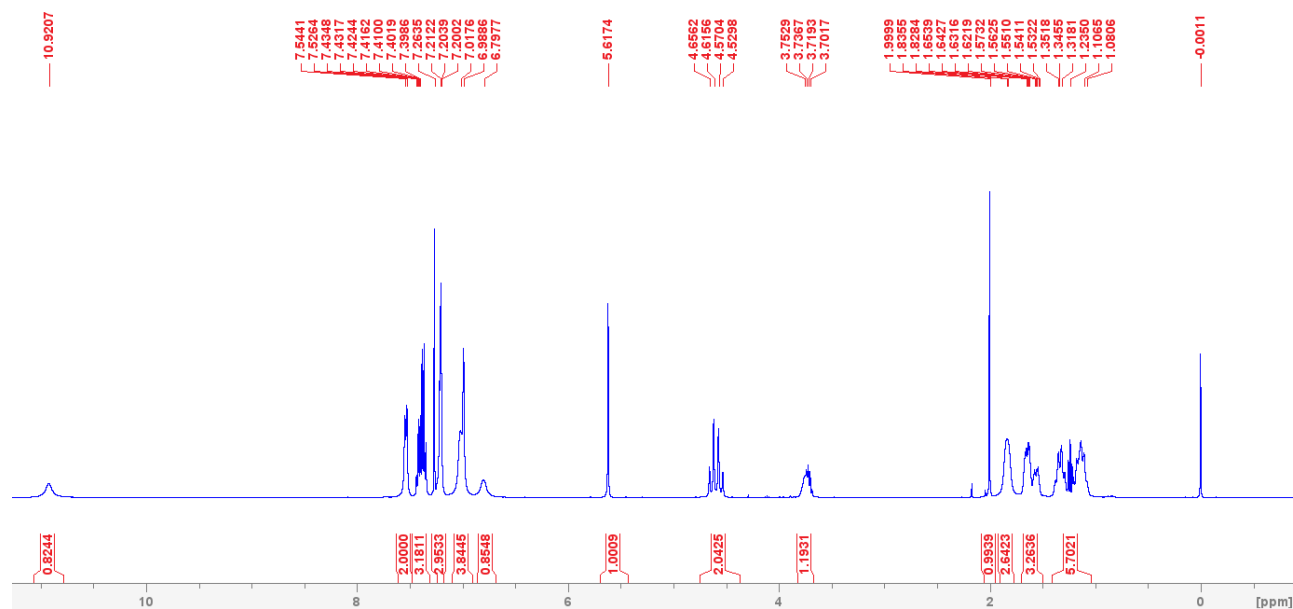
Slika D23. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**12**).



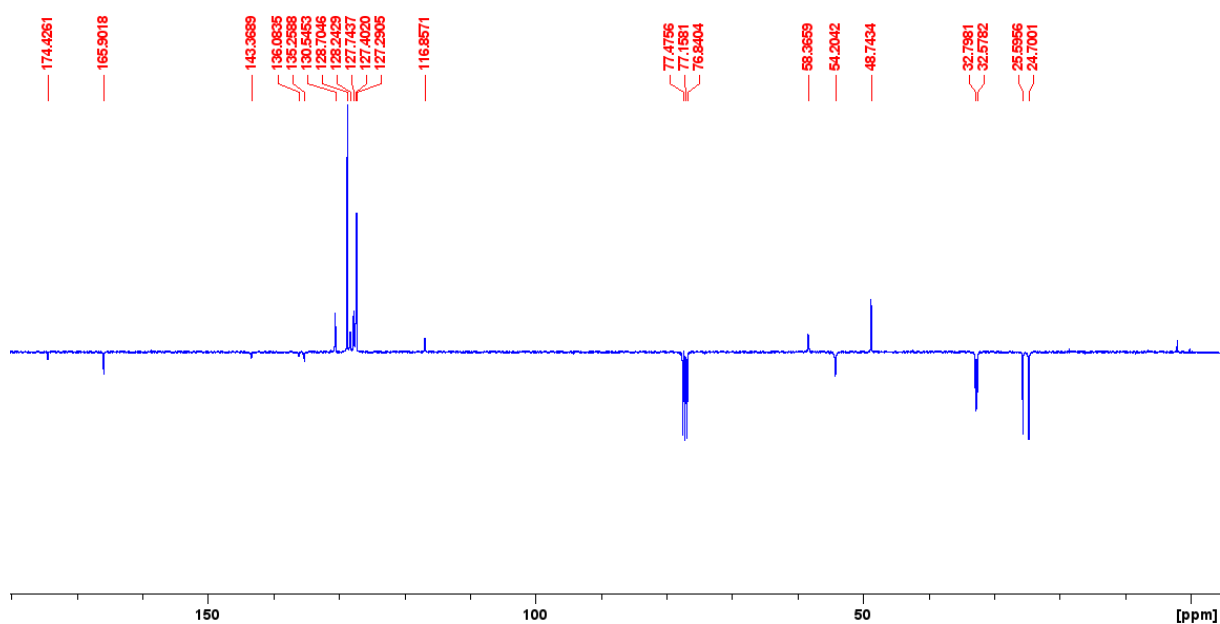
Slika D24. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(tert-butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil] (**13**).



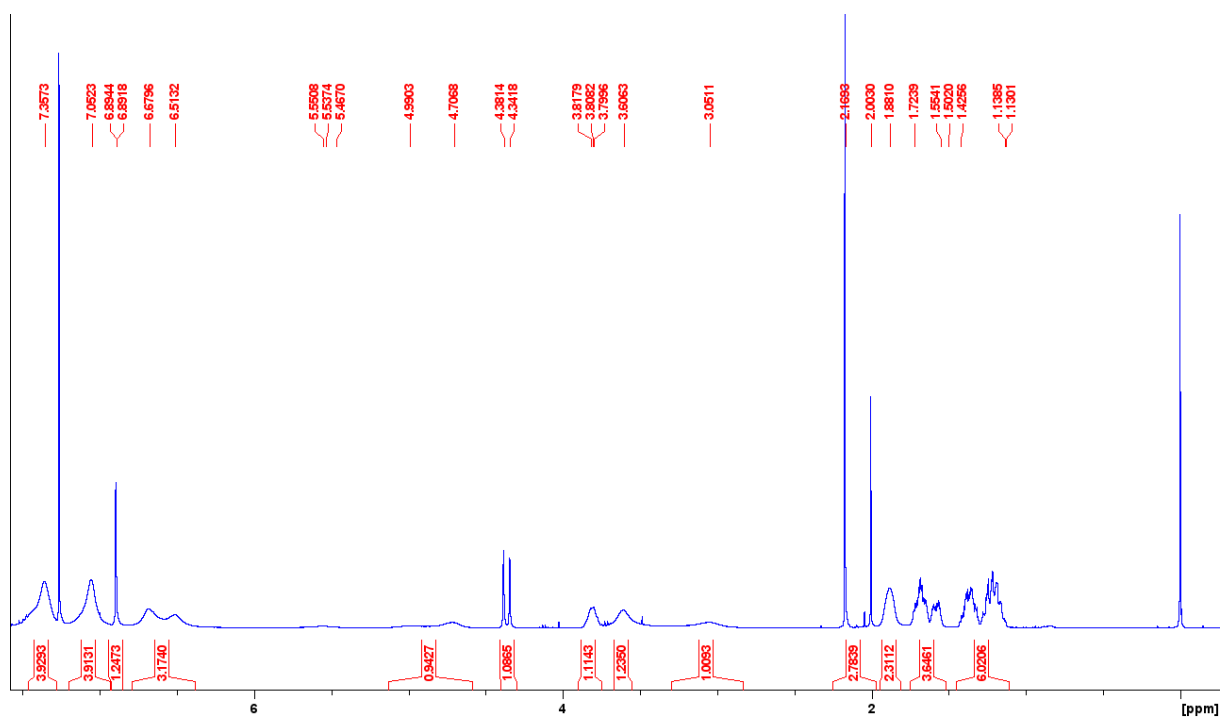
Slika D25. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil] (**13**).



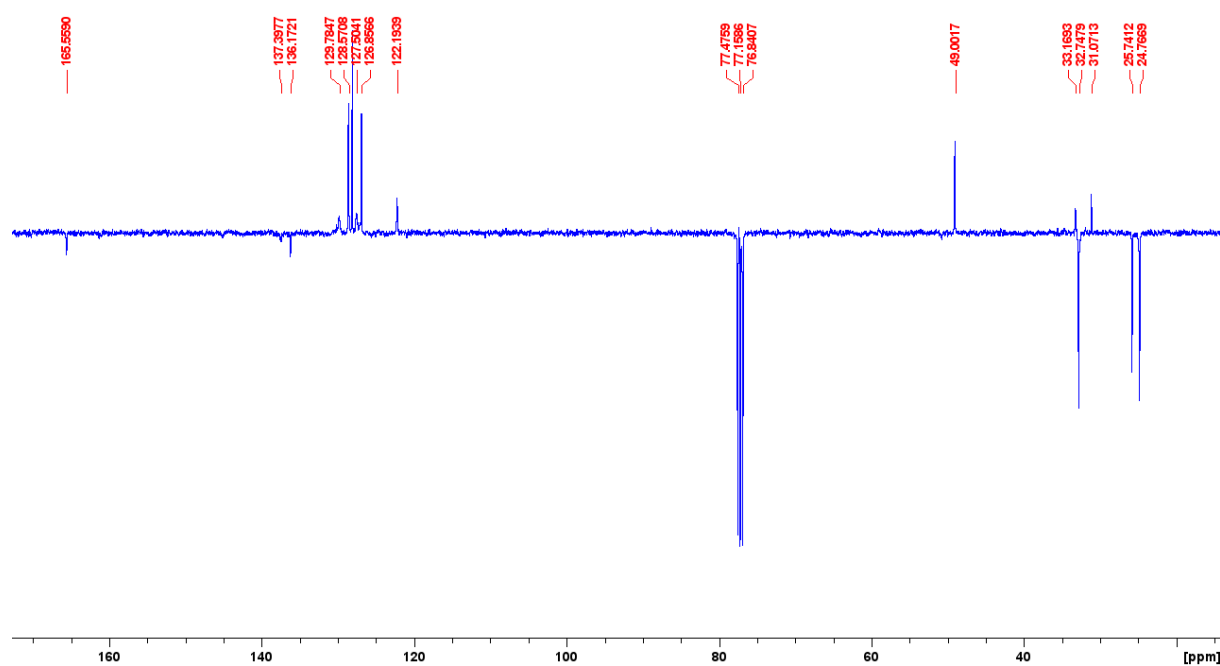
Slika D26. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**14**).



Slika D27. <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**14**).

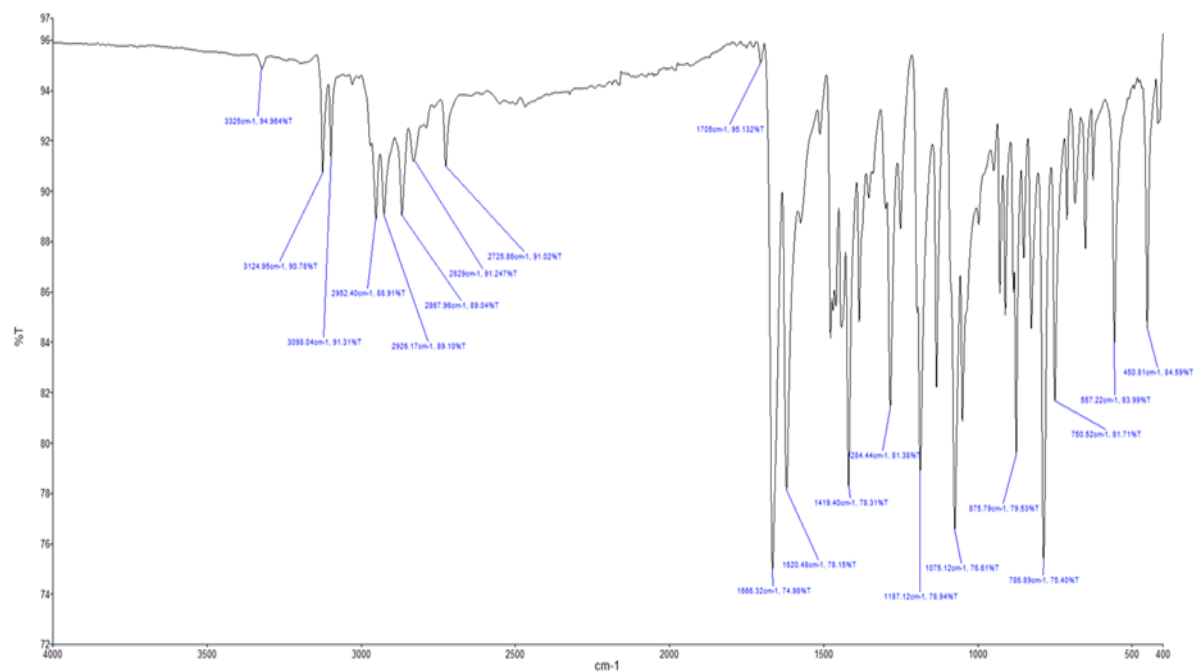


Slika D28. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(*N*-metilimidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**15**).



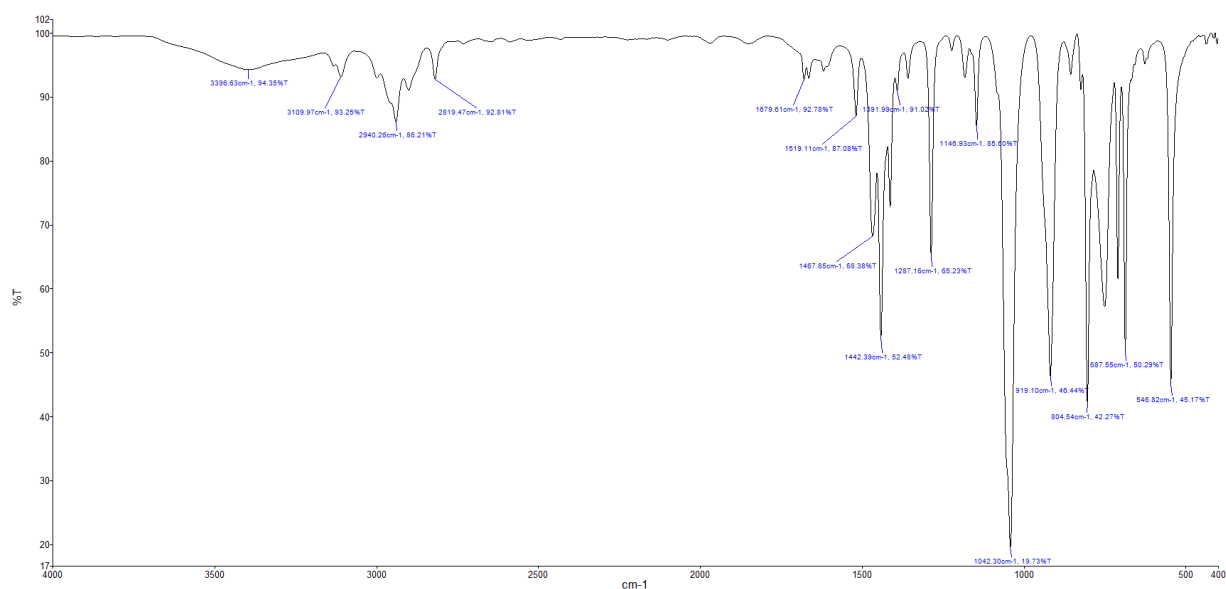
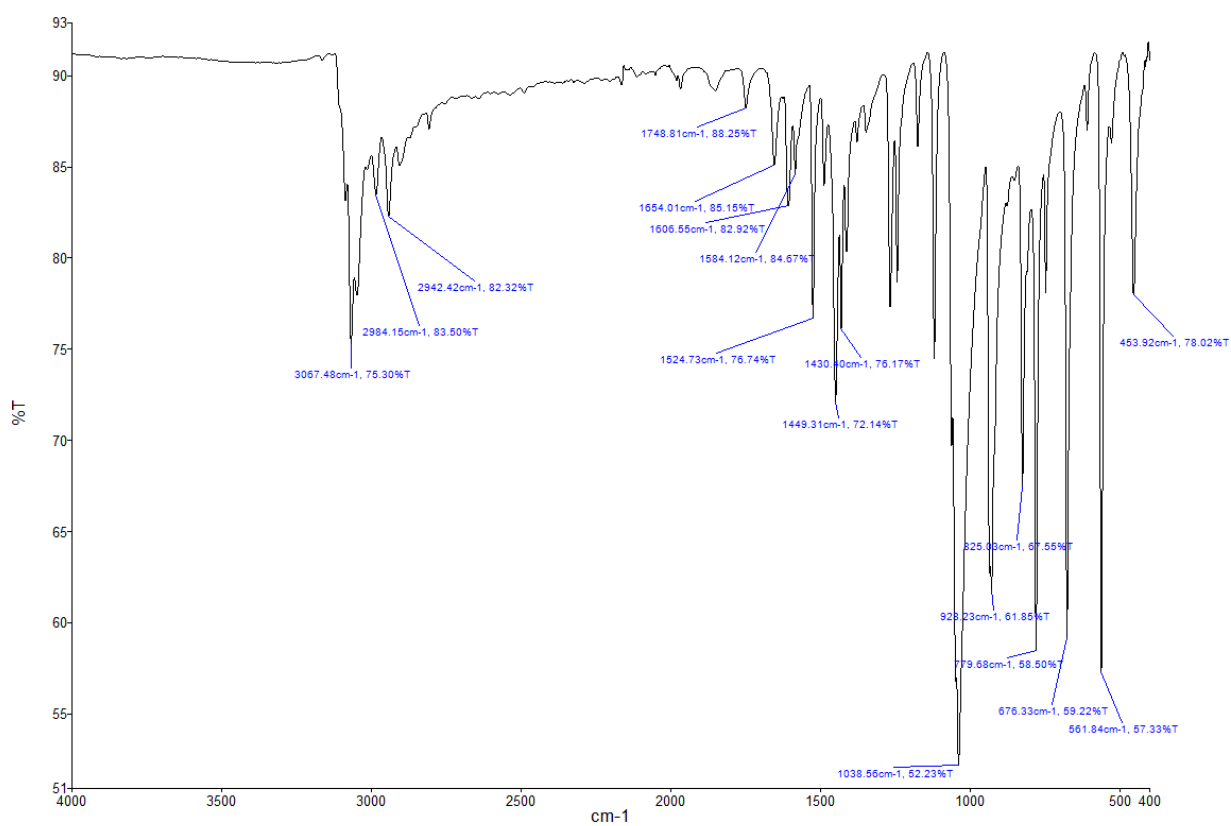
Slika D29.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(*N*-metilimidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**15**).

## 8.2. IR spektri

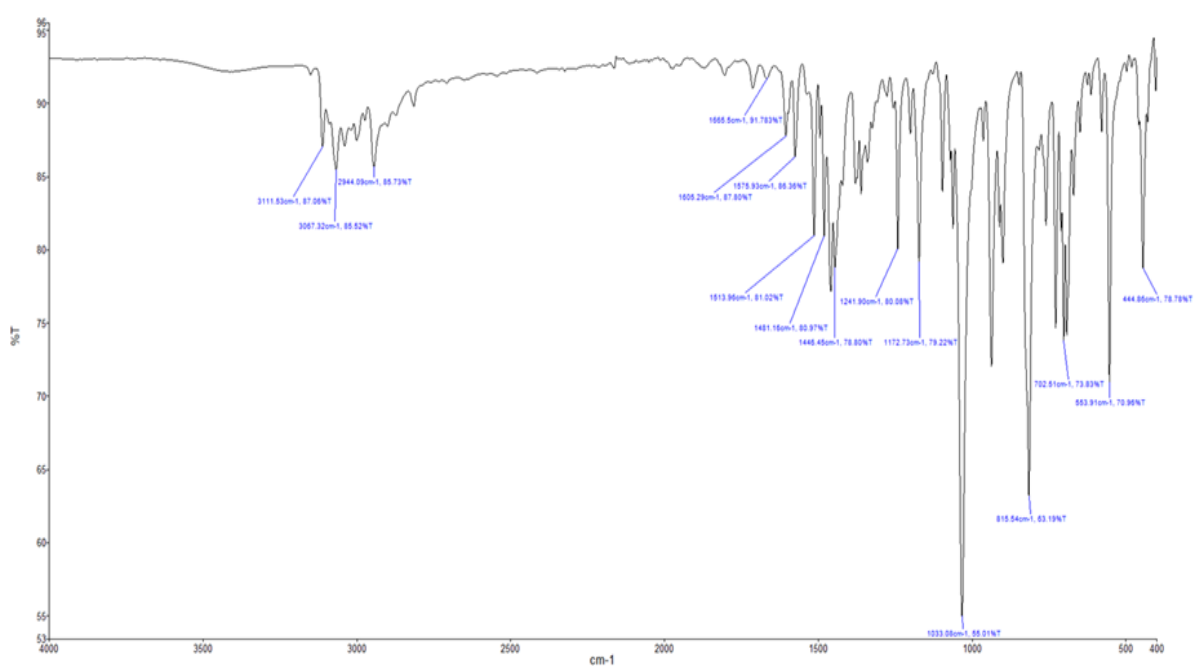


Slika D30. IR spektar *N*-metilimidazol-2-karbaldehida (**1**).

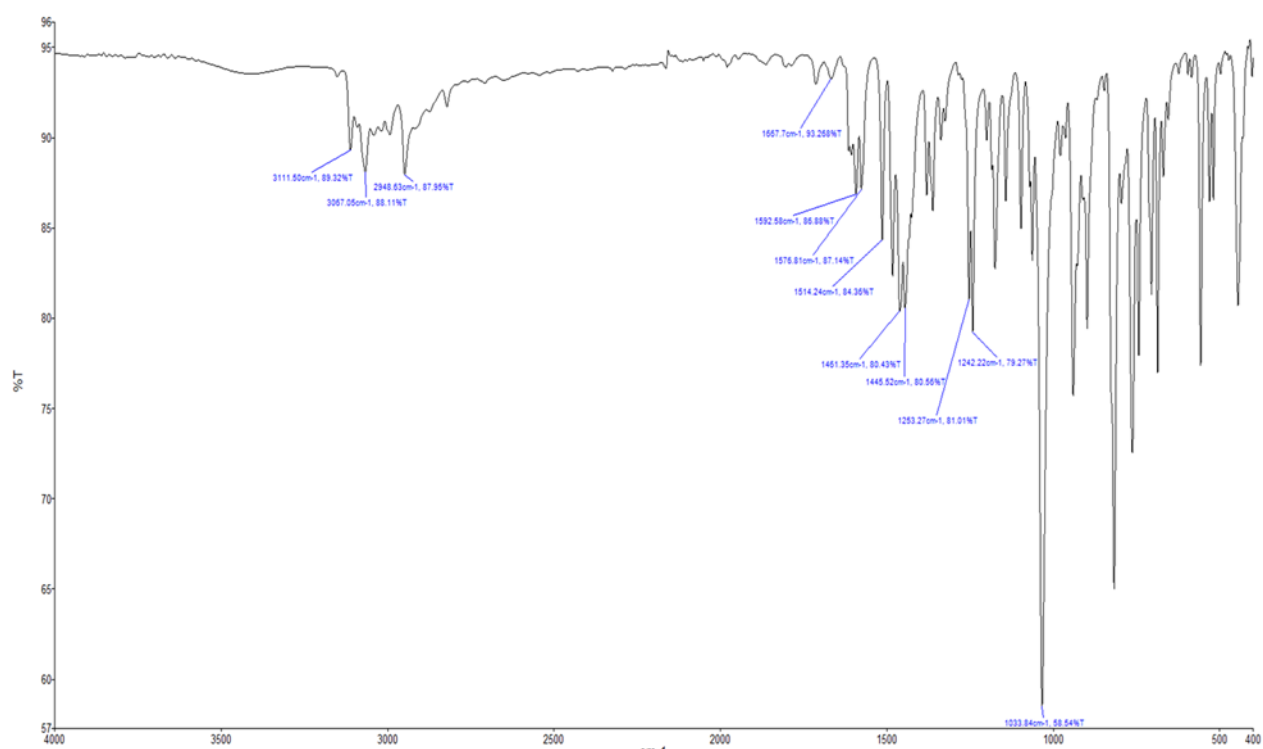


Slika D31. IR spektar *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksim-*O*-metil etera (2).

Slika D32. IR spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijeva jodida (3).



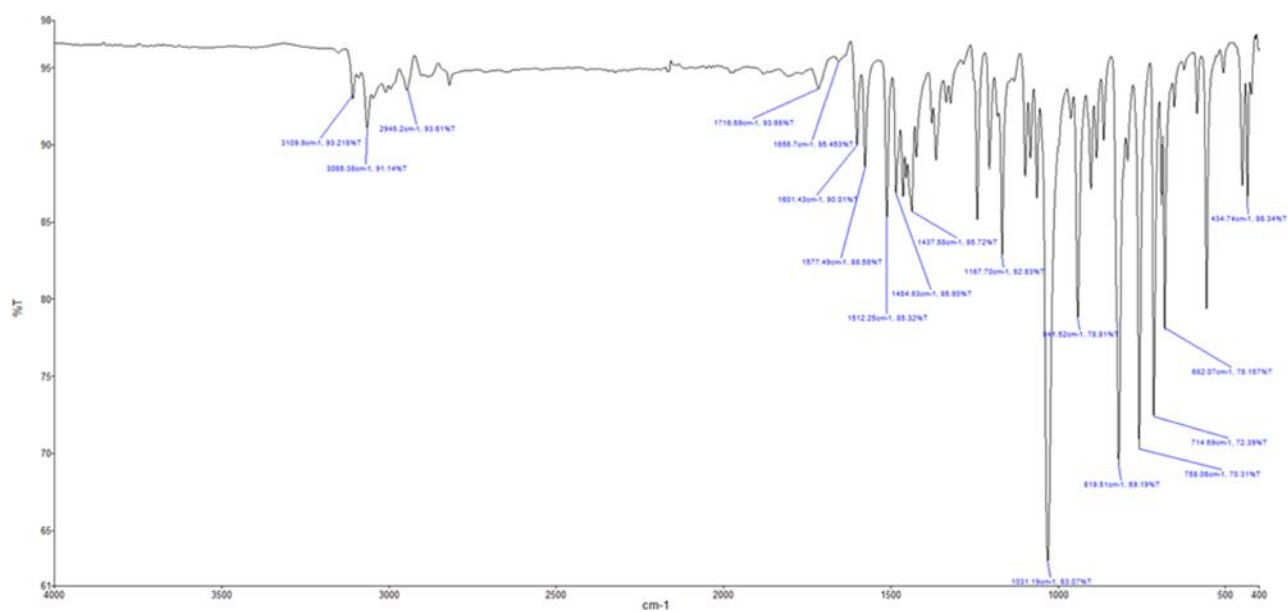
Slika D33. IR spektar 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (4).



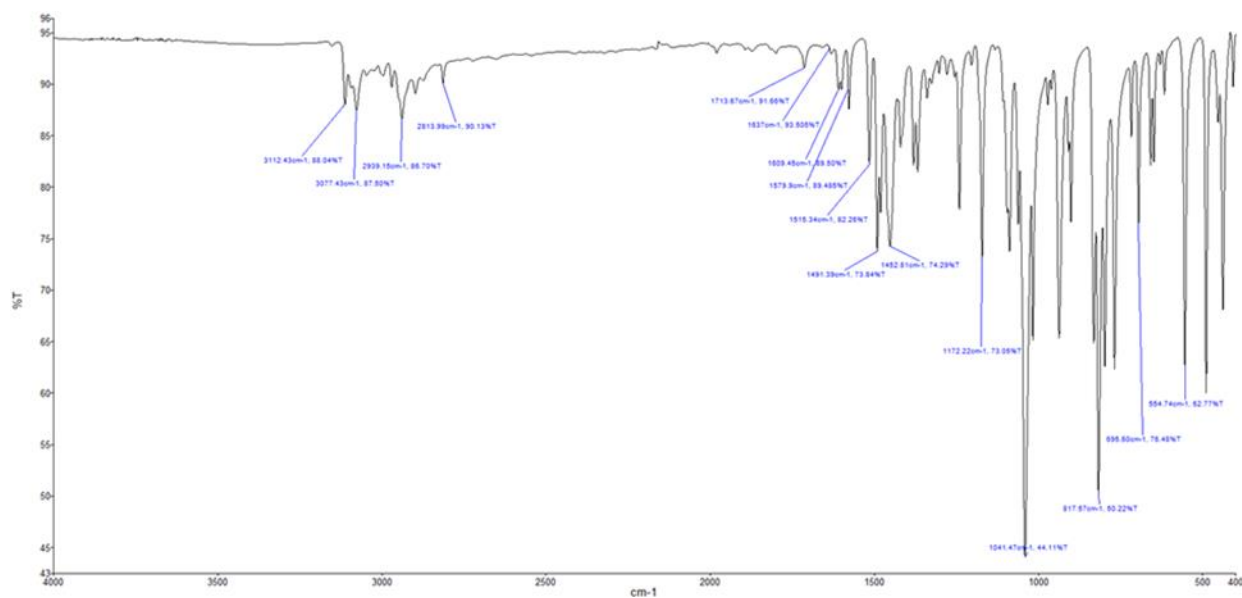
Slika D34. IR spektar 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (5).



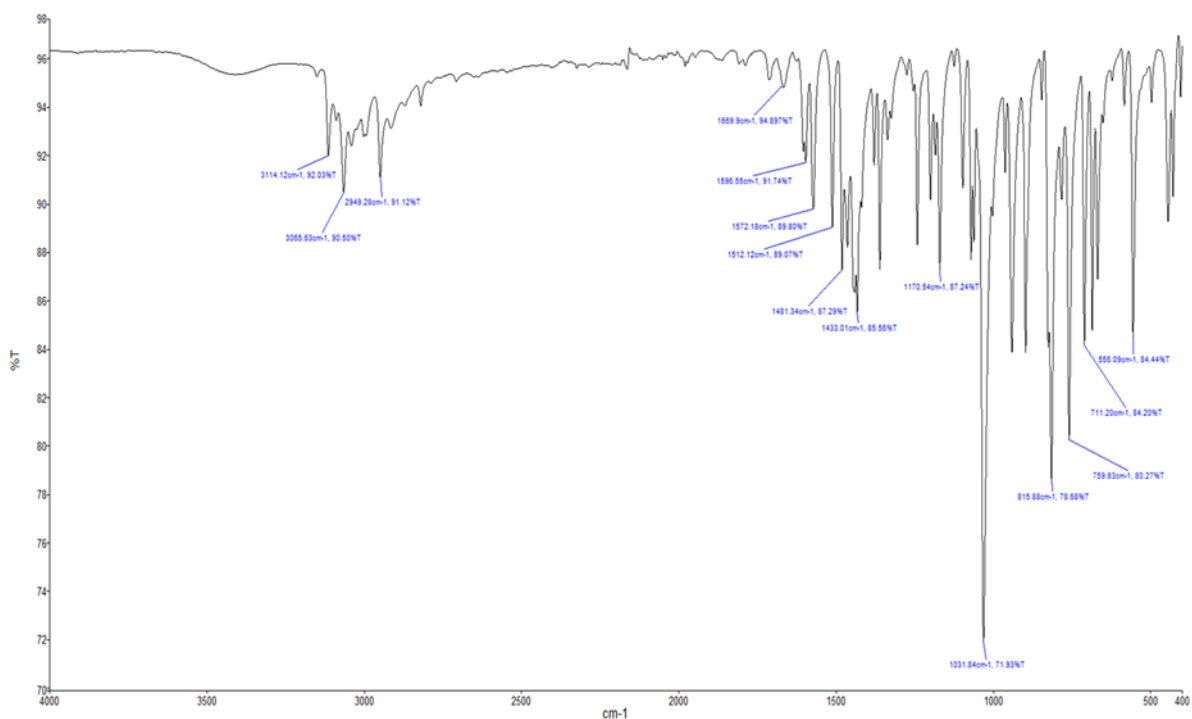
Slika D35. IR spekter 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (6).



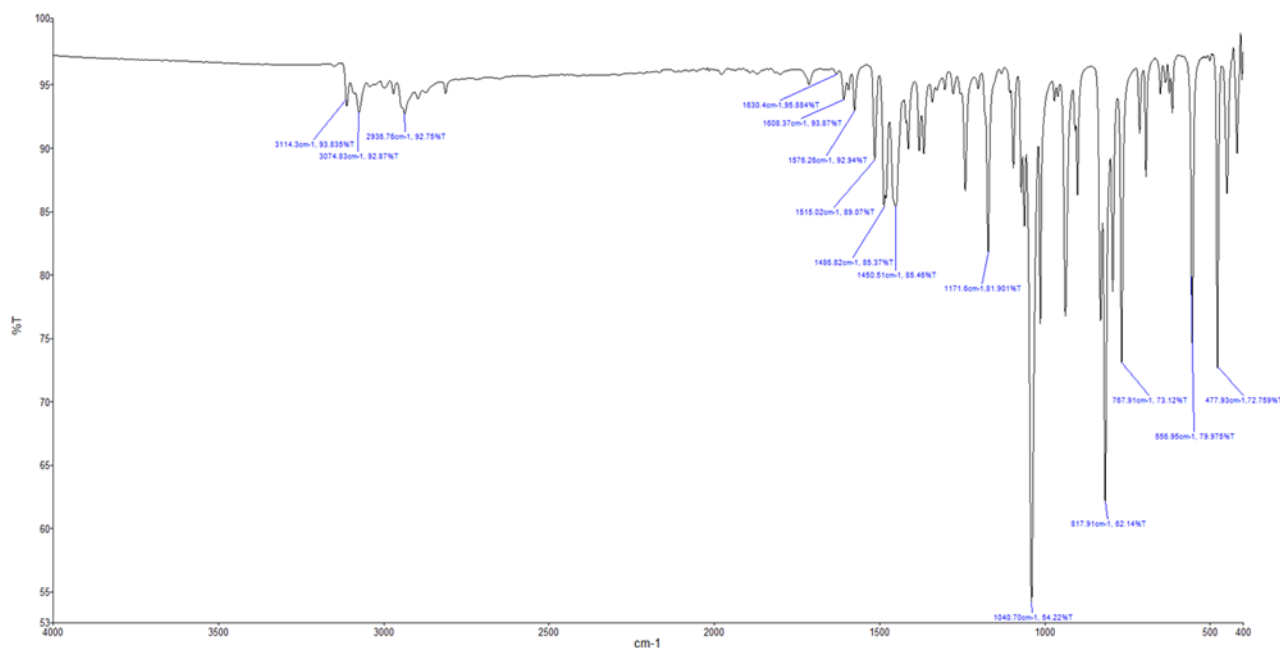
Slika D36. IR spekter 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (7).



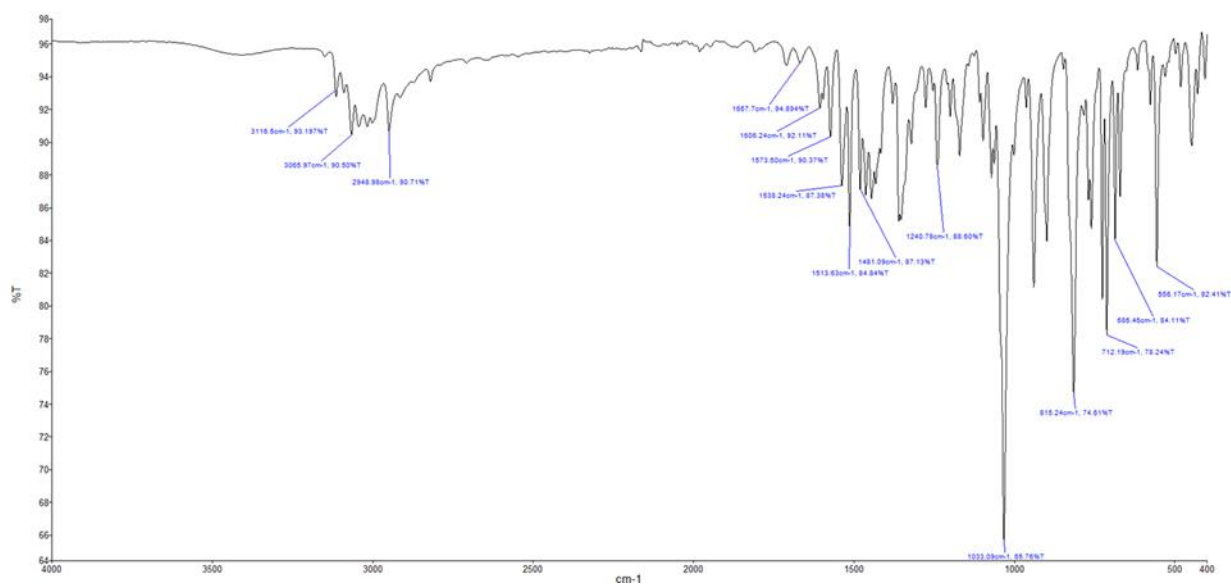
Slika D37. IR spektar 3-(4-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (8).



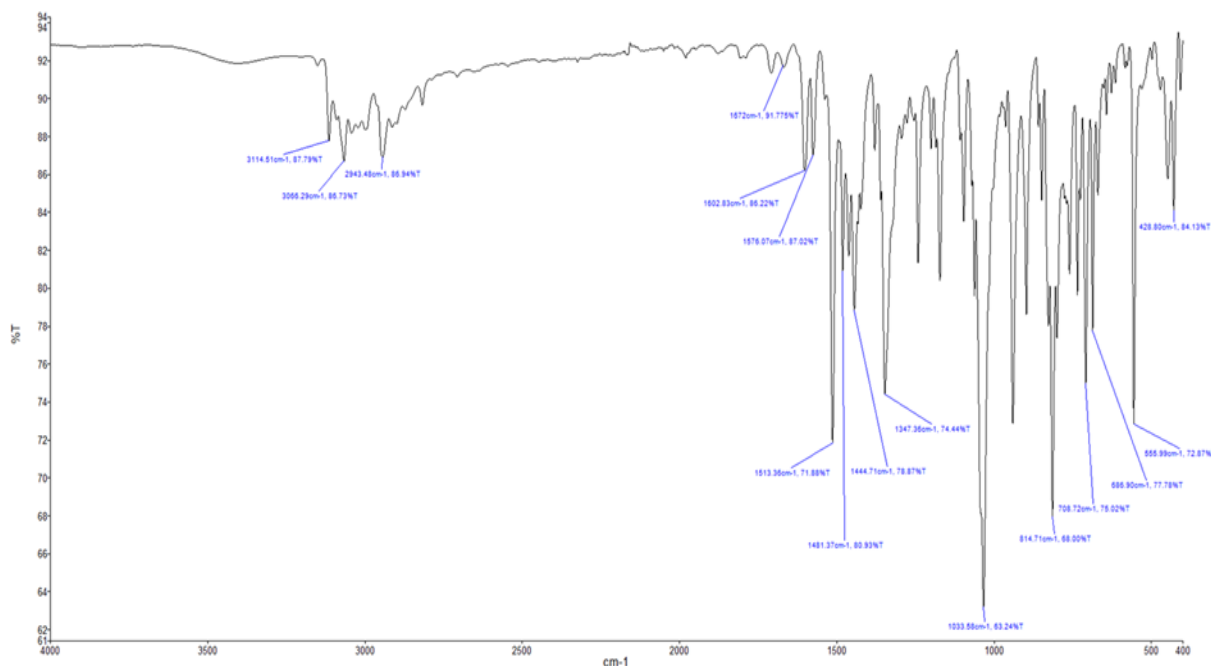
Slika D38. IR spektar 3-(3-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (9).



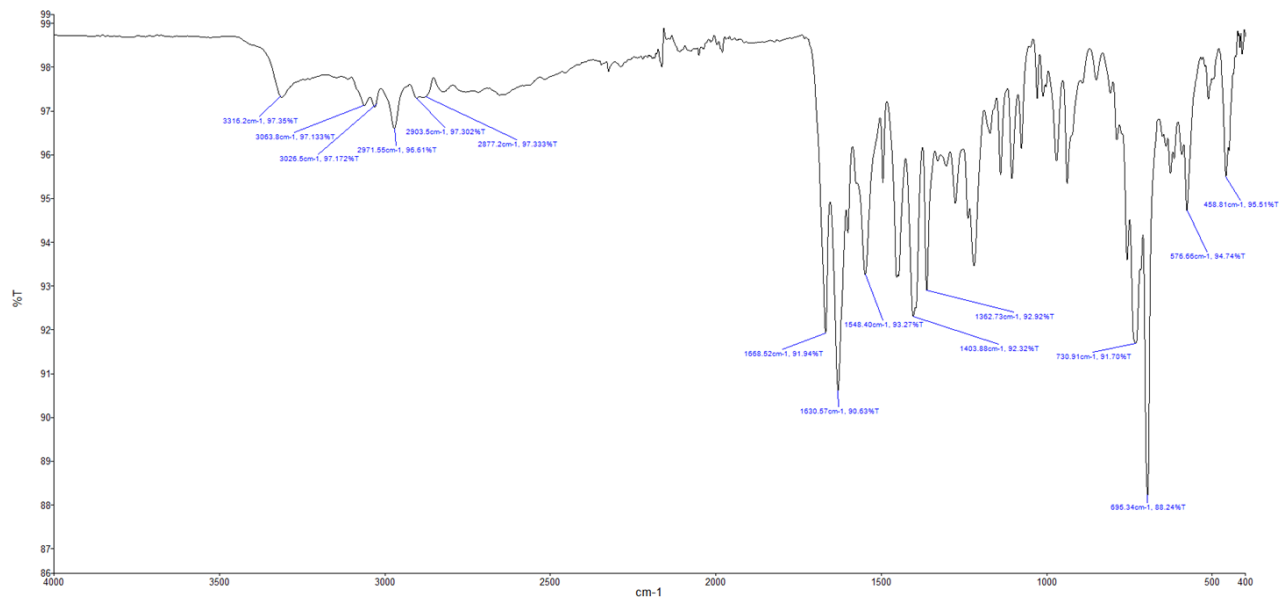
Slika D39. IR spektar 3-(4-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**10**).



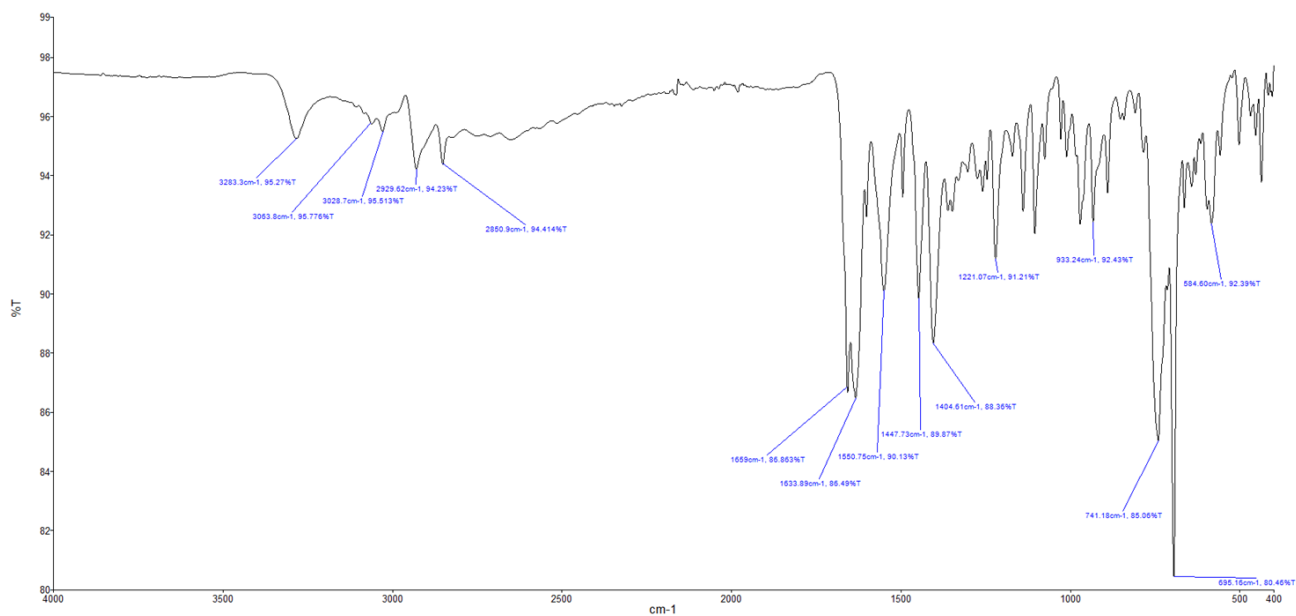
Slika D40. IR spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**11**).



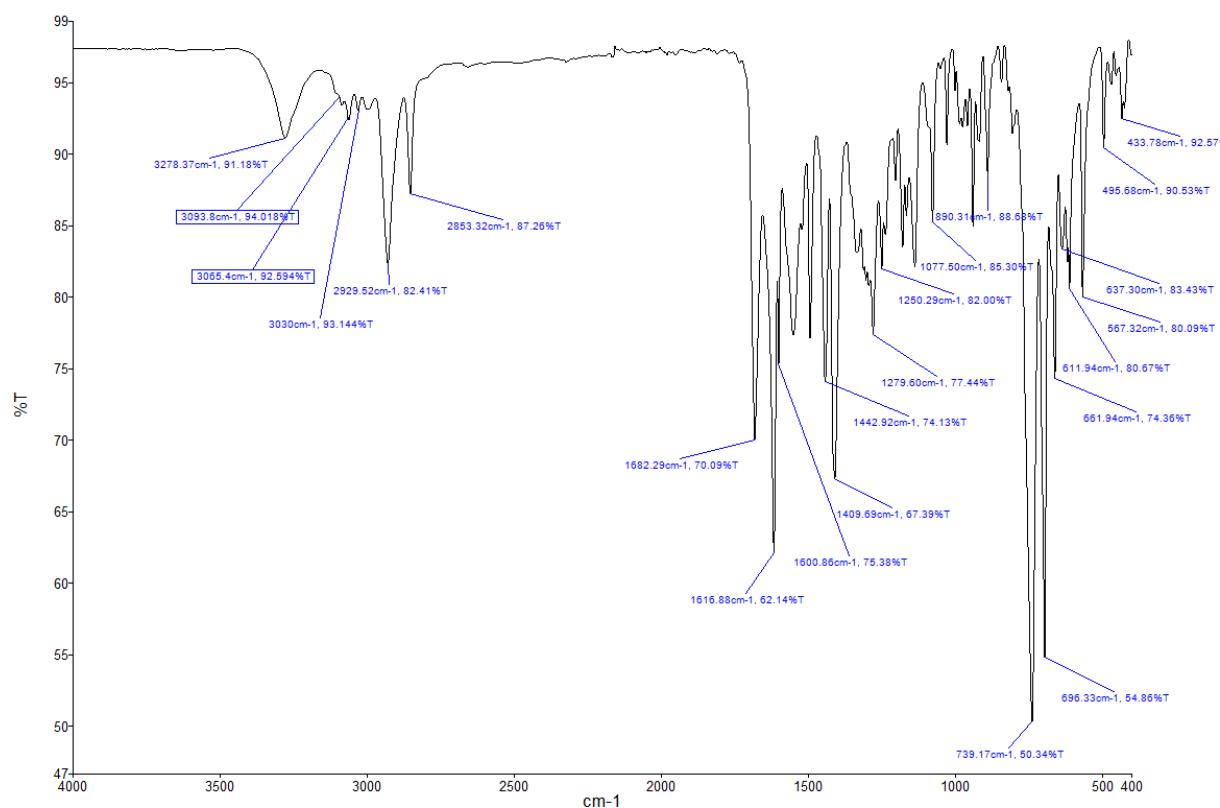
Slika D41. IR spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (12).



Slika D42. IR spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (13).

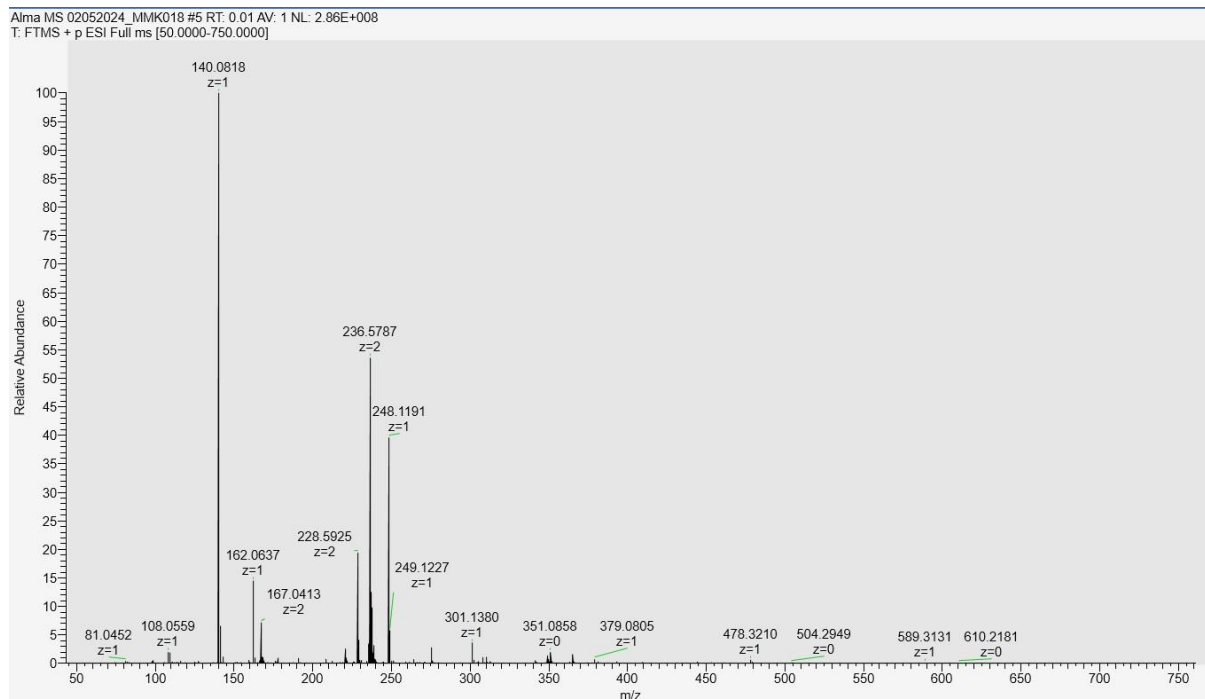


Slika D43. IR spketar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (14).

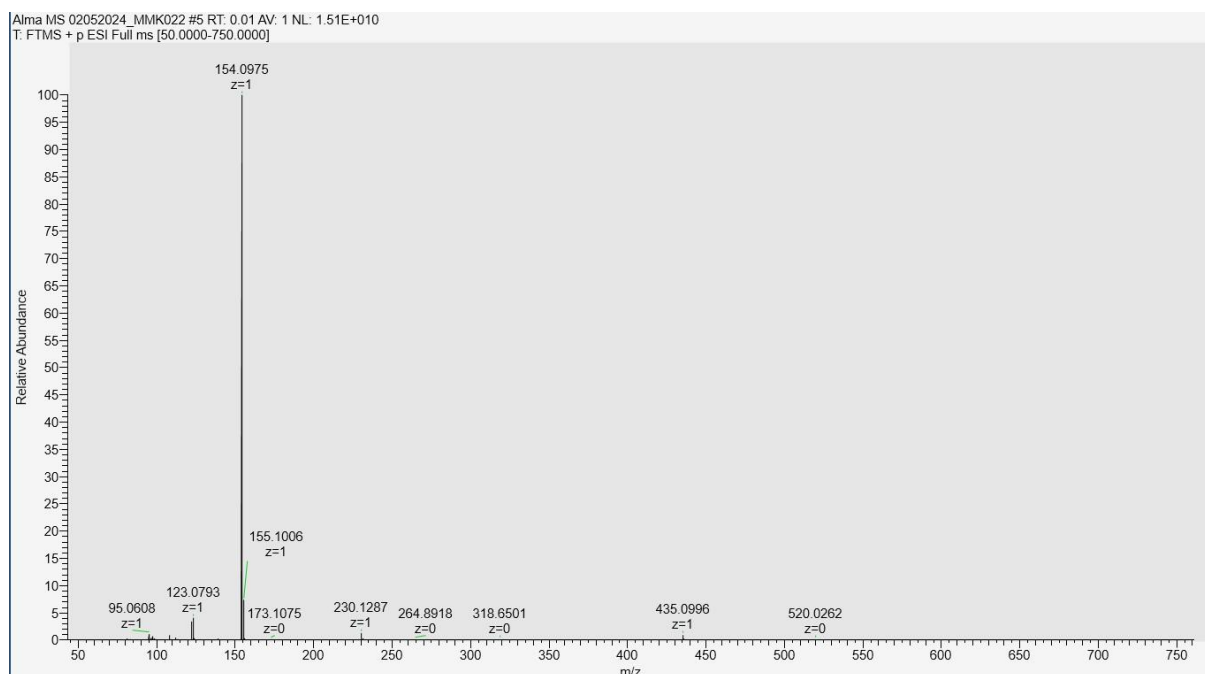


Slika D44. IR spketar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(*N*-metilimidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (15)

### 8.3. HRMS spektri

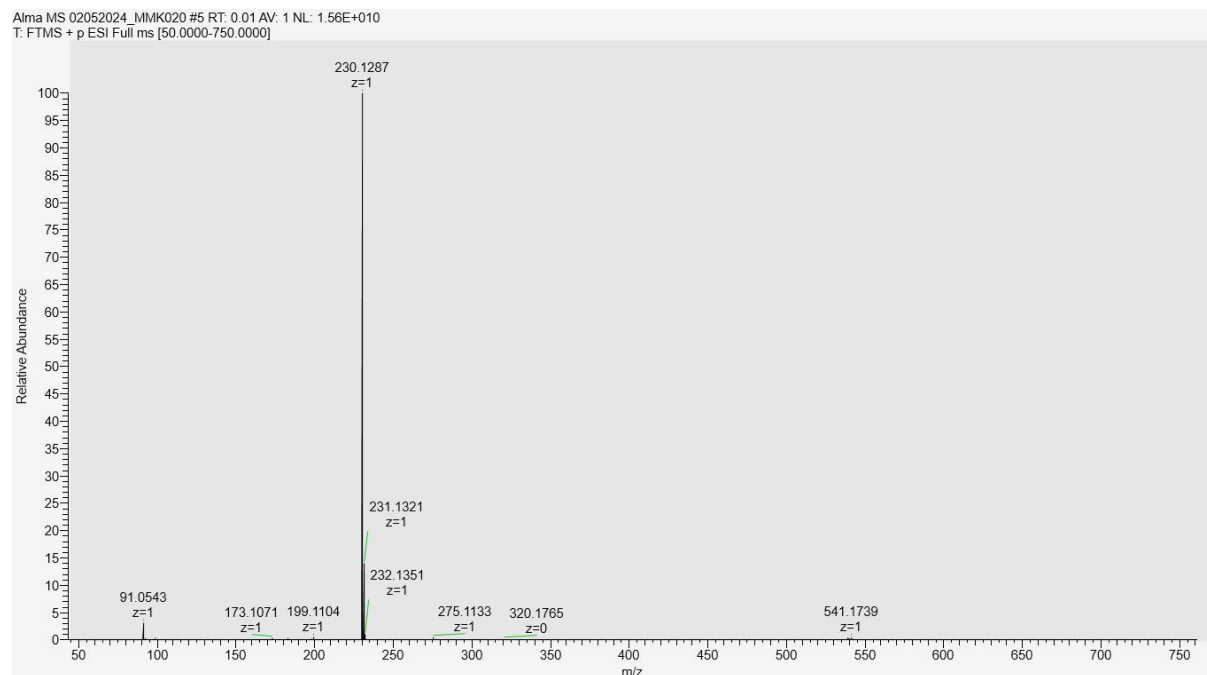


Slika D45. HRMS spektr *N*-metilimidazol-2-karbaldehid-oksim-*O*-metil etera (**2**).

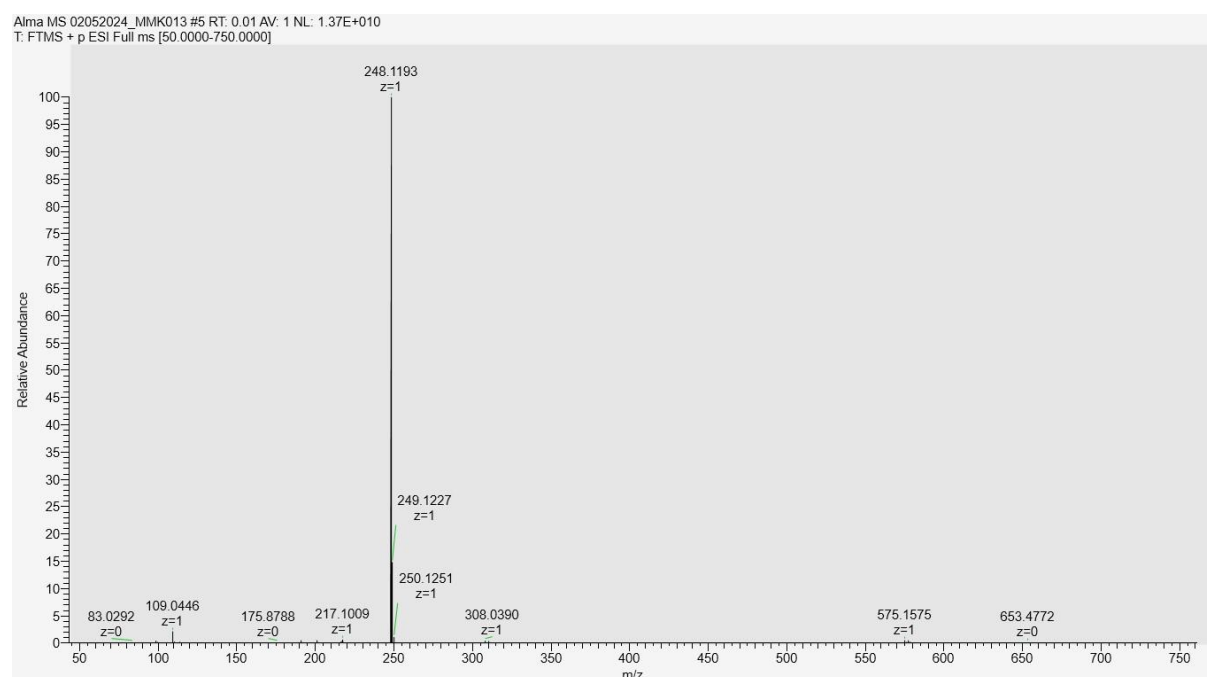


Slika D46. HRMS spektr 2-[(metoksiimino)metil]-1,3-dimetilimidazolijeva jodida (**3**).

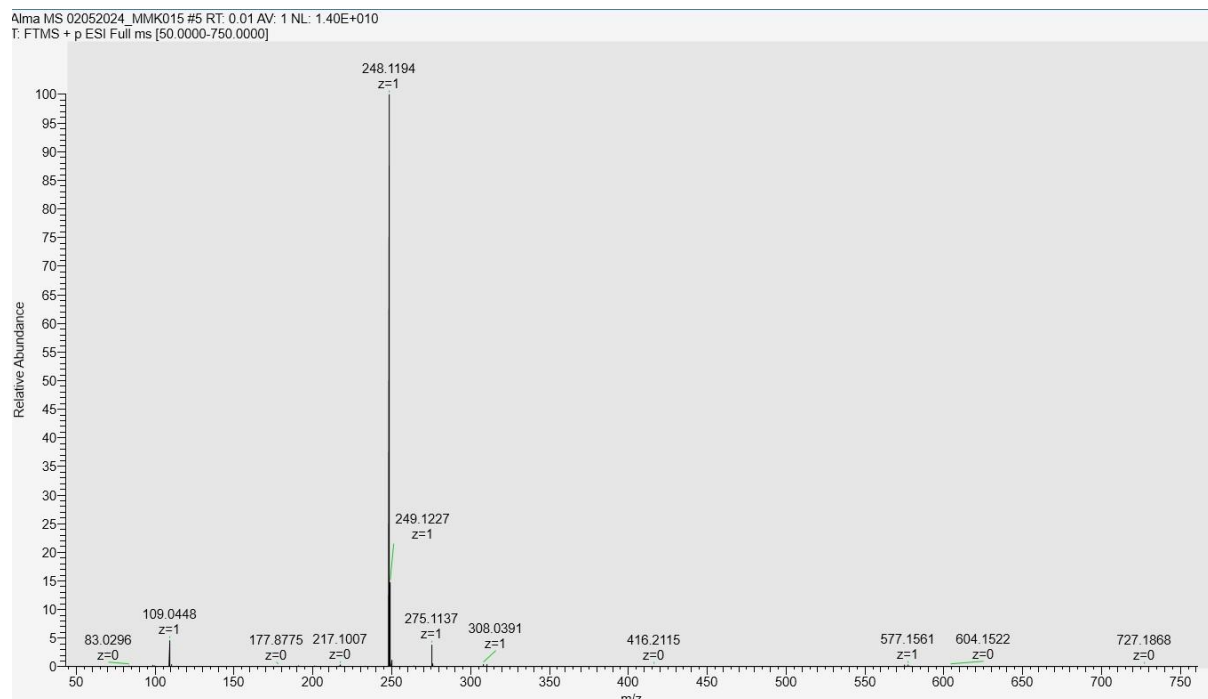




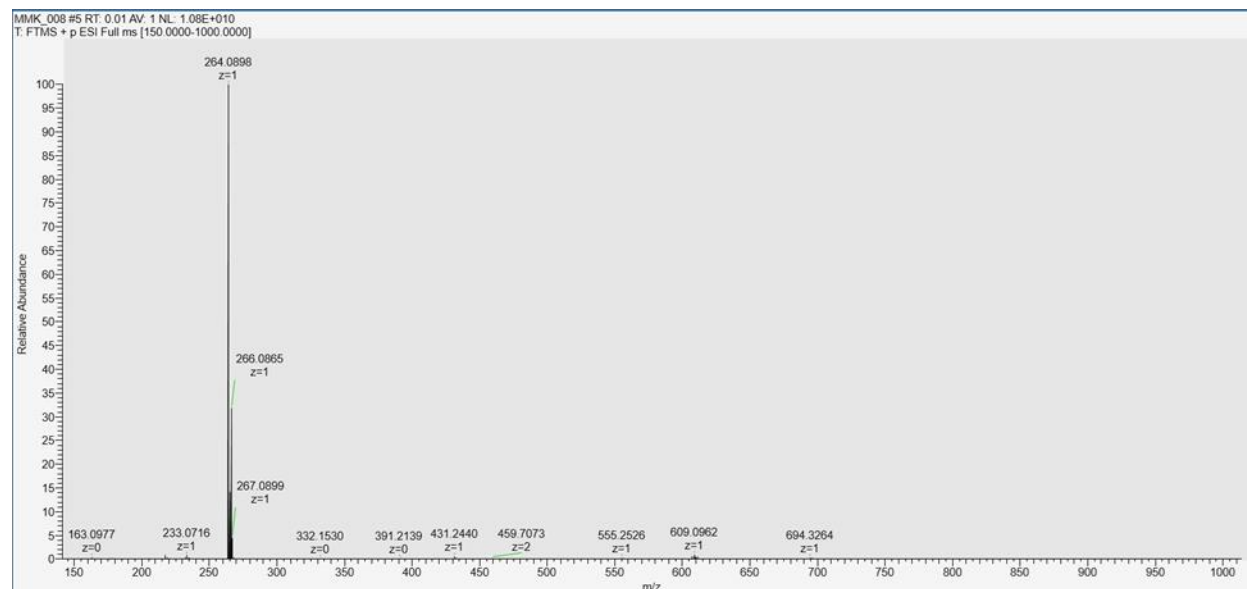
Slika D47. HRMS spektar 3-benzil-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva bromida  
(4).



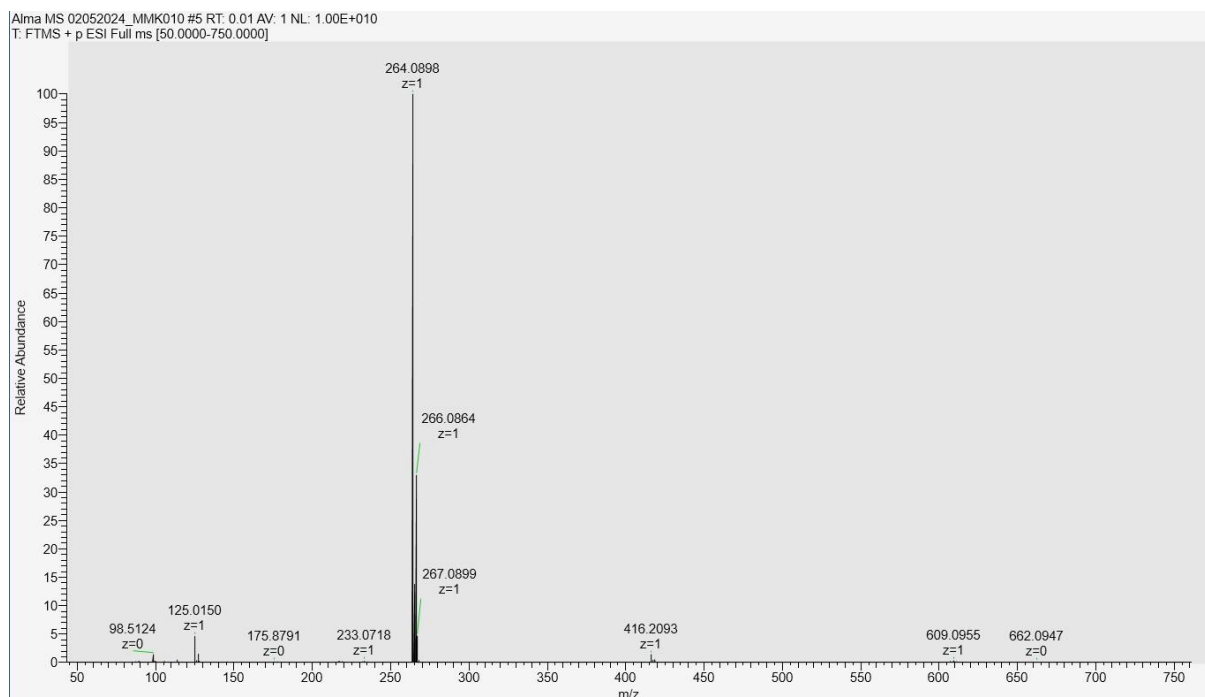
Slika D48. HRMS spektar 3-(3-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijsva  
bromida (5).



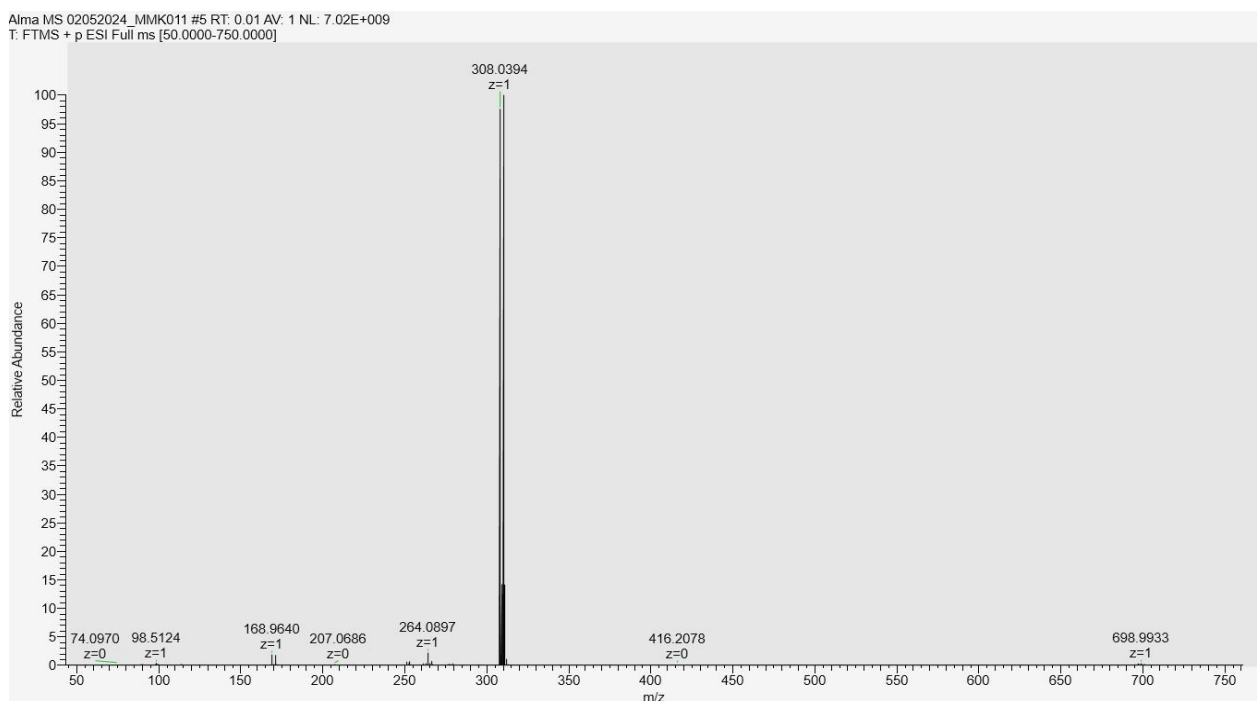
Slika D49. HRMS spektar 3-(4-fluorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (6).



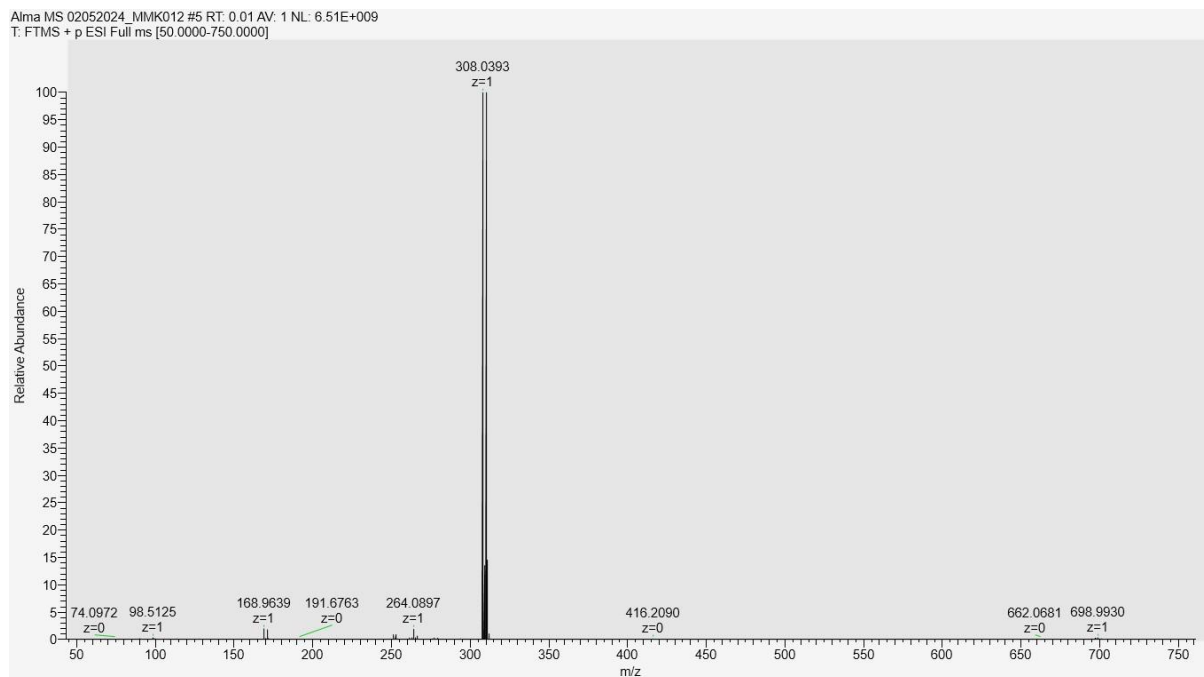
Slika D50. HRMS spektar 3-(3-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (7).



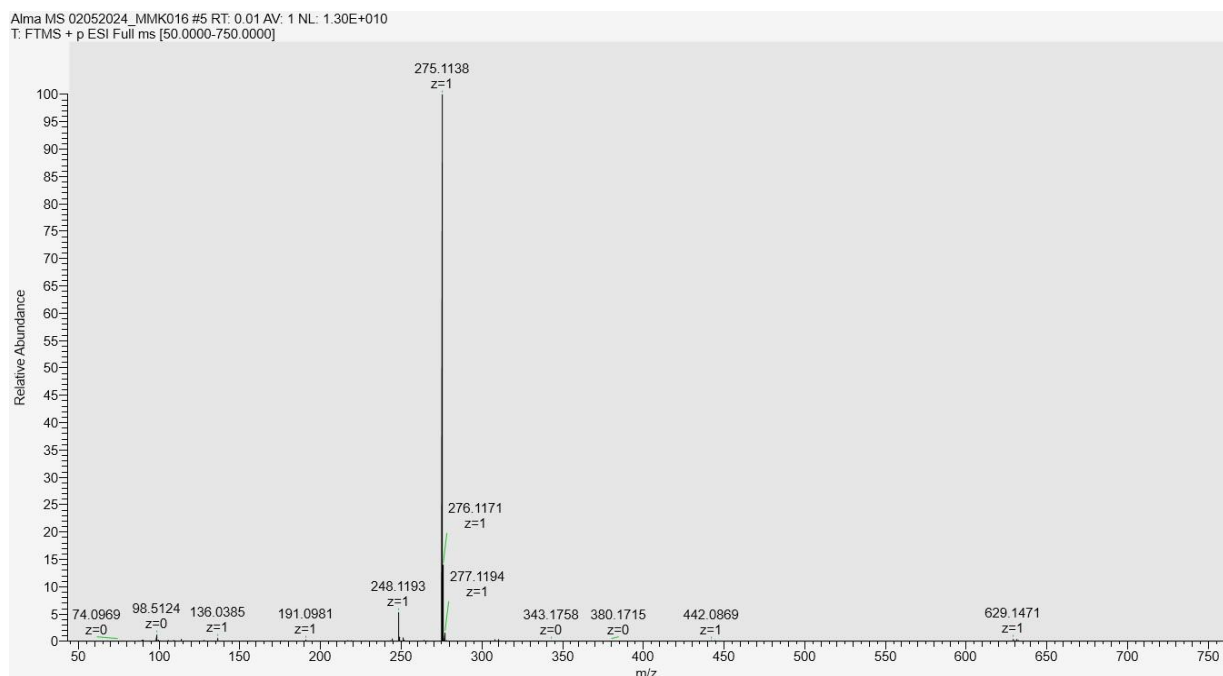
Slikda D51. HRMS spektar 3-(4-klorbenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (8)..



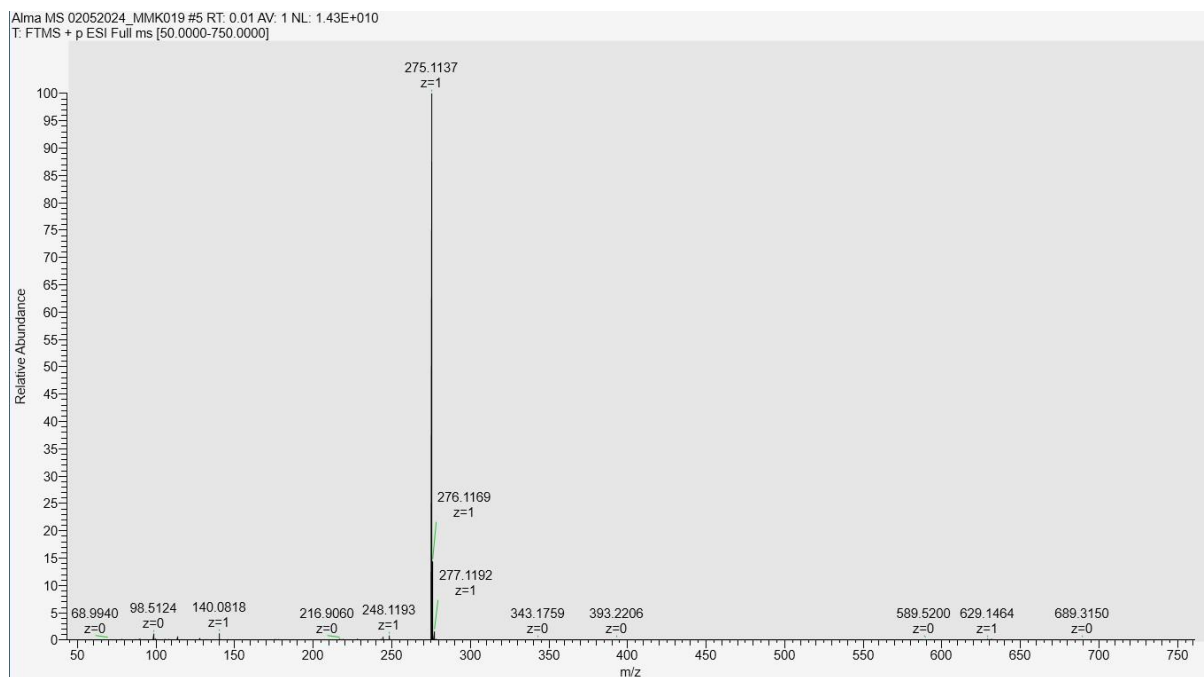
Slika D52. HRMS spektar 3-(3-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (9).



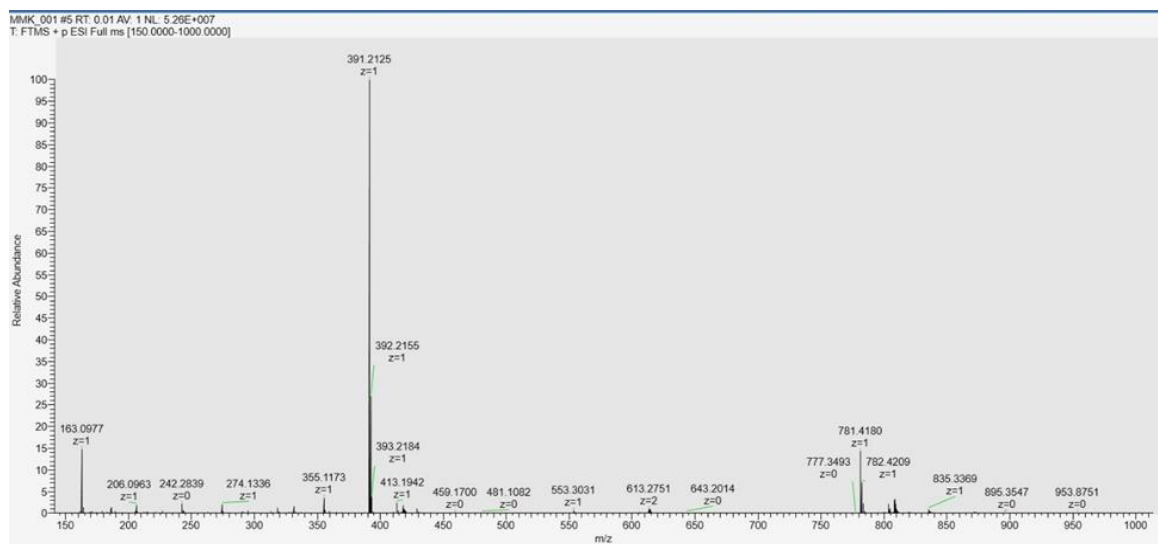
Slika D53. HRMS spektar 3-(4-brombenzil)-2-[(metoksiimino)metil]-1-metilimidazolijeva bromida (**10**).



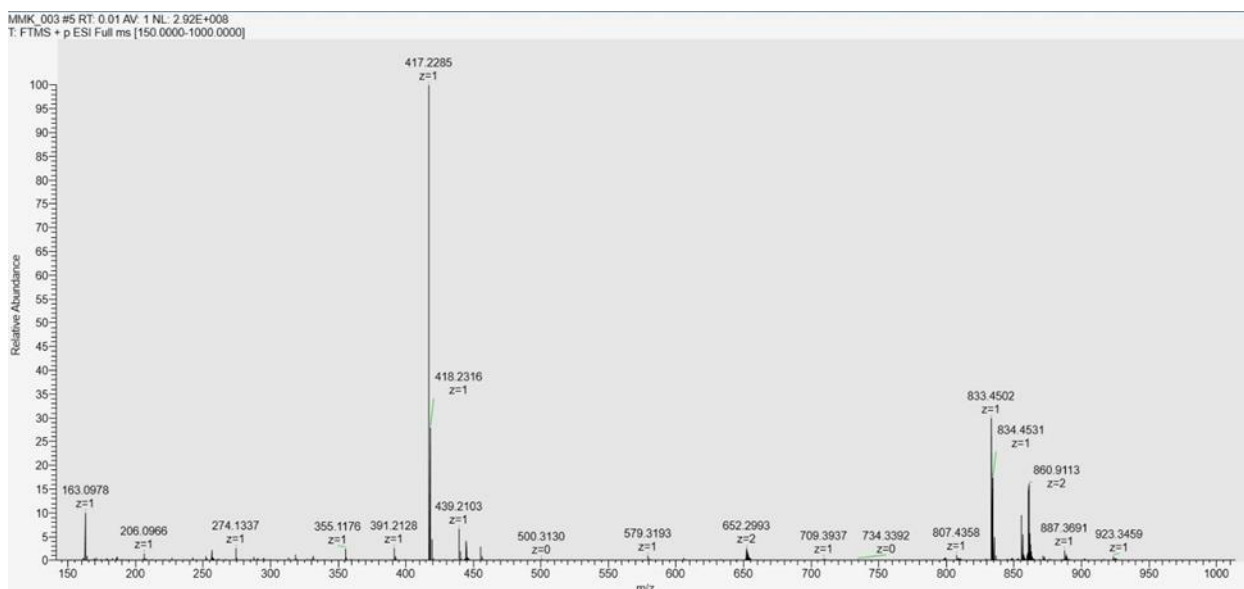
Slika D54. HRMS spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(3-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**11**).



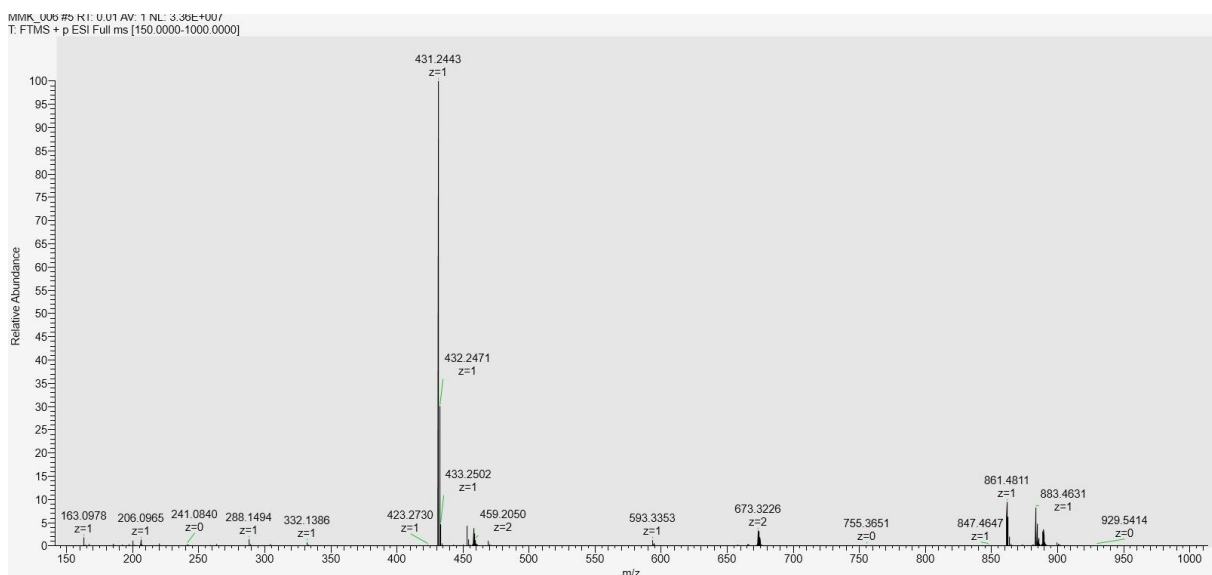
Slika D55. HRMS spektar 2-[(metoksiimino)metil]-1-metil-3-(4-nitrobenzil)imidazolijeva bromida (**12**).



Slika D56. HRMS spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**13**).



Slika D57. HRMS spektar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(imidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**14**).



Slika D58. HRMS spektar *N*-benzil-*N*-[2-(cikloheksilamino)-1-(*N*-metilimidazol-2-il)-2-oksoetil]benzamida (**15**).

## § 9. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Maria-Magdalena Kaurinović

Datum rođenja: 23. srpnja 2000.

Mjesto rođenja: Nürnberg, Njemačka

### Obrazovanje

2006. – 2009. Wiesenschule, Nürnberg

2009. – 2014. Osnovna škola Novska, Novska

2014. – 2018. Srednja škola Novska, opća gimnazija, Novska

2018. – 2021. prijediplomski sveučilišni studij KEMIJA, Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet

2021. – diplomski sveučilišni studij KEMIJA, Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet

### Nagrade i priznanja

2021. Rektorova nagrada za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici u akademskoj godini 2020./2021. – online znanstvene čarolije, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet

### Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2019. Sudjelovanje na Otvorenom danu Kemijskog odsjeka

2020. – 2023. Znanstvene čarolije

2022. Smotra sveučilišta u Zagrebu