



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Весна М. Миловановић

**СИНТЕЗЕ ДЕРИВАТА ОДАБРАНИХ N-ХЕТЕРОЦИКАЛА  
ЗАСНОВАНЕ НА ПРИНЦИПИМА ЗЕЛЕНЕ ХЕМИЈЕ И  
ИСПИТИВАЊЕ АНТИОКСИДАТИВНОГ ПОТЕНЦИЈАЛА  
ДОБИЈЕНИХ ЈЕДИЊЕЊА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2021.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC

FACULTY OF SCIENCE

Vesna M. Milovanović

**SYNTHESIS OF SELECTED N-HETEROCYCLES BASED  
ON THE GREEN CHEMISTRY PRINCIPLES AND TESTING  
OF THEIR ANTIOXIDATIVE POTENTIAL**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2021

## Идентификациона страница докторске дисертације

<b>Аутор</b>
Име и презиме: <b>Весна Миловановић</b>
Датум и место рођења: <i>09. 10. 1992., Видање, општина Клина, Република Србија</i>
Садашње запослење: <i>Истраживач-сарадник (ужа научна област: органска хемија), Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу</i>
<b>Докторска дисертација</b>
Наслов: <b>Синтезе деривата одабраних N-хетероцикала засноване на принципима зелене хемије и испитивање антиоксидативног потенцијала добијених једињења</b>
Број страница: <i>216</i>
Број слика: <i>105</i>
Број библиографских података: <i>347</i>
Установа и место где је рад израђен: <i>Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу</i>
Научна област (УДК): <i>547, Хемија – Органска хемија</i>
Ментор: <b>Др Зорица Петровић</b> , редовни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
<b>Оцена и одбрана</b>
Датум пријаве теме: <i>11. 09. 2019.</i>
Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације: <i>IV-01-907/8, 13. 11. 2019. године</i>
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата:
<ol style="list-style-type: none"><li><i>1. Др Зорица Петровић, редовни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, ужа научна област: органска хемија, ментор</i></li><li><i>2. Др Зоран Марковић, редовни професор, Државни универзитет у Новом Пазару, ужа научна област: органска хемија, председник комисије</i></li><li><i>3. Др Владимир Петровић, доцент, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, ужа научна област: органска хемија, члан комисије</i></li></ol>
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:
<ol style="list-style-type: none"><li><i>1. Др Горан Богдановић, научни саветник, Институт за нуклеарне науке „Винча”, Универзитет у Београду, научна област: хемија, председник комисије</i></li><li><i>2. Др Душица Симијонович, виши научни сарадник, Институт за информационе технологије, Универзитет у Крагујевцу, научна област: хемија, члан комисије</i></li><li><i>3. Др Владимир Петровић, доцент, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, ужа научна област: органска хемија, члан комисије</i></li></ol>
Датум одбране дисертације:

## **Захвалница**

*Ова докторска дисертација је рађена у Институту за хемију Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу, под менторством редовног професора др Зорице Петровић. Неизмерно се захваљујем свом ментору на предложеној теми докторске дисертације, на указаном поверењу, идејама, саветима, подрици и знању које ми је пренела током докторских студија.*

*Захвалност дугујем и својим колегама, а уједно и члановима комисије, др Владимиру Петровићу, доценту Природно-математичког факултета у Крагујевцу и др Душици Симијонович, вишем научном сараднику Института за информационе технологије у Крагујевцу, на одличној сарадњи коју смо имали као и на издвојеном времену и сугестијама које су дали приликом писања ове дисертације. Такође, желим да се захвалим свом млађем колеги, маг. хем. Јовици Бранковићу, истраживачу-приправнику, на колегијалности и одличној сарадњи. Захваљујем се и председнику комисије др Горану Богдановићу, научном саветнику Института за нуклеарне науке „Винча” у Београду, на корисним сугестијама као и на одрађеним кристалографским анализама у сарадњи са др Слађаном Новаковић, научним саветником Института за нуклеарне науке „Винча” у Београду, којој такође дугујем захвалност.*

*Својим драгим пријатељима се захваљујем на подрици, саветима и предивном дружењу.*

*Свом веренику Владимиру дугујем бескрајну захвалност на пруженој љубави, разумевању и подрици током студија. Такође, захваљујем се и његовој породици на искреним жељама, саветима и дивним тренуцима које смо провели заједно.*

*Неизмерну захвалност дугујем својим родитељима Славици и Мирославу и сестрама Јелени и Драгани на великој подрици, саветима, несебичној љубави и указаном стрпљењу током мог школовања.*

*Весна Миловановић*



## Апстракт

У овој дисертацији је представљена синтеза одабраних азотних хетероцикала, и то: 4,5-дихидро-1*H*-бензоил-пиразолских, 1-бензоил-1*H*-пиразолских, пиразол-фталазинских, тетрахидропиридинских и изоиндолин-1,3-дионских. Синтетичке методе за добијање ових једињења су нове и засноване су на примени благих реакционих услова, на употреби нетоксичних растварача (вода, етанол, лимунов сок) и рециклабилних катализатора (лимунов сок, лимунска киселина, јонске течности, гликолна киселина). Да су синтезе засноване на принципима зелене хемије потврђују и израчунати „зелени” параметри за сва синтетисана једињења. За потврду структура добијених једињења урађене су NMR и IR спектроскопија, UV-Vis спектрофотометрија, HPLC хроматографија, одређене су тачке топљења. Структуре осамнаест новосинтетисаних једињења су потврђене и елементалном анализом. За одређена једињења структуре су потврђене и рендгенском структурном анализом. Урађена су и теоријска испитивања структура помоћу метода функционала густине која су у сагласности са експерименталним резултатима. Тако добијена једињења су затим подвргнута *in vitro* тестирању антиоксидативне активности. За то испитивање употребљен је стабилни DPPH слободни радикал. Добијени резултати су показали да се једињења са катехолским фрагментом понашају као одлични антиоксиданти. Процена највероватнијег радикалског механизма извршена је помоћу метода функционала густине и термодинамичких параметара. За одабрана једињења је тестиран и *in vitro* инхибиторски потенцијал према сојиној липоксигенази – LOX-Ib. Да би се стекао увид у супрамолекулске склопове ензима и испитиваних супстанци, као и у биоактивне конформације LOX-Ib инхибитора, урађена је и симулација инхибиције ригидног ензима флексибилним лигандом помоћу молекуларног докинга.

## Кључне речи

- *N*-Хетероцикли
- 1-Бензоил-1*H*-пиразоли
- Пиразол-фталазини
- Тетрахидропиридини
- Изоиндолин-1,3-диони
- Зелена хемија
- Антиоксидативна активност
- Методе функционала густине
- Инхибиција липоксигеназе
- Молекуларни докинг

## **Abstract**

Synthesis of selected *N*-heterocycles: 4,5-dihydro-1*H*-benzoyl-pyrazoles, 1-benzoyl-1*H*-pyrazoles, pyrazole-phthalazines, tetrahydropyridines, and isoindoline-1,3-diones is presented. Synthetic methodologies for the obtaining of these compounds are new and based on mild reaction conditions: usage of harmless solvents (water, ethanol, lemon juice) and recyclable catalysts (lemon juice, citric acid, ionic liquids, glycolic acid). Calculated green parameters confirmed the green nature of methodologies for the synthesis of mentioned compounds. NMR and IR spectroscopy, UV-Vis spectrophotometry, HPLC chromatography, and determination of melting points are used as techniques for structural confirmation and characterisation. For eighteen new compounds, elemental analysis was done too. In some cases, X-ray analysis was done. In addition to experimental analysis, methods of functional density were used and excellent agreement was noticed. Selected compounds were *in vitro* examined for their antioxidative potential in presence of stable free DPPH radical. According to the obtained results, compounds with catecholic-like moiety can be considered as excellent antioxidants. Density functional theory and thermodynamical parameters were used for the assessment of the most probable radical mechanism. Selected compounds were tested *in vitro* for their inhibition activity of soybean lipoxygenase – LOX-Ib. In order to gain insight into the supramolecular assemblies, as well as into the bioactive conformations of LOX-Ib inhibitors, a simulation of inhibition rigid enzyme by a flexible ligand using molecular docking was performed.

## **Key words**

- *N*-Heterocycles
- 1-Benzoyl-1*H*-pyrazoles
- Pyrazolyl-phthalazine-diones
- Tetrahydropyridines
- Isoindoline-1,3-diones
- Green chemistry
- Antioxidative activity
- Density functional methods
- Inhibition of lipoxygenase
- Molecular docking

# Садржај

УВОД .....	1
<b>1. ОПШТИ ДЕО .....</b>	<b>1</b>
1.1. Азотни хетероцикли.....	4
1.2. Деривати пиразола .....	5
1.2.1. Деривати бензоил-пиразола .....	7
1.2.1.1. Синтеза бензоил-пиразолских деривата .....	8
1.2.2. Деривати пиразол-фталазина .....	10
1.2.2.1. Синтеза пиразол-фталазинских деривата .....	12
1.3. Деривати тетрахиdropиридина .....	15
1.3.1. Синтеза деривата тетрахиdropиридина .....	16
1.4. Деривати изоиндолин-1,3-диона.....	18
1.4.1. Синтеза деривата изоиндолин-1,3-диона.....	20
1.5. Зелена хемија .....	21
1.5.1. Принципи и параметри зелене хемије.....	22
1.5.1.1. Принципи зелене хемије.....	22
1.5.1.2. Параметри зелене хемије.....	23
1.5.2. „Зелена” синтеза бензоил-пиразолских, пиразол-фталазинских, тетрахиdropиридинских и 1,3-изоиндолинских деривата .....	26
1.5.2.1. Синтеза бензоил-пиразолских деривата .....	26
1.5.2.2. Синтеза пиразол-фталазинских деривата .....	27
1.5.2.3. Синтеза тетрахиdropиридинских деривата .....	29
1.5.2.4. Синтеза 1,3-изоиндолинских деривата .....	29
1.6. Антиоксидативна активност .....	30
1.6.1. Антиоксиданти .....	30
1.6.2. Прооксиданти и оксидативни стрес .....	34
1.6.3. Методе одређивања антиоксидативне активности једињења.....	37
1.6.3.1. <i>In vitro</i> одређивање антиоксидативне активности помоћу DPPH теста .....	38
1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања .....	38
1.6.4.1. Термодинамички параметри у одсуству слободних радикалских врста .....	38
1.6.4.2. Термодинамички параметри у присуству слободних радикалских врста.....	39
1.6.5. Инхибиција липоксигеназе соје.....	40
<b>2. НАШИ РАДОВИ .....</b>	<b>42</b>
2.1. 1-Бензоил-1 <i>H</i> -пиразолски деривати.....	43

2.1.1. Синтеза 1-бензоил-1 <i>H</i> -пиразолских деривата у лимуновом соку .....	43
2.1.1.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање 1-бензоил-1 <i>H</i> -пиразолских деривата <b>3а-ж</b> .....	46
2.1.1.2. Структурна карактеризација 1-бензоил-1 <i>H</i> -пиразолских деривата – експериментална и теоријска испитивања.....	47
2.1.1.3. Антиоксидативна активност 1-бензоил-1 <i>H</i> -пиразолских деривата .....	57
2.1.2. Синтеза пиразолских деривата медицински релевантних фенолних киселина у присуству каталитичке количине лимунске киселине .....	58
2.1.2.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање фенолних пиразолских деривата <b>3з-л</b> .....	59
2.1.2.2. Структурна карактеризација пиразолских деривата <b>3з-л</b> – експериментална и теоријска испитивања .....	60
2.1.2.3. Антиоксидативна активност фенолних пиразолских деривата <b>3з-л</b> .....	64
2.1.2.4. Инхибиција липоксигеназе (LOX) фенолним пиразолским дериватима ( <b>3з-л</b> ) – <i>in vitro</i> и <i>in silico</i> студија.....	67
2.2. Синтеза пиразол-фталазин-диона у присуству јонске течности као катализатора .....	72
2.2.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање пиразол-фталазин-диона <b>6а-и</b> .....	74
2.2.2. Структурна карактеризација пиразол-фталазин дионских деривата – експериментална и теоријска испитивања.....	76
2.2.3. Антиоксидативна активност пиразол-фталазин-диона <b>6а-и</b> .....	82
2.3. <i>One-pot</i> синтеза тетрахидропиридинских деривата у присуству јонске течности/гликолне киселине .....	87
2.3.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционих метода за добијање тетрахидропиридинских деривата <b>8а-к</b> .....	91
2.3.2. Структурна карактеризација тетрахидропиридина <b>8а-в</b> – експериментална и теоријска испитивања .....	93
2.3.3. Антиоксидативна активност новосинтетисаних тетрахидропиридина <b>8а-в</b> ..	106
2.4. Синтеза бензамид-диоксоизоиндолинских деривата .....	113
2.4.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање бензамид-диоксоизоиндолинских деривата <b>9а-љ</b> .....	115
2.4.2. Структурна карактеризација бензамид-диоксоизоиндолинских деривата.....	117
2.4.3. Антиоксидативна активност бензамид-диоксоизоиндолинских деривата <b>9а-љ</b> .....	118
<b>3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО</b> .....	123
3.1. Опште напомене .....	124
3.2. Рендгенска структурна одређивања .....	124
3.3. Рачунарске методе.....	124

3.3.1. Рачунања помоћу метода функционала густине.....	124
3.3.2. Припрема кристалне структуре сојине липоксигеназе .....	125
3.3.3. AutoDock 4.2 подешавања .....	125
3.4. DPPH тест.....	126
3.5. <i>In Vitro</i> испитивање инхибиције сојине липоксигеназе .....	126
3.6. Припремање лимуновог сока .....	127
3.7. Генерална процедура за синтезу хидразида <b>1</b> .....	127
3.8. Генерална процедура за синтезу бензоил-пиразола <b>2г-ж</b> и <b>3а-ж</b> .....	127
3.8.1. Спектроскопски подаци бензоил-пиразола <b>2г-ж</b> и <b>3а-ж</b> .....	128
3.8.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење <b>3а</b> .....	130
3.9. Генерална процедура за синтезу фенолних бензоил-пиразола <b>3з-л</b> .....	131
3.9.1. Спектроскопски подаци фенолних бензоил-пиразола <b>3з-л</b> .....	132
3.9.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење <b>3з</b> .....	133
3.10. Генерална процедура за синтезу пиразол-фталазина <b>6а-и</b> .....	134
3.10.1. Спектроскопски подаци пиразол-фталазина <b>6а-и</b> .....	134
3.10.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење <b>6а</b> .....	137
3.11. Генерална процедура за синтезу функционализованих тетрахидропиридина <b>8а-к</b> .....	138
3.11.1. Спектроскопски подаци тетрахидропиридина <b>8а-к</b> .....	139
3.11.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење <b>8а</b> .....	144
3.12. Генерална процедура за синтезу изоиндолин-1,3-диона <b>9а-љ</b> .....	145
3.12.1. Спектроскопски подаци изоиндолин-1,3-диона <b>9а-љ</b> .....	146
3.12.2. Спектроскопски подаци интермедијера <b>I</b> у реакцији синтезе изоиндолин-1,3-диона.....	149
3.12.3. Прорачун „зелених” параметара за једињење <b>9а</b> .....	149
<b>4. ЗАКЉУЧАК</b> .....	150
<b>5. ЛИТЕРАТУРА</b> .....	151
<b>6. ПРИЛОГ</b> .....	171
6.1. Прилог 1: NMR спектри .....	172
6.2. Прилог 2: Бензоил-1 <i>H</i> -пиразолски деривати (IR спектри и хемијска померања за експериментални и симулирани <sup>1</sup> H NMR и <sup>13</sup> C NMR).....	181
6.3. Прилог 3: Фенолни бензоил-пиразолски деривати (HPLC хроматограми и UV-Vis спектри).....	186
6.4. Прилог 4: Пиразол-фталазин дионски деривати (UV-Vis спектри, Кон-Шамове орбитале, електронски прелазни и енергије орбитала) .....	193
6.5. Прилог 5: Кристалографски подаци.....	205

6.6. Прилог 6: Објављени научни радови у којима су представљени резултати докторске дисертације .....	210
<b>7. БИОГРАФИЈА.....</b>	<b>216</b>

## Скраћенице

ABTS	2,2'-азино-бис(3-етилбензотиазолин-6-сулфонска киселина) (енг. <i>2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid)</i> )
AChE	ацетилхолинестераза (енг. <i>acetylcholinesterase</i> )
AE	атомска економичност (енг. <i>atom economy</i> )
BChE	бутирилхолинестераза (енг. <i>butyrylcholinesterase</i> )
BDE	енталпија раскидања везе (енг. <i>bond dissociation enthalpy</i> )
BHA	бутиловани хидроксианизол (енг. <i>butylated hydroxyanisole</i> )
BHT	бутиловани хидрокситолуен (енг. <i>butylated hydroxytoluene</i> )
CAN	церијум амонијум нитрат (енг. <i>ceric ammonium nitrate</i> )
CAT	каталаза (енг. <i>catalase</i> )
CE	ефикасност угљеника (енг. <i>carbon efficiency</i> )
CPCM	модел поларизованог континуума сличан проводнику ( <i>conductor-like polarizable continuum model</i> )
CUPRAC	метода редуковане антиоксидативне активности бакарним јоном (енг. <i>cupric ion reducing antioxidant capacity</i> )
DABCO	1,4-дизабицикло[2,2,2]октан (енг. <i>1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane</i> )
DES	дубоки еутектички растварачи (енг. <i>deep eutectic solvents</i> )
DHS	диетаноламонијум хидрогенсулфат (енг. <i>diethanolammonium hydrogensulfate</i> )
DMPD	<i>N,N</i> -диметил- <i>p</i> -фенилендиамин дихидрохлорид (енг. <i>N,N-dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride</i> )
DMSO	диметил сулфоксид (енг. <i>dimethyl sulfoxide</i> )
dppf	1,1'-бис(дифенилфосфино) фeroцен (енг. <i>1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene</i> )
DPPH	2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (енг. <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> )
ETE	енталпија трансфера електрона (енг. <i>electron transfer enthalpy</i> )
EWG	електрон-привлачне групе (енг. <i>electron-withdrawing groups</i> )
FRAP	способност антиоксиданта да редукује гвожђе (енг. <i>ferric reducing antioxidant power</i> )
GA	гликолна киселина (енг. <i>glycolic acid</i> )
GGT	γ-глутамил-транспептидазе (енг. <i>γ-glutamyl transpeptidase</i> )
GIAO	<i>gauge-independent atomic orbital</i>

$\alpha$ -Gly	$\alpha$ -гликозидаза (енг. <i><math>\alpha</math>-glycosidase</i> )
GR	глутатион-редуктаза (енг. <i>glutathione reductase</i> )
GSH	глутатион (енг. <i>glutathione</i> )
GSH-PX	глутатион пероксидаза (енг. <i>glutathione peroxidase</i> )
GST	глутатион-S-трансфераза (енг. <i>glutathione S-transferase</i> )
HAT	трансфер атома водоника (енг. <i>hydrogen atom transfer</i> )
hCA I, hCA II	ензими карбонске анхидразе I и II изозима (енг. <i>carbonic anhydrase I and II isozymes</i> )
[HDEA][Ac]	диетаноламонијум ацетат (енг. <i>diethanolammonium acetate</i> )
[HDEA][ClAc]	диетаноламонијум хлорацетат (енг. <i>diethanolammonium chloroacetate</i> )
HOMO	највиша попуњена молекулска орбитала (енг. <i>highest occupied molecular orbital</i> )
HORAC	метода спречавања стварања OH <sup>•</sup> (енг. <i>hydroxyl radical averting capacity</i> )
HPLC	течна хроматографија високих перформанси (енг. <i>high-performance liquid chromatography</i> )
HTHP	висока температура, висок притисак (енг. <i>high temperature, high pressure</i> )
<i>In silico</i>	на силицијуму (компјутерски)
<i>In situ</i>	на лицу места (на месту где се одвија реакција)
<i>In vitro</i>	у стаклу (експеримент у епрувети)
IR	инфрацрвено (енг. <i>infrared</i> )
LDL	липопротеин ниске густине (енг. <i>low-density lipoprotein</i> )
LOX	липоксигеназа (енг. <i>lipoxygenase</i> )
LPO	липидна пероксидација (енг. <i>lipid peroxidation</i> )
LUMO	најнижа непопуњена молекулска орбитала (енг. <i>lowest unoccupied molecular orbital</i> )
MI	интензитет масе (енг. <i>mass intensity</i> )
MW	микроталасно зрачење (енг. <i>microwave</i> )
NDGA	нордихидрогвајаретинска киселина (енг. <i>nordihydroguaiaretic acid</i> )
NMR	нуклеарна магнетна резонанција (енг. <i>nuclear magnetic resonance</i> )
NOESY	спектроскопија нуклеарног Оверхаузеровог ефекта (енг. <i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i> )
OE	оптимална ефикасност (енг. <i>optimum efficiency</i> )
OLED	органске светлеће диоде (енг. <i>organic light-emitting diodes</i> )



one-pot	синтеза у једној фази (у једној реакционој посуди)
ORAC	метода апсорпције кисеоничних радикала (енг. <i>oxygen radical absorbance capacity</i> )
PA	енталпија депротоновања (енг. <i>proton affinity</i> )
PASE	<i>pot, atom, and step economic</i>
PBBS	поли( <i>N</i> -бром- <i>N</i> -етилбензен-1,3-дисулфонамид) (енг. <i>poly(N-bromo-N-ethyl-benzene-1,3-disulfonamide)</i> )
PDE	енталпија дисоцијације протона (енг. <i>proton dissociation enthalpy</i> )
PG	пропил галат (енг. <i>propyl gallate</i> )
PHOLED	органиске фосфоресцентне светлеће диоде (енг. <i>phosphorescent organic light-emitting diodes</i> )
PMA-SiO <sub>2</sub>	фосфомолибдинска киселина на силицијум-диоксиду (енг. <i>phosphomolybdic acid supported on silica</i> )
ROS	реактивне врсте кисеоника (енг. <i>reactive oxygen species</i> )
RNS	реактивне врсте азота (енг. <i>reactive nitrogen species</i> )
RMS (rms)	средња квадратна (девијација) (енг. <i>root mean square (deviation)</i> )
RME	ефикасност реакционе масе (енг. <i>reaction mass efficiency</i> )
RP	редукциона способност (енг. <i>reducing power</i> )
SET-PT	трансфер једног електрона уз трансфер једног протона (енг. <i>single electron transfer followed by proton transfer</i> )
SI	интензитет растварача (енг. <i>solvent intensity</i> )
SMD	солватациони модел заснован на густини (енг. <i>solvation model based on density</i> )
SOD	супероксид дизмутаза (енг. <i>superoxide dismutase</i> )
SPLET	секвенционални губитак протона уз трансфер електрона (енг. <i>sequential proton loss electron transfer</i> )
TBAB	тетрабутиламонијум бромид (енг. <i>tetrabutylammonium bromide</i> )
TBBDA	<i>N,N,N',N'</i> -тетрабромбензен-1,3-дисулфонамид (енг. <i>N,N,N',N'-tetrabromobenzene-1,3-disulfonamide</i> )
TBHQ	<i>tert</i> -бутилхидрохинон (енг. <i>tert-butylhydroquinone</i> )
TD-DFT	временски зависна метода функционала густине (енг. <i>time dependent density functional theory</i> )
TEAC	тролокс еквивалентни антиоксидативни капацитет (енг. <i>trolox equivalent antioxidant capacity</i> )
TEMPO	тетраметил-пиперидинил-1-окси (енг. <i>tetramethyl-piperidiny-1-oxyl</i> )
TFA	трифлуорсирћетна кселина (енг. <i>trifluoroacetic acid</i> )

TLC	танкослојна хроматографија (енг. <i>thin layer chromatography</i> )
TMS	тетраметилсилан (енг. <i>tetramethylsilane</i> )
TRAP	укупни антиоксидативни параметар који хвата радикале (енг. <i>total radical-trapping antioxidant parameter</i> )
TRIS	трис(хидроксиметил)аминометан (енг. <i>tris(hydroxymethyl)aminomethan</i> )
UV-Vis	ултраљубичаста-видљива (област) (енг. <i>ultraviolet-visible (area)</i> )
WI	интензитет воде (енг. <i>water intensity</i> )
X-ray	рендгенско зрачење
ДНК	дезоксирибонуклеинска киселина
еквив.	еквивалентно
експ.	експериментално
кат.	катализатор
н.р.	нема реакције
РНК	рибонуклеинска киселина
сим.	симулирано
с.т.	собна температура

## УВОД

Синтеза различитих биоактивних хетероцикала који садрже азот је одувек била важна тема у органској хемији. Поред тога што азотни хетероцикли, на пример пуринске и пиримидинске базе, улазе у састав градивних блокова живота, ова класа једињења испољава широк спектар и других биолошких активности. Осим тога, они чине интегрални део бројних лекова, као што су: целекоксиб, будралазин, помалидомид, морфин...<sup>1-4</sup>

Антиоксиданти, такође, често чине интегрални део многих лекова. Они су од велике важности за људско здравље јер могу да смање или неутралишу утицај слободних радикала, штитећи тако ћелије од оксидативних процеса. Стога су од великог значаја истраживања усмерена ка идентификацији нових антиоксиданата, нарочито фенолних.<sup>5</sup> Имајући то у виду, као и чињеницу да азотни хетероцикли испољавају широк спектар биолошких активности, веома је интересантна синтеза *N*-хетероцикличних једињења са фенолним фрагментом и са побољшаном антиоксидативном активношћу.<sup>6</sup>

Последњих година расте интерес за применом принципа зелене хемије при синтези различитих једињења, а сасвим је сигурно да ће овај тренд и наставити да расте. У вези са тим, план рада за израду ове дисертације, обухватио је и примену експерименталних методологија, попут органокатализе и употребе јонских течности при синтези деривата *N*-хетероцикала, као важних протокола зелене хемије и погодних алтернатива за замену токсичних органских растварача, метала и других катализатора који су штетни по животну средину. Агенција за заштиту животне средине и дефинише зелену, или одрживу, хемију и као дизајнирање хемијских процеса и производа уз смањење или елиминацију употребе или стварања опасних супстанци.<sup>7</sup>

Из тог разлога, у одељку **Општи део** ове докторске дисертације направљен је осврт на „зелене” методологије синтеза деривата одабраних азотних хетероцикала, као и на биолошка својства ових једињења.

Имајући у виду значај и актуелност органских синтеза заснованих на принципима зелене хемије, као и велики значај азотних хетероцикала са медицинског и биолошког аспекта, у оквиру ове дисертације оптимизацијом услова извршен је избор најпогоднијих метода за синтезу одабраних азотних хетероцикала уз задовољавање принципа зелене хемије. Такође, испитана је *in vitro* антоксидативна активност синтетисаних једињења применом UV-Vis спектроскопије и коришћењем стабилног DPPH радикала, као и њихова потенцијална инхибиторна активност сојине липоксигеназе (анти LOX активност). Постигнути резултати су представљени у одељку **Наши радови**. У оквиру ове докторске дисертације спроведене су синтезе различитих деривата *N*-хетероцикала, и то:

- 4,5-дихидро-1*H*-бензоил-пиразолских;
- 1-бензоил-1*H*-пиразолских;
- пиразол-фталазинских;
- тетрахидропиридинских;
- изоиндолин-1,3-дионских;

Сва добијена једињења су структурно окарактерисана помоћу UV-Vis, NMR и IR спектроскопије. Структуре нових једињења су додатно потврђене елементарном

анализом, а за одређена једињења урађена је и кристалографска карактеризација. Како би се добио бољи увид у структуру једињења, симулирани су IR, NMR и UV спектри користећи методе функционала густине. С обзиром на то да једињења са катехолском јединицом испољавају одличну антиоксидативну активност, извршена је синтеза азотних хетероцикала који у својој структури садрже и катехолску јединицу како би се добила једињења са што бољом антиоксидативном активношћу.

У одељку *Експериментални део* дати су експериментални подаци, укључујући и опште процедуре за добијање наведених азотних хетероцикличких деривата, њихове спектралне податке, физичке особине, као и методе рада. Резултати добијени током израде ове докторске дисертације публиковани су у оквиру пет научних радова у водећим међународним часописима. Сепарати радова дати су у *Прилогу*.

# **1. ОПШТИ ДЕО**

## 1.1. Азотни хетероцикли

Хетероциклична једињења су позната још од најранијих проучавања у области органске хемије почетком 19. века. Познато је да је 1818. године Бругнатели (Brugnatelli) из мокраћне киселине изоловао пиримидински дериват алоксан, док је 1832. године Доберајнер (Dobereiner) третирањем скроба или шећера сумпорном киселином произвео фурански дериват фурфурал. У овом периоду такође је откривен и пирол (1834. године) сувом дестилацијом костију, док је бензофуран пронађен у угљу током деведесетих година деветнаестог века.<sup>8,9</sup>

Генерална подела хетероцикличних једињења је на: хетероциклоалкане (нпр. пиперидин), хетероциклоалкене (нпр. 1,2,5,6-тетрахидропиридин) и хетероароматичне системе (нпр. пиридин). Међу њима су нарочито интересантни хетероароматични системи због своје термодинамичке стабилности. Ова једињења су отпорна на загревање, оксидацију, редукцију и подлежу реакцијама супституције пре него реакцијама адиције. Хетероциклична једињења у својој структури могу имати један или више хетероатома, као што су: азот, кисеоник, сумпор, фосфор...<sup>10</sup>

Најзаступљенији међу хетероцикличним једињењима су петочлани и шесточлани хетероцикли који у својој структури садрже азот, кисеоник или сумпор. Најпознатији међу њима су пиридин, пирол, имидазол, пиразол, пиримидин, тиофен и фуран.<sup>11</sup>

Хетероциклична једињења су изузетно важна област органске хемије због своје заступљености и значаја што потврђује велики број публикација у којима су описане синтезе и њихова различита биолошка, медицинска, агрохемијска и многа друга испитивања.<sup>12</sup> Руски научник Бекетов је упоредио хетероциклична једињења са накитом, прстеновима обложеним драгим камењем. Како је описао, подлогу прстена чине неколико атома угљеника, док улогу драгуља игра атом другог елемента, хетероатом. Генерално је познато да хетероатом даје хетероцикличном једињењу карактеристична и упечатљива својства.<sup>10</sup>

Хетероциклична једињења са азотом представљају градивне блокове живота и једну од најважнијих класа хетероцикличних и органских једињења јер улазе у састав бројних животно значајних биолошких структура и природних производа, као и медицинских и агрохемијских препарата.<sup>13-15</sup> Пиримидинске и пуринске азотне базе које улазе у састав нуклеинских киселина ДНК и РНК су управо азотни хетероцикли.<sup>10,16</sup>

Азотни хетероцикли су основна компонента и природних производа као што су аминокиселине и протеини, витамини, хормони, хем, хлорофили, ензими, антибиотици, алкалоиди.<sup>10,16</sup> Алкалоиди представљају физиолошки важна азотна хетероциклична једињења која се могу наћи у разним биљкама.

Азотни хетероцикли се убрајају у најзначајније структурне компоненте многих лекова са различитим ефектима, као што су: антибиотици (цефалоспорини, пеницилин Г, ципрофлоксацин), антифунгални лекови (флуконазол, миконазол), антималяријски лекови (хлорокин, плазмоцид), антивирусни лекови (ацикловир, рибавирин), барбитурати (барбитал, луминал), седативи и неуролептици (диазепам, феназепам), антипсихотици (зипрасидон, арипипразол), аналгетици (антипирин, артикаин),

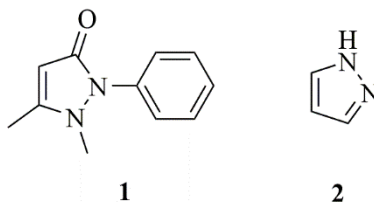
антиканцерогени лекови (6-меркаптопурин, стрептонигрин), антиулцерозни лекови (омепразол) и многи други.<sup>10</sup> Истраживања су показала да више од 75% комерцијално доступних лекова која је одобрила америчка управа за храну и лекове – FDA (енг. *Food and Drug Administration*) представљају азотна хетероциклична једињења.<sup>17</sup> Азотни хетероцикли имају значајну примену и као полимерни материјали.<sup>18</sup>

Азотни хетероцикли супституисани са  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NHNO}_2$  и  $-\text{C}(\text{NO}_2)_3$  групама представљају потенцијалне експлозиве и горивне материјале.<sup>19</sup> Материјали који садрже азотне хетероцикле су значајно допринели побољшању перформанси органских фосфоресцентних светлећих диода – PHOLED (енг. *phosphorescent organic light-emitting diodes*).<sup>20</sup> Хетероциклична једињења са азотом такође имају примену у координативној и супрамолекуларној хемији јер представљају лиганде, односно градивне блокове за многе метало-супрамолекуларне структуре.<sup>21</sup> Поред набројаних примена, ова једињења су и веома значајне компоненте у агрохемији при производњи хербицида, фунгицида и инсектицида, у технологији као адитиви, у козметици, као аналитички реагенси...<sup>10</sup> Из свега наведеног може се извести закључак да азотна хетероциклична једињења представљају веома важну класу једињења због бројних примена у различитим областима истраживања и, очигледно је да ће увек бити главна тема интересовања научника који се баве синтезом нових азотних хетероцикала и испитивањем њихових биолошких активности.

## 1.2. Деривати пиразола

Пиразоли представљају хетероциклична једињења из групе азола са петочланим прстеном који садржи два везана атома азота.<sup>22</sup> За откриће пиразола заслужни су Лудвиг Кнор (Ludwig Knorr) и Едвард Бихнер (Eduard Buchner). Термин пиразол је познат од 1883. године када је Лудвиг Кнор синтетисао пиразолонски дериват антипирин или комерцијално познат као феназон, један од првих аналгетских лекова који је испољио и антипиретска својства. Заправо, Кнор је у реакцији између ацетсирћетног естра и фенилхидразина, имао циљ да синтетише тетрахидрохинолин, али је добио пиразолонски дериват феназон **1** (Слика 1).<sup>23-25</sup>

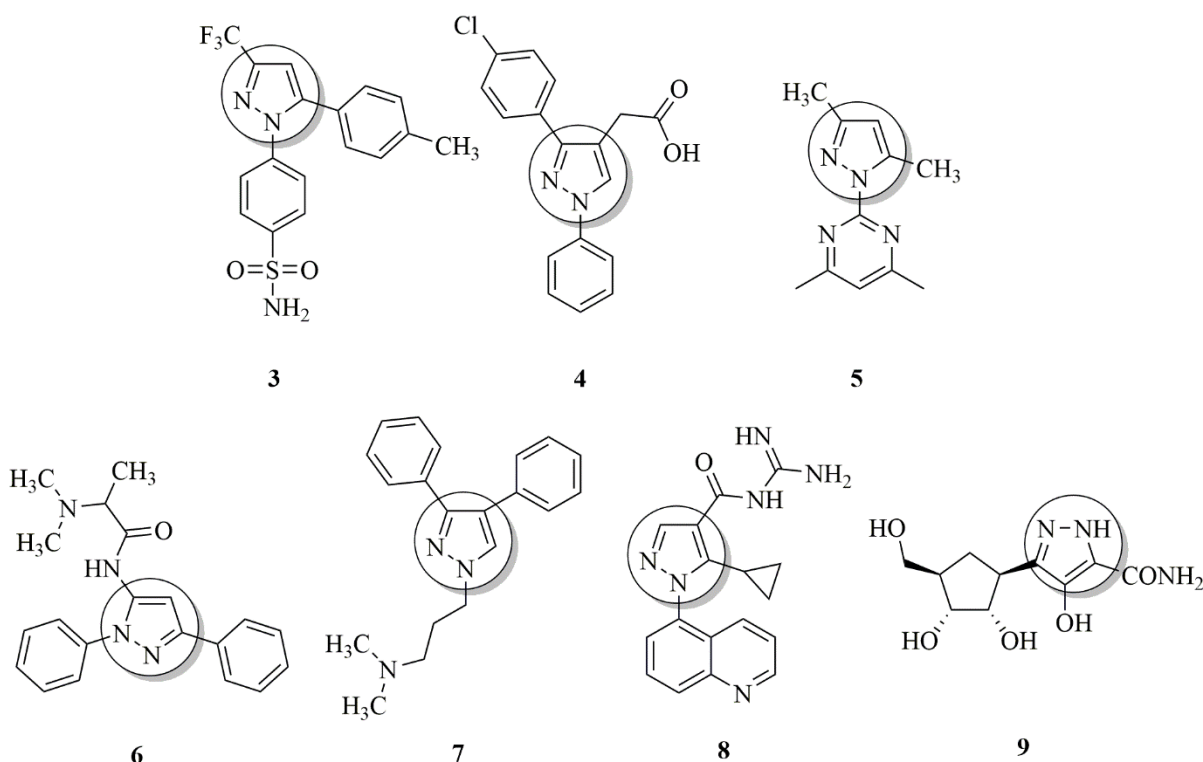
Едвард Бихнер је 1889. године објавио прву синтезу пиразола **2** декарбоксилацијом 1*H*-пиразол-3,4,5-трикарбоксилне киселине.<sup>26</sup>



Слика 1. Структуре феназона (**1**) и пиразола (**2**).

Велики број пиразолских деривата представља природне производе који су веома значајни са хемијског, фармаколошког, биолошког и агрохемијског аспекта.<sup>27</sup> Постоји и велики број комерцијално доступних лекова који у својој структури садрже пиразолску јединицу, као на пример: целекоксиб **3**, лоназолак **4**, мепиризол **5** (имају антиинфламаторно дејство), дифенамизол **6** (аналгетско дејство), фезоламин **7**

(антидепресивно дејство), зонипорид **8** (кардиопротективно дејство), пиразомицин **9** (антивирусно и антитуморско дејство) и др. (Слика 2).<sup>28–34</sup>



Слика 2. Структуре комерцијално доступних лекова са пиразолском јединицом **3–9**.

Поред већ наведених дејстава, ова једињења испољавају и бројне друге активности, као што су: анксиолитична, антимикуробна, хипогликемијска, антитуберкулозна, антиконвулзивна, антипролиферативна итд.<sup>35–40</sup> Сматрало се да је налажење пиразола у природи веома ретко, што се приписивало тешком образовању –N–N– везе од стране живих организама.<sup>41</sup> Међутим, 3-*n*-нонил-1*H*-пиразол је први пиразолски дериват изолован из азијске биљке *Houttuynia cordata*, а познат је и β-(1-пиразолил)аланин изолован из семена лубенице.<sup>42</sup> Поред наведених пиразолских деривата, још неки примери биолошки важних пиразола изолованих из различитих биљака и бактерија су:

- L-α-амино-β-(пиразолил-*N*)-пропанска киселина – први природни пиразолски производ изолован из биљке *Citrullus vulgaris* (антидијабетска својства),
- витасомнин, 4'-хидроксивитасомнин, 4'-метоксивитасомнин – изоловани из биљке *Withania somnifera* Dun (аналгетска, антиинфламаторна својства),
- пиразофурин, пиразофурин Б – изоловани из бактерије *Streptomyces candidus* (антитуморска и антивирусна својства)
- флувиоли (А–Е) – изоловани из бактерије *Pseudomonas fluorescences* (антимикробна својства).<sup>43</sup>

Пиразолски деривати су такође показали веома значајну примену у агрохемији као инсектициди, хербициди и фунгициди.<sup>44–46</sup> Велику примену су нашли и у супрамолекуларној хемији као градивни блокови,<sup>47</sup> координативној хемији као значајни



лиганди,<sup>48</sup> у хемији полимера испољавајући интересантне електролуминисцентне особине,<sup>49</sup> и као интермедијери у органској хемији.<sup>50</sup>

После синтезе коју је описао Кнор<sup>23</sup> објављен је велики број реакција за синтезу једињења са пиразолским фрагментом. Генерално, највише су заступљене следеће методе:

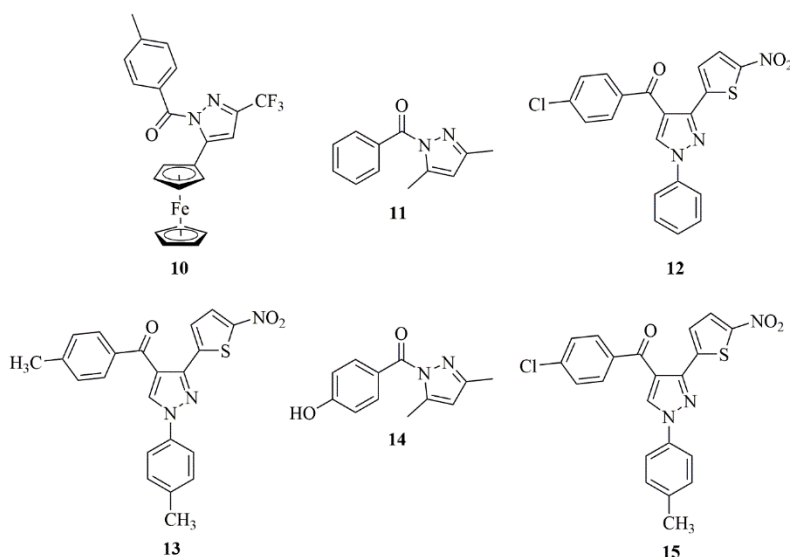
- кондензација хидразина и сличних деривата са 1,3-дикарбонилним једињењима<sup>51</sup>
- реакције 1,3-диполарне циклоадиције<sup>52</sup>
- мултикомпонентне реакције.<sup>53</sup>

У наставку ће бити описани бензоил-пиразоли и пиразол-фталазини као пиразолски деривати.

### 1.2.1. Деривати бензоил-пиразола

Бензоил-пиразоли испољавају значајне активности попут антибактеријске, антифунгалне,<sup>51,54</sup> аналгетске, антиинфламаторне,<sup>55</sup> антиепилептичне,<sup>51</sup> антитуморске<sup>42</sup> и бројне друге.

На Слици 3 представљени су бензоил-пиразолски деривати који испољавају значајну биолошку активност. Једињење **10** испољава значајну антитуморску активност,<sup>42</sup> једињења **11** и **14** испољавају антиинфламаторну активност сличну активности стандардног лека индометацина, али и аналгетску активност бољу од стандардног лека пентазоцина.<sup>55</sup> Поред наведених активности, једињење **11** испољава још и антиепилептичну и антимицробну активност.<sup>51</sup> Бензоил-пиразолски деривати **12**, **13** и **15** показали су одличну антибактеријску активност према четири соја бактерија: *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Bacillus subtilis* и то бољу од стандарда нитрофуразона. Иста једињења су испољила одличну антифунгалну активност према гљиви *Candida albicans* (NCIM No. 3100), знатно бољу у односу на стандард флуконазол.<sup>54</sup>



Слика 3. Неки биолошки активни бензоил-пиразолски деривати.

Бензоил-пиразоли су такође значајни лиганди у координативној хемији за грађење паладијумових комплекса, при чему су лиганди супституисани електрон-привлачним групама градили бинуклеарне комплексе, док су лиганди супституисани електрон-донорским групама градили мононуклеарне комплексе.<sup>56</sup>

### 1.2.1.1. Синтеза бензоил-пиразолских деривата

#### Кондензација хидразина са 1,3-дикарбонилним једињењима

##### 1) Кондензација ацетилацетона и бензохидразида

Бензоил-пиразолски деривати се могу добити реакцијом 1,3-дикарбонилног једињења ацетилацетона **16** и бензохидразида **17** (деривата хидразина), при чему настаје бензоил-пиразол **11** који је већ споменут као једињење које испољава антиинфламаторну, антимикробну, аналгетску и антиепилептичну активност (Схема 1).<sup>51,55</sup>

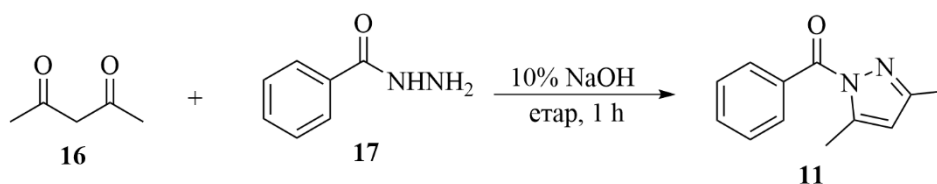
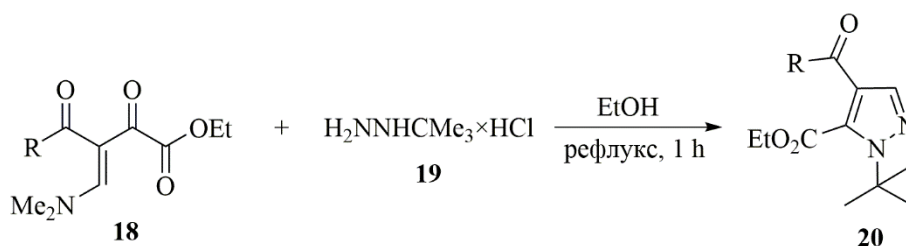


Схема 1. Синтеза бензоил-пиразола кондензацијом бензохидразида и ацетилацетона.

##### 2) Циклокондензациона реакција асиметричних енаминодикетона и *tert*-бутилхидразин хидрохлорида

Бензоил-пиразолски деривати се могу добити и циклокондензационом реакцијом асиметричних енаминодикетона **18** и *tert*-бутилхидразин хидрохлорида **19**, при чему се добијају бензоил-пиразолски деривати **20** у добром до одличном приносу (73–91%) (Схема 2).<sup>57</sup>



R = Ph, 4-Cl-Ph, 4-F-Ph, 4-MeO-Ph, 4-O<sub>2</sub>N-Ph

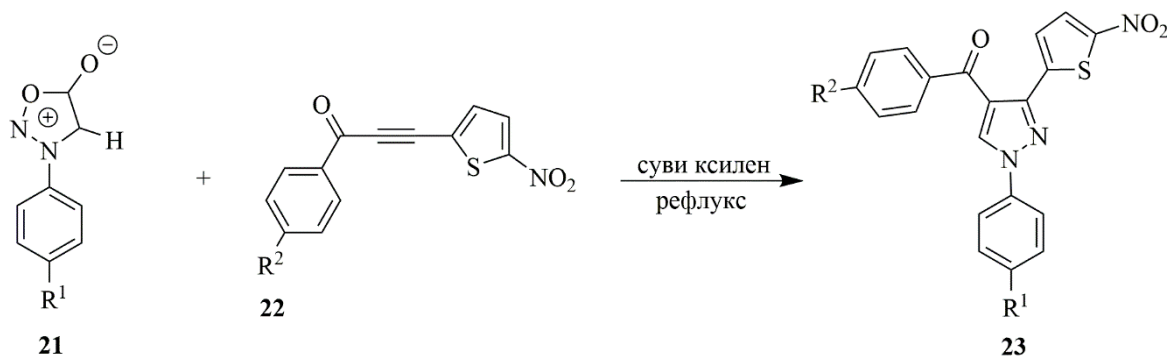
Схема 2. Синтеза бензоил-пиразола кондензацијом енаминодикетона и *tert*-бутилхидразин хидрохлорида.

## Реакције 1,3-диполарне циклоадиције

Бензоил-пиразоли се могу добити [3+2] циклоадиционом реакцијом између 1,3-диполарних једињења, као што су нитрилимине, диазо једињења или сиднони и алкина или олефина.<sup>54,58</sup>

### 1) Синтеза бензоил-пиразола циклоадиционом реакцијом сиднона и ацетиленских кетона

Рај (Raj) и сарадници су представили синтезу бензоил-пиразолских деривата **23** 1,3-диполарном циклоадиционом реакцијом арилсиднона **21** и ацетиленских кетона **22** у сувом ксилену, загревањем до рефлукса (Схема 3).<sup>54</sup>



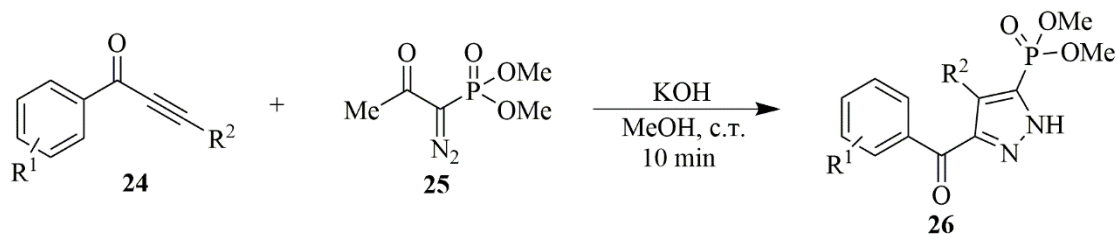
R<sup>1</sup> = H, Me, OMe

R<sup>2</sup> = H, Me, OMe, Cl

Схема 3. Циклоадициона реакција сиднона и алкина за синтезу бензоил-пиразола **23**.

### 2) 1,3 Диполарна циклоадиција диазо једињења и инона

Праманик (Pramanik) и сарадници су представили синтезу бензоил-пиразола **26**, поред других пиразолских деривата, 1,3-диполарном циклоадиционом реакцијом инона **24** са диметил (диазометил) фосфонатом **25**. У овој реакцији добијени су бензоил-пиразолски фосфонати у одличном приносу (Схема 4).<sup>58</sup>



R<sup>1</sup> = H, 3-MeO

R<sup>2</sup> = Ph, 4-Me-Ph, 4-F-Ph, TMS

Схема 4. Синтеза бензоил-пиразолских фосфоната **26**.

**Мултикомпонентне реакције****1) Синтеза бензоил-пиразола преко *in situ* образованог нитрилимина**

Група научника је објавила *one-pot* синтезу супституисаних бензоил-пиразола **30** циклоадицијом 1,3-дикарбонилног једињења **29** и нитрилимина који је образован *in situ* у реакцији арилдиазонијумове соли **27** и диазо естара **28** (Схема 5).<sup>59</sup>

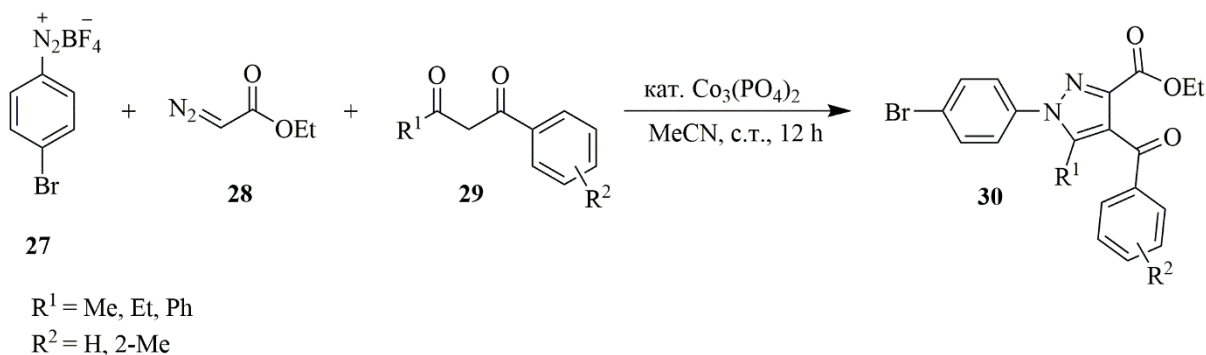


Схема 5. Синтеза бензоил-пиразола у реакцији 1,3-дикарбонилног једињења и *in situ* образованог нитрилимина.

**2) Синтеза бензоил-пиразола преко *in situ* образованог диазо једињења**

Бензоил-пиразолски деривати **34** се могу добити *one-pot* мултикомпонентном реакцијом преко *in situ* добијеног  $\alpha$ -диазокетона са алкенима за које је везана електрон привлачна група – EWG (енг. *electron-withdrawing group*) **33** (Схема 6). У овој синтези бензоил-пиразолских деривата,  $\alpha$ -диазокетони су добијени у реакцији арилглиоксалних монохидрата **31** и тозилхидразина **32**.<sup>60</sup>

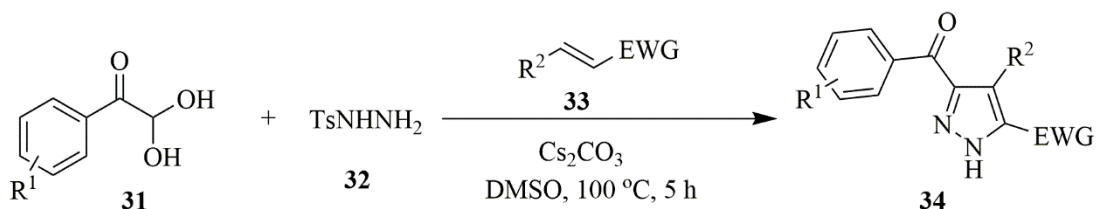


Схема 6. Синтеза бензоил-пиразола **34** из *in situ* добијеног диазо једињења.

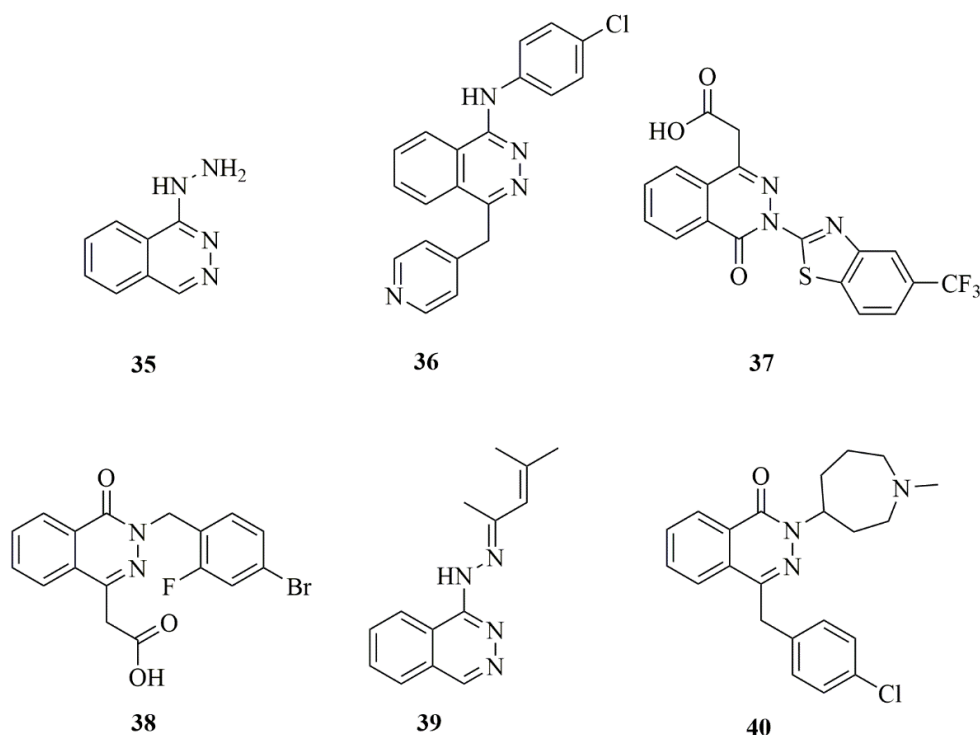
**1.2.2. Деривати пиразол-фталазина**

Хетероциклична једињења која у својој структури садрже кондензовани фталазински и пиразолски прстен, постала су веома значајна тема истраживања због биолошких својстава која су испољила испитивана једињења као што су антимикуробна,<sup>61,62</sup>

антиуберкулозна, антиоксидативна,<sup>62</sup> антиинфламаторна<sup>63</sup> и неуропротективна својства.<sup>64</sup>

У већем броју радова испитивана су биолошка својства једињења са пиразолским фрагментом или фталазинским фрагментом, док су радови са кондензованим пиразол-фталазинским дериватима мање заступљени. Попут једињења са пиразолском јединицом, фталазински деривати такође испољавају широк спектар активности, као што су: антитуморска,<sup>65</sup> антиконвулзивна,<sup>66</sup> антифунгална,<sup>67</sup> антиканцерогена,<sup>68</sup> антиинфламаторна...<sup>69</sup>

Нису познати комерцијално доступни лекови са пиразол-фталазинском јединицом, али се на основу одличних биолошких својстава која су претходно наведена, испитивана пиразол-фталазинска једињења могу сматрати потенцијалним лековима.<sup>61-64</sup> У литератури се могу наћи лекови са пиразолском јединицом, који су наведени у претходном поглављу и лекови са фталазинском јединицом, као што су: хидралазин (антихипертензив) **35**, ваталаниб РТК-787 (антиканцероген) **36**, зополрестат (антидијабетик) **37**, поналрестат (антидијабетик) **38**, будралазин (антихипертензив) **39** и азеластин (антиалергетик) **40** (Слика 4).<sup>70-75</sup>



Слика 4. Структуре неких комерцијално доступних лекова са фталазинском јединицом **35–40**.

Недавна студија је показала да су *in vitro* тестирани пиразол-фталазини показали бољу инхибиторну активност према ензимима карбонске анхидразе I и II изозима – hCA I и II (енг. *carbonic anhydrase I and II isozymes*), ацетилхолинестеразе – AChE (енг. *acetylcholinesterase*), бутирилхолинестеразе – BChE (енг. *butyrylcholinesterase*) и  $\alpha$ -гликозидазе –  $\alpha$ -Gly (енг.  *$\alpha$ -glycosidase*) од референтних инхибитора и то ацетазоламида (енг. *acetazolamide*) – инхибитора hCA I и II, акарбозе (енг. *acarbose*) – инхибитора  $\alpha$ -Gly и такрина (енг. *tacrin*) – инхибитора AChE и BChE. Такође, испитивани пиразол-

фталазини представљају синтетичке аналоге за лечење Алцхајмерове болести и дијабетеса.<sup>76</sup>

Након фотохемијског испитивања пиразол-фталазина и посматрањем понашања њихових флуоресцентних особина, отвара се могућност примене испитиваних једињења као флуоресцентних молекула.<sup>77</sup>

### 1.2.2.1. Синтеза пиразол-фталазинских деривата

С обзиром на значај деривата пиразол-фталазина, у литератури се може наћи неколико метода за њихову синтезу, као што су:

#### 1) Реакција фталхидразида, алдехида и малонитрила/етил цијаноацетата

На Схеми 7 представљена је трокомпонентна реакција за синтезу пиразол-фталазина **44** у којој учествују: фталхидразид **41**, алдехид **42** и малонитрил **43**. Деривати пиразол-фталазина добијени су у одличном приносу без употребе растварача, загревањем на температури 80–100 °C и уз примену катализатора *N,N,N',N'*-тетрабромбензен-1,3-дисулфонамида – TBBDA (енг. *N,N,N',N'*-tetrabromobenzene-1,3-disulfonamide) и поли(*N*-бром-*N*-етилбензен-1,3-дисулфонамида) – PBBS (енг. *poly(N-bromo-N-ethylbenzene-1,3-disulfonamide)*).<sup>78</sup>

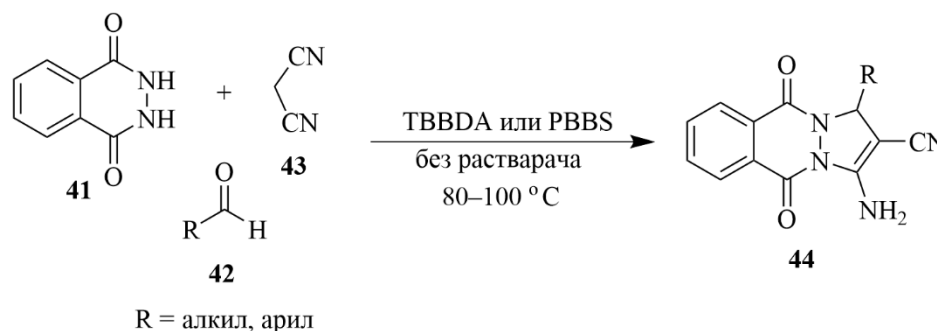


Схема 7. *One-pot* трокомпонентна синтеза деривата пиразол-фталазина **44**.

Набид (Nabid) и сарадници су представили *one-pot* трокомпонентну реакцију између фталхидразида **41**, ароматичног алдехида **45** и малонитрила или етил цијаноацетата **46**. Уз примену ултразвука, триетиламина као катализатора и етанола као растварача добијени су деривати пиразол-фталазина **47** у високом приносу за кратко реакционо време (Схема 8).<sup>79</sup>

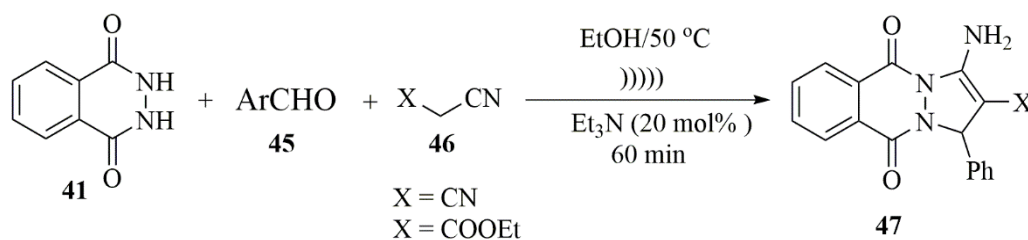


Схема 8. *One-pot* трокомпонентна синтеза деривата пиразол-фталазина **47**.

У базно-катализованој циклокондензационој реакцији између 3-метил-5-арилокси-1-арил-1*H*-пиразол-4-карбалдехида **48**, малононитрила или етил цијаноацетата **46** и 2,3-дихидро-1,4-фталазиндиона **49**, синтетисани су пиразол-фталазини **50** у добром до одличном приносу (Схема 9).<sup>62</sup>

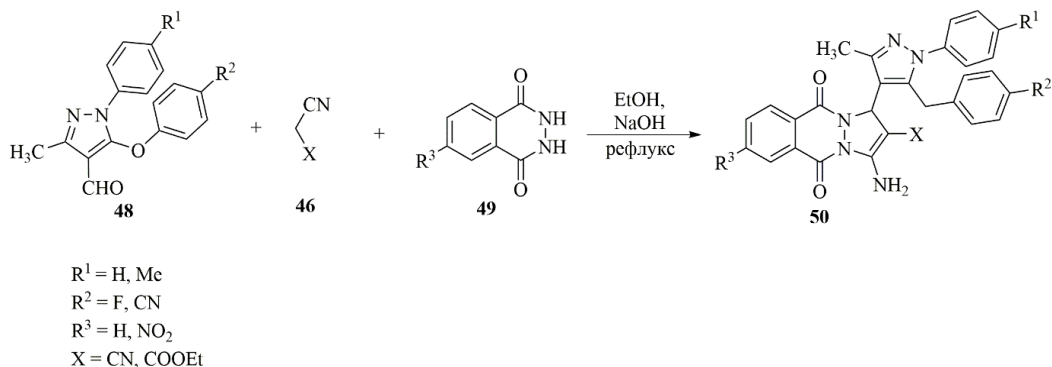


Схема 9. *One-pot* трокомпонентна синтеза деривата пиразол-фталазина **50**.

Балех (Valeh) и сарадници представили су синтезу пиразол-фталазина у четворокомпонентној реакцији фталимида, хидразин-хидрата, ароматичног алдехида и малононитрила уз присуство  $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  као катализатора у етанолу и загревањем до рефлукса.<sup>64</sup>

У реакцији фталхидразида, ароматичних алдехида и арилацетонитрила остварена је синтеза пиразол-фталазина у присуству индијум (III)-хлорида као катализатора, без растварача и загревањем до 80 °C.<sup>80</sup>

Рој (Roy) и сарадници су синтетисали пиразол-фталазине у четворокомпонентној реакцији фталимида/анхидрида фталне киселине, хидразин монохидрата (синтеза фталхидразида), етил цијаноацетата и ароматичног алдехида у присуству L-пролина као катализатора и LiCl као кокатализатора у смеси воде и алкохола (1:1) као растварача и загревањем до 80 °C.<sup>81</sup>

## 2) Реакција фталхидразида, ацетилацетона и алдехида

Трокомпонентна реакција кондензације фталхидразида **41**, 1,3-дикетона **16** и алдехида **51** у присуству фосфомолибдинске киселине на силицијум-диоксиду – PMA-SiO<sub>2</sub> (енг. *phosphomolybdic acid supported on silica*) као катализатора, представљена је на Схеми 10, где су као 1,3-дикетони коришћени димедон и ацетилацетон, при чему су са димедоном добијени индазол-фталазински деривати, а са ацетилацетоном пиразол-фталазински деривати **52**.<sup>82</sup>

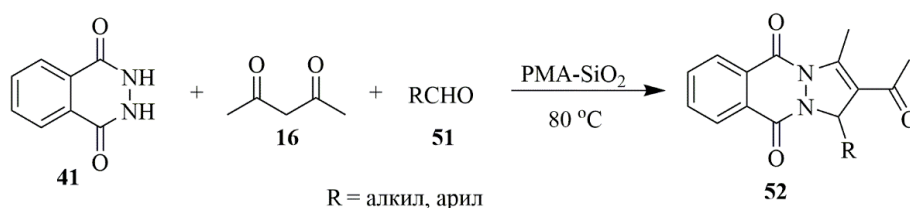


Схема 10. Трокомпонентна реакција кондензације фталхидразида, 1,3-дикетона и алдехида.

### 3) Реакција алкил изоцијанида, фталхидразида и диалкил ацетилендикарбоксилата

*One-pot* трокомпонентном синтезом добијени су деривати пиразол-фалазина **55** у реакцији алкил изоцијанида **53**, диалкил ацетилендикарбоксилата **54** и фталхидразида **41** у ацетону на собној температури (с.т.) за 48 h (Схема 11).<sup>83</sup>

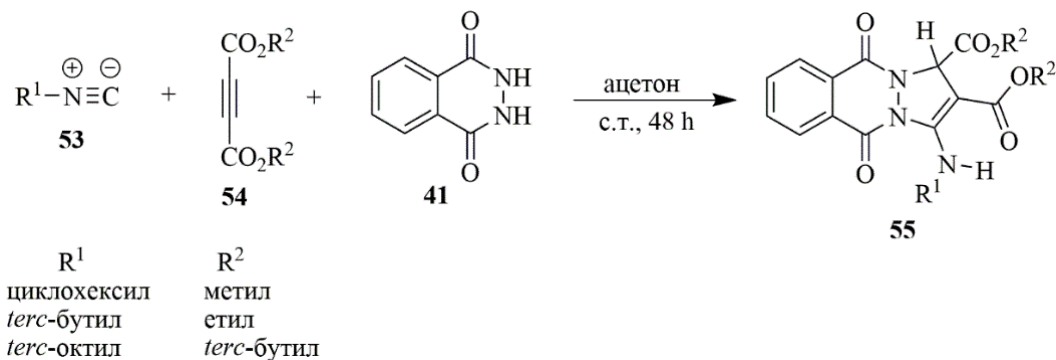


Схема 11. Трокомпонентна реакција алкил изоцијанида, диалкил ацетилендикарбоксилата и фталхидразида.

### 4) Реакција хинолина, фталхидразида и малонитрила/етил цијаноацетата

Ша (Shah) и сарадници су представили методу за добијање пиразол-фалазина **58** у *one-pot* трокомпонентној реакцији хинолина **56**, малонитрила или етил цијаноацетата **46** и фталхидразида **57** (Схема 12). Реакција је изведена уз примену каталитичке количине пиперидина и у етанолу загревањем до рефлукса. Сва синтетисана једињења су тестирана на антибактеријску и антифунгалну активност при чему су показала значајну активност према врстама *Clostridium tetani*, *Bacillus subtilis* и *Candida albicans*.<sup>61</sup>

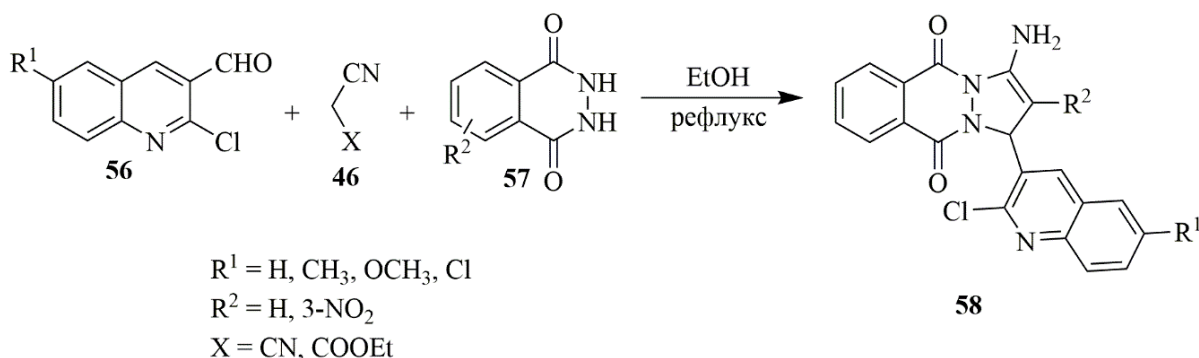


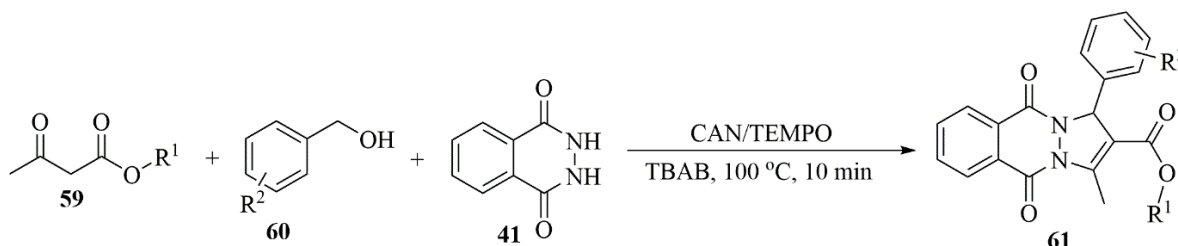
Схема 12. Синтеза пиразол-фалазина **58** у реакцији хинолина, фталхидразида и малонитрила/етил цијаноацетата.

### 5) Реакција бензил алкохола, фталхидразида и метил/етил ацетоацетата

На Схеми 13 представљена је синтеза пиразол-фалазинских деривата **61** трокомпонентном реакцијом између метил/етил ацетоацетата **59**, бензил алкохола **60** и фталхидразида **41** у присуству оксидативних реагенса церијум амонијум нитрата и тетраметил-пиперидинил-1-окси – CAN/TEMPO (енг. *ceric ammonium nitrate/tetramethyl-*



*piperidinyl-1-oxy*) и у присуству катализатора тетрабутиламонијум бромида – ТВАВ (енг. *tetrabutylammonium bromide*). Реакција је изведена уз загревање на 100 °С у трајању од 10 min.<sup>84</sup>



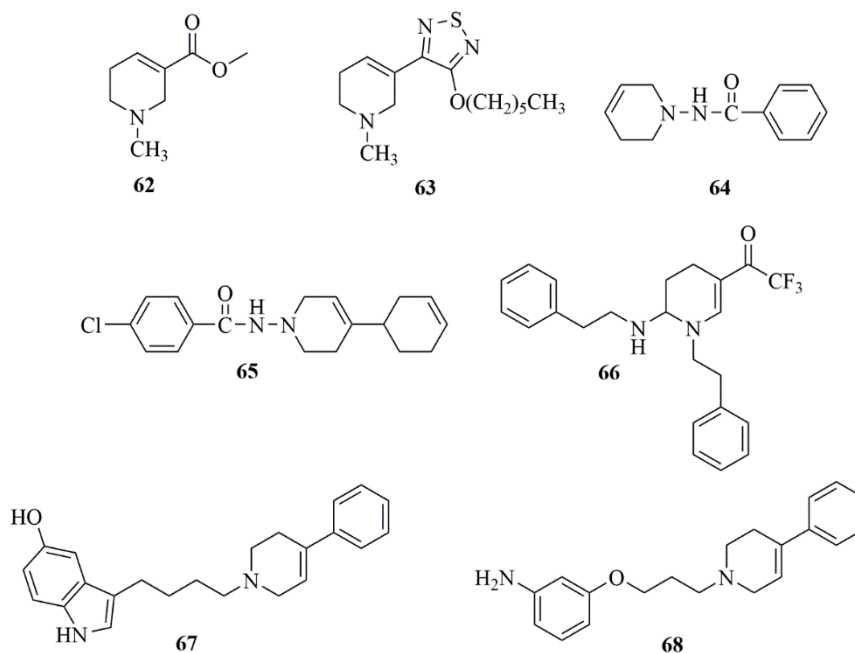
R<sup>1</sup> = Me, Et

R<sup>2</sup> = Cl, Br, Me, OMe

**Схема 13.** Синтеза пиразол-фталазина **61** у реакцији бензил алкохола, фталхидразида, и метил/етил ацетоацетата.

### 1.3. Деривати тетрахиdropиридина

Деривати тетрахиdropиридина или функционализовани дехидропиперидини су одувек привлачили пажњу научника због значајних биолошких својстава која испољавају. На Слици 5 представљени су неки биолошки активни тетрахиdropиридини. Ареколин (**62**) је природни алкалоид који, као и једињење **63**, делује као агонист мускаринског ацетилхолина и оба једињења представљају потенцијалне агенсе у лечењу Алцхајмерове болести.<sup>85,86</sup> Једињења **64** и **65** испољавају антиинфламаторна својства приближна својствима која испољава индометацин као стандард.<sup>87,88</sup> Тетрахиdropиридински дериват **66** (NUNL02) показао је инхибиторна својства против бактерије *Escherichia coli*, упоредива са стандардом хлорпромазином и одличну антимикробну активност против микроба групе *Mycobacterium abscessus* такође.<sup>89,90</sup> Једињење **67** – роксиндол (*roksindole/EMD 49 980*) представља допамински и серотонински лек који има антипсихотична својства и користи се у лечењу шизофреније, а такође испољава и антидепресивна и антианксиолитична својства.<sup>91</sup> Дериват тетрахиdropиридина **68** (аминоалкокси анилин) попут лека роксиндола представља агонист допамина и испољава одличну антипсихотичну активност, па се може сматрати потенцијалним антипсихотиком (Слика 5).<sup>92</sup> Важно је нагласити да неки тетрахиdropиридини испољавају одличну антималаријску активност, једнаку или бољу од познатог лека хлорокина.<sup>93</sup>



Слика 5. Биолошки активни деривати тетрахиdropиридина **62–68**.

Поред наведених активности, деривати тетрахиdropиридина испољавају и кардиопротективну,<sup>94</sup> инсектицидну<sup>95</sup> и анти-ХИВ активност.<sup>96</sup>

Деривати тетрахиdropиридина су, такође, значајни и у прехранбеној индустрији.<sup>97</sup> Тако, на пример 2-ацетилтетрахиdropиридин (и то две таутомерне форме овог једињења: 2-ацетил-3,4,5,6-тетрахиdropиридин и 2-ацетил-1,4,5,6-тетрахиdropиридин) представља важну ароматичну компоненту укуса у бројним намирницама, као што су кокице,<sup>98</sup> свеже печени хлеб,<sup>99</sup> крекери,<sup>100</sup> пиринчане торте,<sup>101</sup> кукурузне тортиље.<sup>102</sup>

Истраживања су показала да једињења 2-етилтетрахиdropиридин и 2-ацетилтетрахиdropиридин, које производи бактерија млечне киселине *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176, дају ароматичност вину.<sup>103</sup>

### 1.3.1. Синтеза деривата тетрахиdropиридина

Познато је неколико метода за синтезу деривата тетрахиdropиридина/функционализованих дехидропиперидина, као што су: Манихова реакција, аза-Принс и аза-силлил-Принс реакција, аза-Дилс-Алдерова реакција, [3+3] циклоадициона реакција.

Кларк (Clarke) и сарадници представили су PASE (енг. *pot, atom, and step economic*) мултикомпонентну реакцију за синтезу функционализованих пиперидина **72** у присуству индијум(III)-хлорида ( $\text{InCl}_3$ ) као Луисове киселине и у ацетонитрилу као растварачу на собној температури. У овој петокомпонентној кондензационој реакцији учествују  $\beta$ -кетоестар **69**, ароматични амини (2 еквив.) **70** и ароматични алдехиди (2 еквив.) **71** (Схема 14).<sup>104</sup>

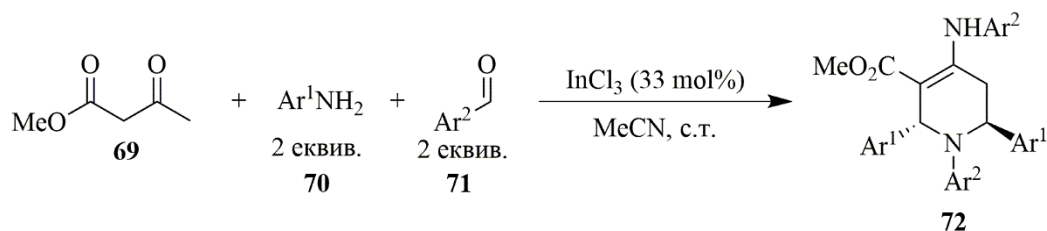


Схема 14. PASE мултикомпонентна реакција за синтезу функционализованих пиперидина.

У литератури се може наћи још неколико реакција попут наведене методологије уз примену различитих катализатора и растварача, као што су: L-пролин/TFA (енг. *trifluoroacetic acid*),<sup>93</sup> CAN/MeCN,<sup>105</sup> [K<sup>+</sup>PEG]Br<sub>3</sub><sup>-</sup> (калијумбромид заједно са полиетиленгликолом)<sup>106</sup> и пикринска киселина/MeOH и H<sub>2</sub>O.<sup>107</sup>

Сан (Sun) и сарадници су објавили методологију за синтезу 1,2,3,4-тетрахидропиридина **76** коришћењем дихидропирана **73**, као прекурсора који реагује са анилином **74**, и нуклеофила **75**. У овој реакцији хетероатом дихидропирана је супституисан азотом из анилина док је у суседном положају везан нуклеофил (Схема 15). Реакција је изведена у присуству катализатора LiBr×H<sub>2</sub>O, док је нитрометан употребљен као супстрат и растварач истовремено.<sup>108</sup>

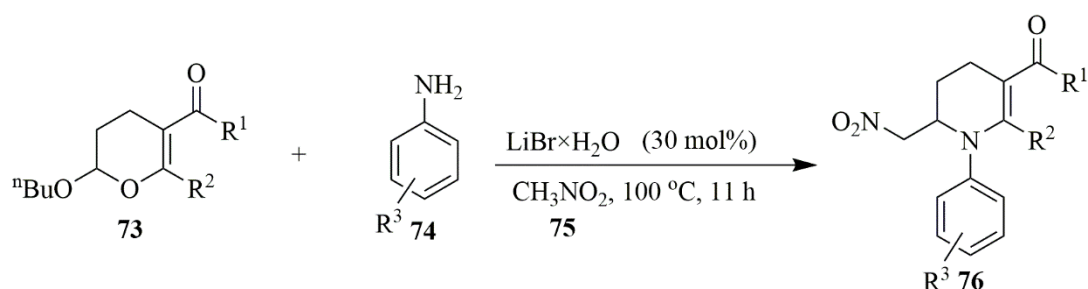
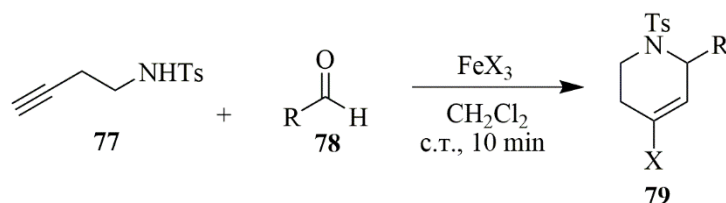


Схема 15. Синтеза 1,2,3,4-тетрахидропиридина **76** из дихидропирана.

На Схеми 16 представљена је аза-Принс (*aza-Prins*) циклизација  $\gamma,\delta$ -незасићених тозиламина **77** и алдехида **78** у присуству гвожђе (III)-халогенида, која такође даје тетрахиdropиридине **79** у добром до одличном приносу.<sup>109</sup>



R = H, алкил, арил

X = Cl, Br

Схема 16. Синтеза тетрахиdropиридина **79** *aza-Prins* циклизационом реакцијом.

Позната је и аза-силил-Принс циклизација у којој реагују силиловани хомоалилни амин и алдехид у присуству  $\text{InCl}_3$  као Луисове киселине и у ацетонитрилу загревањем до рефлукса, при чему настају *транс*-супституисани тетрахидропиридини.<sup>110</sup>

Хан (Han) и сарадници представили су органокатализовану асиметричну Аза-Дилс-Алдерову реакцију *N*-тозил-1-аза-1,3-бутадиена **80** и алдехида **81** за добијање пиперидинских деривата **83**. Реакција је изведена у присуству  $\alpha,\alpha$ -дифенилпролинол триметилсилил етра **82** (10 mol%) и сирћетне киселине (10 mol%) у смеши ацетонитрила и воде (10:1) на собној температури (Схема 17). У већини случајева запажена је одлична енантиоселективност (до 99% *ee*).<sup>111</sup>

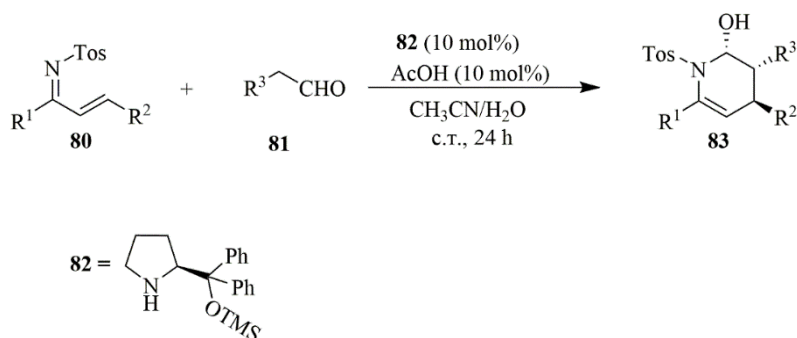


Схема 17. Органокатализована асиметрична Аза-Дилс-Алдерова реакција за добијање пиперидинских деривата **83**.

На Схеми 18 представљена је [3+3] циклоадициона реакција сулфонилацетамида **84** и  $\alpha,\beta$ -незасићеног естра **85** при чему настаје пиперидински дериват **86** који је даље употребљен за синтезу MDL-11939 **87**, потенцијалног антиаритмијског агенса.<sup>112</sup>

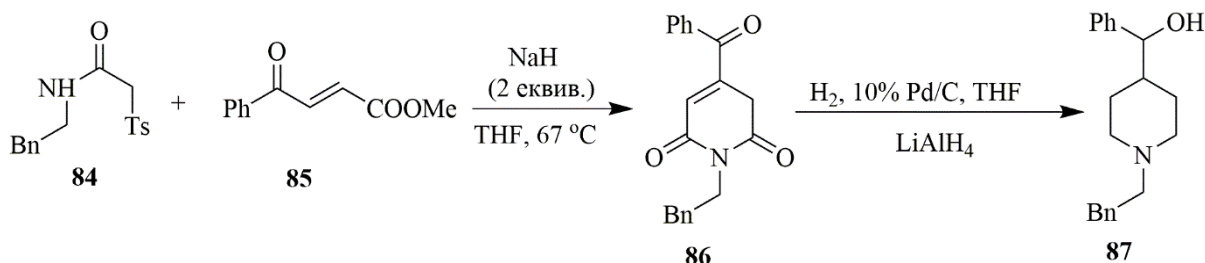
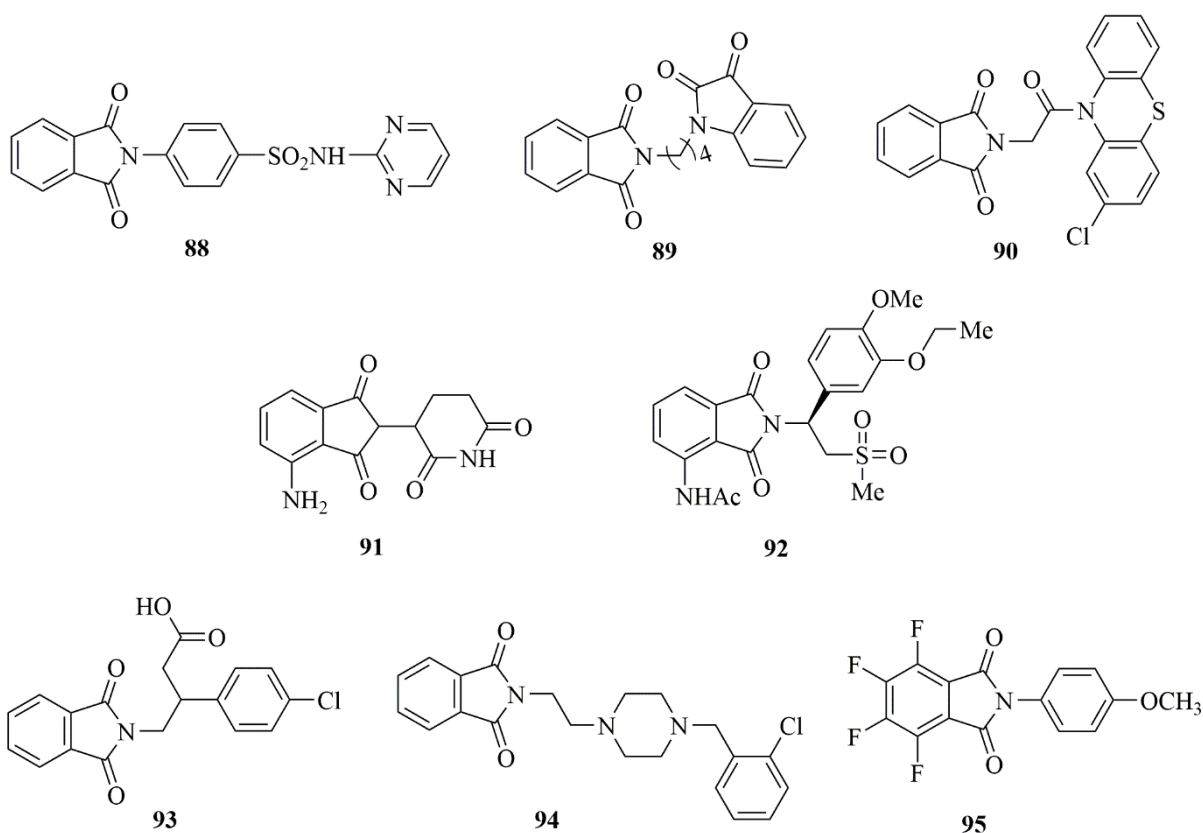


Схема 18. Синтеза пиперидинског деривата **86** и његова даља примена у синтези MDL-11939 **87**.

## 1.4. Деривати изоиндолин-1,3-диона

Међу различитим цикличним имицима, изоиндолин-1,3-дионски деривати (фталимидни деривати) представљају једињења која садрже  $-\text{CO}-\text{N}(\text{R})-\text{CO}-$  јединицу. Због широког спектра биолошких активности које испољавају, ова једињења су честа фармакофора бројних природних производа и фармацевтских препарата (Слика 6).<sup>113-118</sup> Једињење **88** је *in vitro* показало бољу активност од познатог антитуберкулозног лека пиазинамида.<sup>113</sup> Изоиндолински дериват **89** је *in vitro* испитивањем показао цитотоксичну активност код различитих ћелија канцера и то на ћелијама јетре, плућа, дебелог црева и код леукемије.<sup>114</sup> Једињење **90** испољава одличну антибактеријску и

антифунгалну активност која је попут активности стандарда ципрофлоксацина и флуконазола.<sup>115</sup> Једињења **91** и **92** су комерцијално доступни лекови и то једињење **91** познато као помалидомид представља лек са антиканцерогеним својствима за лечење мултиплог мијелома, а једињење **92** је лек апремиласт који има антиинфламаторна својства и користи се у лечењу псоријазе, псоријатичних артропатија и Бехчетовог синдрома.<sup>116,117</sup> Изоиндолин-1,3-дионски дериват **93** испољава одличну антиконвулзивну активност, чак двадесет пута бољу од стандардног лека валпроата.<sup>118</sup> Аналоги лека донепезила, који су изоиндолин-1,3-дионски деривати, испољавају одличну инхибиторну активност ензима ацетилхолинестеразе и представљају потенцијалне лекове за лечење Алцхајмерове болести, при чему је једињење **94** испољило најбољу активност.<sup>119</sup> Изоиндолински дериват **95** представља структурни аналог познатог лека талидомида. У поређењу са талидомидом он показује бољу инхибиторну активност на ендотелијалне и ћелије карцинома простате.<sup>120</sup>



Слика 6. Структуре неких биолошки активних изоиндолин-1,3-дионских деривата.

Такође, изоиндолин-1,3-диони улазе у састав неких алкалоида као што су ребекамицин – антитуморски антибиотик, арциријафлавин – потенцијални лек за ендометриозу, гранулатимид и изогранулатимид – ароматични алкалоиди који су познати инхибитори ћелијског циклуса у Г2 фази.<sup>121-123</sup>

Позната су *in vitro* и *in silico* испитивања изоиндолин-1,3-дионских деривата који су се показали као одлични инхибитори hCA-I и hCA-II изоензима и представљају потенцијалне лекове против различитих болести.<sup>124</sup>

Спектроскопска испитивања су показала да изоиндолин-1,3-дионски деривати испољавају високе флуоресцентне особине у плаво-зеленој регији и да се могу користити као органске светлеће диоде – OLED (енг. *organic light-emitting diodes*), у ласерској индустрији, у соларним ћелијама, у примени сензора, за означавање протеина итд.<sup>125</sup> Изоиндолин-1,3-диони су, такође, нашли примену у хемији полимера и у агрохемији као хербициди.<sup>126,127</sup>

### 1.4.1. Синтеза деривата изоиндолин-1,3-диона

Сантос (Santos) и сарадници су представили синтезу изоиндолин-1,3-диона **98** кондензацијом анхидрида фталне киселине **97** и различитих ароматичних амина **96** у глацијалној сирћетној киселини загревањем до рефлука у току 2–3 h са приносом 70–80% (Схема 19). У истом раду добијена једињења су *in vitro* тестирана на *Mycobacterium tuberculosis*, при чему је већ споменуто једињење **88** показало бољу активност од пиразинамида, познатог антитуберкулозног лека.<sup>113</sup>

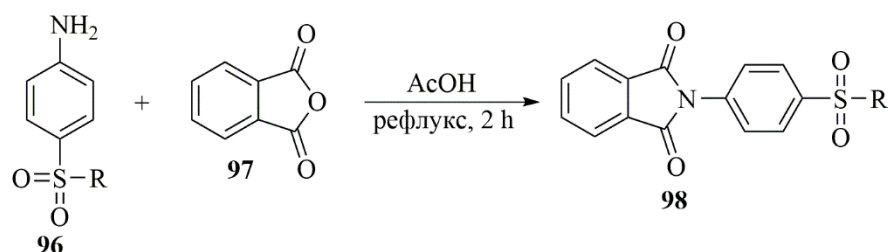


Схема 19. Синтеза изоиндолин-1,3-диона **98** кондензацијом амина и анхидрида фталне киселине.

Позната је и реакција анхидрида фталне киселине **97** и  $\alpha,\beta$ -диамини **99** за добијање изоиндолин-1,3-диона **100** у присуству каталитичке количине триетиламина, у толуену као растварачу и уз загревање до рефлука (Схема 20).<sup>128</sup>

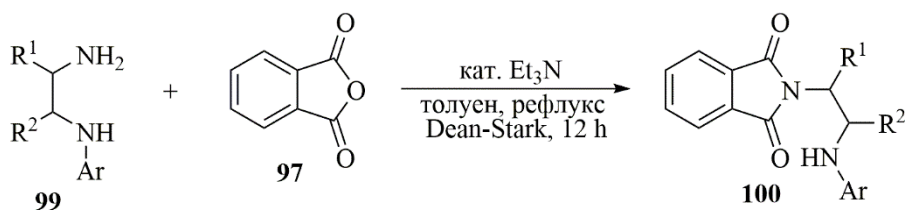


Схема 20. Синтеза изоиндолин-1,3-диона **100** реакцијом анхидрида фталне киселине и  $\alpha,\beta$ -диамини.

Жао (Zhao) и сарадници су представили *one-pot* синтезу изоиндолин-1,3-диона са 1,2,4-триазолском јединицом. У реакцији триазола **101**, анхидрида фталне киселине **97** уз присуство цинк-бромиди и триетиламина у толуену као растварачу добијен је интермеђијер **102** након 30 min на собној температури. Додатком алкил-халогенида и уз загревање на 90 °C добијен је изоиндолин-1,3-дион **103** за 3–8 h у приносу 62–81% (Схема 21).<sup>129</sup>

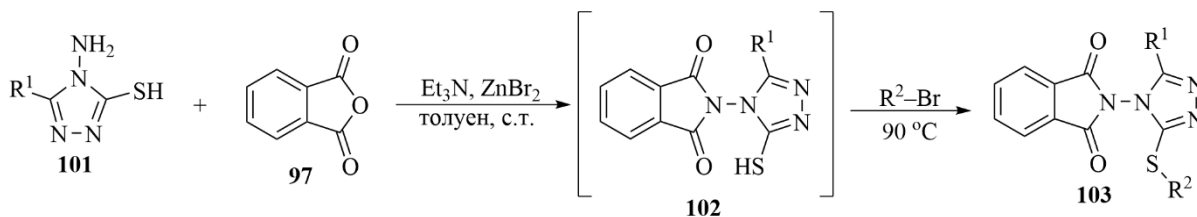


Схема 21. *One-pot* синтеза изоиндолин-1,3-диона **103**.

Група сарадника је по први пут представила хетерогени каталитички систем (Pd на угљенику) за синтезу фталимида, односно изоиндолин-1,3-диона **106** полазећи од дихалоген бензена **104** и од *o*-јодбензојеве киселине/*o*-јодбензоата **105**, уз употребу 1,4-диазабисцикло[2,2,2]октана – DABCO (енг. *1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane*) као базе и у присуству угљен-моноксида (Схема 22). Наведени хетерогени протокол представља обећавајућу алтернативу конвенционалним методама за синтезу фталимида, односно изоиндолин-1,3-диона.<sup>130</sup>

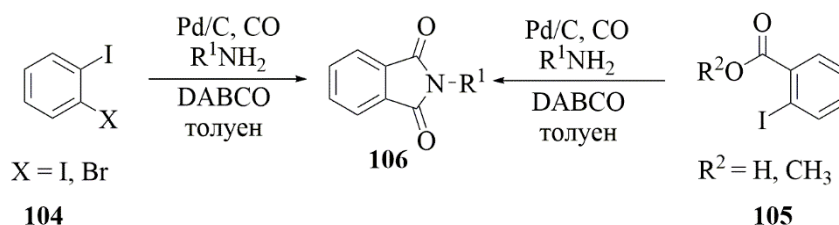


Схема 22. Хетерогени каталитички систем за карбонилну синтезу изоиндолин-1,3-диона **106**.

Слично претходној реакцији, у литератури се може наћи синтеза изоиндолин-1,3-диона **108** карбонилном циклизацијом примарних амина и *o*-бром бензојеве киселине **107** употребом катализатора који се *in situ* формира између Pd(OAc)<sub>2</sub> и 1,1'-бис(дифенилфосфино) фероцена – dppe (енг. *1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene*). Изоиндолин-1,3-диони су добијени у добром до одличном приносу при атмосферском притиску CO на 100 °C у току 10 h, употребом DABCO као базе и у толуену као растварачу (Схема 23).<sup>131</sup>

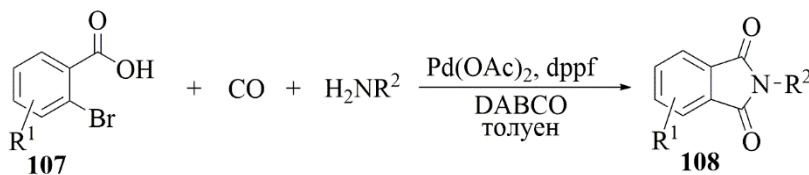


Схема 23. Синтеза изоиндолин-1,3-диона **108** карбонилном циклизацијом примарних амина и *o*-бром бензојеве киселине.

## 1.5. Зелена хемија

Све претходно наведене методе за синтезу бензоил-пиразола, пиразол-фталазина, тетрахиdropиридина и изоиндолин-1,3-диона углавном захтевају примену опасних и токсичних супстанци и нису засноване на принципима зелене хемије. У овом поглављу биће описан појам зелене хемије као и неке „зелене” методологије, које су знатно мање заступљене од конвенционалних метода за добијање поменутих једињења.

Појам зелена хемија дефинисали су Анастас (Anastas) и Варнер (Warner) крајем 20. века као „Дизајнирање хемијских производа и процеса за елиминисање и смањење употребе и стварања опасних материја.” Да би се одговорило на питање шта уопште чини хемијски процес „зеленим”, они су 1998. године поставили 12 принципа зелене хемије који представљају оквир за одговорно поступање при извођењу хемијских процеса.<sup>132,133</sup>

## **1.5.1. Принципи и параметри зелене хемије**

### **1.5.1.1. Принципи зелене хемије**

#### **1) Превенција**

Боље је спречити настанак непожељног материјала него га касније обрађивати.

#### **2) Атомска економичност/ефикасност**

Хемијске реакције треба дизајнирати тако да се сви реактанти максимално искористе тј. тако да сви атоми из реактаната буду и у производу.

#### **3) Мање опасне хемијске синтезе**

Пронаћи начин за синтезу која неће бити штетна по околину и здравље људи. На пример, синтеза адипинске киселине из циклохексена уз примену водоник-пероксида, пре него синтеза полазећи од циклохексанола и употребом минералне киселине као оксидационог средства.

#### **4) Користити сигурније хемикалије**

Хемикалије треба креирати тако да им се токсичност смањује, а функционалност повећава. На пример, бирати дериватизацију на влакно уместо дериватизације у раствору за време припреме узорка.

#### **5) Безбедни растварачи и помоћне супстанце**

Употребу растварача и адитива треба свести на минимум.

#### **6) Креирати енергетску ефикасност**

Све процесе који захтевају утрошак енергије и имају утицаја на економију и животну средину треба свести на минимум. Уколико је могуће, реакције изводити на собној температури и атмосферском притиску.

#### **7) Користити рециклабилне материје**

Кад год је економски и технолошки изводљиво, важно је користити обновљиве сировине.



**8) Избећи или смањити дериватизацију**

Дериватизација захтева додатне реагенсе и стварање отпада. Стога, уколико је изводљиво, треба је избећи или свести на минимум.

**9) Катализа**

Катализаторе користити у малим количинама и ако је могуће бирати селективне катализаторе.

**10) Деградациони дизајн**

Производе хемијских реакција треба дизајнирати тако да се на крају употребе разложе у безбедне деградационе производе који нису постојани у животној средини.

**11) Правовремена анализа за превенцију загађења**

Методе за анализу треба развијати тако да омогуће контролу процеса пре формирања опасних материја.

**12) Суштински безбеднија хемија и спречавање несрећних случајева**

У хемијским реакцијама треба бирати супстанце и њихов облик тако да се спречи могућност повреда, ослобађања токсичних супстанци, експлозије и пожара.<sup>133,134</sup>

**1.5.1.2. Параметри зелене хемије**

Добро је познато да процеси који се не могу мерити, не могу се ни контролисати. Када је реч о зеленој хемији, одговор на питање како можемо квантификовати колико је одговарајућа реакција „зелена” даје „зелена” метрика, односно израчунати „зелени” параметри, који су описани у наставку.<sup>135–157</sup>

**1) Атомска економичност (Atom Economy – АЕ)**

Атомска економичност (*Atom Economy* – АЕ) представља масу полазног материјала која се трансформише у жељени производ. Ово је најчешће одређиван параметар зелене хемије. Значајан је са еколошке стране, јер висока вредност указује на одсуство споредних производа, али је значајан и са економске стране због потпуне искоришћености полазног материјала и смањења трошкова.<sup>136,137,151–156,158</sup>

$$AE (\%) = \frac{\text{моларна маса производа}}{\text{укупна моларна маса реактаната}} \times 100$$

**2) Ефикасност угљеника (Carbon Efficiency – СЕ)** представља параметар који се користи за одређивање процента угљеника у реагенсима коришћеним у органској синтези који остају у жељеном производу.<sup>136,140,147,157</sup>

$$CE (\%) = \left( \frac{\text{количина угљеника у производу}}{\text{укупна количина угљеника у реактантима}} \right) \times 100$$

3) **Ефикасност реакционе масе (*Reaction Mass Efficiency – RME*)** представља значајан параметар за зелену хемију и даје лак начин за идентификацију најбољих и најгорих реакција које имају утицај на синтезу и цео индустријски процес и самим тим омогућава смањење отпада на глобалном нивоу.<sup>136,140,151–153</sup>

$$RME (\%) = \frac{\text{маса изолованог производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100$$

4) **Оптимална ефикасност (*Optimum Efficiency – OE*)** се изражава у процентима и представља однос ефикасности реакционе масе и атомске економичности. Овај параметар омогућава директно поређење различитих типова реакција, што није увек могуће са АЕ или RME.<sup>136,141</sup>

$$OE (\%) = \frac{RME}{AE} \times 100$$

5) **Интензитет масе (*Mass Intensity – MI*)** обухвата ефикасност реакције, стехиометрију, количину растварача, свих реагенаса и осталих супстанци које се користе у синтези. За идеалну синтезу вредност овог параметра би требало да буде 1.<sup>136,140,157</sup>

$$MI = \frac{\text{укупна употребљена маса}}{\text{маса финалног производа}}$$

6) **Е-factor (*Environmental factor*)** је стварна количина отпада произведеног у неком процесу, односно све осим жељеног производа. Генерално, вода није укључена приликом рачунања овог параметра. Што је већи Е-factor, већа је количина отпада, а идеална вредност је нула.<sup>135,136,139,154</sup>

$$E\text{-factor} = \frac{\text{укупна маса отпада}}{\text{маса производа}} = \frac{\text{маса сировог материјала} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}}$$

7) **Интензитет растварача (*Solvent Intensity – SI*)** представља однос укупне масе растварача у целом процесу (не рачунајући масу воде) и масе добијеног производа.<sup>136,155</sup>

$$SI = \frac{\text{укупна маса растварача изузев воде у целом процесу}}{\text{маса производа}}$$

8) **Интензитет воде (*Water Intensity – WI*)** је параметар којим се израчунава однос укупне масе воде у целом процесу и масе добијеног производа.<sup>136,155</sup>

$$WI = \frac{\text{укупна маса воде у целом процесу}}{\text{маса производа}}$$

**Екоскала (*EcoScale*)** представља алат за избор органског материјала заснованог на еколошким и економским параметрима. Екоскалом се квантитативно представља „зелени” квалитет неке синтетичке методе при чему се разматра шест различитих категорија и то:

- питање безбедности
- трошкови хемикалија

- изоловани принос производа
- реакциони услови (температура/време)
- техничка подешавања
- методе обраде реакције/пречишћавања

За идеалну синтезу вредност параметра EcoScale је 100. На пример, уколико је експериментални принос производа 78% то је 11 негативних поена који се одузимају од 100 тј. EcoScale се израчунава када се од броја 100 одузму збирно сви негативни поени из наведених шест категорија.<sup>146,148</sup>

$$\text{EcoScale} = 100 - \text{збир појединачних негативних поена}$$

Са аспекта зелене хемије најзначајније су реакције које се одвијају без употребе било ког растварача. Међутим, због бројних недостатака, као што су проблем контролисања реакције (нарочито код егзотермних реакција), вискозност, растворљивост..., врло често је неопходно користити растварач у реакцијама. Као први избор „зеленог” растварача намеће се вода.<sup>149</sup> Први пример употребе воде у органској реакцији је Велерова (Wöhler) синтеза урее из амонијум цијаната.<sup>150</sup> Касније су објављене бројне синтезе у води, као што су: алдолне кондензације, оксидационо-редукционе реакције, Кневенагелове кондензације, Дилс-Алдерове циклоадиције, епоксидације...<sup>159-161</sup>

Главни недостатак употребе воде као растварача је лоша растворљивост многих једињења. Метода која се често користи за повећање растворљивости је употреба помоћних растварача тј. корастварача, као што су: диметилформаид, ацетонитрил, ацетон, нижи алкохоли...<sup>162</sup>

Суперкритични угљен-диоксид је највише испитивани суперкритични флуид који је класификован у групу „зелених” растварача због ниске токсичности, занемарљиве вискозности и рециклабилности.<sup>133,163</sup>

У зеленој хемији важно место заузимају јонске течности које су незапаљиве и мање токсичне од конвенционалних растварача, а притом побољшавају хемијску реактивност и значајно повећавају ефикасност процеса. Могу се користити и као растварачи и као катализатори у органским синтезама.<sup>164-166</sup> Са аспекта зелене хемије, јонске течности годинама уназад привлаче пажњу научника јер испуњавају све услове зелене хемије, тешко су испарљиве, могу се рециклирати и приликом обраде не остављају опасан материјал. Познате су бројне синтезе изведене уз примену јонских течности, као што су Мајклова, Кневенагелова, алдолна, Бигинели реакција...<sup>167</sup>

Катализа има важну улогу у зеленој хемији јер смањује негативан утицај на животну средину и трошкове процеса. При избору катализатора јако је важно размотрити факторе као што су селективност, рециклабилност, ефикасност, ниска токсичност самог катализатора. Са становишта зелене хемије, важно је користити еколошки прихватљиве и рециклабилне катализаторе, попут глине, зеолита, јонских течности, као и дизајнирати нове катализаторе који могу да задовоље поменуте „зелене” критеријуме.<sup>134,168</sup>

Поред употребе „зелених” растварача и катализатора, постоје и други алати зелене хемије, на пример, употреба микроталасног и ултразвучног зрачења као алтернативних извора енергије. Такође, *one-pot* мултикомпонентне реакције имају бројне предности као

што су оперативна једноставност процеса екстракције и пречишћавања, скраћује се период реакције и смањује се количина непотребних производа.<sup>136,169,170</sup>

Најчешћи недостаци код бројних синтетичких методологија су: металом катализоване реакције, употреба токсичних киселина и база као катализатора, неселективне оксидације, редукције, халогеновање... Како би се остварила „идеална синтеза” важно је применити већ описане принципе зелене хемије тј. постићи атомску ефикасност, повећати безбедност, избегавати примену штетних реагенаса, користити рециклабилне и еколошки прихватљиве ресурсе.<sup>168</sup>

Познате су мултикомпонентне синтезе различитих азотних хетероцикличних једињења у присуству пролина и његових деривата као „зелених” катализатора и у води као „зеленом” растварачу. Пролин, као нетоксична аминокиселина, представља једно од првих једињења које је проучавано као органокатализатор.<sup>171</sup>

Азотни хетероцикли могу се добити 1,3-диполарном циклоадицијом, при чему се као „зелени” реагенси користе јонске течности, флуоровани растварачи и вода. Такође, могу се добити и без примене катализатора као и употребом микроталасног зрачења.<sup>172</sup>

Принципи зелене хемије се примењују и у агрохемији како би се омогућила безбедна производња и храна заштитила од штетних пестицида.<sup>173</sup>

У претходним поглављима описане су конвенционалне методе за синтезу бензоил-пиразолских деривата, пиразол-фталазинских деривата, тетрахидропиридина и изоиндолин-1,3-дионских деривата. Важно је нагласити да су ове методе заступљене у већој мери од „зелених” процедура. У наставку овог поглавља биће представљене неке од синтеза поменутих једињења засноване на принципима зелене хемије.

## 1.5.2. „Зелена” синтеза бензоил-пиразолских, пиразол-фталазинских, тетрахидропиридинских и 1,3-изоиндолинских деривата

### 1.5.2.1. Синтеза бензоил-пиразолских деривата

Мане (Mane) и сарадници су објавили ефикасан хемо-ензимски протокол за синтезу бензоил-пиразола **110** у води на собној температури. Циклокондензација хидразида **109** са 1,3-дикарбонилним једињењем **16** ефикасно је изведена у воденој средини уз примену пекарског квасца (*Saccharomyces cerevisiae*) као ћелијског биокатализатора (Схема 24). Због свега овога се ова метода може сматрати економски и еколошки прихватљивом и задовољава принципе зелене хемије.<sup>174</sup>

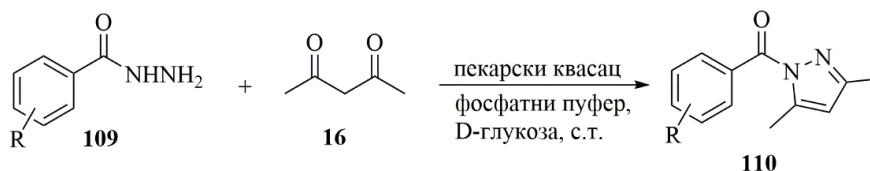


Схема 24. Хемо-ензимски протокол за синтезу бензоил-пиразола **110** у води на собној температури.

Позната је и „зелена” синтеза бензоил-пиразола **11** без катализатора и у смеси глицерола и воде (1:1), полазећи од ацетилацетона **16** и бензохидразида **17** (Схема 25). Предности ове методе, због којих се и сматра „зеленом”, су благи реакциони услови, употреба економски и еколошки бенигних растварача и одсуство катализатора.<sup>175</sup>

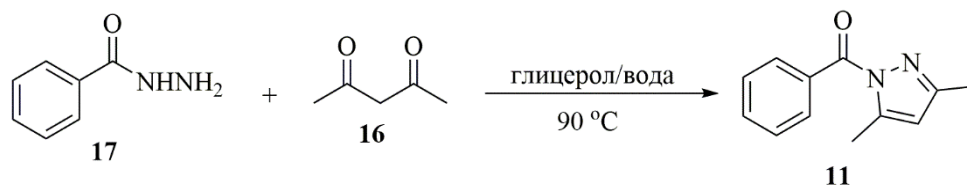
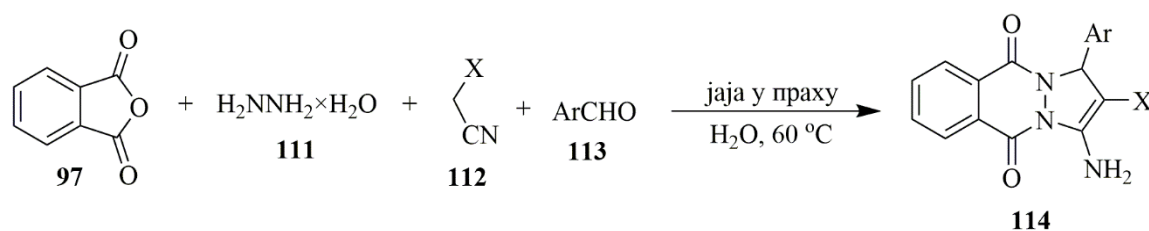


Схема 25. „Зелена” синтеза бензоил-пиразола **11** у смеси глицерола и воде.

### 1.5.2.2. Синтеза пиразол-фталазинских деривата

На Схеми 26 представљена је еколошки прихватљива и ефикасна *one-pot* мултикомпонентна синтеза пиразол-фталазинских деривата **114** применом јаја у праху као биодеграбилног хетерогеног катализатора. Четворокомпонентном *one-pot* кондензационом реакцијом различитих активних метиленских једињења **112**, фталанхидрида **97**, хидразин хидрата **111** и различитих ароматичних алдехида **113** у води на 60 °C добијени су пиразол-фталазински деривати у високом приносу (93–98%) за кратко реакционо време (28 до 45 min) (Схема 26).<sup>176</sup>



X = CN, COOEt, COOMe

Схема 26. Еколошки прихватљива и ефикасна „зелена” *one-pot* мултикомпонентна синтеза пиразол-фталазинских деривата **114**.

Пиразол-фталазини **116** се могу добити у четворокомпонентној реакцији између анхидрида фталне киселине **97**, хидразин хидрата **111**, метил/етил ацетоацетата **59** и ароматичних алдехида **115** у присуству јонских течности и то: 3-метил-1-сулфо-1*H*-имидазолијум хлорида, 1,3-дисулфо-1*H*-имидазолијум хлорида и триетил(сулфо)амонијум хлорида, без растварача и загревањем на 50 °C (Схема 27). Ова метода има бројне предности, као што су: употреба бенигних катализатора, висок принос производа, рециклабилност катализатора са високом активношћу, кратко реакционо време, једноставна процедура, без примене штетних растварача.<sup>177</sup>

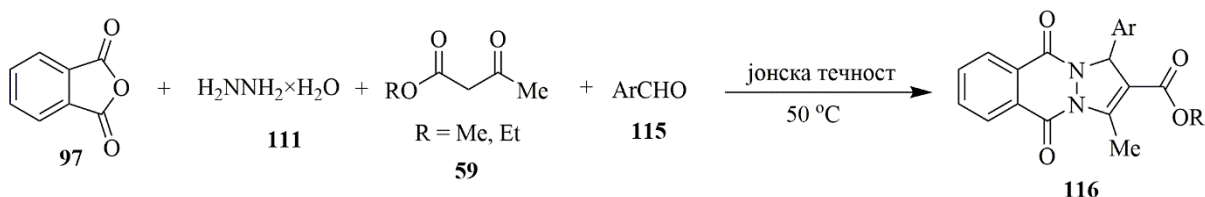


Схема 27. „Зелена” синтеза пиразол-фталазина **116** уз примену јонских течности.

Ефикасна и „зелена” метода за *one-pot* мултикомпонентну синтезу пиразол-фталазинских деривата **118** у реакцији фталхидразида **41**, малононитрила **43** и различитих алдехида **117** у присуству  $\beta$ -циклодекстрина као супрамолекулског катализатора и у смеси воде и етанола (4:1) је такође објављена (Схема 28). Висока вредност за АЕ и низак Е-factor, примена  $\beta$ -циклодекстрина као нетоксичног катализатора, као и пречишћавање без хроматографије на колони потврђују да је ова синтеза заснована на принципима зелене хемије.<sup>178</sup>

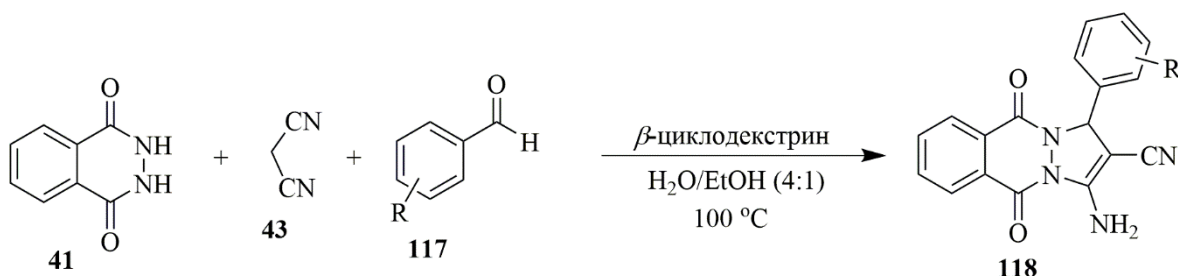


Схема 28. *One-pot* мултикомпонентна синтеза пиразол-фталазинских деривата **118** у присуству  $\beta$ -циклодекстрина као супрамолекулског катализатора.

Деривати пиразол-фталазина **120** се могу добити *one-pot* циклокондензационом реакцијом између фталхидразида **41**, ароматичног алдехида **119** и малононитрила или етил цијаноацетата **46** уз примену јонске течности [Bmim]OH (1-бутил-3-метилимидазолијум хидроксид) (Схема 29). Деривати пиразол-фталазина **120** су у овој реакцији добијени микроталасним зрачењем без употребе растварача и у одличном приносу. Предности ове методе су: употреба „зеленог” катализатора, без примене органских растварача, једноставна процедура, одлични приноси.<sup>77</sup>

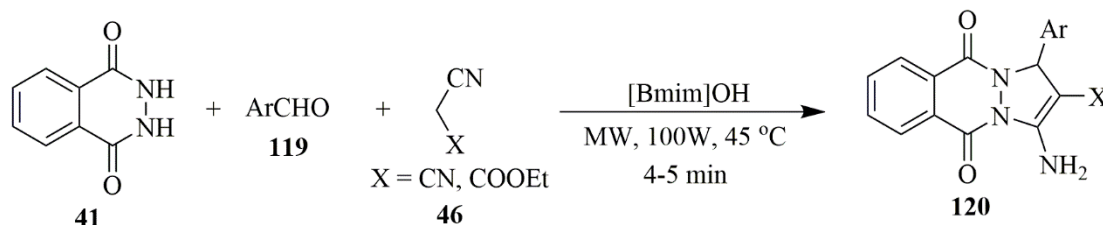


Схема 29. *One-pot* циклокондензациона синтеза пиразол-фталазина **120** уз примену јонске течности [Bmim]OH.

### 1.5.2.3. Синтеза тетрахиdropиридинских деривата

Тетрахиdropиридины **125** се могу добити „зеленом” *one-pot* синтезом без присуства катализатора и уз примену микроталасног зрачења, на собној температури за кратко реакционо време (Схема 30). Реакцијом различитих ароматичних алдехида **121**, етил цијаноацетата **122**, ацетоацетанилида **123** и амонијум ацетата **124**, добијени су тетрахиdropиридински деривати **125** у одличном приносу.<sup>179</sup>

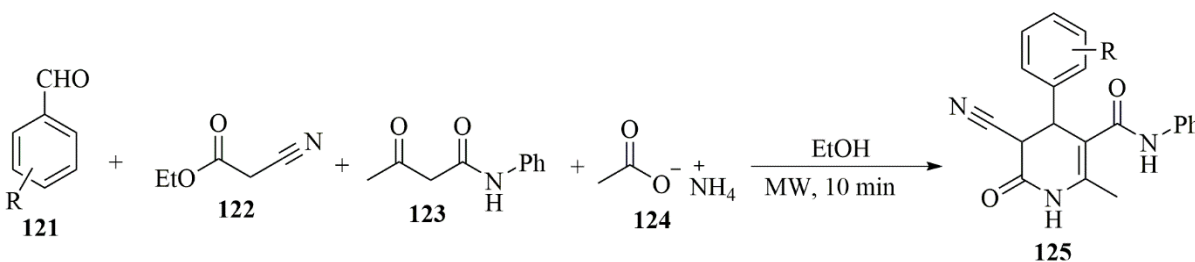


Схема 30. „Зелена” *one-pot* синтеза тетрахиdropиридина **125** без присуства катализатора.

Позната је и „зелена” процедура за *one-pot* синтезу тетрахиdropиридинских деривата **128**, уз примену млечне киселине као ефикасног и „зеленог” катализатора, у високом приносу и за кратко реакционо време (Схема 31). Реакцијом различитих ароматичних алдехида **126**, различитих ароматичних амина **127** и метил/етил ацетоацетата **59**, добијени су тетрахиdropиридински производи **128** у одличном приносу.<sup>180</sup>

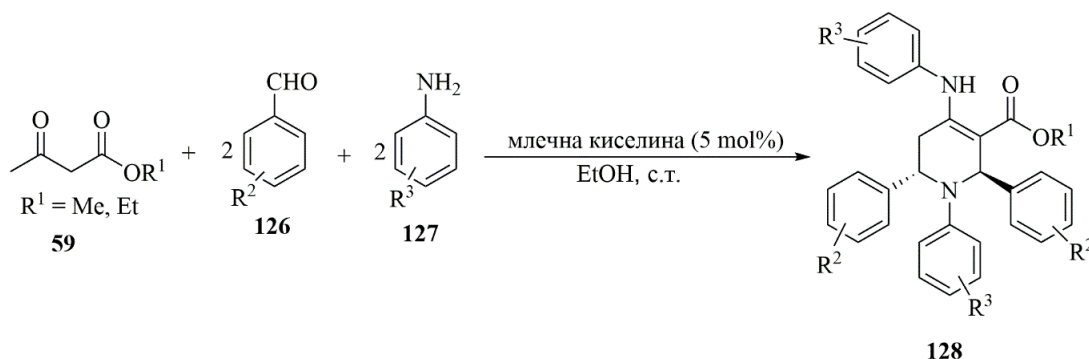


Схема 31. „Зелена” *one-pot* синтеза тетрахиdropиридинских деривата **128** уз примену млечне киселине.

### 1.5.2.4. Синтеза 1,3-изоиндолинских деривата

Изоиндолин-1,3-дионски деривати **131** се могу добити у смеси воде и етанола на високој температури и притиску – НТНП-Н<sub>2</sub>О/ЕтОХ (енг. НТНП – *high temperature, high pressure*), без катализатора или било каквих адитива, при чему се добијају једињења у умереном до одличном приносу (Схема 32). Једини споредни производ у овој синтези је вода, а низак Е-factor и висока атомска ефикасност указују на „зелену” синтезу. Кондензацијом *o*-фталне киселине **129** и различитих амина **130**, добијени су 1,3-изоиндолински деривати **131** у умереном до одличном приносу.<sup>181</sup>

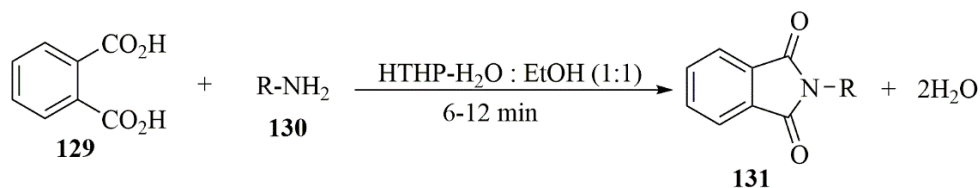
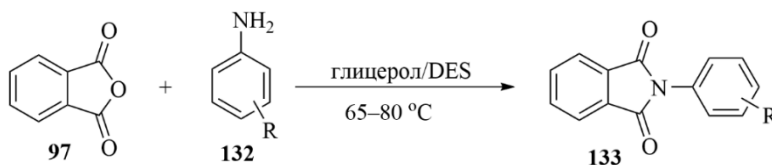


Схема 32. „Зелена” синтеза изоиндолин-1,3-дионских деривата **131** у смеши воде и етанола, без катализатора или било каквих адитива.

Позната је и једноставна, еколошки прихватљива и ефикасна синтеза изоиндолин-1,3-диона **133** применом смеше глицерола и еутектичких растварача – DES (енг. *deep eutectic solvents*) холин хлорида са мокраћном/малонском киселином који имају улогу катализатора и растварача истовремено (Схема 33). Ове смеше представљају добру индустријску замену конвенционалним методама јер су нетоксичне и биодеградабилне. Изоиндолин-1,3-дионски деривати **133** су добијени у реакцији анхидрида фталне киселине **97** и различитих ароматичних амина **132** у умереном до високом приносу.<sup>182</sup>



DES = (ChCl:уреа) или  
(ChCl:малонска киселина) у метанолу

R = H, 4-OMe, 3-OMe, 4-Me,  
3-Me, 2-Me, 2,6-diMe, 4-Cl, 4-NO<sub>2</sub>

Схема 33. Еколошки прихватљива и ефикасна синтеза изоиндолин-1,3-диона **133** применом смеше глицерола и еутектичких растварача.

## 1.6. Антиоксидативна активност

### 1.6.1. Антиоксиданти

Антиоксиданти представљају супстанце које неутралишу слободне радикале или спречавају оксидацију других једињења.<sup>183</sup> Халивел и Гатериц (Halliwell and Gutteridge) су предложили дефиницију антиоксиданата: „Супстанце које, када су заступљене у нижим концентрацијама у односу на супстрат који подлеже оксидацији, могу значајно одложити или инхибирати његову оксидацију.”<sup>184</sup> О значају антиоксиданата говори и податак да је периоду од 2000. до 2018. године публиковано 301795 радова који садрже реч „антиоксиданти”.<sup>185</sup>

Многе биљке и зачини су богати извори антиоксиданата јер садрже бројна једињења као што су танини, алкалоиди, фенолна једињења, витамини, флавоноиди, једињења која садрже сумпор... (Табела 1).<sup>186</sup>



Табела 1. Неки од антиоксиданата који су присутни у појединим биљкама.

Зачини и биљке	Антиоксиданти и биолошки активна једињења
Цимет	танини, катехини, еугенол, лимонен, линалол, сафрол, пинел, метилеугенол
Коријандер	гераниол, терпинеол, еугенол, каемферол, кверцетин, кафеинска киселина, ферулинска киселина, токофероли, пирогалол
Ђумбир	гингерол, гераниол, камфен, гераниал, парадол, борнеол, зингерол, зингиберон
Бели лук	диалил трисулфид, диалил дисулфид, диалил сулфид, алицин, алил изотиоцијанат
Црни лук	апигенин, кверцетин, кверцетин-4-глукозид, рутин, дипиридил дисулфид
Мустард	изорхамнетин, каемферол глукозид, изорхамнетин-7-О-глукозид, алил изотиоцијанат, каротен
Пепперминт	хлорогенска, кафена, розмаринска киселина, ментол, ментон, лутеолин, апигенин, ериоцитрин, каротени, токофероли, рутин, лимонен, хесперидин
Лаванда	апигенин, лимонен, кверцетин, ферулинска, рузмаринска, <i>p</i> -кумаринска киселина, каемферол глукозид
Жалфија	ванилинска, рузмаринска, кафена киселина, сапонин, лимонен, катехини, карнозин, лутеолин, апигенин, гераниол, пинен
Паприка	витамин Е, аскорбинска киселина, $\beta$ -каротен, капсаицин, дихидрокапсаицин, лутеин, $\alpha$ -токоферол
Зелени чај	гална киселина, теофилин, (-)-епигалокатехин галат, теанин, катехин, (-)-епигалокатехин

Антиоксиданти штите масти и уља од оксидативне деградације, а природни антиоксиданти у зачинама помажу у смањењу оксидативног стреса.<sup>187,188</sup> Познато је и да се у кафи налазе једињења која испољавају одличну антиоксидативну активност и то хлорогенска киселина, кафена киселина, квининска и ферулинска киселина. Испитивања инстант кафе и зрна зелене кафе су показала нижу вредност антиоксидативне активности код инстант кафе јер се сматра да се антиоксидативна активност смањује пржењем зато што наведена једињења губе 50–90% својих својстава. Главне последице пржења зрна кафе су разградња протеина, разградња фенолних једињења мале молекулске масе и стварање меланоидина.<sup>189–191</sup>

Познато је и да се у пиву налазе полифеноли као антиоксидативни молекули који продужавају свежину пиву. Међу полифенолима у свим испитиваним узорцима најзаступљенија је била гална киселина. Испитивани су различити типови и брендови пива при чему су тамно и црно пиво показали већу антиоксидативну активност јер је садржај полифенола у њима највећи.<sup>192</sup>

Резултати испитивања антиоксидативне активности екстраката различитих биљака која садрже фенолна једињења показују да су најбољи извори антиоксиданата бобичасто воће (аронија, круница), јабуке, дрвени материјали (нарочито кора врбе, бора, смреке), лековите биљке попут рузмарина, вевера, медовине, поврће и то кромпир, цвекла итд.<sup>193</sup>

Антиоксиданти неутралишу слободне радикале елиминисањем неспарених електрона и то примањем или донирањем електрона. При томе, од антиоксиданата настају стабилнији радикали, који су мање активни. Настали радикали могу затим бити неутралисани другим антиоксидантима. Тако ће, на пример, витамини А и С неутралисати или директно реаговати са хидроксилним, алкоксилним и пероксилним (липидним) радикалима и формирати  $H_2O$ , алкохол и липидне хидропероксиде. При томе, витамин С прелази у веома стабилан радикал ( $Asc^{\cdot-}$ , радикал ањон аскорбинске киселине, енг. *ascorbyl radical anion*), док витамин Е постаје фенокси радикал ( $TO^{\cdot}$ ). На

Схеми 34 представљене су реакције витамина Е са  $\text{OH}^\bullet$  (1) и витамина С са  $\text{ROO}^\bullet$  (2), као и регенерација витамина Е из витамина С (3).<sup>194</sup>

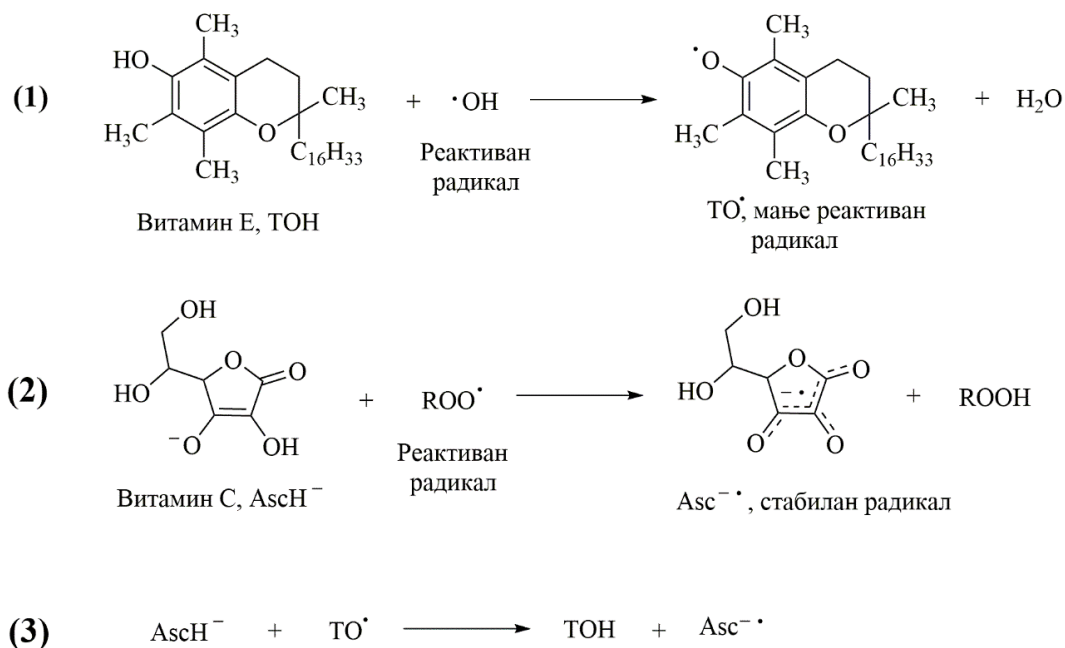


Схема 34. Схематски приказ реакције: витамина Е са  $\text{OH}^\bullet$  (1), витамина С са  $\text{ROO}^\bullet$  (2) и регенерације витамина Е из витамина С (3).

Антиоксиданти се могу поделити на природне и синтетичке, при чему се природни антиоксиданти могу поделити у две велике групе, на ендogene и екзогене, као што је представљено на Схемама 35 и 36.<sup>195–197</sup>

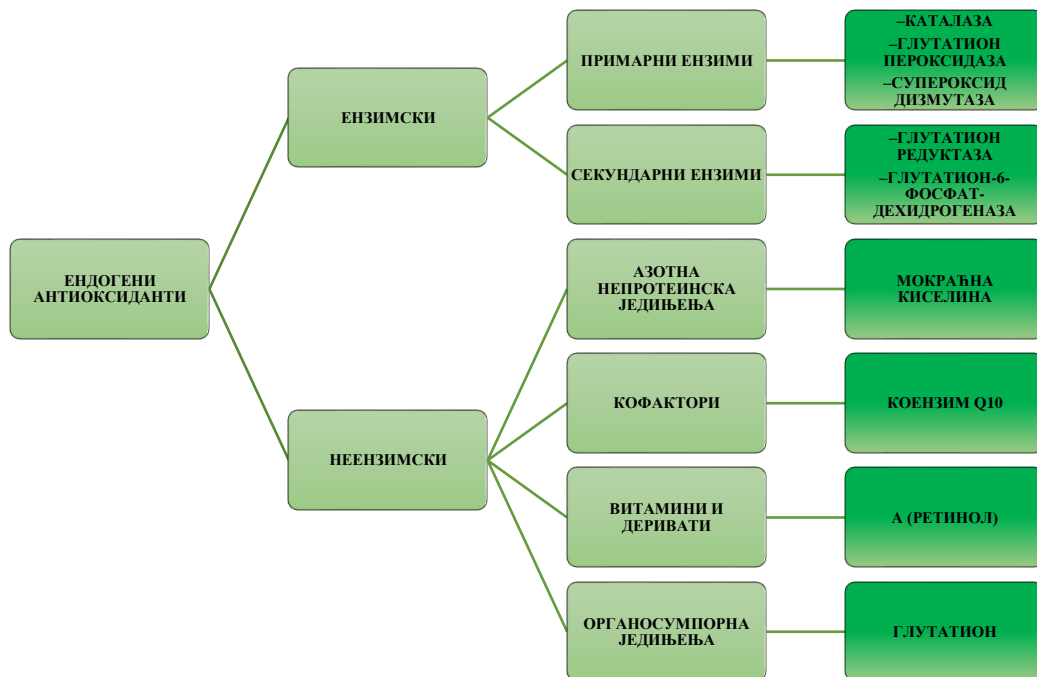


Схема 35. Подела ендogenicих антиоксиданата.

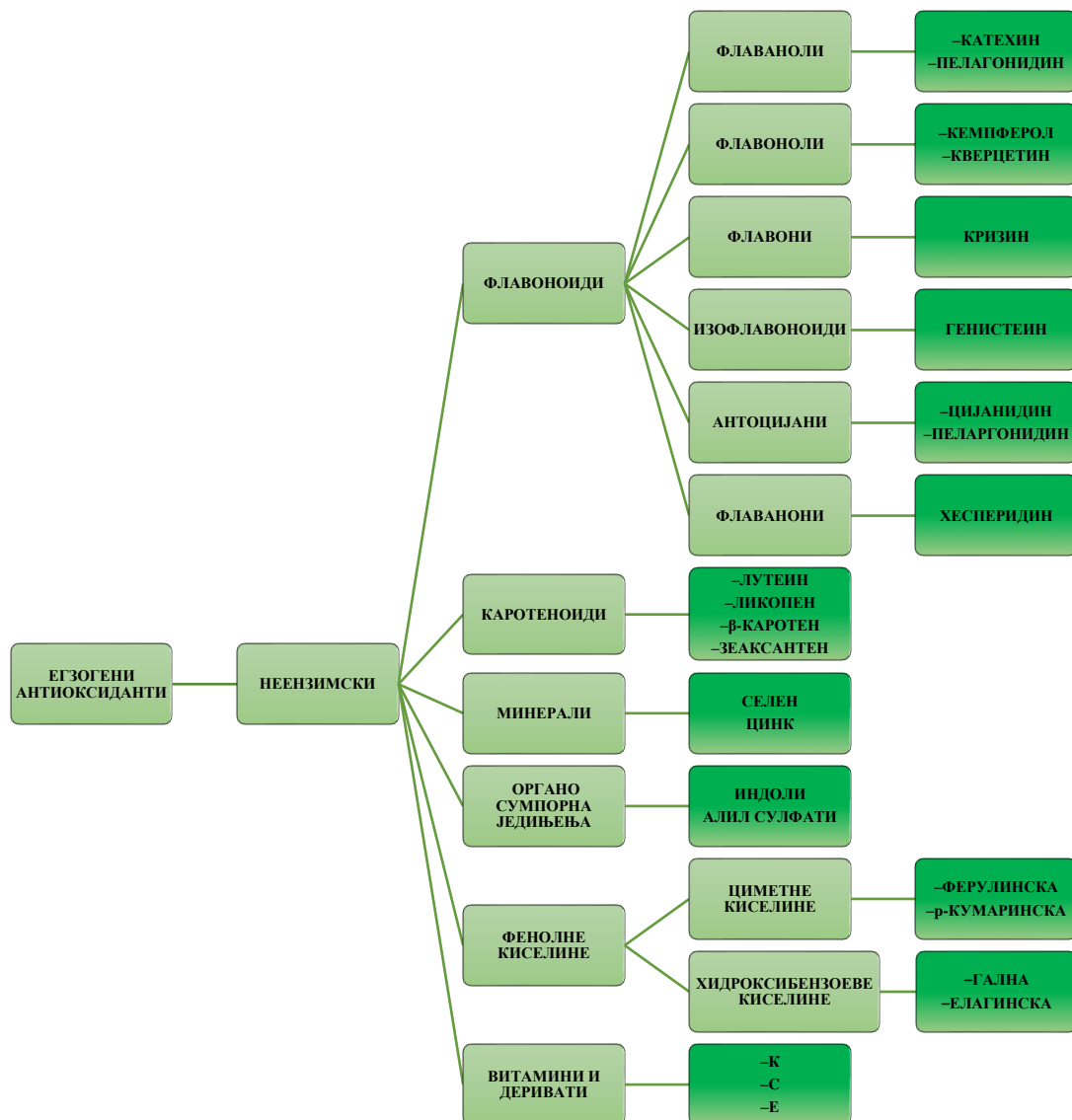
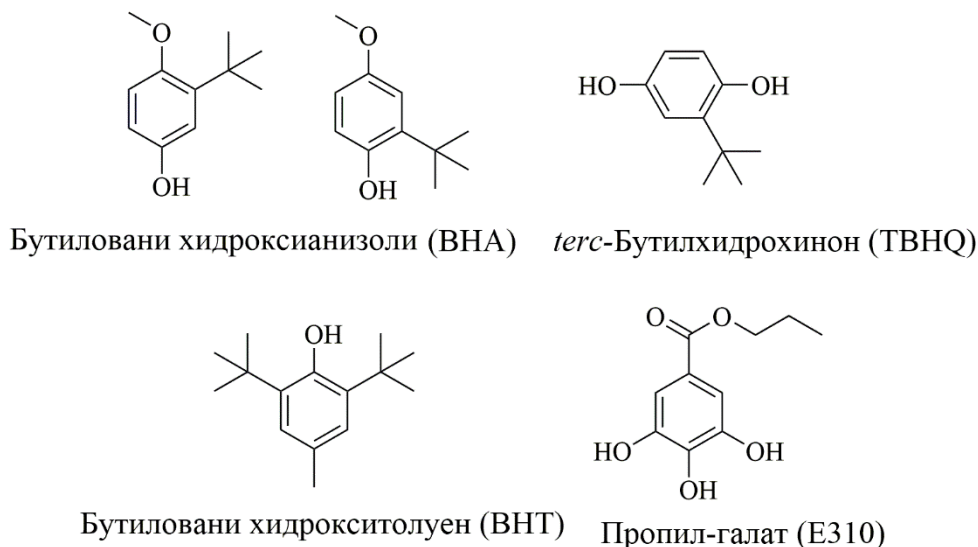


Схема 36. Подела егзогених антиоксиданата.

Синтетички антиоксиданти имају велику примену у конзервирању хране, штите храну од пропадања и труљења, али услед дугорочног коришћења имају и штетне ефекте. Неки од познатих синтетичких антиоксиданата су фенолна једињења приказана на Слици 7: бутиловани хидроксианизол – ВНА, Е320 (енг. *butylated hydroxyanisole*), *tert*-бутилхидрохинон – ТВНQ, Е319 (енг. *tert-butylhydroquinone*), пропил-галат – РG, Е310 (енг. *propyl gallate*) и бутиловани хидрокситолуен – ВНТ, Е321 (енг. *butylated hydroxytoluene*). Ова једињења су позната и као адитиви, па се означавају словом Е и троцифреним бројем.<sup>195,198–200</sup>



Слика 7. Неки синтетички антиоксиданти.

### 1.6.2. Прооксиданти и оксидативни стрес

Прооксиданти представљају ендобиотике или ксенобиотике који доводе до оксидативног стреса и то стварањем реактивних врста кисеоника – ROS (енг. *reactive oxygen species*) и/или азота – RNS (енг. *reactive nitrogen species*), или инхибицијом антиоксидативног система. Постоје две велике групе прооксиданата и то спољашњи (егзогени) и унутрашњи (ендогени) који су представљени на Схеми 37.<sup>201</sup>

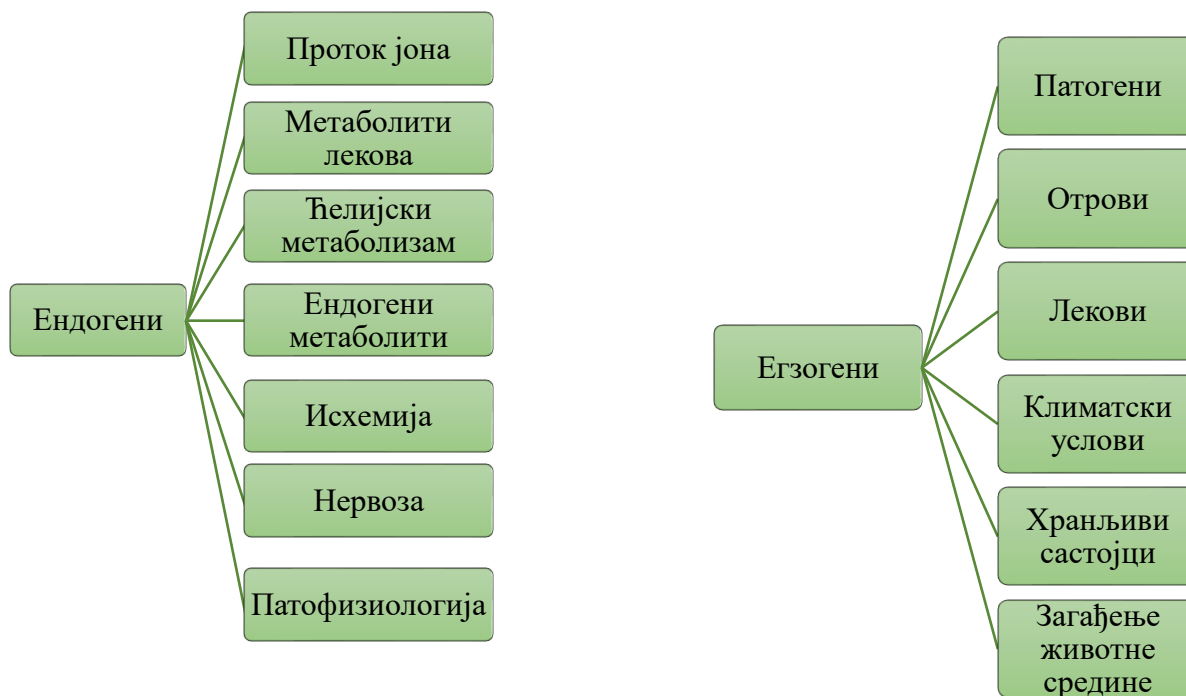


Схема 37. Класификација прооксиданата.

Познато је и да се антиоксиданти могу понашати као прооксиданти. На пример, витамин С редукујући јоне бакра и гвожђа испољава прооксидативно дејство.<sup>202</sup> Такође, познато је да витамин Е реагује са слободним радикалима и постаје радикал који се уз довољну количину витамина С регенерише. Међутим, ако нема довољно витамина С за његову регенерацију, онда може имати прооксидативна својства и изазвати аутооксидацију линолеинске киселине.<sup>203</sup>

Неке фенолне киселине које су познате као антиоксиданти могу испољити и прооксидативна својства, као на пример:

- |                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| – гална киселина <sup>204</sup>      | – <i>p</i> -хидроксибезоева киселина <sup>205</sup>  |
| – ванилинска киселина <sup>205</sup> | – <i>m</i> -хидроксибензоева киселина <sup>205</sup> |
| – салицилна киселина <sup>205</sup>  | – хлорогенска киселина <sup>206</sup>                |
| – елагинска киселина <sup>204</sup>  | – протокатехинска киселина <sup>204</sup>            |
| – кафеинска киселина <sup>207</sup>  | – сиригинска киселина <sup>205</sup>                 |

Прооксиданти, било да су реактивне врсте кисеоника или реактивне врсте азота, укључују слободне радикале који су познати као екстремно реактивне врсте и садрже један или више неспарених електрона.<sup>194,208</sup> У Табели 2 дате су најважније слободнорадикалске и нерадикалске врсте које су веома реактивне.<sup>209</sup>

Табела 2. Најважније слободнорадикалске и нерадикалске реактивне врсте.

<b>Реактивне врсте кисеоника (ROS)</b>	
<i>Слободнорадикалске врсте</i>	<i>Нерадикалске врсте</i>
хидроксилни радикал (OH <sup>•</sup> )	водоник пероксид (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
пероксилни радикал, (RO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )	органски пероксид (ROOH)
хидропероксилни радикал, (HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )	озон (O <sub>3</sub> )
алкоксилни радикал, RO <sup>•</sup>	пероксинитрит (ONOO)
угљендиоксидни радикал, (CO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )	пероксинитритна киселина (ONOOH)
карбонатни радикал, (CO <sub>3</sub> <sup>•</sup> )	хипохлорна киселина (HOCl)
супероксид анјон радикал, (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> )	хипобромна киселина (HOBr)
	синглетни кисеоник ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )
<b>Реактивне врсте азота (RNS)</b>	
<i>Слободнорадикалске врсте</i>	<i>Нерадикалске врсте</i>
Пероксинитрит анјон радикал (ONOO <sup>•-</sup> )	нитрозо катјон (NO <sup>+</sup> )
азотмоноксидни радикал (NO <sup>•</sup> )	нитронијум катјон (NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> )
азотдиоксидни радикал (NO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )	нитрил (нитринијум) хлорид (NO <sub>2</sub> Cl)
	динитроген триоксид (N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
	динитроген тетроксид (N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )
	пероксинитрит (ONOO)
	алкилпероксинитрити (ROONO)
	пероксинитритна киселина (ONOOH)

Штетан утицај ROS и RNS који изазивају потенцијална биолошка оштећења назива се оксидативни или нитрозативни стрес.<sup>210,211</sup> Немачки биохемичар Хелмут Сис (Helmut Sies) је 1991. године поставио дефиницију оксидативног стреса: „*Поремећај равнотеже прооксиданата и антиоксиданата у корист првог, што води ка потенцијалним обољењима.*”<sup>208,209</sup>

Оксидативни стрес може настати услед повећане производње слободних радикала који могу знатно модификовати протеине и изазвати бројне болести, као што су: кардиоваскуларни проблеми, дијабетес, карцином, реуматоидни артритис, хронична обољења.<sup>212,213</sup> Тако, на пример, слободни радикали који садрже кисеоник, попут супероксидног анион радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ), хидроксилног радикала ( $OH^{\cdot}$ ) и алкилпероксилног радикала ( $\cdot OOCR$ ), доводе до липидне пероксидације што је узрок бројних обољења као што су васкуларна деменција, хеморагијски мождани удар, Алцхајмерова болест итд.<sup>208,214</sup>

Идеална средства за уклањање слободних радикала би требало да испуњавају следеће услове:<sup>215</sup>

*1) Морају бити присутна у организму у одговарајућим количинама*

Већина потенцијалних антиоксиданата је присутна у ниским концентрацијама у организму. Неки антиоксиданти су се појавили тек недавно еволуцијом. На пример, већина ранијих облика аеробног живота зависила је од кожног дисања, нису постојали респираторни пигменти који би штитили од деловања слободних радикала.

*2) Морају бити разноврсна*

Један антиоксидант мора да има утицај на велики број слободних радикала.

*3) Морају бити доступна*

Да би антиоксидант био доступан мора се или синтетисати или унети храном. На пример аскорбинску киселину, односно витамин С, примати не могу синтетисати, али се ово једињење може унети храном.

*4) Морају имати способност регенерације*

Антиоксидант мора да има способност регенерације како би се изнова користио и како би се спречили непотребни трошкови.

*5) Морају имати способност проласка кроз физиолошку баријеру*

Веома је важно да антиоксиданти могу да прођу кроз ћелијску мембрану. При томе је од велике важности природа и величина молекула како би њихов транспорт био успешан.

*6) Морају имати ниску токсичност*

Идеално је да су антиоксиданти нетоксични пре и после реакције са слободним радикалима.

*7) Губитак антиоксиданата мора бити сведен на минимум*

С обзиром на то да метаболички процеси снижавају концентрације једињења, идеални антиоксиданти би требало да подлегну ресорпцији након филтрације кроз бубреге.<sup>215</sup>

### 1.6.3. Методе одређивања антиоксидативне активности једињења

За одређивање антиоксидативне активности, користе се *in vitro* и *in vivo* методе.<sup>216</sup>

#### 1) *In vitro* методе за одређивање антиоксидативне активности

У *in vitro* методе за одређивање антиоксидативне активности спадају:

- DPPH тест (2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (енг. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl))<sup>216-221</sup>
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> тест<sup>222</sup>
- инактивација NO• и ONOO• радикала<sup>223,224</sup>
- FRAP тест (енг. *ferric reducing-antioxidant power*)<sup>225</sup>
- тролокс еквивалентни антиоксидативни капацитет – TEAC (енг. *trolox equivalent antioxidant capacity*) / ABTS тест за деколоризацију радикалних катјона – 2,2'-азино-bis(3-етилбензотиазолин-6-сулфонска киселина) (енг. 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid))<sup>226</sup>
- укупни антиоксидативни параметар који хвата радикале – TRAP (енг. *total radical-trapping antioxidant parameter*)<sup>227</sup>
- инактивација супероксидног радикала<sup>228</sup>
- инактивација OH•<sup>229</sup>
- метода спречавања стварања OH• – HORAC (енг. *hydroxyl radical averting capacity*)<sup>230</sup>
- метода апсорпције кисеоничних радикала – ORAC (енг. *oxygen radical absorbance capacity*)<sup>226,230</sup>
- метода редукционе способности – RP (енг. *reducing power*)<sup>231</sup>
- метода фосфолибдена<sup>232</sup>
- DMPD метода – N,N-диметил-p-фенилендиамин дихидрохлорид (енг. *N,N-dimethyl-p-phenylene diamine dihydrochloride*)<sup>233</sup>
- метода β-каротен линолеинске киселине/тест коњугованог диена<sup>231</sup>
- метода инхибиције липоксигеназе<sup>234,235</sup>
- метода ксантин оксидазе<sup>236</sup>
- метода редуковане антиоксидативне активности бакарним јоном – CUPRAC (енг. *cupric ion reducing antioxidant capacity*)<sup>237</sup>

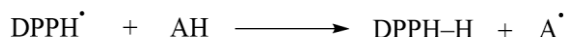
#### 2) *In vivo* методе за одређивање антиоксидативне активности

За *in vivo* тестирања најчешће се од животиња попут мишева и пацова као узорци узимају крв и ткива. У *in vivo* методе за одређивање антиоксидативне активности спадају:

- смањење гвожђа у плазми<sup>238</sup>
- процена смањеног глутатиона – GSH (енг. *glutathione*)<sup>239</sup>
- процена глутатион пероксидазе – GSH-PX (енг. *glutathione peroxidase*)<sup>239,240</sup>
- глутатион-S-трансфераза – GST (енг. *glutathione s-transferase*)<sup>241</sup>
- супероксид дизмутаза – SOD (енг. *superoxide dismutase*)<sup>239,240</sup>
- каталаза – CAT (енг. *catalase*)<sup>239,240</sup>
- тест активности γ-глутамил-транспептидазе – GGT (енг. *γ-glutamyl transpeptidase activity*)<sup>242</sup>

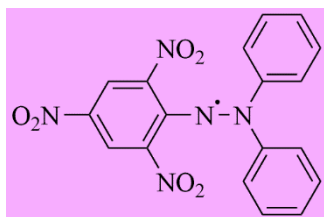
- тест глутатион-редуктазе – GR (енг. *glutathione reductase*)<sup>243</sup>
- тест липидне пероксидације – LPO (енг. *lipid peroxidation*)<sup>244</sup>
- LDL тест (липопротеин ниске густине (енг. *low-density lipoprotein*))<sup>245</sup>

Од свих представљених метода за одређивање антиоксидативне активности најчешће коришћена метода је помоћу DPPH теста. У овом случају, DPPH<sup>•</sup> реагује са антиоксидантом образујући неутралан молекул DPPH–H и нови радикал од антиоксиданта.<sup>216–221</sup>

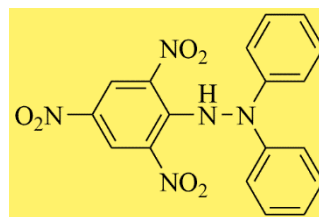


### 1.6.3.1. *In vitro* одређивање антиоксидативне активности помоћу DPPH теста

DPPH тест је брза, једноставна и јефтина метода у поређењу са другим методама. DPPH радикал представља стабилан органски радикал карактеристичне љубичасте боје који у свом радикалском облику апсорбује у видљивом делу спектра на 517nm. При реакцији са антиоксидантом, апсорбанца се смањује и DPPH радикал постаје неутралан молекул DPPH–H тј. дифенилпикрилхидразин карактеристичне жуте боје (Слика 8).<sup>216</sup>



Дифенилпикрилхидразил (DPPH<sup>•</sup>)



Дифенилпикрилхидразин (DPPH–H)

Слика 8. Структура DPPH радикала љубичасте боје и његовог редукованог облика жуте боје.

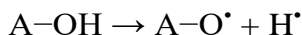
### 1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања

Антиоксиданти могу да инактивирају слободне радикале процесом преноса атома водоника и то помоћу најмање три различита механизма и то: НАТ (трансфер атома водоника, енг. *hydrogen atom transfer*), SET-PT (трансфер једног електрона уз трансфер једног протона, енг. *single electron transfer followed by proton transfer*), SPLET (секвенционални губитак протона уз трансфер електрона, енг. *sequential proton loss electron transfer*).<sup>246</sup> Механизми антиоксидативног деловања се могу посматрати у одсуству и присуству слободних радикала што је у наставку и описано.

#### 1.6.4.1. Термодинамички параметри у одсуству слободних радикалских врста

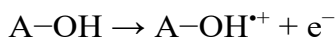
НАТ механизам представља пренос атома водоника који се ослобађа хомолитичким раскидањем O–H везе, при чему је одговарајућа енталпија раскидања везе – BDE (енг. *bond dissociation enthalpy*) представљена једначином (1).<sup>247</sup>



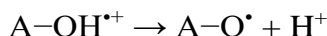


$$\text{BDE} = \text{H}(\text{A-O}^{\bullet}) + \text{H}(\text{H}^{\bullet}) - \text{H}(\text{A-OH}) \quad (1)$$

SET-PT механизам се састоји из два корака. У првом кораку долази до трансфера електрона из А–ОН при чему се формира радикал катјон (А–ОН<sup>•+</sup>). Јонизациони потенцијал – IP (енг. *ionization potential*) за први корак представљен је једначином (2). У другом кораку долази до депротоновања насталог радикал катјона А–ОН<sup>•+</sup>, а енталпија дисоцијације протона – PDE (енг. *proton dissociation enthalpy*) за овај процес представљена је једначином (3).<sup>247</sup>

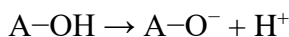


$$\text{IP} = \text{H}(\text{A-OH}^{\bullet+}) + \text{H}(\text{e}^{-}) - \text{H}(\text{A-OH}) \quad (2)$$

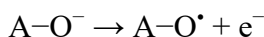


$$\text{PDE} = \text{H}(\text{A-O}^{\bullet}) + \text{H}(\text{H}^{+}) - \text{H}(\text{A-OH}^{\bullet+}) \quad (3)$$

SPLET механизам је процес који се, такође, састоји из два корака. У првом кораку овог механизма долази до хетеролитичког раскидања О–Н везе, тј. долази до депротоновања А–ОН што резултује формирањем анјона (А–О<sup>-</sup>). Енталпија депротоновања – PA (енг. *proton affinity*) за овај процес представљена је једначином (4). У другом кораку долази до трансфера електрона из А–О<sup>-</sup> и формирања одговарајућег радикала, а енталпија трансфера електрона – ETE (енг. *electron transfer enthalpy*) овог процеса израчунава се према једначини (5).<sup>247</sup>



$$\text{PA} = \text{H}(\text{A-O}^{-}) + \text{H}(\text{H}^{+}) - \text{H}(\text{A-OH}) \quad (4)$$

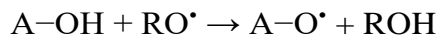


$$\text{ETE} = \text{H}(\text{A-O}^{\bullet}) + \text{H}(\text{e}^{-}) - \text{H}(\text{A-O}^{-}) \quad (5)$$

#### 1.6.4.2. Термодинамички параметри у присуству слободних радикалских врста

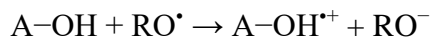
У живим ћелијама континуирано долази до производње слободних радикала као део нормалне ћелијске функције. Међутим, вишак производње слободних радикала може довести до разних болести, па је стога значајно посматрање антиоксидативних механизма у њиховом присуству. Додатно, електронска својства слободнорадикалских врста значајно утичу на механизме уклањања радикала.<sup>248,249</sup>

НАТ механизам представља пренос атома водоника радикалу, а енталпија ове реакције ( $\Delta_{\text{r}}H_{\text{BDE}}$ ) се израчунава према једначини (6).

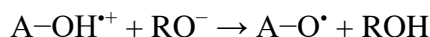


$$\Delta_r H_{\text{BDE}} = [\text{H}(\text{A}-\text{O}^\bullet) + \text{H}(\text{ROH})] - [\text{H}(\text{A}-\text{OH}) + \text{H}(\text{RO}^\bullet)] \quad (6)$$

SET-PT механизам представља двостепени процес, при чему се у првом кораку формира радикал катјон услед трансфера електрона, а енталпија ( $\Delta_r H_{\text{IP}}$ ) се рачуна према једначини (7). У другом кораку долази до депротоновања насталог радикал катјона, а енталпија ( $\Delta_r H_{\text{PDE}}$ ) за овај процес се рачуна према једначини (8).

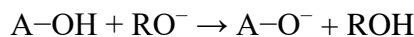


$$\Delta_r H_{\text{IP}} = [\text{H}(\text{A}-\text{OH}^{+\bullet}) + \text{H}(\text{RO}^-)] - [\text{H}(\text{A}-\text{OH}) + \text{H}(\text{RO}^\bullet)] \quad (7)$$

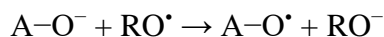


$$\Delta_r H_{\text{PDE}} = [\text{H}(\text{A}-\text{O}^\bullet) + \text{H}(\text{ROH})] - [\text{H}(\text{A}-\text{OH}^{+\bullet}) + \text{H}(\text{RO}^-)] \quad (8)$$

SPLET механизам је такође двостепени процес, при чему се у првом кораку депротонује антиоксидант, а енталпија ( $\Delta_r H_{\text{PA}}$ ) рачуна према једначини (9), док у другом процесу долази до трансфера електрона, а енталпија ( $\Delta_r H_{\text{ETE}}$ ) се рачуна према једначини (10).<sup>247,250–254</sup>



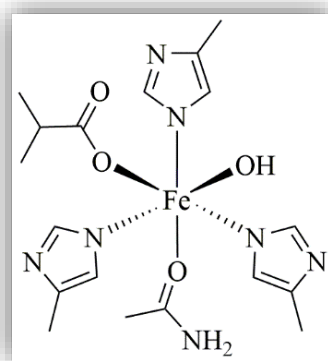
$$\Delta_r H_{\text{PA}} = [\text{H}(\text{A}-\text{O}^-) + \text{H}(\text{ROH})] - [\text{H}(\text{A}-\text{OH}) + \text{H}(\text{RO}^-)] \quad (9)$$



$$\Delta_r H_{\text{ETE}} = [\text{H}(\text{A}-\text{O}^\bullet) + \text{H}(\text{RO}^-)] - [\text{H}(\text{A}-\text{O}^-) + \text{H}(\text{RO}^\bullet)] \quad (10)$$

### 1.6.5. Инхибиција липоксигеназе соје

Липоксигеназа – LOX (енг. *lipoxygenase*) представља ензим који уз помоћ кисеоника катализује оксидацију *cis,cis*-1,4-пентадиенских незасићених масних киселина и то линолне киселине код биљака и арахидонске киселине код људи.<sup>255–257</sup> На Слици 9 представљено је активно место липоксигеназе соје и чине га нехемски  $\text{Fe}^{3+}$ -јон који је координован за изолеуцин, аспарагин, три хистидина и хидроксилну групу.<sup>258</sup>



Слика 9. Активно место сојине липоксигеназе.

Ови ензими играју важну улогу у биосинтези медијатора леукотриена који су узрочници бројних акутних и хроничних запаљенских обољења, као што су: реуматоидни артритис, дерматитис, астма, карциноми, атеросклероза. Због наведеног негативног утицаја, јако је важно пронаћи селективне и ефикасне инхибиторе, тј. добре антиинфламаторне агенсе.<sup>256</sup>

Општеприхваћени механизам деловања ензима липоксигеназе је радикалски, у ком долази до преузимања алилног *H*-атома из незасићене масне киселине помоћу хидроксилне групе везане за  $Fe^{3+}$ , при чему се гради пентадиенилни радикал, а гвожђе се редукује до  $Fe^{2+}$ . Новонастали радикал у реакцији са кисеоником даје пероксилни радикал као каталитички интермеђијер, који се редуkcијом помоћу  $Fe^{2+}$  јона преводи у хидропероксидни диен, а долази и до регенерације  $Fe^{3+}$  јона – активне форме ензима липоксигеназе (Схема 38).<sup>258</sup>

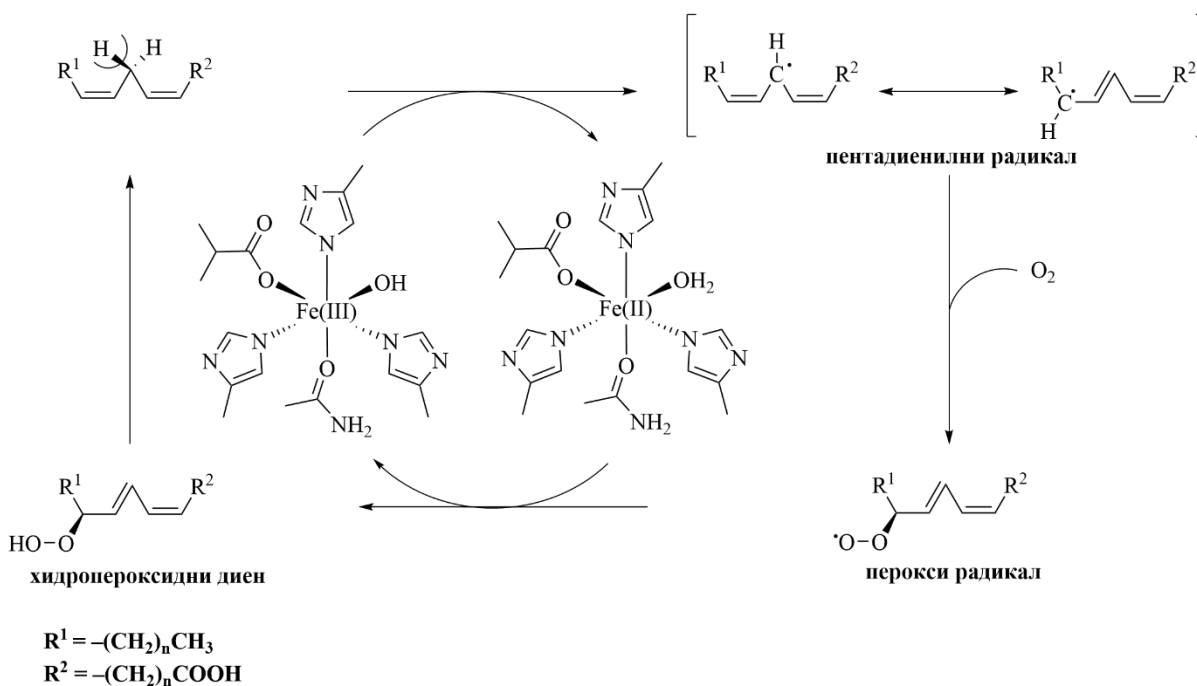


Схема 38. Механизам оксидације незасићених масних киселина помоћу ензима липоксигеназе.

## **2. НАШИ РАДОВИ**

## 2.1. 1-Бензоил-1*H*-пиразолски деривати

Бензоил-1*H*-пиразолски деривати **3** су синтетисани применом две методологије и то:

- у лимуновом соку као растварачу и катализатору (Схема 39),<sup>259</sup>
- у присуству каталитичке количине лимунске киселине (Схема 41).<sup>260</sup>

Вредности израчунатих „зелених” параметара показују да су обе методе еколошки прихватљиве, ефикасне и представљају „зелени” синтетички пут за добијање бензоил-1*H*-пиразолских деривата **3**. Структуре 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата су потврђене експерименталним и теоријским испитивањима.<sup>259,260</sup> Свим синтетисаним производима је одређен *in vitro* антиоксидативни потенцијал према DPPH стабилном слободном радикалу (Табеле 8 и 11).<sup>259,260</sup> Фенолним пиразолским дериватима је додатно тестиран инхибиторни потенцијал према LOX ензиму (Табела 13, Слике 30–34).<sup>259,260</sup>

### 2.1.1. Синтеза 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата у лимуновом соку

На Схеми 39 представљена је нова „зелена” методологија за синтезу бензоил-1*H*-пиразолских деривата **3** при благим реакционим условима. Синтеза је изведена у присуству свеже процеђеног лимуновог сока (pH ~ 2), као растварача и катализатора.<sup>259</sup>

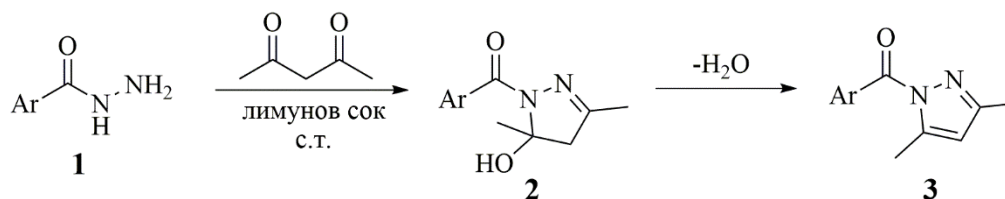


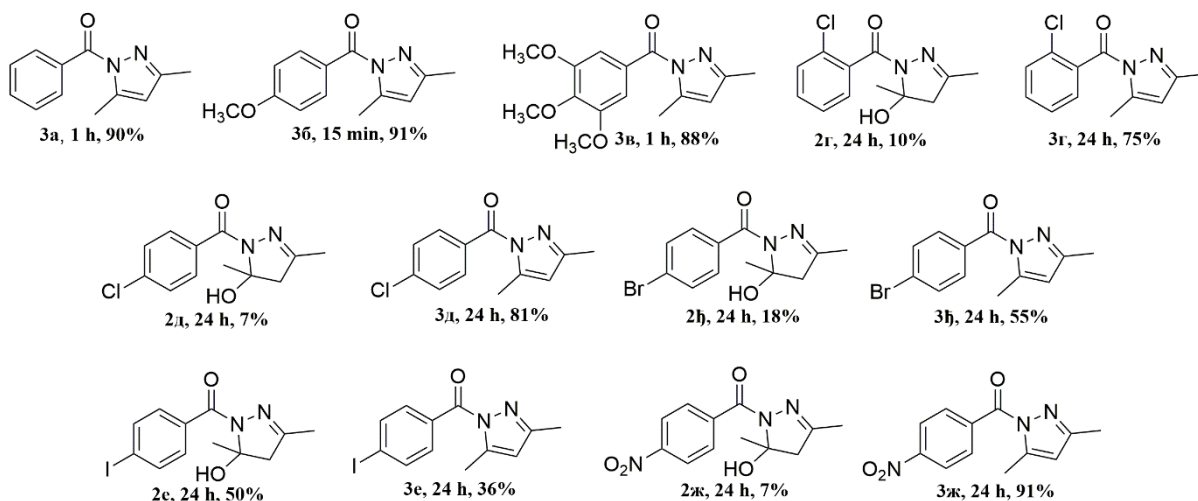
Схема 39. Генерална реакција за синтезу 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата у лимуновом соку.

Модел реакција између бензохидразида **1** (1 mmol) и ацетилацетона (1 mmol) изведена је на собној температури у различитим количинама лимуновог сока (Табела 3). На почетку, реакција је изведена у присуству 1 и 1,5 mL лимуновог сока. Након 3h формиран је производ (3,5-диметил-1*H*-пиразол-1-ил)(фенил)метанон (**3a**) у умереном приносу. Са даљим повећањем количине лимуновог сока (2 и 2,5 mL) дошло је до смањена реакционог времена и повећања приноса, а количина од 3 mL се показала оптималном. Такође, настајање пиразола **3a** је испитано и у води без присуства лимуновог сока као катализатора. Производ је добијен у ниском приносу, чак и продужавањем реакције до 24 h (Табела 3, редни број 8). Ова реакциона смеша је садржала у вишку поред финалног производа **3a** и његов прекурсор, међупроизвод 1-бензоил-5-хидрокси-4,5-дихидро-1*H*-пиразол (**2a**) (однос 5:4). Даље је испитан утицај температуре на дехидратацију **2a**, па је реакциона смеша загревана до рефлукса (Табела 3, редни број 9).<sup>259</sup> Након 5 h загревања, принос финалног производа **3a** је повећан до 70%, док је принос међупроизвода **2a** био свега 2%.

Табела 3. Оптимизација реакционих услова за добијање **3а** у лимуновом соку и води.

Редни број	Лимунов сок/вода (mL)	Време (h)	Принос (%)
1	1	3	65
2	1,5	3	70
3	2	1,5	75
4	2,5	1,5	85
5	3	1	90
6	4	1	90
7	5	1	90
8	3	24	47
9	3	5	70

На основу добијених резултата, може се закључити да су оптимални услови за синтезу 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата, полазећи од ароматичних хидразида **1** и ацетилацетона у моларном односу 1:1, количина лимуновог сока од 3 mL и собна температура (Табела 3, Схема 39). Важно је нагласити да се реакција са 4-метоксибензохидразидом завршила знатно брже од контролне реакције са бензохидразидом (Слика 10). Заправо, ова реакција се завршила након 15 min, при чему се само финални производ налазио у реакционој смеси (Слика 10, Табела 4).<sup>259</sup>



Слика 10. Производи добијени у реакцији ароматичних хидразида са ацетилацетоном у лимуновом соку на собној температури.

Стога, све реакције су изведене у трајању од 15 min полазећи од одговарајућег хидразида и ацетилацетона у моларном односу 1:1 и у 3 mL лимуновог сока (Табела 4).<sup>259</sup>

Табела 4. Дистрибуција производа (2:3) реакција различитих бензоил хидразида са ацетилацетоном након 15 min.

Једињење	Принос (%)	
	2	3
а	18	72
б	/	91
в	18	74
г	36	46
д	42	19
ђ	46	15
е	77	2
ж	88	4

Бензохидразид и 3,4,5-триметоксибензохидразид, као и бензоил хидразида са електрон привлачним групама ( $-\text{Cl}$ ,  $-\text{Br}$ ,  $-\text{I}$ ,  $-\text{NO}_2$ ) реаговали су спорije дајући смешу одговарајућег 1-бензоил-5-хидрокси-4,5-дихидро-1*H*-пиразола **2** и финалног производа 1-бензоил-1*H*-пиразола **3**.

Како би се побољшали приноси, реакционо време је продужено (Слика 10). Производ **3б** је добијен у високом приносу након 15 min и додатно продужење реакционог времена није утицало на принос овог производа. Реакције у којима су употребљени бензохидразид и 3,4,5-триметоксибензохидразид, завршиле су се након 1 h и производи су добијени у веома добром приносу. Са друге стране, за добијање производа **2г–ж** и **3г–ж** било је потребно продужење реакционог времена (Слика 10).<sup>259</sup>

Даљом анализом реакције, а у жељи да се пронађе разумно објашњење за дистрибуцију производа **2** и **3**, предложено је и анализиран механизам реакције (Схема 40). Реакција почиње протоновањем дикетона киселином (лимонска киселина), што је праћено нуклеофилним нападом азота  $\text{N}^2$  из једињења **1** на карбонилну групу ацетилацетона и депротоновањем истог азота. Овако формиран терцијарни алкохол (интермедијер **I**) лако подлеже дехидратацији. Киселина протонује  $\text{OH}$  групу, молекул воде се издваја из реакције са истовременим депротоновањем  $\text{N}^2$  и формира се хидразидо-имински интермедијер **II**. Затим, преостала карбонилна група интермедијера **II** бива протонвана, а  $\text{N}^1$  депротонован. У исто време, 1-бензоил-5-хидрокси-4,5-дихидро-1*H*-пиразол **2** је формиран као производ циклокондензационе реакције. Дехидратација једињења **2** се одвија у присуству лимунске киселине. Ово се слаже са чињеницом да се некатализованом реакцијом у води добијао производ **2** у великим количинама, док је присуство киселине значајно фаворизовало дехидратацију производа **2** до финалног производа **3** (Схема 40). Додатно, процес дехидратације зависи од електронске густине на  $\text{N}^1$ .<sup>261,262</sup> Овај процес би се лакше одвијао са повећањем електронске густине на  $\text{N}^1$  јер би се ароматизација прстена лакше одвијала. Резултати су показали да када су електрон донорске групе позиционирани на ароматичном прстену бензоил хидразида, омогућено је брзо формирање финалног производа **3**, док се у случајевима присуства електрон привлачних група смањује електронска густина на  $\text{N}^1$  и процес постаје спорiji.<sup>259</sup>

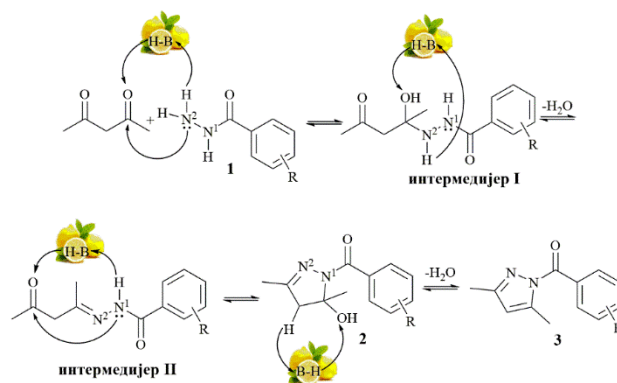


Схема 40. Претпостављени механизам за формирање 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата.

### 2.1.1.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата 3а–ж

Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата 3а–ж је одређена применом „зелене” хемијске метрике и то израчунавањем параметара као што су: АЕ, СЕ, RME, EcoScale, MI и E-factor (Слика 11).<sup>141,148,157,263</sup>



Слика 11. „Зелена” хемијска метрика израчуната за синтетисана једињења 3а–ж.



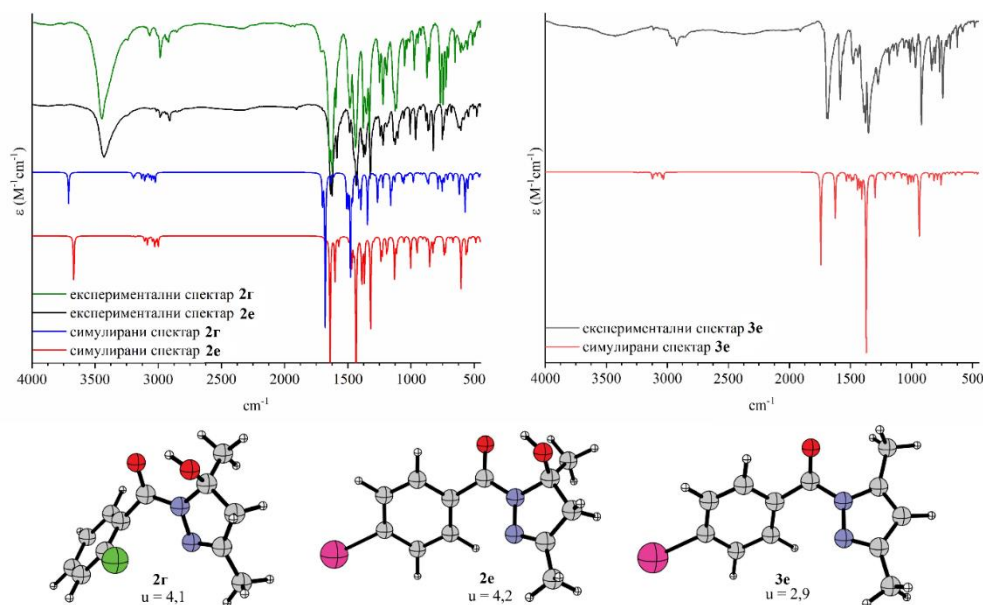
Добијени резултати показују да је АЕ веома висока и има вредности од 84,75% до 90,05%. Реакције имају умерене до одличне вредности за СЕ и за RME, а вредности добијене за EcoScale указују на то да су преостала једињења синтетисана у умереном до одличном приносу уз примену јефтених хемикалија и под безбедним условима. Поред приноса, вредности за EcoScale су мање или веће у зависности од тога да ли је једињење изоловано хроматографијом на колони или не. Додатно, добијени резултати за MI и E-factor су приближни идеалним вредностима за већи број једињења и потврђују „зелену” природу примењене методе.

У Експерименталном делу је приказан прорачун „зелених” параметара и EcoScale параметар, који је израчунат помоћу *online* алата (Слика бб), за један репрезентативни унос (3а).<sup>141,148,157,263,264</sup>

### 2.1.1.2. Структурна карактеризација 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата – експериментална и теоријска испитивања

Сва синтетисана једињења су окарактерисана спектроскопским методама као што су IR, UV-Vis, <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C NMR спектроскопија, као и тачкама топљења. Од тринаест добијених једињења, два су новосинтетисана (2г и 3е). Чистоћа нових једињења је потврђена елементалном анализом. Структура једињења 2е је потврђена рендгенском структурном анализом која није раније објављена у научним радовима.

Експериментални и симулирани IR спектри 1-бензоил-5-хидрокси-4,5-дихидро-1*H*-пиразолских деривата 2г и 2е, као и 1-бензоил-1*H*-пиразола 3е представљени су на Слици 12, док су спектри преосталих једињења дати у Прилогу.<sup>259</sup>



Слика 12. Оптимизоване структуре, вредности диполних момената за једињења 2г, 2е и 3е, као и њихови експериментални и симулирани спектри.

IR спектри су симулирани помоћу метода функционала густине како би се упоредили са експерименталним тракама. Може се закључити да су сви симулирани спектри веома слични експериментално добијеним спектрима. IR спектрална карактеризација

једињења **2e** и **3e** указује на разлике у њиховој структури. Трака на  $3429\text{ cm}^{-1}$  која је присутна у спектру једињења **2e**, а није присутна у спектру једињења **3e** указује на то да ОН група није присутна у једињењу **3e**. Вибрација на око  $1630\text{ cm}^{-1}$  која потиче од  $\text{C}=\text{O}$  групе у спектру **2e** је померена на  $1690\text{ cm}^{-1}$  у спектру једињења **3e**, док су  $\text{C}-\text{N}$  вибрације у спектру једињења **2e** од  $1433\text{--}1376\text{ cm}^{-1}$  померене ка нижим вредностима у спектру једињења **3e** ( $1376\text{--}1273\text{ cm}^{-1}$ ). Траке на око  $1323, 1221, 1125, 964, 824$  и  $605\text{ cm}^{-1}$  из спектра једињења **2e** потичу од  $\text{CH}_2$  деформационе вибрације,  $\text{C}-\text{O}$ ,  $\text{N}-\text{C}(\text{OH})$ ,  $\text{C}-\text{OH}$ ,  $\text{C}-\text{CH}_2$  и  $\text{O}-\text{N}$  деформационих вибрација ван равни, редом за наведене вредности. У спектру једињења **3e**, траке на око  $917$  и  $833\text{ cm}^{-1}$  одговарају  $\text{Ar}-\text{C}-\text{C}=\text{O}$  и  $=\text{C}-\text{N}$  деформационим вибрацијама ван равни. Трака од  $\text{Ar}-\text{C}-\text{C}=\text{O}$  код једињења **2e** није присутна због стабилизације преко  $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$  водоничне везе. У оба спектра, траке на око  $1580, 1480, 1010$  и  $745\text{ cm}^{-1}$  одговарају ароматичним  $\text{C}-\text{C}$ ,  $\text{CH}_3$  деформационим, ароматичној  $\text{C}-\text{I}$  вибрацији и ароматичним деформационим  $\text{C}-\text{H}$  вибрацијама, редом за наведене вредности. IR спектри једињења **2g** и **2e** су веома слични. Једина разлика између ових спектра је вибрација која одговара ароматичној угљеник-халоген вибрацији која је померена на  $1125\text{ cm}^{-1}$  у спектру једињења **2g**.

Сва једињења су окарактерисана применом експерименталних и теоријских  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектра. Хемијска померања за једињења **2g**, **2e** и **3e** представљена су у Табелама 5 и 6, док су подаци за остала једињења приказани у Прилогу.<sup>259</sup>

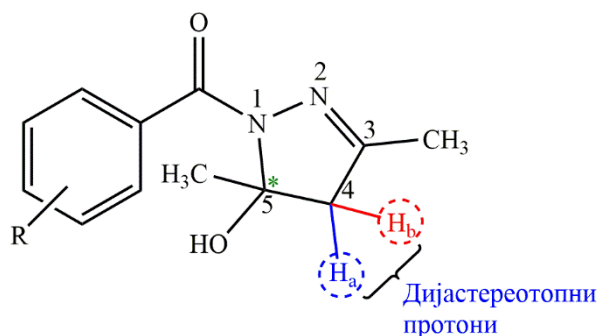
Табела 5. Хемијска померања за експерименталне и симулиране  $^1\text{H}$  NMR спектре (ppm).

	2g		2e		3e	
	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.
$\text{CH}_3$	1,99	1,94	2,04	1,99	2,25	2,26
	1,95	1,78	1,96	1,84	2,63	2,62
$\text{C4}-\text{H}$	/		/		6,07	6,10
$\text{C4}-\text{H}_a, \text{H}_b$	2,98	2,96	2,96	2,91	/	
Ar	7,37	7,33	7,85	7,57	7,72	7,62
			8,07	7,78	7,83	7,86
$\text{C5}-\text{OH}$	4,85	4,51	5,00	4,88	/	

Табела 6. Хемијска померања за експерименталне и симулиране  $^{13}\text{C}$  NMR спектре (ppm).

	2g		2e		3e	
	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.
$\text{CH}_3$	16,11	18,17	16,20	18,06	13,85	15,61
	26,67	26,71	26,87	26,42	14,34	16,15
$\text{C4}-\text{H}$	/		/		111,20	110,82
$\text{C4}-\text{H}_a, \text{H}_b$	51,56	52,87	51,02	52,72	/	
$\text{C5}$	92,00	94,75	92,79	94,73	145,10	147,15
$\text{C3}$	155,8	159,46	155,59	157,76	152,33	153,39
$\text{C}=\text{O}$	166,49	164,49	167,52	165,95	167,52	165,69
Ar	131,02	136,72	133,64	133,32	128,72	132,36
	135,70	138,27	131,39	131,11	132,70	132,44
	129,30	128,05	136,86	134,50	137,03	134,48
	130,30	129,09	98,30	109,26	111,24	118,68
	126,40	126,01				
	128,35	127,26				

$^1\text{H}$  NMR спектри једињења **2g** и **2e** указују на то да нема значајне разлике у хемијским померањима, изузев у ароматичној области (Табела 5). Код оба експериментална спектра два дијастереотопна протона метилenske групе ( $\text{H}_a$  и  $\text{H}_b$ ) пиразолског прстена појављују се као АВ квартети на 2,98 ppm ( $J_{AB} = 18,4$  Hz и  $\Delta\nu_{AB} = 51,7$  Hz) и 2,96 ppm ( $J_{AB} = 18,4$  Hz и  $\Delta\nu_{AB} = 47,4$  Hz). Ови дијастереотопни протони подлежу купловању један са другим (Слика 13).<sup>259</sup>

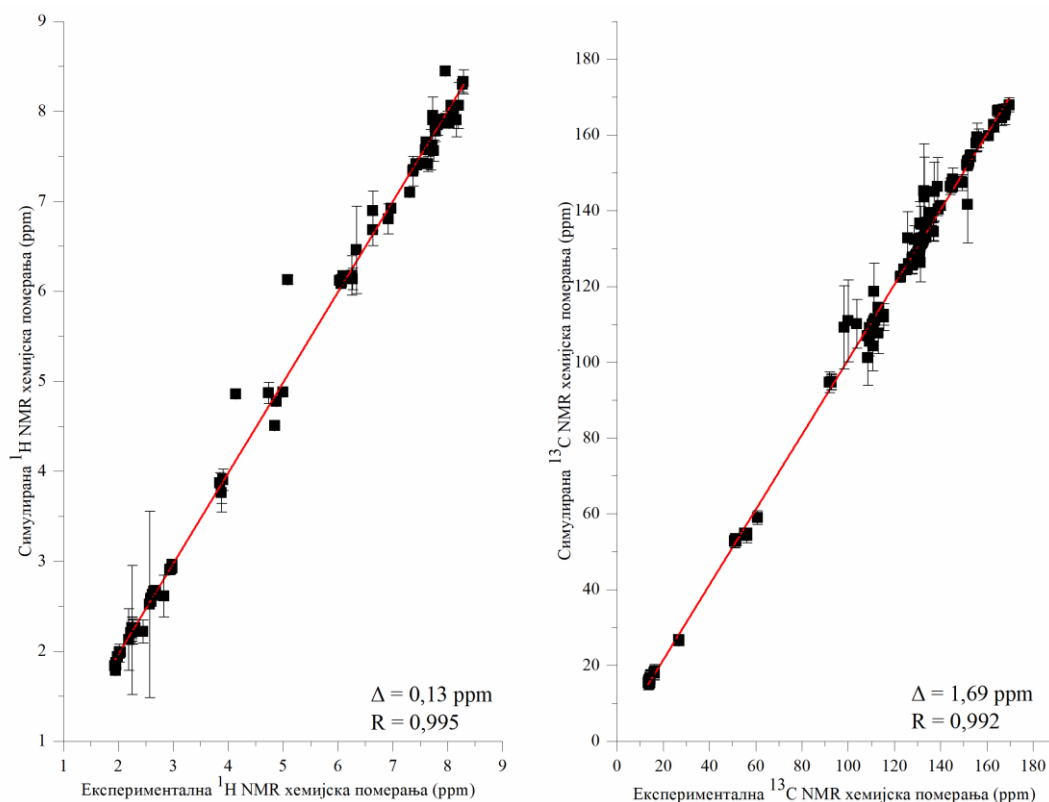


Слика 13. Скелет једињења **2**.

У симулираним спектрима ови сигнали се појављују на 2,96 и 2,91 ppm. Синглети метил група везаних за C3 и C5 пиразолског прстена појављују се на 1,95 и 1,99 ppm (1,78 и 1,94 ppm, симулирано) у спектру једињења **2g** и на 1,96 и 2,04 ppm (1,84 и 1,99 ppm симулирано) у спектру једињења **2e**. Синглети за хидроксилну групу везану за стереоцентар C5 појављују се на 4,85 и 5,00 ppm у одговарајућем спектру сваког једињења, док се у симулираним спектрима налазе на 4,51 и 4,88 ppm. Ароматични протони једињења **2g** се појављују као мултиплети на 7,37 ppm (симулирано 7,33 ppm), док су у спектру једињења **2e** они запажени као дублети на 7,85 и 8,07 ppm (симулирано 7,57 и 7,78 ppm). У  $^1\text{H}$  NMR спектру дехидратисаног производа **3e**, синглет који потиче од протона везаног за угљеник C4 пиразолског прстена, појављује се на 6,07 ppm (симулирано 6,10 ppm). Метил групе везане за C3 и C5 угљенике пиразолског прстена су присутне као два оштра синглета на 2,25 и 2,63 ppm (симулирано 2,26 и 2,62 ppm), а протони од фенил групе се појављују као дублети на 7,72 и 7,83 ppm (симулирано 7,62 и 7,86 ppm).<sup>259</sup>

У  $^{13}\text{C}$  NMR спектрима једињења **2g** и **2e** атоми угљеника који потичу од метил група појављују се на 16 и 27 ppm и у експерименталном и симулираном спектру (Табела 6).<sup>259</sup> Пикови на око 156, 51 и 93 ppm потичу од угљеника C3, C4 и C5 (у симулираном спектру на 159, 53 и 95 ppm). Угљеници од C=O групе појављују се на око 167 ppm. Слично као код  $^1\text{H}$  NMR спектра, једина разлика код  $^{13}\text{C}$  NMR спектра за једињења **2g** и **2e** је у ароматичној области. Заправо, постоји шест сигнала у спектру једињења **2g** у области 126–136 ppm, док се у спектру једињења **2e** јављају четири сигнала у области 98–137 ppm због присуства атома јода у *p*-положају. У спектру једињења **3e**, обе метил групе се појављују на око 14 ppm (симулирано 15 и 17 ppm), а угљеникови атоми C3, C4 и C5 на око 152, 100 и 145 ppm (симулирано 153, 111 и 147 ppm). Ароматични угљеници су запажени у области 111–137 ppm (симулирано 132–138 ppm) и угљеник из карбонилне групе на око 167 ppm (симулирано 166 ppm). Важно је напоменути да су симулирани  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектри репродуковали хемијска померања са високом тачношћу. Заправо, средња вредност апсолутних грешака ( $\Delta$ ) износи 0,13 и 1,69 ppm, док су коефицијенти

корелације ( $R$ ) зависности израчунатих хемијских померања од експерименталних вредности, већи од 0,99 (Слика 14).<sup>259</sup>

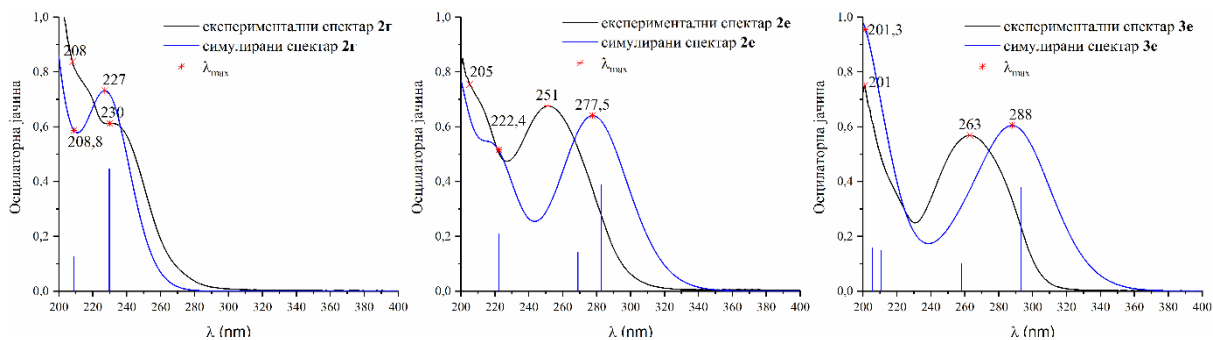


Слика 14. Зависност симулираних од експерименталних  $^1\text{H}$  NMR и  $^{13}\text{C}$  NMR хемијских померања (ppm).

Симулирана хемијска померања су скалирана факторима скалирања одређеним методом најмањих квадрата и износе 0,9639 за  $^1\text{H}$  NMR и 0,9422 за  $^{13}\text{C}$  NMR спектре.

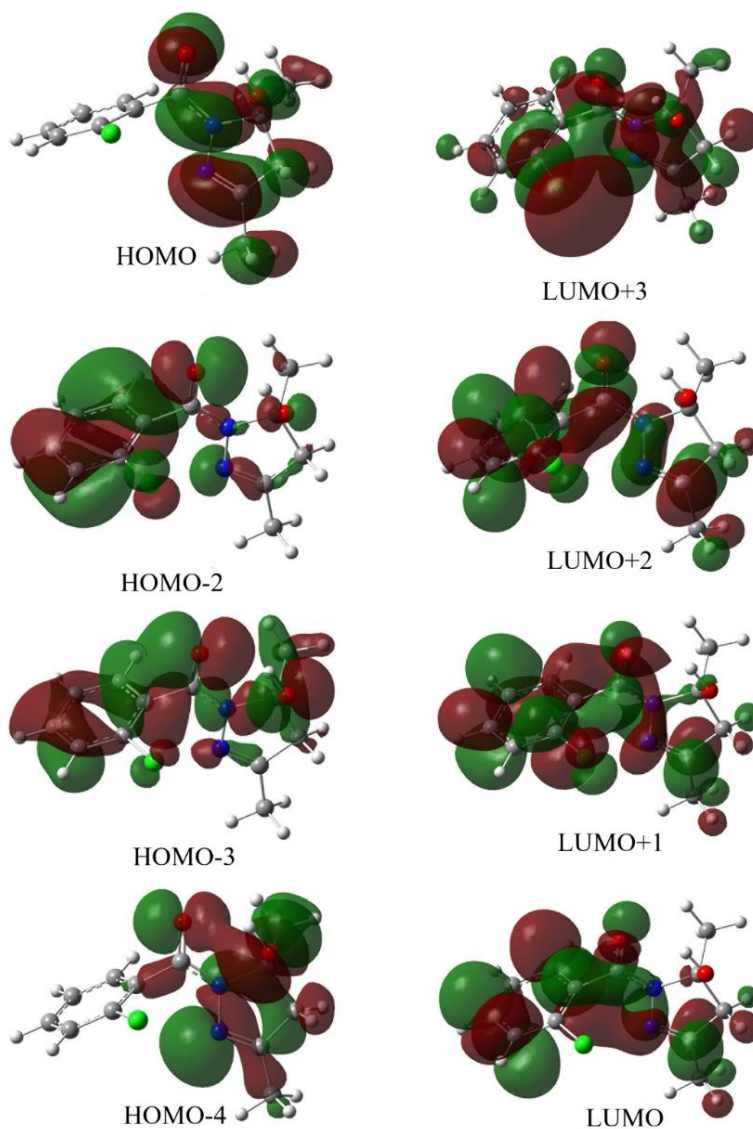
Као репрезентативни примери приложени су експериментални  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектри једињења **2g** и **3a** (видети *Прилог*). Поред спектра производа, у *Прилогу* су дати и спектри бензохидразида – прекурсора производа **2a** и **3a**.

Поред IR и NMR спектралне карактеризације, урађена је и експериментална и теоријска UV-Vis спектрална карактеризација једињења **2g**, **2e** и **3e** (Слика 15).<sup>259</sup>

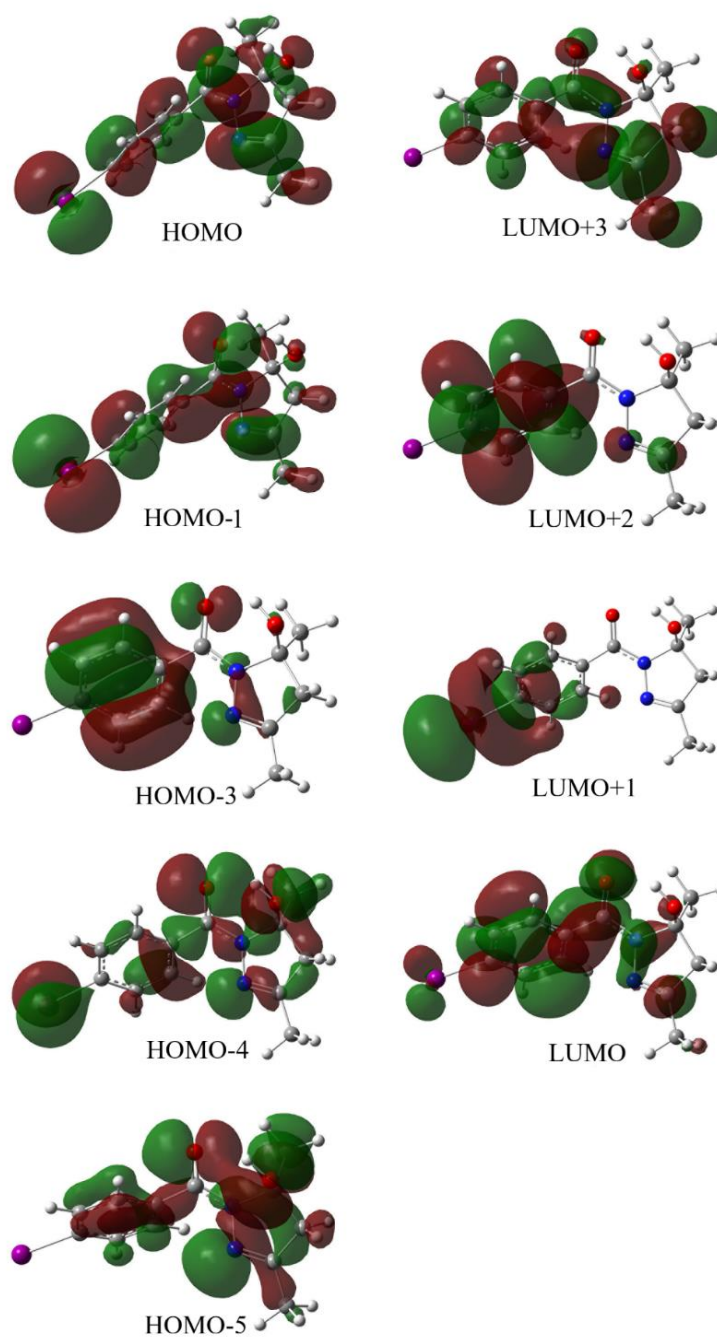


Слика 15. Експериментални и симулирани UV-Vis спектри једињења **2g**, **2e** и **3e**.

У експерименталним и симулираним спектрима једињења **2г**, **2е** и **3е** појавила се једна интензивна апсорпциона трака. У експериментално одређеним спектрима за **2г**, **2е** и **3е**, апсорпционе траке се појављују на 230, 251 и 263 nm, редом за свако једињење. У симулираним спектрима, код једињења **2г** интензивна трака је померена на 227 nm, док у случајевима једињења **2е** и **3е** траке су померене ка вишим вредностима и то 277,5 и 288 nm. Како би се разјаснило који су делови молекула одговорни за електронске прелазе, конструисане су Кон-Шамове (Kohn-Sham) орбитале (Слике 16–18).<sup>259</sup>

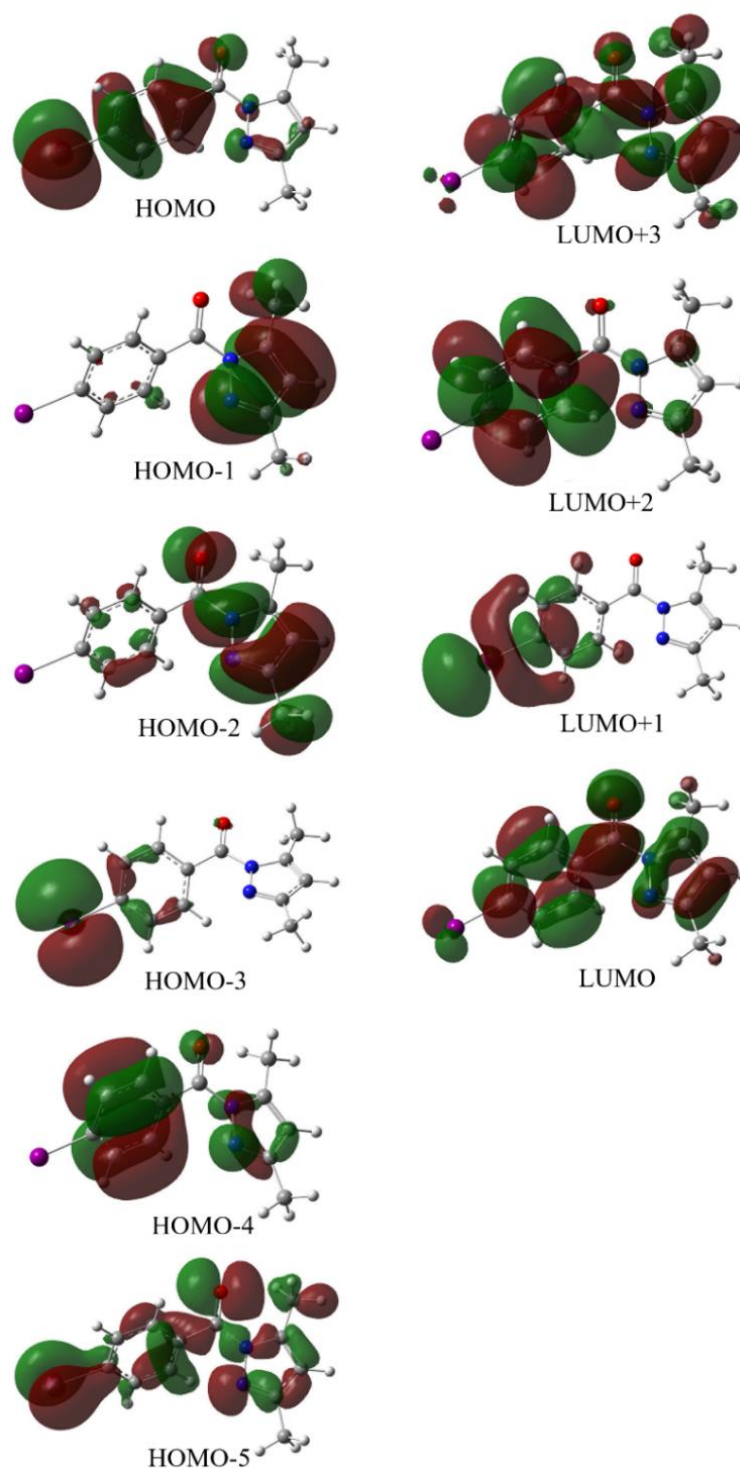


Слика 16. Кон-Шамове орбитале једињења **2г**.



Слика 17. Кон-Шамове орбитале једињења 2e.





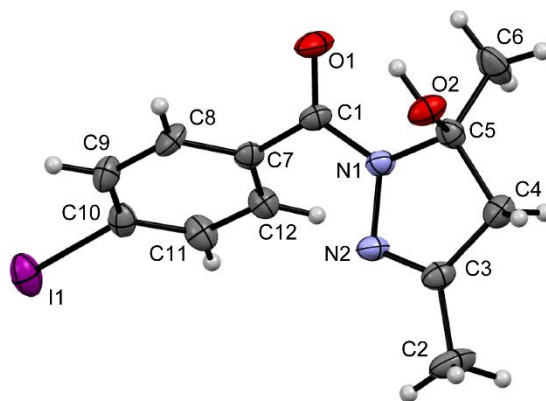
Слика 18. Кон-Шамове орбитале једињења **3e**.

Експериментална трака на 230 nm (симулирана 227 nm) у спектру једињења **2g** настаје као последица HOMO → LUMO+2 електронског прелаза. За појаву ове траке, на молекулском нивоу, одговоран је електронски прелаз са пиразолског фрагмента на бензоил групу. У спектру једињења **2e**, трака на 251 nm настаје као последица HOMO → LUMO електронског прелаза (са скоро целог молекула на бензоил фрагмент молекула),

са малим доприносом електронских прелаза НОМО–1 (бензоил део молекула) и НОМО–4 (пиразолски део) → LUMO (бензоил део).

У случају једињења **3e**, поред НОМО → LUMO прелаза (од бензоил до бензоил дела молекула), постоји допринос од НОМО–2 → LUMO електронског прелаза (од пиразолског до бензоил фрагмента молекула). Разматрањем регија одговорних за појаву трака у спектрима једињења **2g**, **2e** и **3e** на 230, 251 и 263 nm, јасно је да је трака са највишом енергијом на 230 nm последица електронског прелаза између различитих делова молекула (велика просторна удаљеност), док су траке на 251 и 263 nm код **2e** и **3e** последица електронских прелаза на мањој просторној удаљености.<sup>259</sup>

Структура једињења **2e** је потврђена рендгенском структурном анализом (X-гау дифракцијом, енг. *single crystal X-ray diffraction*). Молекулска структура је представљена на Слици 19, док су одабрани геометријски параметри дати у Табели 7.<sup>259</sup>



Слика 19. Молекулска структура са нумерацијом атома једињења **2e** и њиховим елипсоидним параметрима померања нацртаним на нивоу вероватноће од 30%.

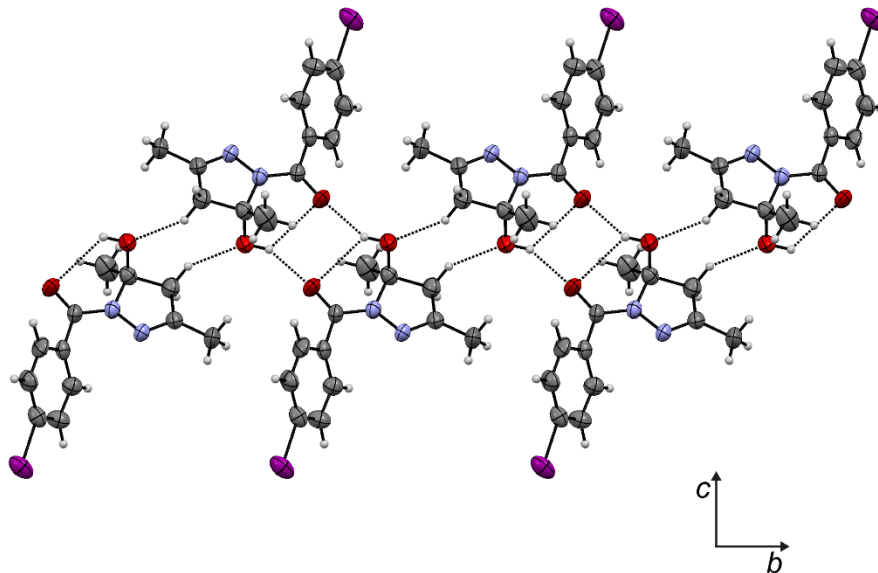
Табела 7. Вредности неких одабраних дужина веза (Å) и углова између веза (°) за једињење **2e** добијене на основу рендгенске структурне анализе и оптимизоване структуре.

	X-ray	израчунао $\Delta = 0,013$		X-ray	израчунао $\Delta = 0,5$
N1–N2	1,406(8)	1,392	N1–N2–C3	106,7(6)	108,6
N1–C5	1,471(9)	1,501	N2–N1–C5	112,5(5)	112,8
N2–C3	1,283(10)	1,280	N1–C5–C4	100,5(6)	100,8
C3–C4	1,492(12)	1,506	N2–C3–C4	114,2(7)	114,1
C4–C5	1,518(11)	1,538	N1–C1–C7	119,4(5)	120,0
N1–C1	1,364(9)	1,369	N1–C1–O1	119,3(6)	119,3
C1–O1	1,239(9)	1,234	C3–C4–C5	103,0(6)	103,4
C1–C7	1,484(11)	1,493			

Важно је нагласити да постоји веома добро слагање између X-гау дифракционих геометријских параметара и вредности добијених оптимизацијом структуре једињења **2e** у гасној фази. Пиразолински прстен код једињења **2e** показује очекивано одступање од планарности, због присуства два  $sp^3$  хибридована С атома (r.m.s 0,0757 Å). Прстен има конформацију коверте, где C5 атом, за који су везане метил и хидроксилна група, одступа за –0,28 (1) Å од равни најмањих квадрата преосталих N1/N2/C3/C4 атома (r.m.s



0,004 Å). Као што је раније објављено,<sup>265–268</sup> N2–C3 веза [1,2786(17) Å] је најкраћа, што указује на локализацију електронске густине у овом делу прстена (Слика 20).<sup>259</sup>

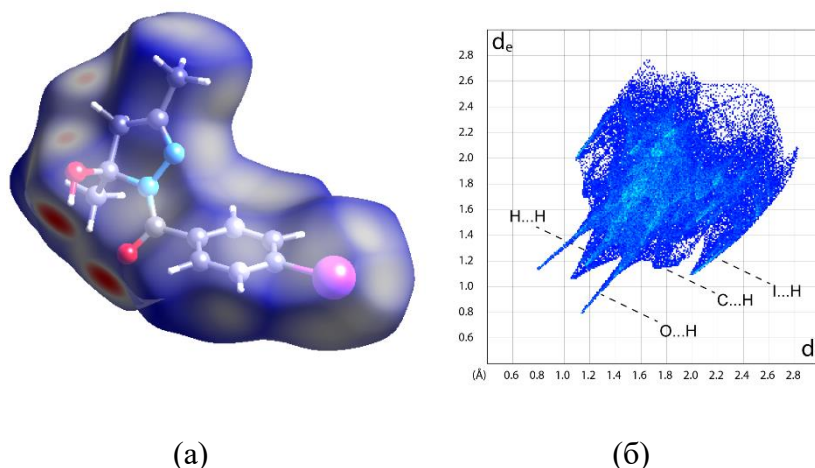


Слика 20. Ланац центросиметрично O–H $\cdots$ O везаних димера једињења **2e**.

Молекул показује *E* конфигурацију због N1–C1 везе [1,364(9) Å], што потврђује и торзиони угао N2–N1–C1–O1 од 161,4(7)°. Раван дефинисана атомима N1/C1/O1/C7/ гради мањи диедарски угао са пиразолинским прстеном [12,5(5)]° у поређењу са диедарским углом према фенил прстену [48,1(3)]°. Ове вредности указују на то да прекинута делокализација унутар пиразолина фаворизује делокализацију слободног електронског пара са N2 према карбонилној групи до прстена. То се такође огледа у N1–C1 вези која је знатно краћа од аналогне везе у 1-бензоил-5-хидрокси-4,5-дихидро-1*H*-пиразолским дериватима. Диедарски угао између средњих равни пиразолинског прстена и фенил прстена је 58,1(3)°. Молекулска структура је стабилизована интрамолекулском водоничном везом формираном између хидроксилне групе и карбонилног O акцептора [O2–H2 $\cdots$ O1: H $\cdots$ O 2,50 Å O–H $\cdots$ O 123°]. У кристалном паковању исти дозор и акцептор су укључени у образовање специфичних O2–H2 $\cdots$ O1 центросиметричних димера [O2–H2 $\cdots$ O1<sup>i</sup>: H $\cdots$ O 2,04 Å O–H $\cdots$ O 150°, (i) = –x, –y, –z+1]. Слична структура је анализирана у претходним литературним подацима.<sup>267,268</sup>

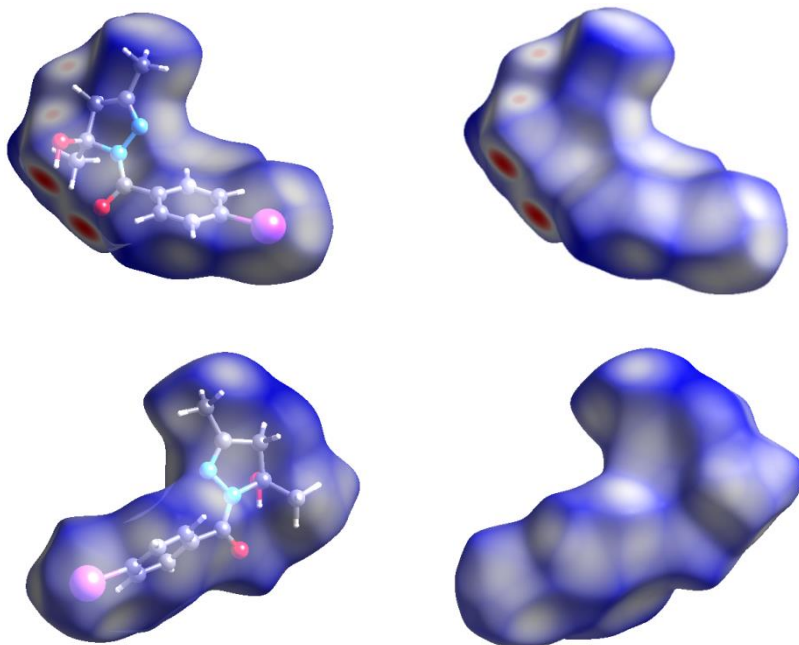
Димери се међусобно повезују слабом C–H $\cdots$ O интеракцијом [C4–H4b $\cdots$ O2<sup>ii</sup>: H $\cdots$ O 2,57 Å C–H $\cdots$ O 145°, (ii) = x, –y+1, –z+1] у ланац који се протеже дуж осе *b* (Слика 20). N2 акцептор нема улогу у грађењу водоничних веза. Кристална структура једињења **2e** је даље стабилизована само слабом ван дер Валсовим (van der Waals) привлачним интеракцијама.<sup>259</sup>

Хиршфелдова (Hirshfeld) анализа површине (Слика 21) је коришћена за квантификовање интермолекулских интеракција које доприносе стабилизацији кристалног паковања једињења **2e**.<sup>259,269</sup>



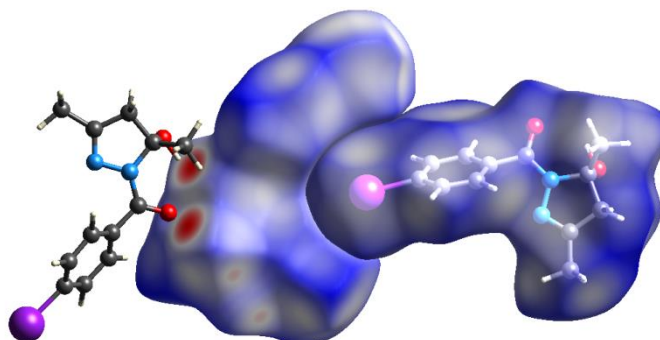
Слика 21. (а) Хиршфелдова површина једињења **2e**; (б) дводимензионална пројекција Хиршфелдове површине једињења.

Изражене црвене мрље на Хиршфелдовој површини указују на најкраће интеракције које проистичу из  $O2-H2 \cdots O1$  водоничне везе (Слика 21а).<sup>259</sup> На одговарајућем 2D дијаграму (Слика 21б) ова центросиметрична интеракција је индикована паром пикова. Процент доприноса  $O \cdots H$  интеракција у кристалном паковању је само 14,0%, док главни допринос потиче од  $H \cdots H$  интеракција (44,1%). Већински део Хиршфелдове површине једињења **2e** карактеришу светле боје које указују на распрострањеност слабих ван дер Валсових и електростатичких интеракција (Слике 21а и 22).<sup>259</sup>



Слика 22. Хиршфелдова површина пресликана преко  $d_{\text{norm}}$  [скала боје:  $-0,53$  (црвена) до  $1,41 \text{ \AA}$  (плава)]. Две пројекције (изнад и испод) показују две стране једињења **2e**.

Кратки бочни пикови у 2D дијаграму потичу од слабих  $\text{H}\cdots\text{I}$  интеракција које доприносе Хиршфелдовој површини са 15,4%. У кристалном паковању сваки атом јода се уклапа у набор суседног молекула (Слика 23) што резултује slabим ван дер Валсовим интеракцијама. Растојање између јода и централног дела фенолног прстена је  $3,799(3) \text{ \AA}$ .<sup>259</sup>



Слика 23. Хиршфелдова површина пресликана преко  $d_{\text{norm}}$  [скала боје:  $-0,53$  (црвена) до  $1,41 \text{ \AA}$  (плава)]. Црвене мрље потичу од најјаче  $\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$  водоничне везе. Атом јода се уклапа у набор суседног молекула што резултује ван дер Валсовим интеракцијама.

### 2.1.1.3. Антиоксидативна активност 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата

Свим синтетисаним дехидратисаним производима **3a–ж** је одређен *in vitro* антиоксидативни потенцијал према DPPH стабилном слободном радикалу (Табела 8). Добијени резултати показују лошу антиоксидативну активност 1-бензоил-1*H*-пиразолских деривата **3a–ж**, што се може приписати одсуству фенолних група.

Табела 8. Интеракција испитиваних и референтних једињења са стабилним радикалом DPPH.

Једињење	Способност уклањања DPPH (%)						IC <sub>50</sub> (μM)
	25 μM		50 μM		100 μM		
	20 min	60 min	20 min	60 min	20 min	60 min	
<b>3a</b>	1,8±0,8	2,2±0,7	1,9±0,7	2,6±0,9	3,5±0,6	4,3±0,9	–
<b>3б</b>	1,4±0,8	4,0±1,0	2,8±0,1	5,5±0,5	3,6±0,5	6,2±0,3	–
<b>3в</b>	3,4±0,4	6,1±0,4	3,8±0,5	6,6±0,4	4,3±0,2	7,0±0,5	–
<b>3г</b>	4,5±0,5	5,2±1,0	4,6±0,3	5,8±0,4	4,7±0,2	6,3±0,4	–
<b>3д</b>	2,3±0,6	2,3±0,9	3,1±0,8	2,7±0,8	3,2±0,7	2,7±1,5	–
<b>3ђ</b>	1,3±0,2	3,3±0,7	1,8±0,5	4,0±0,7	2,0±0,6	3,2±0,2	–
<b>3е</b>	2,3±0,8	3,8±0,6	3,0±0,1	4,5±0,6	3,6±0,9	5,1±1,0	–
<b>3ж</b>	3,8±0,5	5,8±0,1	4,2±0,3	6,1±0,2	4,3±0,5	6,2±0,4	–
NDGA	94,6 ±0,7	94,6±0,6	94,2±0,7	94,2±0,7	94,5±0,2	94,1±0,7	1,7±0,1
Кверцетин	95,3 ±0,8	95,1±0,9	96,8 ±1,0	96,5±0,9	95,1±0,9	95,4±0,8	1,9±0,1

## 2.1.2. Синтеза пиразолских деривата медицински релевантних фенолних киселина у присуству каталитичке количине лимунске киселине

Деривати хидразида **1** су добијени у реакцији метил естра салицилне, *p*-хидроксибензоје, β-резорцинолне, протокатехинске или ванилинске киселине и хидразин монохидрата у умереном до добром приносу (Схема 41). Тако добијени хидразида су искоришћени за синтезу пиразолских деривата **3** у реакцији са ацетилацетоном и у присуству лимунске киселине као катализатора. У циљу оптимизације реакционих услова, као модел реакција изведена је реакција између салицилхидразида и ацетилацетона (Схема 41).<sup>260</sup>

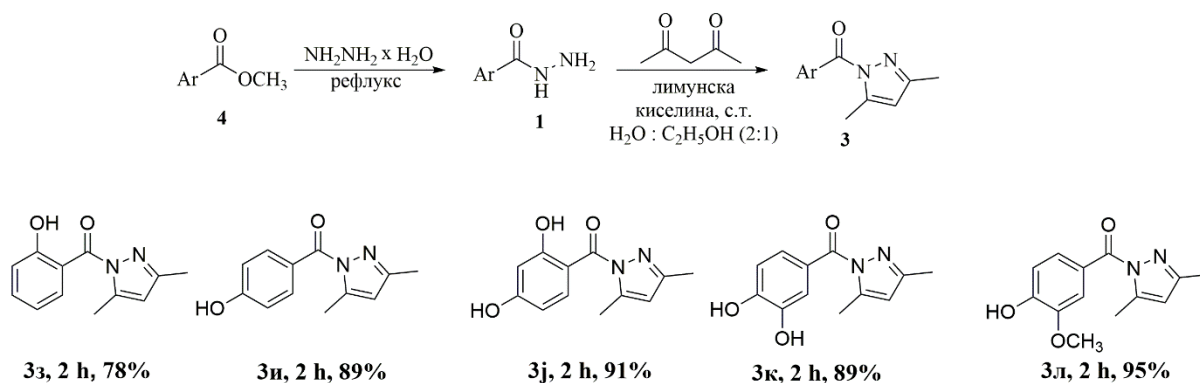


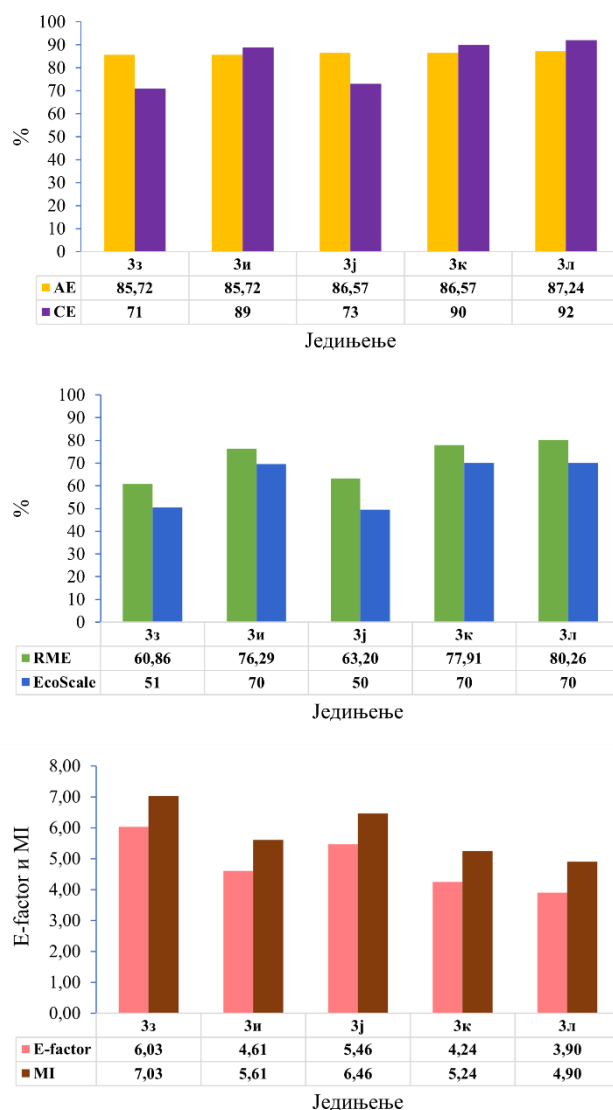
Схема 41. Генерална синтеза фенолних пиразолских деривата **3**.

На почетку, реакција је изведена у присуству 20 mol% лимунске киселине у води као растварачу и на собној температури, али након 24 h производ је детектован у траговима. У смеси воде и етанола (2:1) са истом количином катализатора на собној температури добијен је пиразолски производ у добром приносу и за релативно кратко време (2 h). Даље повећање количине етанола (вода/етанол = 1:1 и 1:2) није значајно утицало на принос и време реакције. Оптимизовани реакциони услови, тј. смеша воде и етанола (2:1), 20 mol% катализатора, собна температура и реакционо време од 2 h су коришћени за све реакције (Схема 41). Оваква „зелена” методологија за синтезу пиразолских деривата није објављена раније. Фенолни пиразолски деривати **3z–l** су добијени у добром до одличном приносу (Схема 41).<sup>260</sup>

Сва добијена једињења су окарактерисана NMR и IR спектроскопијски, као и UV-Vis спектрофотометријски. Чистоћа свих једињења је проверена помоћу HPLC анализе, а одговарајући спектри и табеле су дати у *Прилогу*. Важно је нагласити да су пиразолски деривати протокатехинске и ванилинске киселине, **3k** и **3l**, новосинтетисана једињења. Додатно, чистоћа нових једињења је потврђена елементалном анализом, док је за једињење (4-хидрокси-3-метоксифенил)(3,5-диметил-1*H*-пиразол-1-ил)метанон (**3l**) структура додатно потврђена X-ray дифракционом анализом.<sup>260</sup>

### 2.1.2.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање фенолних пиразолских деривата 3з–л

Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање фенолних пиразолских деривата 3з–л је одређена применом „зелене” хемијске метрике и то израчунавањем параметара као што су: АЕ, СЕ, RME, EcoScale, MI и E-factor (Слика 24).<sup>141,148,157,263</sup>



Слика 24. „Зелена” хемијска метрика израчуната за синтетисана једињења 3з–л.

Добијени резултати показују високе вредности АЕ и СЕ (85,72–87,24% за АЕ и 71–92% СЕ) што указује да је овом методом постигнута атомска економичност и ефикасност угљеника. Ниже вредности EcoScale параметра добијене за једињења 3з и 3ј су последица изоловања ових једињења применом хроматографије на колони. Додатно, добијене вредности за MI и E-factor су нешто веће од идеалних вредности што је последица употребе лимунске киселине као катализатора и етанола као корастварача, па

је самим тим однос масе свих реагенаса и самог производа већи. Вредности за RME су умерене до добре и показују да ова метода представља „зелени” синтетички пут за добијање фенолних пиразолских деривата.

У *Експерименталном делу* је приказан прорачун „зелених” параметара и EcoScale параметар, који је израчунат помоћу *online* алата (Слика 67), за један репрезентативни унос (Зз).<sup>141,148,157,263,264</sup>

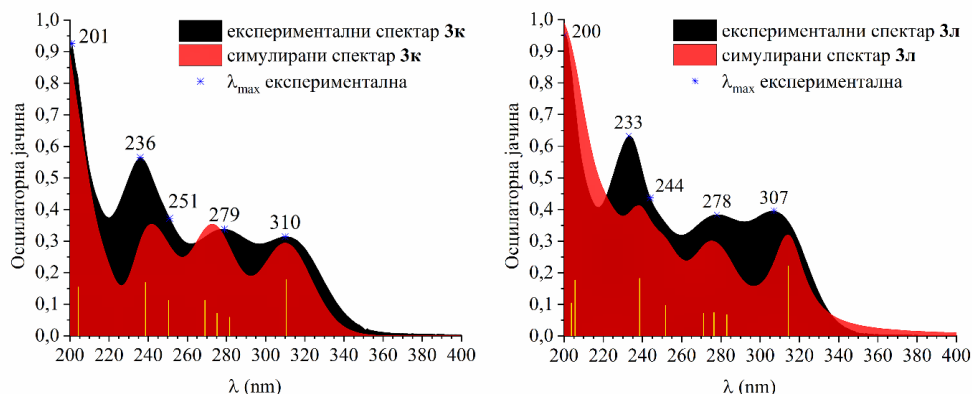
### 2.1.2.2. Структурна карактеризација пиразолских деривата Зз–л – експериментална и теоријска испитивања

У <sup>1</sup>H NMR спектрима нових једињења Зк и Зл, протони везани за угљеник С4 пиразолског фрагмента појављују се као синглети на 6,15 ppm за једињење Зк и на 6,05 ppm за једињење Зл (Схема 41, Слика 28), док у спектрима других једињења (Зз, Зи, Зј) ови синглети се појављују на 6,08, 6,07 и 6,09 ppm.<sup>260</sup> Протони који потичу од метил група из пиразолског фрагмента за сва једињења појављују се као синглети на око 2,30 и 2,60 ppm. Фенолне –ОН групе се појављују као широки синглети на 5,99 ppm за Зк и на 6,17 ppm за Зл. У спектру једињења Зл, протони метокси групе везане за ароматични прстен су запажени на 3,93 ppm. Ароматични протони једињења Зк и Зл појављују се као два дублета на око 6,80 (са константом купловања око 8 Hz) и 7,50 ppm (са константом купловања око 2 Hz) и дублети дублета на око 7,20 (Зк) и 7,70 ppm (Зл). Ароматични протони једињења Зз, Зи и Зј појављују се као дублети, дублети дублета и мултиплети у области 6,27–8,18 ppm.<sup>260</sup>

У <sup>13</sup>C NMR спектрима једињења Зз–л, у опсегу 12–15 ppm запажене су метил групе, док су угљеникови атоми пиразолског прстена запажени на око 110, 145 и 150 ppm. Угљеници бензоил јединице се појављују у области 114–145 ppm. Пикови на око 167 ppm се приписују угљениковим атомима карбонилне групе.

Као репрезентативни примери дати су <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C NMR спектри фенолног пиразолског деривата Зз и његовог прекурсора – 2-хидроксибензохидразида (видети *Прилог*).

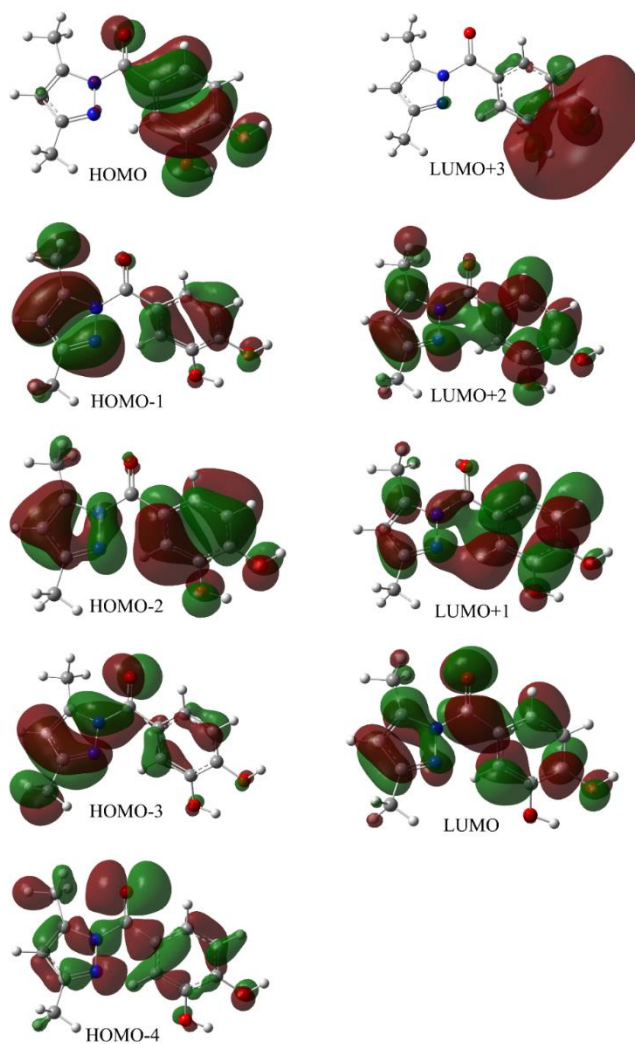
Сви пиразолски деривати (Зз–л) су окарактерисани применом UV-Vis спектроскопије. Спектри нових једињења (Зк и Зл) су приказани на Сlici 25, а за остала једињења су дати у *Прилогу*.<sup>260</sup>



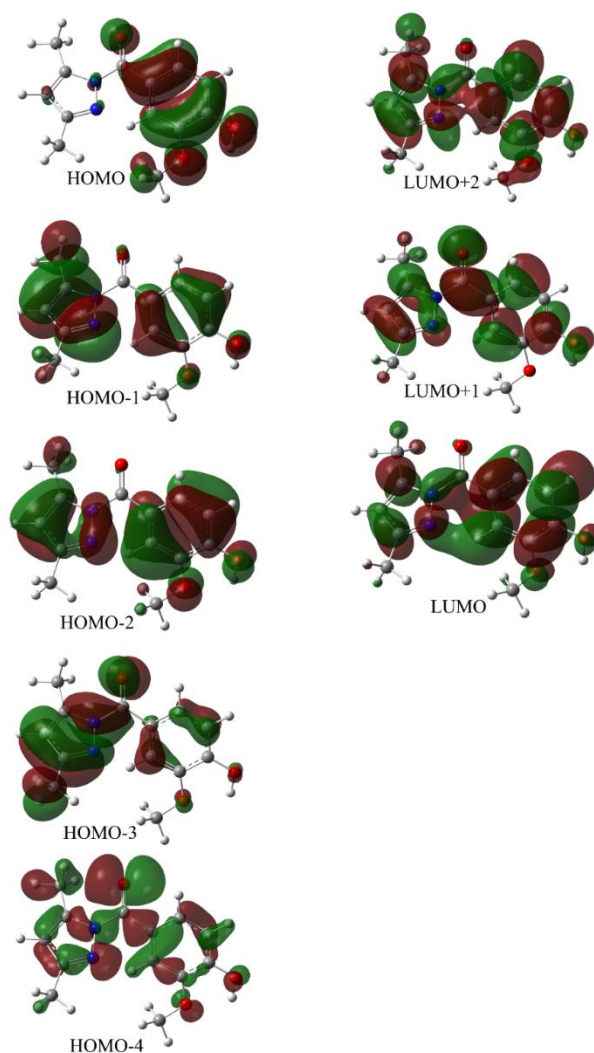
Слика 25. UV-Vis спектри једињења Зк и Зл.



За нова једињења **3к** и **3л**, спектри су симулирани применом метода функционала густине и упоређени са експериментално добијеним спектрима (Слика 25). Експериментални спектри једињења **3к** и **3л** су веома слични (Слика 25). Постоји веома добро слагање између експерименталних и симулираних спектра за четири апсорпционе траке које се јављају у области на око 200, 235, 280 и 310 nm, као и за „траку раме” (енг. *shoulder band*) која се јавља на око 250 nm до траке на око 235 nm. Да би се боље разумело порекло електронских прелаза одговорних за појаву трака, Кон-Шамове орбитале су конструисане (Слике 26 и 27).<sup>260</sup>



Слика 26. Кон-Шамове орбитале једињења **3к**.

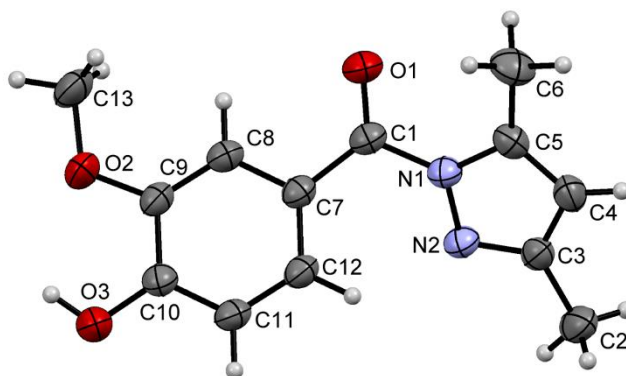
Слика 27. Кон-Шамове орбитале једињења **3л**.

Битно је истаћи да су облик и позиција одговарајућих орбитала једињења **3к** и **3л** веома слични. Траке близу 310 nm за оба једињења су последица  $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}$  електронских прелаза.  $\text{HOMO}$  су локализоване преко бензоил делова молекула, док су  $\text{LUMO}$  делокализоване преко скоро целог молекула. Према томе, ова трака је изазвана електронским прелазом са малом енергијом и малим просторним јазом у сваком молекулу. Траке на око 280 nm су изазване електронским прелазима са нешто вишом енергијом, али малим просторним јазом. У случају једињења **3к**, траке су изазване  $\text{HOMO-4}$ ,  $\text{HOMO-3}$ ,  $\text{HOMO-2}$  и  $\text{HOMO-1}$  (локализованим углавном на пиразолском делу, пиразолском и фенил делу, пиразолском и карбонилном делу, делокализоване на целом молекулу, редом за наведене орбитале)  $\rightarrow \text{LUMO}$  прелазима. Једина разлика у случају једињења **3л** је у томе што нема  $\text{HOMO-3} \rightarrow \text{LUMO}$  прелаза. Највећи допринос апсорпционој траци на око 235 nm потиче од  $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO+1}$  (позиција и облик веома слични  $\text{LUMO}$  орбитали) прелазима. „Траке раме” близу 250 nm су изазване, у оба случаја,  $\text{HOMO-3} \rightarrow \text{LUMO}$  електронским прелазом. Додатно, у случају једињења **3к**, постоји и допринос од  $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO+1}$ , док у случају једињења **3л**, постоји допринос од  $\text{HOMO-4} \rightarrow \text{LUMO}$  прелаза. Траке на најнижим таласним дужинама (око 200 nm) су



изазване највећим енергетским јазом, а одговорни прелази за ове траке су HOMO–2 → LUMO+1 и HOMO → LUMO+2. У случају **3к**, HOMO–1 → LUMO+3, и **3л**, HOMO–3 → LUMO+1 електронски прелази доприносе појави одговарајуће траке на око 200 nm.<sup>260</sup>

Структура једињења **3л** је потврђена рендгенском структурном анализом. Молекулска структура је представљена на Слици 28, док су одговарајуће дужине веза и углови између веза дати у Табели 9.<sup>260</sup>



Слика 28. Кристална структура једињења **3л** са нумерацијом атома и њиховим елипсоидним параметрима померања нацртаним на нивоу вероватноће од 30%.

Табела 9. Одабране дужине веза (Å) и углова између веза (°) за једињење **3л**.

N1–N2	1,379(1)	N1–N2–C3	104,8(1)
N1–C5	1,379(2)	N2–N1–C5	111,3(1)
N2–C3	1,324(2)	N1–C5–C4	105,7(1)
C3–C4	1,402(2)	N2–C3–C4	111,0(1)
C4–C5	1,353(2)	N1–C1–C7	118,1(1)
N1–C1	1,418(2)	N1–C1–O1	118,0(1)
C1–O1	1,212(2)	C3–C4–C5	107,2(1)
C1–C7	1,478(2)	–	–

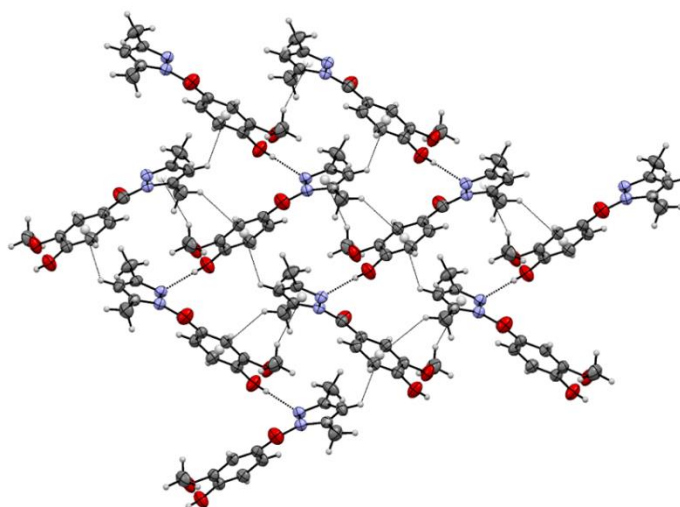
Геометрија једињења **3л** се може упоредити са сличним *N*-бензоил пиразолским дериватима.<sup>270–272</sup> Диедарски угао дефинисан као N2–N1–C1–O1 [148,2(1)°] указује на *E* конфигурацију молекула. Пиразолски и фенил прстен у равни образују диедарски угао од 46,1(1)°. Интересантно је запажање да је торзиони угао између средње равни централне N1/C1/O1/C7 јединице и пиразолске јединице [32,7(1)°] већи у поређењу са диедарским углом према бензоил делу [15,4(1)°]. Ово је у супротности са већином *N*-бензоил пиразолских система, где је карбонилна група копланарна са пиразолским прстеном. Заправо, као што је објашњено за сличне *N*-бензоил пиразолске системе,<sup>272</sup> карбонилна група може бити копланарна са пиразолским или фенил прстеном јер оба прстена садрже делокализоване π – системе. Енергетски је пожељан пиразолски прстен што је и потврђено теоријским рачунањима.<sup>272</sup> CSD<sup>273</sup> (енг. *The Cambridge Structural Database*) анализа заснована на органским молекулима који садрже *N*-бензоил пиразолски фрагмент слаже се са наведеним налазима, узимајући у обзир да само четири од двадесет две кристалне структуре показују мањи диедарски угао између N/C/O/C фрагмента и фенил прстена, као што је и примећено код једињења **3л**. Анализа постојећих података показује да присуство или одсуство волуминозних супституената у позицијама 3 и 5 пиразолског прстена нема утицај на копланарност са карбонилном

групом. У поређењу са претходно објављеним структурама *N*-бензоил пиразолских деривата, једињење **3л** има најмањи диедарски угао између N/C/O/C фрагмента и фенил прстена, док само две кристалне структуре показују већи диедарски угао између одговарајућих N/C/O/C и пиразол фрагмената (VERHAB<sup>271</sup> и JAGGAA<sup>272</sup>).<sup>260</sup>

У кристалном паковању, молекули једињења **3л** су повезани O3–H...N2 водоничном везом, која се образује између –OH супституента на фенил прстену и пиразолског N2 акцептора (Табела 10).<sup>260</sup> Може се очекивати да ова јака интермолекулска интеракција може утицати на претходно описани нагиб пиразолског прстена у односу на карбонилну групу. O3–H...N2 интеракција води ка формирању цик-цак ланца продуженог дуж кристалографске осе. Молекули суседних ланаца се повезују са три C–H...π интеракције (Табела 10), што води до дводимензионалних листова паралелних са *ac* равни. Супрамолекулски распоред једињења **3л** приказан је на Слици 29.<sup>260</sup>

**Табела 10.** Геометријски параметри за интра- и интермолекулске интеракције у кристалној структури једињења **3л**.

D–H...A	D–H (Å)	H...A (Å)	D–H...A (°)	Симетријски кодови:
C12–H12...N2	0,87	2,38	117	x, y, z
O3–H12...N2	0,87	1,99	158	x–1/2, y, –z+3/2
C4–H4...Cg1	0,93	2,76	124	x–1/2, –y+3/2, –z+2
C13–H13b Cg2...	0,96	2,98	137	x, –y+3/2, z+1/2
C6–H6a...Cg1	0,96	3,20	128	x, –y+3/2, z–1/2



**Слика 29.** Дводимензионални супрамолекулски распоред молекула **3л**.

### 2.1.2.3. Антиоксидативна активност фенолних пиразолских деривата **3з–л**

Синтетисаним пиразолским дериватима је *in vitro* тестиран антиоксидативни потенцијал према DPPH стабилном слободном радикалу (Табела 11).<sup>260</sup>

**Табела 11.** Интеракција испитиваних и референтних једињења са стабилним DPPH радикалом. IC<sub>50</sub> вредности су одређене након 20 min инкубације узорака.

Једињење	Способност уклањања DPPH радикала (%)						IC <sub>50</sub> (μM)
	25 μM		50 μM		100 μM		
	20 min	60 min	20 min	60 min	20 min	60 min	
<b>Зз</b>	0,3±0,1	1,3±0,3	0,7±0,1	2,4±0,6	1,1±0,1	3,5±0,8	–
<b>Зи</b>	2,4±0,3	4,5±0,6	3,3±0,4	5,9±0,3	3,4±0,3	6,0±0,3	–
<b>Зј</b>	2,4±0,8	4,6±0,3	2,6±0,6	4,9±0,8	3,0±0,9	5,3±0,6	–
<b>Зк</b>	94,9±0,2	95,0±0,2	95,1±0,1	95,3±0,1	95,1±0,4	95,5±0,1	1,8±0,1
<b>Зл</b>	9,1±0,5	9,6±1,6	9,9±0,7	11,0±0,2	11,7±0,8	12,6±1,1	–
NDGA	94,6±0,7	94,6±0,6	94,2±0,7	94,2±0,7	94,5±0,2	94,1±0,7	1,7±0,1
Кверцетин	95,3±0,8	95,1±0,9	96,8±1,0	96,5±0,9	95,1±0,9	95,4±0,8	1,9±0,1

Добијени резултати указују да међу тестираним једињењима, пиразол са катехолском јединицом (**Зк**) испољава одличну активност са IC<sub>50</sub> = 1,8 μM. Поређењем са референтним једињењима, нордихидрогвајаретинском киселином – NDGA (енг. *nordihydroguaiaretic acid*) и кверцетином (1,7 и 1,9 μM), активност једињења **Зк** је у рангу стандардних једињења. У супротности са тим, одговарајући пиразоли **Зз**, **Зи**, **Зј** и **Зл** нису показали активност према DPPH радикалу (Табела 11).<sup>260</sup>

Према томе, једињење **Зк** се може сматрати моћним радикалским „чистачем”. Ови резултати се слажу са претходно добијеним, као и са литературним подацима да фенолна једињења, попут катехолских, испољавају добру антиоксидативну активност.<sup>274,275</sup>

Процена највероватнијег радикалског механизма фенолног једињења **Зк** извршена је помоћу метода функционала густине и термодинамичких параметара. Термодинамички параметри су израчунати у одсуству и у присуству слободних радикала, а детаљи њиховог израчунавања су добро познати у литератури.<sup>246,248,250,276,277</sup> Укратко, BDE, IP и PA фенолних O–H веза су искоришћене за одређивање механизма антиоксидативне активности NAT, SET-PT и SPLET,<sup>246,248,250,276,277</sup> док су за одређивање највероватнијег радикалског механизма у присуству слободних радикала, израчунате реакционе енталпије за реакције фенолног једињења **Зк** са одабраним слободним радикалима (Табела 12).<sup>260</sup>

Табела 12. Израчунати термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) антиоксидативних механизма и реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) за једињење **Зк**.

Термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )					
	BDE	IP	PDE	PA	ETE
	325		-30	125	361
	325	516	-30	109	378
Реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )					
Радикал	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$
$\cdot\text{OCH}_3$	-94	173	-267	-112	17
$\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$	-102	172	-275	-120	17
$\cdot\text{OH}$	-164	99	-264	-108	-56
$\cdot\text{OON}$	-26	196	-223	-68	41
$\cdot\text{OOSH}_3$	-18	206	-224	-69	51
$\cdot\text{OO}-\text{CH}=\text{CH}_2$	-19	177	-195	-40	22
DPPH	4	131	-127	28	-24
$\text{O}_2\cdot$	58	424	-366	16	41
	58		-366	-1	58

$\Delta H_{\text{BDE}}$ ,  $\Delta H_{\text{IP}}$  и  $\Delta H_{\text{PDE}}$ ,  $\Delta H_{\text{PA}}$  и  $\Delta H_{\text{ETE}}$  указују који од НАТ, SET-РТ и SPLET механизма је највероватнији у реакцији једињења **Зк** са хидроксилним ( $\cdot\text{OH}$ ), пероксилним радикалима (хидропероксилни  $\cdot\text{OON}$ , метилпероксилни  $\text{CH}_3-\text{O}-\text{O}\cdot$ , винил пероксилни  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{O}-\text{O}\cdot$ ), алкоксилним радикалима (метокси  $\cdot\text{OCH}_3$  и *tert*-бутокси  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ) и DPPH радикалом. Детаљи и једначине за рачунање термодинамичких параметара и реакционих енталпија дати су у одељку **1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања**. Поређењем добијених вредности за IP и  $\Delta H_{\text{IP}}$  са другим параметрима искључен је SET-РТ као могући механизам у одсуству и присуству слободних радикала. Заправо, IP и  $\Delta H_{\text{IP}}$  имају значајно веће вредности него у случају термодинамичких параметара и реакционих енталпија за НАТ и SPLET механизме. Значајно веће вредности за BDE у односу на PA истичу SPLET механизам као оперативни механизам у метанолу као растварачу. Ово се слаже са тим да је први корак SPLET механизма образовање ањона изазвано дисоцијацијом протона што се дешава у поларним растварачима.<sup>278</sup> Са друге стране, НАТ механизам производи радикал, али ова хомолитичка дисоцијација везе се радије дешава у растварачима са ниском поларношћу.<sup>278</sup> Резултати добијени за радикалске механизме у присуству слободних радикала слажу се са литературним подацима –  $\Delta_rH$  су зависне од електронских

својстава слободнорадикалских врста.<sup>248</sup> Прецизније речено, у случају  $\cdot\text{OH}$ , вредности  $\Delta H_{\text{BDE}}$  су нешто ниже од  $\Delta H_{\text{PA}}$  што указује на НАТ као вероватнији механизам. Разлика у реакционим енталпијама  $\Delta H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta H_{\text{PA}}$  није наглашена за реакције са алкоксилним радикалима ( $\cdot\text{OCH}_3$  и  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ) и винил пероксилним радикалом ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{O}\cdot$ ), па долази до конкуренције НАТ и SPLET механизма. Са друге стране,  $\Delta H_{\text{PA}}$  за реакције са  $\cdot\text{O}-\text{OH}$  и  $\cdot\text{O}-\text{OCH}_3$  су ниже од  $\Delta H_{\text{BDE}}$ , што указује на то да је SPLET радикалски механизам фаворизован. У случају DPPH радикала,  $\Delta H_{\text{BDE}}$  су мање ендотермне, што указује на то да је НАТ механизам фаворизован пут антиоксидативне активности у овом случају. За разлику од литературних резултата који сугеришу да ће овај радикал бити тешко уклоњен,<sup>279-281</sup> добијена ниска вредност  $\Delta H_{\text{PA}}$  за реакцију једињења **Зк** са  $\text{O}_2^{\cdot-}$  указује на могуће уклањање радикала преко SPLET механизма.<sup>260</sup>

#### 2.1.2.4. Инхибиција липоксигеназе (LOX) фенолним пиразолским дериватима (**Зз-л**) – *in vitro* и *in silico* студија

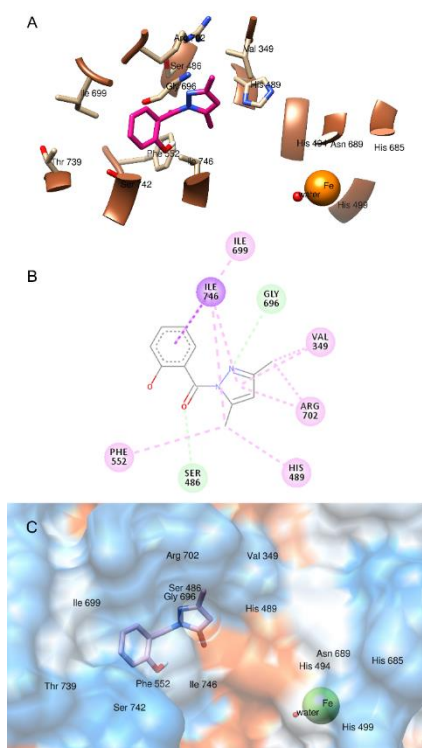
Имајући у виду добру антиоксидативну активност коју је испољило једињење **Зк**, тестиран је и инхибиторни потенцијал фенолних пиразола према LOX ензиму. Изоензими сојине липоксигеназе LOX-1, LOX-2 и LOX-3 су често коришћени као модели за проучавање активности липоксигеназе сисара. Сојина липоксигеназа LOX-Ib је изабрана као супрамолекулски модел за проучавање антиинфламаторне активности фенолних пиразолских деривата. Инхибиторна активност једињења према овој изоформи је испитана помоћу ензимског теста заснованог на мерењу UV апсорбанце (Табела 13).<sup>260</sup>

Табела 13. Резултати *in vitro* и *in silico* инхибиције LOX за једињења **Зз-л** и NDGA.

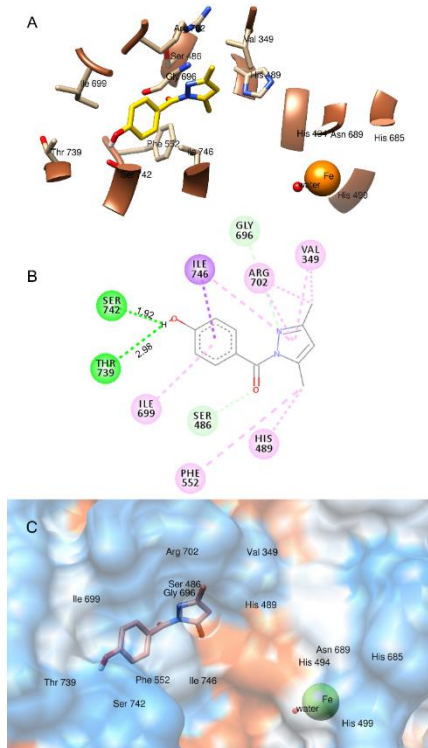
Једињење	IC <sub>50</sub> (μМ)	Слободна енергија везивања (kJ mol <sup>-1</sup> )
<b>Зз</b>	63,4±0,7	-18,8
<b>Зи</b>	27,1±1,2	-23,3
<b>Зј</b>	102,3±0,1	-14,6
<b>Зк</b>	70,6±1,6	-21,0
<b>Зл</b>	76,7±0,5	-20,6
NDGA	8,3±0,9	

У поређењу са другим пиразолским дериватима, једињење **Зи** је испољило најбољу инхибиторну активност са IC<sub>50</sub> вредношћу од 27,1 μМ. Остали пиразоли су испољили ниже активности, са IC<sub>50</sub> вредностима већим од 60 μМ (Табела 13). Ови резултати се слажу са претходним налазима LOX инхибиције.<sup>282,283</sup> Заправо, у овим студијама, једињења са фенолном јединицом су такође тестирана и испољила су сличну, умерену анти-LOX активност.

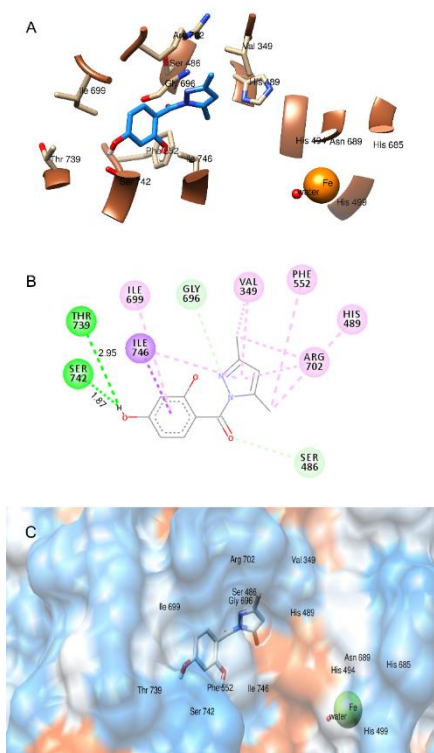
Како би се стекао увид у LOX-пиразол супрамолекулску структуру, као и у биоактивне конформације LOX-Ib инхибитора **Зз-л**, урађена је симулација инхибиције ригидног ензима флексибилним лигандом (Слике 30–34).<sup>260</sup>



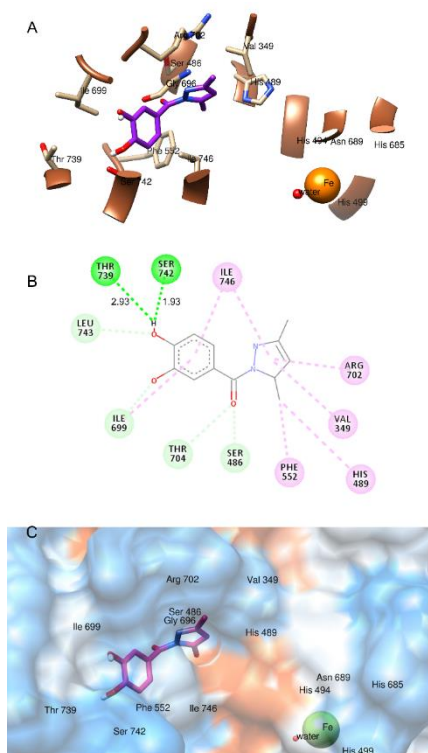
**Слика 30.** (А) Биоактивна конформација једињења **3z**. Аминокиселине ензима LOX-Ib су представљене беж бојом, фрагмент је представљен браон бојом. Због јасноће, само поларни водоникови атоми једињења **3z** су представљени. (В) 2D шематски приказ лиганд-протеин интеракција једињења **3z** у активном месту LOX-Ib са нацртаним водоничним везама и хидрофобним интеракцијама. (С) Молекуларни докинг једињења **3z** унутар LOX-Ib у ван дер Валсовој површини представљен са релевантним аминокиселинама.



**Слика 31.** (А) Биоактивна конформација једињења **3i**. Аминокиселине ензима LOX-Ib су представљене беж бојом, фрагмент је представљен браон бојом. Због јасноће, само поларни водоникови атоми једињења **3i** су представљени. (В) 2D шематски приказ лиганд-протеин интеракција једињења **3i** у активном месту LOX-Ib са нацртаним водоничним везама и хидрофобним интеракцијама. (С) Молекуларни докинг једињења **3i** унутар LOX-Ib у ван дер Валсовој површини представљен са релевантним аминокиселинама.

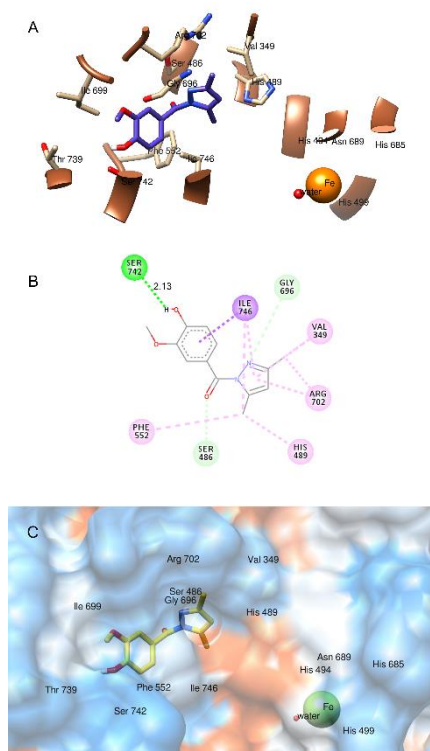


**Слика 32.** (А) Биоактивна конформација једињења **3j**. Аминокиселине ензима LOX-Ib су представљене беж бојом, фрагмент је представљен браон бојом. Због јасноће, само поларни водоникови атоми једињења **3j** су представљени. (В) 2D шематски приказ лиганд-протеин интеракција једињења **3j** у активном месту LOX-Ib са нацртаним водоничним везама и хидрофобним интеракцијама. (С) Молекуларни докинг једињења **3j** унутар LOX-Ib у ван дер Валсовој површини представљен са релевантним аминокиселинама.



**Слика 33.** (А) Биоактивна конформација једињења **3k**. Аминокиселине ензима LOX-Ib су представљене беж бојом, фрагмент је представљен браон бојом. Због јасноће, само поларни водоникови атоми једињења **3k** су представљени. (В) 2D шематски приказ лиганд-протеин интеракција једињења **3k** у активном месту LOX-Ib са нацртаним водоничним везама и хидрофобним интеракцијама. (С) Молекуларни докинг једињења **3k** унутар LOX-Ib у ван дер Валсовој површини представљен са релевантним аминокиселинама.





**Слика 34.** (А) Биоактивна конформација једињења **3л**. Аминокиселине ензима LOX-1b су представљене беж бојом, фрагмент је представљен браон бојом. Због јасноће, само поларни водоникови атоми једињења **3л** су представљени. (В) 2D шематски приказ лиганд-протеин интеракција једињења **3л** у активном месту LOX-1b са нацртаним водоничним везама и хидрофобним интеракцијама. (С) Молекуларни докинг једињења **3л** унутар LOX-1b у ван дер Валсовој површини представљен са релевантним аминокиселинама.

Важно је нагласити да се слободне енергије везивања слажу са експерименталним  $IC_{50}$  вредностима за анти-LOX активност (Табела 13).<sup>260</sup> Добијени резултати су показали да не постоји директна интеракција било ког испитиваног лиганда **3з-л** са  $Fe^{3+}$  јоном и Fe-координованим аминокиселинама у активном месту LOX-1b. Заправо, резултати указују на то да се пиразоли **3з-л** понашају као инхибитори који блокирају прилаз линолеинске киселине до активног места и самим тим њену оксидацију. У свим случајевима, бензоил и пиразолска јединица су инкапсулиране у хидрофобне цепове образоване аминокиселинама Val349, His489, Phe552, Ile699, Ile746 и метиленским групама Arg702 (Слике 30–34).<sup>260</sup> Ово се манифестује хидрофобним алкил-алкил интеракцијама између једне од пиразолских метил група са бочним ланцем Val349 и метиленским групама Arg702. Друга пиразолска метил група интерагује преко хидрофобне интеракције у облику слова Т (од ивице до лица) са His489 и Phe552. Једињења **3и**, **3ј**, **3к** и **3л** граде водоничне везе између *p*-хидроксилне групе са Ser742 ( $d_{H\cdots O} = 1,92, 1,87, 1,93$  и  $2,13$  Å). Додатно, једињења **3и**, **3ј** и **3к** граде водоничне везе између исте *p*-хидроксилне групе и Thr239 ( $d_{H\cdots O} = 2,98, 2,95$  и  $2,93$  Å, редом за наведена једињења).

Индуковане јон-дипол интеракције између карбонилне амидне групе сваког једињења са бочним ланцем метиленске групе Ser486, као и између атома азота из пиразолског прстена сваког једињења и метиленске групе Gly696 доприносе јачем везивању свих лиганата за ензим. Међу свим једињењима, **3и**, са *p*-хидроксилном групом у бензоил фрагменту, испољава највећу *in vitro* активност. Ово се може објаснити чињеницом да је



поред фаворизованог водоничног везивања *p*-хидроксилне групе са Ser742 и Thr239, остатак молекула смештен у хидрофобној шупљини, као што је претходно описано (Слика 31).<sup>260</sup> Супротно једињењу **3и**, код једињења **3з** хидроксилна група је *o*-позиционирана (Слике 30 и 31).<sup>260</sup> Једињења **3ј** и **3к** имају додатну хидроксилну групу у *o*- и *m*-положају (Слике 32 и 33).<sup>260</sup> Код једињења **3л** поред *p*-хидроксилне групе, присутна је и метокси група у *m*-положају (Слика 34).<sup>260</sup> Заправо, *o*-хидроксилне групе код једињења **3з** и **3ј**, као и *m*-хидроксилне код једињења **3к** нису укључене у водонично везивање јер су окренуте ка хидрофобним остацима аминокиселина. У **3з** и **3ј** супрамолекуслким комплексима, хидрофилни делови су позиционирани према хидрофобним остацима Ile746, док у случају **3к** према хидрофобним остацима Ile699 (Слике 30, 32 и 33).<sup>260</sup> У супротности са овим, хидрофобна *m*-метокси група код једињења **3л** је позиционирана према карбонилној групи Gly696 што снижава интеракцију овог лиганда са LOX-Ib (Слика 34).<sup>260</sup> Имајући у виду да ове интеракције нису присутне у супрамолекуслском комплексу једињења **3и**, разумно је очекивати да оне доприносе слабијем везивању једињења **3з**, **3ј**, **3к** и **3л**, а самим тим и нижој инхибицији ензима.

## 2.2. Синтеза пиразол-фталазин-диона у присуству јонске течности као катализатора

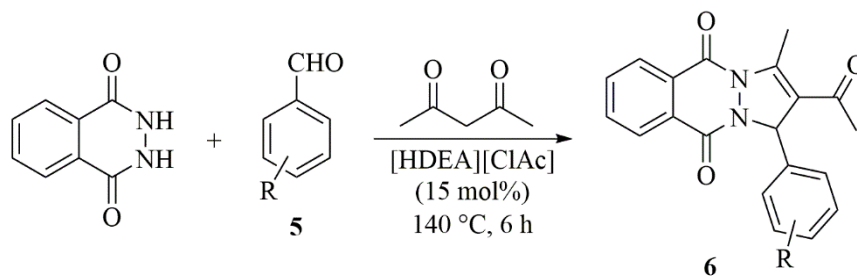
Као модел реакција за добијање пиразол-фталазин-диона изведена је *one-pot* реакција између ацетилацетона, који је употребљен у вишку и истовремено је служио као растварач, 2,3-дихидрофталазин-1,4-диона и бензалдехида **5**. Првобитно је реакција изведена без присуства катализатора, а затим у присуству диетаноламонијум ацетата – [HDEA][Ac] (енг. *diethanolammonium acetate*) или диетаноламонијум хлорацетата – [HDEA][ClAc] (енг. *diethanolammonium chloroacetate*) као катализатора. Испитан је и утицај различитих количина катализатора (10, 15 и 20 mol%) и различитих реакционих температура (100, 120, 140 и 160 °C) (Табела 14).<sup>284</sup>

Табела 14. Оптимизација реакционих услова.

Редни број	Реакциони услови	Принос %
1	Без катализатора, 100 °C	–
2	Без катализатора, 120 °C	–
3	Без катализатора, 140 °C	–
4	Без катализатора, 160 °C	–
5	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 10 mol%, 100 °C	20/52
6	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 10 mol%, 120 °C	24/58
7	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 10 mol%, 140 °C	35/65
8	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 10 mol%, 160 °C	33/64
9	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 15 mol%, 100 °C	38/70
10	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 15 mol%, 120 °C	43/75
11	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 15 mol%, 140 °C	48/82
12	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 15 mol%, 160 °C	46/80
13	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 20 mol%, 100 °C	45/72
14	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 20 mol%, 120 °C	50/74
15	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 20 mol%, 140 °C	55/82
16	[HDEA][Ac]/[HDEA][ClAc] 20 mol%, 160 °C	57/78

Важно је нагласити да образовање производа није запажено у некатализованом реакцији. У присуству 10 mol% катализатора ([HDEA][Ac] или [HDEA][ClAc]) производ је добијен у ниском до умереном приносу, а повећањем каталитичке количине на 15 mol% повећан је и принос производа. Даље повећање каталитичке количине на 20 mol% није значајно утицало на принос реакција. Утицај температуре на принос производа реакције је такође испитан. Реакције изведене на нижим температурама (100 и 120 °C) резултовале су великом количином полазног материјала. Повећањем температуре на 140 °C жељени производ је добијен у бољем приносу, док даље повећање температуре на 160 °C није допринело повећању приноса. Оптимално време за конверзију полазног материјала у производ било је 6 h. Даље продужавање реакционог времена није утицало на формирање веће количине производа. С обзиром на чињеницу да су каталитичке перформансе [HDEA][ClAc] биле знатно боље, овај катализатор је изабран и коришћен за даље реакције.<sup>284</sup>

Оптимизовани реакциони услови, тј. 15 mol% [HDEA][ClAc], 140 °C и 6 h су коришћени за све испитиване реакције (Схема 42, Табела 15).<sup>284</sup>

Схема 42. Генерална синтеза пиразол-фталазин-диона **6**.Табела 15. Синтеза пиразол-фталазин-диона катализована јонском течношћу<sup>a</sup>.

Редни број	Производ	R	Принос (%)
1	<b>6a</b>	H	82
2	<b>6b</b>	4-CH <sub>3</sub>	80
3	<b>6v</b>	4-Cl	89
4	<b>6g</b>	4-F	87
5	<b>6d</b>	4-NO <sub>2</sub>	90
6	<b>6ђ</b>	4-OH	80
7	<b>6e</b>	3,4-diOH	77
8	<b>6ж</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	80
9	<b>6з</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH-5-OCH <sub>3</sub>	70
10	<b>6и</b>	3,4,5-triOCH <sub>3</sub>	72

<sup>a</sup>Реакциони услови – ацетилацетон : 2,3-дихидрофталазин-1,4-дион : ароматични алдеhid = 2,5:1:1 (моларни однос); катализатор – [HDEA][ClAc] (15 mol%); температура – 140 °C; време – 6 h.

Сви пиразолил-фталазин-диони су добијени у умереним до добрим приносима. Како би се изоловали жељени производи, било је неопходно урадити хроматографско раздвајање добијене смеше на колони. У ту сврху, као елуент употребљена је смеша еколошки прихватљивих органских растварача, са ниском токсичношћу, етил ацетат и хексан (2:1). Шест од десет пиразол-фталазин-диона су новосинтетисана једињења (**6г** и **6ђ–и**). Међу њима, само су кристали једињења **6г** били погодни за рендгенску структурну анализу.

Механизам реакције добијања 2*H*-индазол[2,1-б] фталазин-триона се може наћи у литератури,<sup>285</sup> за разлику од механизма добијања пиразол[1,2-б] фталазин-диона. Имајући у виду да је једина разлика између ових реакција у коришћеном дикетону, може се очекивати да ће имати сличан реакциони механизам (Схема 43).<sup>284</sup>

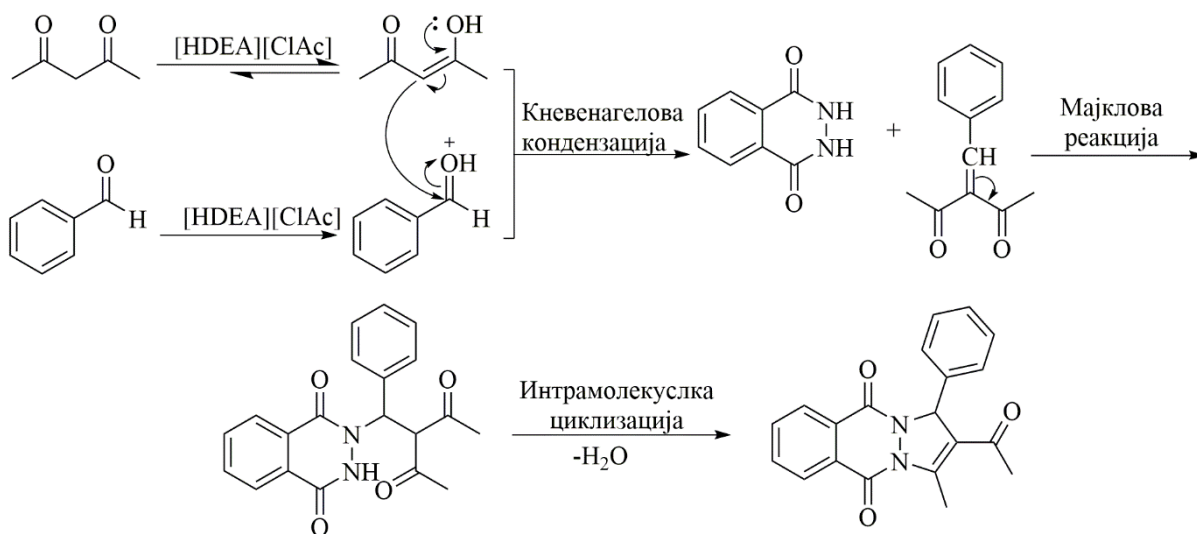
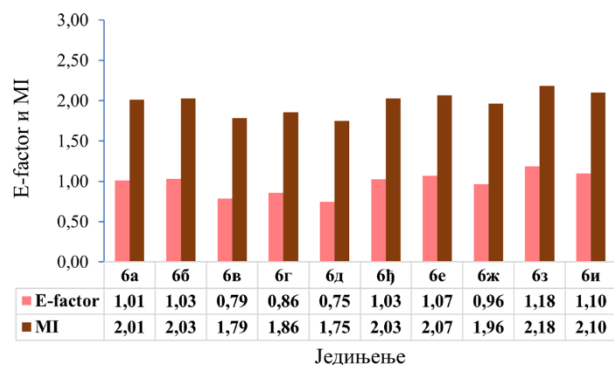
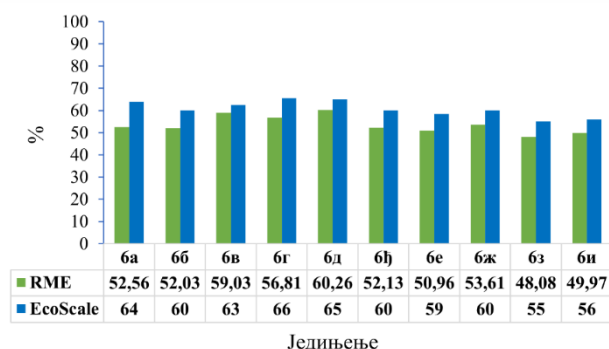
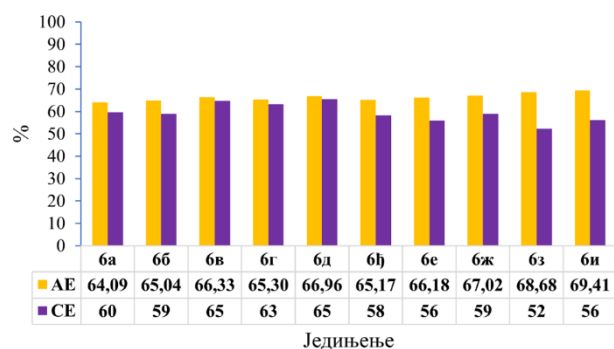


Схема 43. Претпостављени механизам добијања пиразол[1,2-б] фталазин-диона.

Реакција почиње енолизацијом дикетона која је катализована јонском течношћу и протоновањем ароматичног алдехида. На основу предложеног механизма, електронски ефекти супституената на алдехиду утичу на реакциони ток као и на принос производа. Нуклеофилни напад енолне форме кетона на карбонилну групу алдехида олакшан је када су електрон-привлачне групе позициониране на ароматичном прстену алдехида (Табела 15, редни бројеви 3–5), омогућавајући формирање Кневенагеловог производа. Следећи корак реакције је Мајклова адиција 2,3-дихидрофталазин-1,4-диона на Кневенагелов производ. Након интрамолекуларске циклизације Мајкловог производа, одговарајући пиразол-фталазин-дион је формиран. Предложени механизам се слаже са добијеним приносима који су снижени у случајевима бензалдехида и електрон-донорским групама супституисаног бензалдехида (Табела 15, редни бројеви 1,2 и 6–10).<sup>284</sup>

### 2.2.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање пиразол-фталазин-диона ба-и

Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање пиразол-фталазин-диона **ба-и** је одређена применом „зелене” хемијске метрике и то израчунавањем параметара као што су: АЕ, СЕ, RME, EcoScale, MI и E-factor (Слика 35).<sup>141,148,157,263</sup>



Слика 35. „Зелена” хемијска метрика израчуната за синтетисана једињења 6a–и.

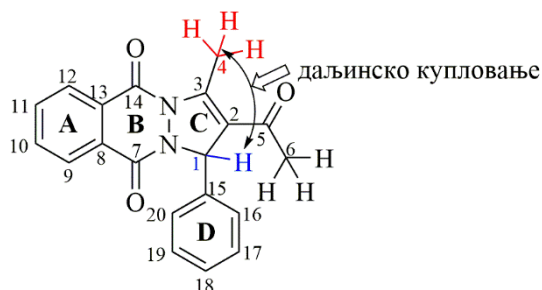
На основу вредности параметара АЕ и СЕ може се закључити да је овом методом постигнута умерена економичност атома и ефикасност угљеника. Умерене вредности параметра RME су последица употребе 2,5 еквивалента ацетилацетона, док су умерене вредности за EcoScale последица три фактора: цена/доступност хемикалија, одвијање реакција уз загревање > 1 h, изоловања производа применом хроматографије на колони. Нешто веће вредности од идеалних за параметре MI и E-factor указују на присутност отпада. То се може приписати примени 2,5 еквивалента ацетилацетона који је употребљен у вишку, јер је његова улога двострука – реактант и растварач. Поред ацетилацетона, при рачунању параметара MI, E-factor и EcoScale има утицаја и примењен катализатор (15 mol% [HDEA][ClAc]), али је важно нагласити да он има рециклабилна својства и да је, као што је описано у одељку 3.9. *Генерална процедура за синтезу пирозол-фталазина 6a–и*, употребљен четири пута у новим експериментима без значајног смањења приноса производа.

Из представљених резултата „зелених” параметара као и детаљног објашњења се може закључити да ова метода за добијање пиразол-фталазин дионских деривата **ба–и** задовољава принципе зелене хемије.

У *Експерименталном делу* је приказан прорачун „зелених” параметара и EcoScale параметар, који је израчунат помоћу *online* алата (Слика 68), за један репрезентативни унос (**ба**).<sup>141,148,157,263,264</sup>

### 2.2.2. Структурна карактеризација пиразол-фталазин дионских деривата – експериментална и теоријска испитивања

Сви добијени пиразол-фталазин дионски деривати су окарактерисани NMR, IR и UV-Vis спектроскопијом, елементалном анализом и тачкама топљења. Сигнали запажени у <sup>1</sup>H NMR спектрима синтетисаних једињења, на основу скелета пиразол-фталазин-диона, приказани су у Табели 16, а одговарајуће ознаке атома на Слици 36.<sup>284</sup>



Слика 36. Скелет пиразол-фталазин-дионских деривата.

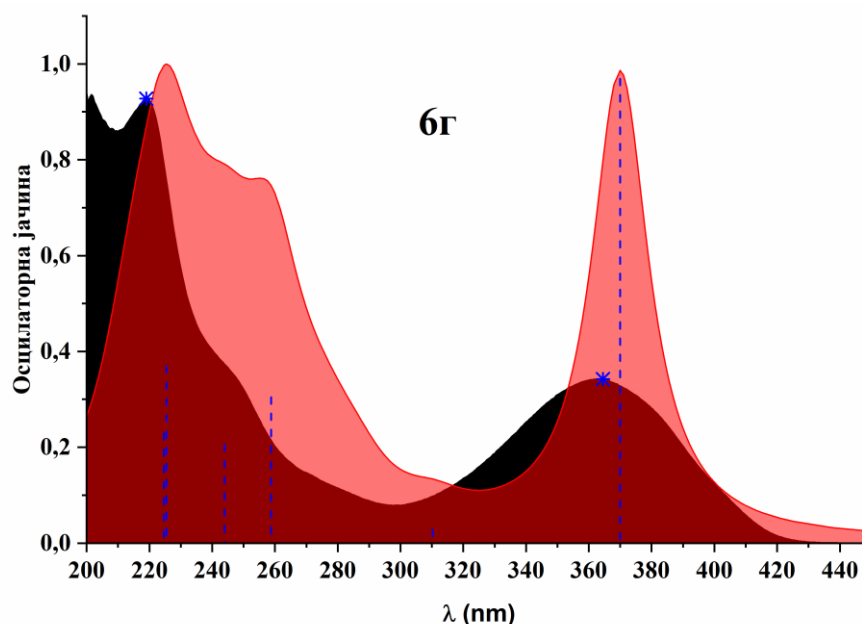
Табела 16. <sup>1</sup>H NMR хемијска померања у скелету пиразол-фталазин-диона **ба–и**.

Редни бројеви	Производ	C1–H	C4–H	C6–H	$\Delta$ gH	
					C8–C13	C15–C20
1	<b>ба</b>	3,08	6,50	2,09	7,79–8,36	7,30–7,48
2	<b>бб</b>	3,07	6,46	2,08	7,77–8,37	7,15–7,39
3	<b>бв</b>	3,07	6,47	2,13	7,76–8,36	7,31–7,47
4	<b>бг</b>	3,08	6,50	2,12	7,78–8,37	6,99–7,53
5	<b>бд</b>	3,11	6,57	2,24	8,16–8,39	7,67–7,92
6	<b>бђ</b>	3,07	6,44	2,09	7,78–8,40	6,66–7,30
7	<b>бе</b>	3,00	6,33	2,05	7,77–8,32	6,77–6,91
8	<b>бж</b>	3,07	6,45	2,10	7,76–8,36	6,87–7,02
9	<b>бз</b>	3,08	6,44	2,09	7,81–8,38	6,70
10	<b>би</b>	3,07	6,45	2,12	7,81–8,38	6,68

Хемијска померања у <sup>1</sup>H NMR спектрима свих пиразол-фталазин-диона су веома слична. Синглет од протона са C6 метил групе појављује се на око 2 ppm. Важно је нагласити да су се на местима где су очекивани синглети протона од C1–H и C4 метил групе, појавили кватер на око 6,5 ppm са  $J = 1,4$  Hz и дублет на око 3 ppm са  $J = 1,5$  Hz. Ови пикови представљају резултат даљинског купловања протона на асиметричном C1 атому са протонима C4 метил групе. Протони везани за ароматичне угљенике C8–C13 и

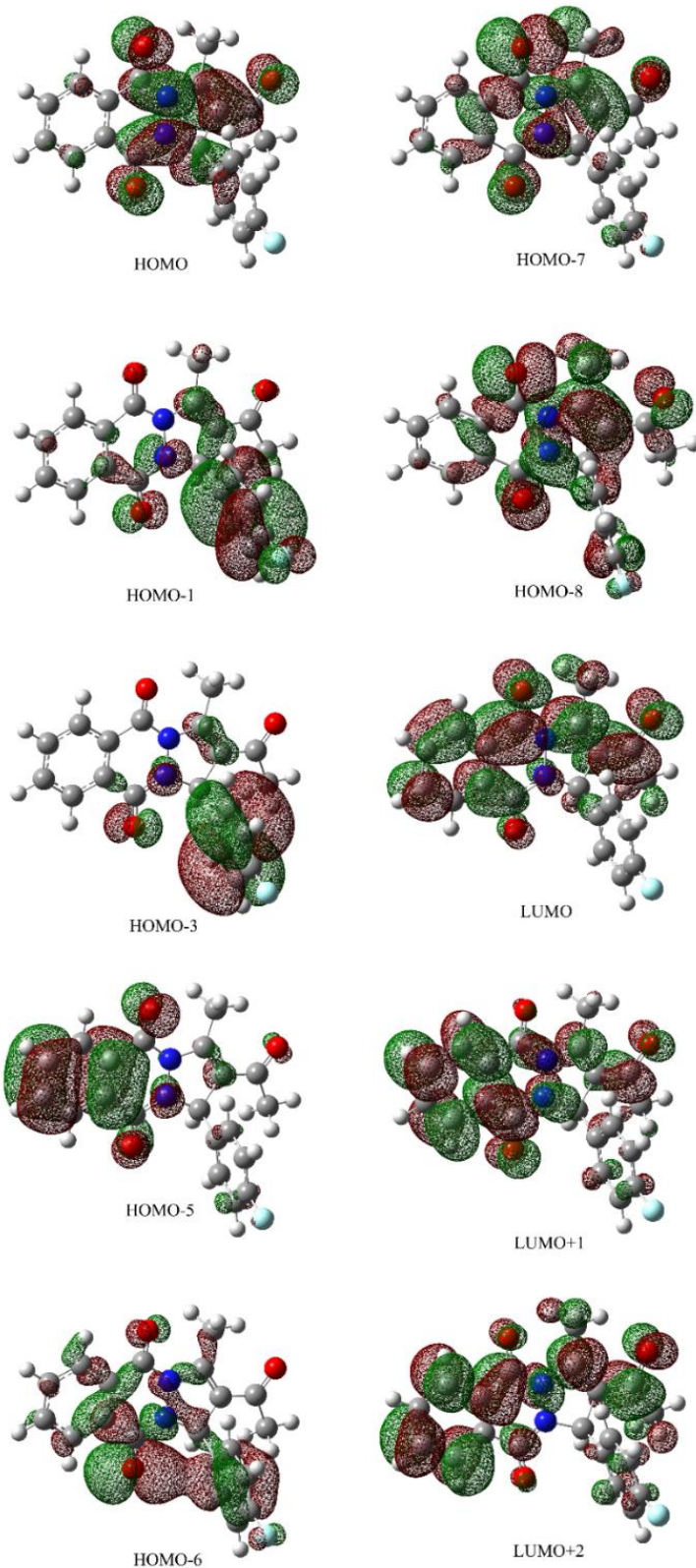
C15–C20 појављују се као мултиплети у области 7,76–8,39 ppm и 6,66–7,92 ppm, док у случају једињења **бз** и **би**, ароматични протони са прстена C15–C20 се јављају као синглети на 6,70 и 6,68 ppm. Као репрезентативни пример дати су  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектри једињења **ба** (видети *Прилог*).

Поред NMR спектралне карактеризације, урађена је и UV-Vis спектрална карактеризација свих пиразол-фталазин-диона. Спектри су симулирани применом метода функционала густине и упоређени са експериментално добијеним спектрима. У свим експерименталним и симулираним спектрима две веће апсорпционе траке се појављују на око 220 nm и 360 nm, са „раменом” које се појављује на око 250 nm. На Слици 37 представљен је спектар једињења **бг**, док су остали спектри дати у *Прилогу*.<sup>284</sup>



Слика 37. UV-Vis спектар једињења **бг**.

Једино одступање је у случају једињења **бд**, где се јавља додатна трака на око 300 nm. Прецизније речено, ова трака је представљена у апсорпционим спектрима свих једињења, али на нижој таласној дужини (око 280 nm), као „раме” и са ниском осцилаторном јачином. Важно је нагласити да су све симулиране апсорпционе траке нешто померене са најзначајнијом девијацијом за слабу експерименталну траку на око 280 nm, која се појављује на око 310 nm у симулираним спектрима. Да би се истражило који су прелази одговорни за појаву сваке апсорпционе траке, Кон-Шамове орбитале су конструисане. На Слици 38 су представљене орбитале једињења **бг**, а у Табели 17 су приказани електронски прелази и одговарајуће енергије орбитала. За преостала једињења, орбитале, електронски прелази и одговарајуће енергије орбитала су дати у *Прилогу*.<sup>284</sup>



Слика 38. Кон-Шамове орбитале једињења 6г.



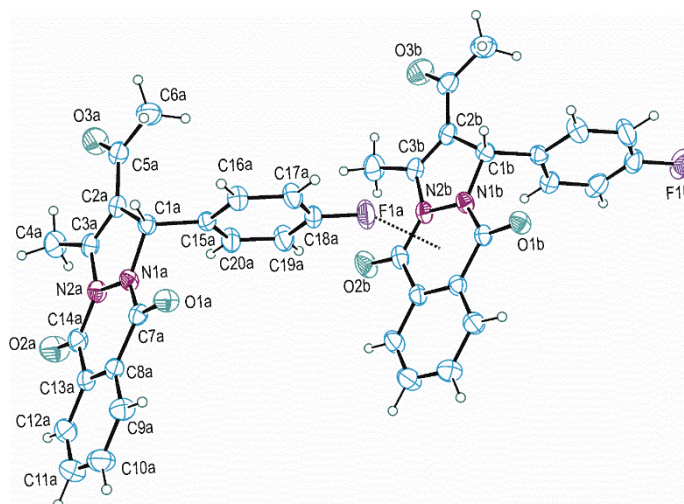
Табела 17. Електронски прелази одговорни за појаву трака у UV-Vis спектрима и енергије орбитала једињења **6г**.

$\lambda(\text{nm})$	сл. прелаз		<b>6г</b>	
			енергија (а.у.)	орбитала
370,0	НОМО	LUMO	-0,05389	LUMO+2
310,2	НОМО	LUMO+1	-0,06664	LUMO+1
258,8	НОМО-5	LUMO	-0,09459	LUMO
	НОМО-1	LUMO+1	-0,23557	НОМО
243,9	НОМО-8	LUMO	-0,26156	НОМО-1
	НОМО-6	LUMO	-0,27765	НОМО-3
	НОМО-6	LUMO+1	-0,28793	НОМО-5
225,5	НОМО-7	LUMO+1	-0,29527	НОМО-6
	НОМО-5	LUMO+1	-0,29786	НОМО-7
224,6	НОМО-8	LUMO+1	-0,30192	НОМО-8
	НОМО-7	LUMO+1		
	НОМО-3	LUMO+2		

Како би било јасније, делови свих једињења су означени као што је представљено на Слици 36. У наставку ће бити детаљно објашњен издвојен спектар једињења **6г** (Слика 37).<sup>284</sup> Трака на најнижој таласној дужини (219 nm у експерименталном спектру) је последица неколико електронских прелаза са тракама позиционираним на 224,6 и 225,5 nm у симулираним спектрима (Слика 37).<sup>284</sup> Прва је изазвана електронским прелазом НОМО-3 → LUMO+2, као и прелазима НОМО-7 и НОМО-8 → LUMO+1, док је друга последица прелаза НОМО-5 и НОМО-7 → LUMO+1 (Слика 38).<sup>284</sup> На молекулском нивоу, трака на 224,6 nm је последица електронског прелаза са прстена **С** на прстенове **А** и **В**, са прстенова **В** и **Д** на прстенове **А**, **В**, **С** и ацил групу прстена **С** и са азота и кисеоника на прстеновима **В** и **С** на прстенове **А**, **В**, **С**. Трака на 225,5 nm је последица електронског прелаза са прстена **А** и кисеоника са прстена **В** (НОМО-5) и са прстена **С** и кисеоника са прстена **В** (НОМО-7) на прстенове **А**, **В** и **С**. „Рамене” које се појављује на око 250 nm у експерименталном спектру је последица вишеструких електронских прелаза представљених са две апсорпционе траке на 244 и 259 nm у симулираном спектру. Трака на нижој таласној дужини је производ прелаза НОМО-6 → LUMO и LUMO+1 (атоми азота и кисеоника прстена **В** и **С** на прстенове **А**, **В**, **С** и ацил групу прстена **С**, као и на прстенове **А**, **В**, **С**) и електронски прелаз НОМО-8 → LUMO (са прстенова **В** и **С** на прстенове **А**, **В** и **С**), док трака на већој таласној дужини потиче од електронских прелаза НОМО-5 → LUMO (прстен **А** и атоми кисеоника на прстену **В** на прстенове **А** и **В**) и НОМО-1 → LUMO+1 (прстен **Д** и атом кисеоника и азота са прстена **В** на прстенове **А**, **В** и **С**). Слаб интензитет „рамена” на око 280 nm јавља се због НОМО → LUMO+1 електронског прелаза (са прстенова **В**, **С** и ацил групе са прстена **С** на прстенове **А**, **В** и **С**). Најинтензивнија апсорпциона трака на око 360 nm у експерименталним спектрима је последица НОМО → LUMO електронског прелаза (са прстенова **В**, **С** и ацил групе са прстена **С** на прстенове **А**, **В** и **С**). На основу добијених резултата, може се видети да се траке на нижим таласним дужинама (испод 280 nm у експерименталним спектрима) појављују због релативно великог енергетског, али малог просторног раздвајања, док су траке на већим таласним дужинама последица релативно мањег енергетског раздвајања одговарајуће НОМО и LUMO. Важно је нагласити да су траке у UV-Vis спектрима свих других пиразол-фталазин-диона последица сличних електронских прелаза. Као што је претходно споменуто, једина девијација је у случају UV-Vis спектра једињења **6д**, где је присуство електрон-привлачне нитро групе на прстену **Д** одговорно за појаву ове траке на нешто већој вредности, око 300 nm (уместо

малог „рамена” као у осталим случајевима). Заправо, у спектру једињења **6d**, ова трака је последица електронског прелаза  $\text{HOMO}-2 \rightarrow \text{LUMO}$  (са прстенова **A** и **D** на прстен **D** укључујући нитро групу), који је очигледно фаворизован због електрон-привлачне природе нитро групе.<sup>284</sup>

Поред спектроскопских карактеризација, за једињење **6g**, одређена је кристална структура. Рендгенска структурна анализа је показала да ово једињење кристалише са два кристалографски независна молекула у асиметричној јединици центросиметричне  $R\bar{3}c$  просторне групе. Ова два геометријски веома слична молекула су представљена на Слици 39 као молекули **A** и **B**. Одговарајуће дужине веза у два молекула су заједно веома сличне као што је представљено у Табели 18. Једини хирални атом у једињењу **6g** образује  $\text{C1}-\text{C15}$  (1,52 Å) и  $\text{C1}-\text{C2}$  (1,51 Å) везе које су најдуже  $\text{C}-\text{C}$  везе код оба молекула.  $\text{C2}-\text{C3}$  веза дужине 1,34 Å је најкраћа  $\text{C}-\text{C}$  веза и може се сматрати као једина локализована двострука  $\text{C}-\text{C}$  веза код једињења **6g** (Табела 18).<sup>284</sup>

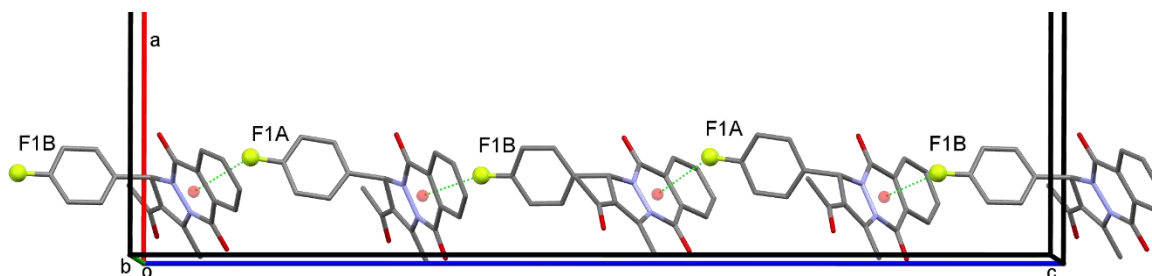


**Слика 39.** Молекулска структура са нумерацијом атома два независна молекула једињења **6g** (молекул **A** лево, молекул **B** десно) и њиховим елипсоидним параметрима померања нацртаним на нивоу вероватноће од 30%. Испрекидана линија представља интеракцију  $\text{F1a} \cdots \text{Cg1}$  ( $\text{Cg1}$  је средња тачка  $\text{N1}-\text{C7}-\text{C8}-\text{C13}-\text{C14}-\text{N2}$  прстена).

**Табела 18.** Растојање веза (Å) у кристалној структури једињења **6g**.

	Молекул А	Молекул В
F1–C18	1,366(2)	1,365(3)
N1–N2	1,411(2)	1,410(2)
N1–C1	1,475(3)	1,473(3)
N1–C7	1,344(3)	1,344(3)
N2–C3	1,402(3)	1,401(3)
N2–C14	1,376(3)	1,380(3)
O1–C7	1,227(2)	1,229(2)
O2–C14	1,220(3)	1,222(3)
O3–C5	1,219(3)	1,221(3)
C1–C2	1,514(3)	1,509(3)
C1–C15	1,518(3)	1,519(3)
C2–C3	1,345(3)	1,343(3)
C2–C5	1,467(3)	1,474(3)
C7–C8	1,476(3)	1,468(3)
C13–C14	1,461(3)	1,463(3)

N1 и N2 атоми имају веома слично суседство с обзиром на то да граде N1–N2 везу. Анализом четири N–C везе може се видети да показују прилично широк опсег вредности (од 1,34 до 1,48 Å) што се може на основу структуре приписати различитим особинама C1, C3, C7 и C14 атома (Слика 39).<sup>284</sup> Атоми азота су директно повезани са две еквивалентне и геометријски једнако постављене карбонилне групе (O1–C7 и O2–C14), али у оба молекула N1–C7 веза је нешто краћа од одговарајуће N2–C14 везе (Табела 18).<sup>284</sup> Разлика у дужини веза између N1–C1 и одговарајуће N2–C3 везе је већа и то се може објаснити различитим особинама C1 и C3 атома. Сви атоми изузев водоникових и супституисаног C15–C20 фенил прстена су апроксимативно копланарни. Према томе, деветнаест C, O и N атома образују веома велики планарни систем без обзира на то што многи од њих граде просте везе. Стога, хетероциклични N1–C7–C8–C13–C14–N2 прстен испољава средњу квадратну девијацију уклопљених атома из средње равни мању од 0,03 Å у оба молекула. Диедарски угао између овог хетероцикличног прстена и C8–C13 фенил прстена је 1,2(2)° за молекул А и 1,1(2)° за молекул В. Петочлани хетероциклични прстен је најнабранији прстен у **6g**, али такође може бити прихваћен као планаран с обзиром на то да торзиони углови унутар прстена не прелазе вредност 5°. Мада, на први поглед, два молекула имају веома сличне конформације са неким структурним разликама (Слика 39). Највећа разлика је у оријентацији C15–C20 фенил прстена у односу на остатак молекула и то се може илустровати N1–C1–C15–C20 торзионим углом; 65,4(3)° за молекул А и 56,8(3)° за молекул В. Такође, C7–N1–N2–C14 углови имају значајно различите вредности; –9,1(3)° за молекул А и –2,8(3)° за молекул В. Најзанимљивија структурна карактеристика у кристалној структури једињења **6g** је формирање прилично кратког F1a··Cg1b и F1b··Cg1a интермолекулског растојања између атома F и суседног шесточланог хетероцикличног прстена са две карбонилне групе (Cg1 је средња тачка N1–C7–C8–C13–C14–N2 прстена) (Слике 39 и 40).<sup>284</sup>



Слика 40. Фрагмент кристалне решетке једињења **6g** који представља стварање супрамолекулског ланца дуж *c*-кристалографске осе применом F1··Cg1 интермолекулских интеракција. Cg1 (означен црвеним кругом) је средина шесточланог хетероцикличног прстена. Н атоми су изостављени због јасноће.

Ове интермолекулске интеракције не треба третирати као случајне, јер је растојање F1··Cg1 краће од 3 Å (2,93 Å за F1a и 2,88 Å за F1b) и сви молекули образују продужене ланце дуж *c*-кристалографске осе користећи ову интеракцију (Слика 40).<sup>284</sup>

Без обзира на присуство два ароматична прстена, молекули **6g** не учествују у  $\pi$ – $\pi$  интеракцијама, али формирају неколико слабих C–H··O интермолекулских водоничних веза приказаних у Табели 19. Оз карбонилни атом у оба независна молекула формира C4–H··O3 интрамолекулске водоничне везе (Табела 19).<sup>284</sup>

Табела 19. Изабране С–Н $\cdots$ О водоничне везе у кристалној структури једињења **6г** са Н $\cdots$ О растојањем краћим од 2,6 Å и С–Н $\cdots$ О углом већим од 110°.

С–Н $\cdots$ О	С–Н (Å)	С $\cdots$ О (Å)	Н $\cdots$ О (Å)	С–Н $\cdots$ О (°)	Симетријски код за О
C1a–H1a $\cdots$ O1a	0,98	3,452(3)	2,49	166	–x + 0,5, y + 0,5, z
C9a–H9a $\cdots$ O1a	0,93	3,234(3)	2,54	132	–x + 0,5, y – 0,5, z
C12b–H12b $\cdots$ O2a	0,93	3,203(3)	2,47	136	–x, y – 0,5, –z + 1,5
C4a–H4a1 $\cdots$ O3a	0,96	2,936(3)	2,23	130	x, y, z
C4a–H4a3 $\cdots$ O3a	0,96	3,293(3)	2,59	130	–x, y – 0,5, –z + 1,5
C1b–H1b $\cdots$ O1b	0,98	3,421(3)	2,45	173	–x + 0,5, y + 0,5, z
C9b–H9b $\cdots$ O1b	0,93	3,347(3)	2,58	140	–x + 0,5, y – 0,5, z
C4b–H4b1 $\cdots$ O3b	0,96	2,943(3)	2,23	130	x, y, z

### 2.2.3. Антиоксидативна активност пиразол-фталазин-диона **6а–и**

За сва синтетисана једињења **6а–и** испитана је *in vitro* антиоксидативна активност. Њихова антиоксидативна активност је испитана према стабилном слободном DPPH радикалу (Табела 20).<sup>284</sup>

Табела 20. Интеракција испитиваних једињења и референтног једињења са стабилним радикалом DPPH.

Једињење	Способност уклањања DPPH (%)						IC <sub>50</sub> (μM)
	50 μM		100 μM		150 μM		
	20 min	60 min	20 min	60 min	20 min	60 min	
<b>6а</b>	3,1±0,6	5,7±0,3	7,7±0,9	10,0±0,3	11,7±1,0	12,8±1,6	–
<b>6б</b>	0,5±1,1	1,5±1,0	1,3±0,7	1,4±1,2	1,3±0,4	1,3±1,1	–
<b>6в</b>	0,3±0,4	2,3±0,3	2,6±0,4	3,3±0,3	3,8±0,4	5,6±0,4	–
<b>6г</b>	5,0±0,5	5,8±0,2	5,6±0,2	8,4±0,5	6,1±0,7	10,1±1,5	–
<b>6д</b>	1,1±0,5	1,9±0,5	1,4±0,7	1,7±1,1	2,4±0,5	2,9±1,2	–
<b>6ђ</b>	5,7±0,4	9,2±1,3	6,1±0,1	9,7±1,0	7,3±1,7	12,4±2,7	–
<b>6е</b>	98,4±0,4	95,9±0,4	–	–	–	–	4,1±0,2
<b>6ж</b>	34,6±0,5	42,7±0,6	36,5±0,6	43,7±0,4	52,1±0,1	54,1±0,5	135,6±0,9
<b>6з</b>	62,4±0,5	75,7±1,5	79,6±2,1	89,7±2,1	–	–	14,6±2,4
<b>6и</b>	4,8±0,5	4,2±0,9	5,8±1,1	5,2±3,0	7,7±0,8	7,0±2,3	–
NDGA	–	–	–	–	–	–	1,80±0,01

Међу тестираним једињењима, једињења **6е** и **6з**, добијена из протокатехуалдехида и синрингалдехида, испољила су најбољу антиоксидативну активност са IC<sub>50</sub> вредностима 4,1 и 14,6 μM (Табела 20).<sup>284</sup> Једињење **6ж**, добијено из ванилина, испољило је нижу активност, док једињења **6а–ђ** и **6и** нису показала активност према DPPH радикалу. Добијени резултати се слажу са литературним подацима да антиоксидативна активност фенолних једињења зависи од типа, броја и позиције суседних група до фенолне –ОН групе (ОН, OR, NH<sub>2</sub>).<sup>286</sup> Резонанциони и електрон донорски ефекти ових група повећавају стабилност образованог фенокси радикала. Овај стабилизациони ефекат је највише наглашен код једињења са катехолским фрагментом, где хидроксилна група доприноси хомолитичком раскидању суседне О–Н везе и има способност да гради водоничну везу са формираним фенокси радикалом.<sup>275,287,288</sup> Додатно, експерименталне и теоријске студије су показале да је стабилизација водоничним везама више наглашена у формираном *o*-семихинонском радикалу него у самом катехолу.<sup>289,290</sup> Резултати антиоксидативне активности пиразол-фталазин-диона се одлично слажу са претходно наведеним подацима. Заправо, једињење **6е**, са катехолским фрагментом, је најактивнији антиоксидант, док је једињење **6з**, са две суседне метокси групе до фенолне ОН,

испољило нешто нижу, али значајну антиоксидативну активност. Једињење **бж**, са једном метокси групом у *орто* положају, испољило је умерену активност.<sup>284</sup>

За пиразол-фталазин дионске деривате испитани су могући механизми антиоксидативног деловања термодинамичким приступом, у одсуству и присуству слободних радикала. Добро је познато да постоји неколико могућих механизма уклањања радикала, који су и описани раније у поглављу **1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања**. Како би се одредио највероватнији радикалски механизам фенолних једињења **бе-з** метод функционала густине и термодинамичка рачунања су изведени. Израчунате су реакционе енталпије за реакције фенолних пиразол-фталазин-диона са осам изабраних слободних радикала:  $\cdot\text{OH}$ ,  $\cdot\text{OON}$ ,  $\text{CH}_3\text{-O-O}\cdot$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\cdot\text{OCH}_3$ ,  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$  и DPPH. Термодинамички параметри су добијени оптимизацијом релевантних врста у три растварача. У Табели 21 су представљени резултати у метанолу, јер је он и коришћен за експериментални DPPH тест, док су резултати са водом и бензеном (неполарна средина) представљени у Табелама 22 и 23.<sup>284</sup>

**Табела 21.** Експерименталне IC<sub>50</sub> (μМ) вредности за инактивацију DPPH слободног радикала, израчунати термодинамички параметри антиоксидативног механизма за једињења **бе,ж,з** (kJ mol<sup>-1</sup>) и реакционе енталпије (kJ mol<sup>-1</sup>) реакција ових једињења са одабраним радикалима у метанолу.

IC <sub>50</sub> (μМ)	бе					бж					бз					
	HAT	SET-PT	SPLET			HAT	SET-PT	SPLET			HAT	SET-PT	SPLET			
		4,1±0,2					135,6±0,9					14,6±2,4				
термодинамички параметри (kJ mol <sup>-1</sup> )																
	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE	
	328	474	16	133	357	334	466	30	149	347	14,6	455	22	147	330	
	327		15	132	357											
реакционе енталпије (kJ mol <sup>-1</sup> )																
Радикал	ΔH <sub>BDE</sub>	ΔH <sub>IP</sub>	ΔH <sub>PDE</sub>	ΔH <sub>PA</sub>	ΔH <sub>ETE</sub>	ΔH <sub>BDE</sub>	ΔH <sub>IP</sub>	ΔH <sub>PDE</sub>	ΔH <sub>PA</sub>	ΔH <sub>ETE</sub>	ΔH <sub>BDE</sub>	ΔH <sub>IP</sub>	ΔH <sub>PDE</sub>	ΔH <sub>PA</sub>	ΔH <sub>ETE</sub>	
$\cdot\text{OCH}_3$	-99	96	-195	-78	-21	-93	89	-182	-63	-30	-111	78	-189	-64	-47	
$\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$	-100		-197	-80	-20											
	-108	97	-204	-87	-20	-101	89	-191	-72	-30	-120	78	-198	-73	-47	
$\cdot\text{OH}$	-109		-205	-89	-20											
	-171	18	-188	-71	-99	-164	10	-175	-56	-109	-183	-1	-182	-57	-126	
$\cdot\text{OON}$	-172		-189	-73	-99											
	-31	119	-150	-33	2	-25	111	-136	-17	-7	-43	100	-143	-19	-25	
$\cdot\text{OOCH}_3$	-32		-151	-34	2											
	-24	127	-151	-34	10	-18	120	-137	-18	1	-36	108	-145	-20	-17	
$\cdot\text{OO-CH=CH}_2$	-25		-152	-35	10											
	-23	106	-129	-12	-11	-17	98	-115	4	-20	-35	87	-122	2	-38	
DPPH	-24		-130	-13	-11											
	8	96	-88	29	-21	15	89	-74	45	-30	-4	78	-82	43	-47	
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	7		-89	28	-20											
	41	285	-244	39	2	48	278	-231	55	-7	29	267	-238	54	-25	
	40		-245	38	2											

Табела 22. Израчунати термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) антиоксидативних механизма за једињења бe–з, као и реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) реакција ових једињења са одабраним радикалима у води.

	НАТ					SET-PT					SPLET				
	бe					бж					бз				
Термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE
	331		31	139	341	338	443	44	155	333	319	430	38	155	313
	330	450	30	138	341										
Реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
Радикал	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$
$\cdot\text{OCH}_3$	-97		-185	-77	-21	-91	82	-172	-61	-29	-110	69	-178	-61	-49
	-99	88	-186	-78	-21										
$\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$	-107		-195	-86	-20	-100	82	-182	-71	-29	-119	69	-188	-70	-49
	-108	88	-196	-87	-20										
$\cdot\text{OH}$	-168		-175	-67	-101	-161	1	-162	-51	-110	-180	-12	-168	-51	-129
	-169	8	-176	-68	-101										
$\cdot\text{OOH}$	-30		-138	-30	0	-23	102	-125	-15	-9	-42	89	-132	-14	-29
	-31	108	-140	-31	0										
$\text{CH}_3\text{-O}\cdot$	-23		-141	-32	9	-16	111	-128	-17	1	-35	98	-134	-16	-19
	-24	118	-142	-33	9										
$\text{CH}_2=\text{CH-O}\cdot$	-22		-119	-10	-12	-15	90	-106	5	-21	-35	77	-112	6	-41
	-23	96	-120	-11	-12										
DPPH	7		-84	25	-18	13	84	-71	40	-27	-6	71	-77	41	-46
	5	90	-85	24	-18										
$\text{O}_2^{\cdot-}$	41		-222	41	0	48	257	-209	56	-9	29	244	-215	57	-29
	40	263	-223	40	0										

Табела 23. Израчунати термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) антиоксидативних механизма за једињења бe–з, као и реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) реакција ових једињења са одабраним радикалима у бензену.

	HAT					SET-PT					SPLET				
	бe					бж					бз				
Термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE
	317		98	381	326	342	601	130	426	305	328	590	127	435	282
	316	608	96	378	327										
Реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
Радикал	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$
$\cdot\text{OCH}_3$	-99	340	-439	-156	57	-74	333	-407	-110	37	-88	321	-410	-102	14
$\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$	-108	328	-436	-154	46	-83	321	-404	-108	25	-97	309	-407	-100	2
$\cdot\text{OH}$	-31	377	-408	-125	94	-6	369	-375	-79	73	-21	358	-378	-71	51
$\cdot\text{OOH}$	-168	292	-460	-177	9	-143	285	-428	-131	-11	-157	273	-431	-123	-34
$\text{CH}_3\text{-O}\cdot$	-23	380	-402	-119	97	3	372	-370	-74	76	-12	361	-373	-65	54
$\text{CH}_2=\text{CH-O}\cdot$	-24	332	-356	-73	50	1	325	-324	-27	29	-13	313	-327	-19	6
DPPH	-3	233	-236	46	-50	22	226	-204	92	-71	7	214	-207	100	-93
$\text{O}_2^{\cdot-}$	65	863	-798	-29	94	90	856	-766	17	73	76	844	-769	25	51
	64		-800	-32	94										

Избор радикала је извршен на основу њиховог присуства у живој ћелији и њиховом хемијском понашању у ћелији.<sup>251</sup> Заправо,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  настаје као производ дисања у живим ћелијама,<sup>291</sup> и склон је протонувању при рН нижим од 4,8 дајући реактивнији  $\cdot\text{OOH}$ . Додатно,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  пролази кроз дисмутацију дајући водоник пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), који преко Фентонове (Fenton) и Хабер-Вајсове (Haber-Weiss) реакције производи  $\cdot\text{OH}$ . Овај моћан оксидант, у присуству ваздуха, реагује са угљоводоницима производећи пероксилне радикале, који се даље трансформишу у алкоксилне радикале. DPPH је изабран јер је коришћен у експерименталном тесту. Посматрањем Табела 21, 22 и 23 евидентно је да се SET-PT може елиминисати као радни механизам у одсуству и у присуству слободних радикала, као и у свим испитиваним растварачима. Добијене вредности за IP и  $\Delta H_{\text{IP}}$  су значајно више од вредности термодинамичких параметара и реакционих енталпија за HAT и SPLET механизме. Са друге стране, вредност BDE је већа од PA у поларним растварачима, што указује на то да су сви испитивани пиразол-фталазин-диони склони SPLET механизму, док су у средини са ниском поларношћу склони HAT механизму. Ово је у складу са вероватном хетеролитичком дисоцијацијом везе у поларним растварачима и хомолитичком у неполарним растварачима.<sup>292</sup> Заправо, производ HAT механизма је радикал формиран од сваког пиразол-фталазин-диона, док у случају SPLET механизма, први корак је апстракција протона и образовање одговарајућих анјона. Слично као у

случају механизма у одсуству слободних радикала, у присуству слободних радикала на пут уклањања радикала значајно утиче поларност растварача.<sup>284</sup>

На први поглед, на основу  $\Delta rH_{\text{BDE}}$  и  $\Delta rH_{\text{PA}}$  добијених у поларним растварачима (метанол и вода), НАТ делује као приоритетан механизам, а SPLET у растварачима ниске поларности. Реакционе енталпије  $\Delta rH_{\text{BDE}}$  и  $\Delta rH_{\text{PA}}$  то доказују само у случају  $\cdot\text{OH}$  и поларних растварача (Табеле 21, 22 и 23).<sup>284</sup> Разлика између  $\Delta rH_{\text{BDE}}$  и  $\Delta rH_{\text{PA}}$  вредности је значајна, указујући на НАТ као приоритетан механизам. У случају алкоксилних радикала ( $\cdot\text{OCH}_3$  и  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ) и пероксилних радикала ( $\cdot\text{OOH}$ ,  $\text{CH}_3\text{-O-O}\cdot$  и  $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$ ) ова разлика је мање наглашена што указује на то да су НАТ и SPLET механизми компетитивни. У случају DPPH радикала, ниске позитивне вредности реакционих енталпија указују на слабу интеракцију испитиваних једињења са овим радикалом. Додатно,  $\Delta rH_{\text{PA}}$  вредности су више од  $\Delta rH_{\text{BDE}}$  у свим растварачима и за све пиразол-фталазин-дионе указујући да је НАТ мање ендотерман и према томе приоритетан механизам за овај радикал. У случају  $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$  позитивне вредности  $\Delta rH_{\text{PA}}$  за реакције у метанолу и води, указују на ендотермну природу SPLET механизма, док негативне вредности  $\Delta rH_{\text{BDE}}$  указују на НАТ механизам као вероватнији. Важно је нагласити да у свим испитиваним случајевима и у свим растварачима, енталпије реакција са  $\text{O}_2^{\cdot-}$  су највеће што указује на то да се овај радикал тешко уклања.<sup>279,280</sup>



### 2.3. *One-pot* синтеза тетрахидропиридинских деривата у присуству јонске течности/гликолне киселине

Тетрахидропиридини су синтетисани у *one-pot* реакцији ароматичних алдехида **5**, различито супституисаних анилина **7** и метил ацетоацетата у присуству гликолне киселине – GA (енг. *glycolic acid*) или јонске течности диетаноламонијум хидрогенсулфата – DHS (енг. *diethanolammonium hydrogensulfate*) као „зелених” катализатора.<sup>254</sup>

Реакција између бензалдехида, анилина и метил ацетоацетата у етанолу је изведена као модел реакција. Реакција је првенствено изведена без присуства катализатора на собној температури, а затим и уз рефлукс у трајању од 48 h при чему није добијен производ. У присуству DHS (10 mol%) на собној температури и у трајању од 24 h производ је изолован у умереном приносу (71%). Повећањем каталитичке количине DHS (15 mol%) дошло је до побољшања приноса (77%). Даље повећање каталитичке количине DHS (20 mol%) није имало значајног утицаја на принос производа (79%). Затим су изведене реакције уз загревање до рефлукса са истим количинама DHS (10, 15 и 20 mol%). У овом случају дошло је до скраћења реакционог времена, производи су добијени у сличном приносу као на собној температури, али за знатно краће реакционо време (6 h). Продужавање реакције до 24 h није имало значајног утицаја на принос. На овај начин изоловани су само *anti* дијастереоизомери производа **8** (Схема 44, Табела 24).<sup>293</sup>

Након испитивања каталитичке активности DHS, испитана је и каталитичка активност GA. Применом каталитичке количине GA (20 mol%) на собној температури производ је добијен у траговима после 24 h и 48 h, док је загревањем до рефлукса за 6 h добијен производ са приносом 50% као смеша *anti* : *syn* = 75:25. Употребом GA у већој количини (5% раствор GA у етанолу) на собној температури и уз загревање до рефлукса добијен је производ за 4 h у умереном приносу (75% на собној температури као смеша *anti* : *syn* = 55:45 и 73% загревањем до рефлукса као *anti* производ). Повећањем количине GA (30% раствор GA у етанолу) на собној температури и уз загревање добијени су слични приноси (92 и 93%) за 1 h дајући искључиво *anti* производ (Схема 44, Табела 24).<sup>293</sup>

Из свега овога проистичу две методе за синтезу тетрахидропиридина:

**Метода А:** 15 mol% DHS; рефлукс у етанолу; 6 h

**Метода Б:** 30% раствор GA у етанолу; собна температура; 1 h

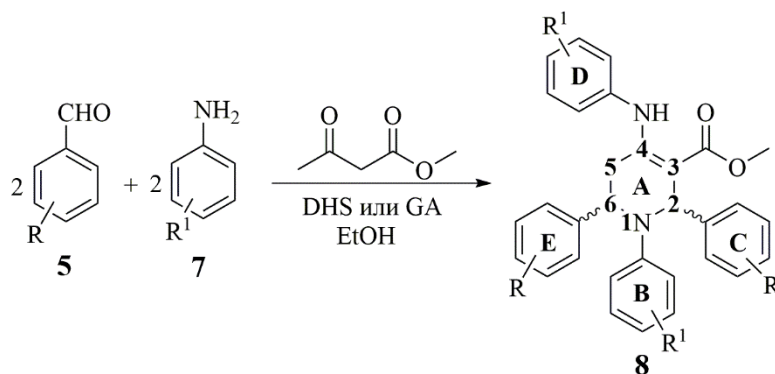


Схема 44. Синтеза тетрахиdropиридинских деривата.

Табела 24. Оптимизација реакционих услова за синтезу тетрахиdropиридина.

Реакције	DHS/ GA	Време (h)	Темп.	Принос (%)	<i>anti:syn</i>
1	–	48	с.т.	/	/
2	–	48	рефлукс	/	/
3	DHS 10 mol%	24	с.т.	71	100:0
4	DHS 15 mol%	24	с.т.	77	100:0
5	DHS 20 mol%	24	с.т.	79	100:0
6	DHS 10 mol%	6	рефлукс	72	100:0
7	DHS 15 mol%	6	рефлукс	79	100:0
8	DHS 20 mol%	6	рефлукс	80	100:0
9	DHS 10 mol%	24	рефлукс	72	100:0
10	DHS 15 mol%	24	рефлукс	81	100:0
11	DHS 20 mol%	24	рефлукс	82	100:0
12	GA 20 mol%	24	с.т.	трагови	/
13	GA 20 mol%	48	с.т.	трагови	/
14	GA 20 mol%	6	рефлукс	50	75:25
15	GA 5% раствор	4	с.т.	75	55:45
16	GA 5% раствор	4	рефлукс	73	100:0
17	GA 30% раствор	1	с.т.	92	100:0
18	GA 30% раствор	1	рефлукс	93	100:0

Након завршене оптимизације услова за обе методе, изведене су реакције са различитим ароматичним алдехидима, анилинима и метил ацетоацетатом (Табеле 25 и 26).<sup>293</sup>

Табела 25. Синтеза тетрахиdropиридина применом методе А.

Једињења	R	R <sup>1</sup>	Принос <sup>a</sup> (%)	<i>anti:syn</i> <sup>b</sup> (%)
<b>8a</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	H	75	100:0
<b>8б</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	Cl	73	100:0
<b>8в</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	CH <sub>3</sub>	40	100:0
<b>8г</b>	H	H	79	100:0
<b>8д</b>	H	Cl	78	100:0
<b>8ђ</b>	H	CH <sub>3</sub>	79	100:0
<b>8е</b>	4-F	H	75	100:0
<b>8ж</b>	4-F	Cl	73	100:0
<b>8з</b>	4-F	CH <sub>3</sub>	77	100:0
<b>8и</b>	4-Cl	H	74	91:9
<b>8ј</b>	4-Cl	Cl	76	25:75
<b>8к</b>	4-Cl	CH <sub>3</sub>	78	91:9

<sup>(a)</sup>Реакциони услови: алдехид (2 mmol), анилин (2 mmol), метил ацетоацетат (1 mmol) и 15 mol% DHS, рефлукс у 2 mL етанола, 6 h;

<sup>(b)</sup>Дијастереоизомерни односи су одређени <sup>1</sup>H NMR спектроскопијом, на основу вредности површина интеграла резонанци одговарајућих протона *anti* и *syn* изомера. Реакције су се одвијале на собној температури и трајале су 24 сата. У поређењу са реакцијама које су се одвијале уз рефлукс, није било значајних разлика у приносу.

Табела 26. Синтеза тетрахиdropиридина применом методе Б.

Једињења	R	R <sup>1</sup>	Принос <sup>a</sup> (%)	<i>anti:syn</i> <sup>b</sup> (%)
<b>8a</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	H	88	100:0
<b>8б</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	Cl	86	100:0
<b>8в</b>	3-OCH <sub>3</sub> -4-OH	CH <sub>3</sub>	20	100:0
<b>8г</b>	H	H	95	100:0
<b>8д</b>	H	Cl	90	60:40
<b>8ђ</b>	H	CH <sub>3</sub>	93	100:0
<b>8е</b>	4-F	H	87	100:0
<b>8ж</b>	4-F	Cl	85	60:40
<b>8з</b>	4-F	CH <sub>3</sub>	89	100:0
<b>8и</b>	4-Cl	H	84	100:0
<b>8ј</b>	4-Cl	Cl	81	60:40
<b>8к</b>	4-Cl	CH <sub>3</sub>	83	100:0

<sup>(a)</sup>Реакциони услови: алдехид (2 mmol), анилин (2 mmol), метил ацетоацетат (1 mmol) и 30% раствор GA у етанолу на собној температури;

<sup>(b)</sup>Дијастереоизомерни односи су одређени <sup>1</sup>H NMR спектроскопијом, на основу вредности површина интеграла резонанци одговарајућих протона *anti* и *syn* изомера. Реакције су се одвијале уз рефлукс и трајале 1 h, није било значајних разлика у приносу између реакција изведених на собној температури и уз рефлукс.

Методом А добијени су углавном *anti* дијастереоизомери у добром приносу у свим случајевима (око 75%) (Табела 25).<sup>293</sup> Методом Б добијени су чак бољи приноси (81–95%), али неке од реакција нису произвеле само *anti* производе (**8д**, **8ж** и **8ј**) (Табела 26).<sup>293</sup> Када су исте реакције изведене загревањем до рефлукса, дијастереоселективност је била искључиво *anti*. Важно је нагласити да су међу синтетисаним једињењима, производи са ванилинском јединицом (**8a–в**) нова једињења. Сви тетрахиdropиридини

су изоловани без примене органских растварача и хроматографије на колони, само испирањем талога водом и етанолом. Реакције у којима је коришћен ванилин као алдехид су трајале 20 h при чему је најнижи принос добијен у реакцији ванилина, 4-метил анилина и метил ацетоацетата (**8в**) (Табеле 25 и 26).<sup>293</sup> Промена реакционих услова уз употребу различитих растварача (ацетонитрил, вода, метанол, метанол/вода (6:4), етанол/вода (6:4)) као и продужетак реакције, нису утицали на повећање приноса. Сматра се да је разлог ниског приноса и дугог трајања реакције, присуство супституената са јаким електрон донорским ефектом и у случају алдехида и анилина. Реакције изведене по методи **A** тестиране су и на собној температури, због појаве оба дијастереоизомера у неким реакцијама изведеним применом методе **B** (Табела 25). На овај начин, добијен је *syn* изомер у случајевима када је *p*-хлорбензалдехид употребљен (**8и-к**) (Табела 25).<sup>293</sup> У случајевима када је реакција изведена са анилином и 4-метил анилином (**8и,к**), *anti* изомер је добијен као главни производ (91%). Додатно, када је коришћен 4-хлоранилин као анилин са електрон привлачним супституентом, *syn* изомер је био главни производ (**8ј**) (Табела 25).<sup>293</sup>

Познато је да се у реакцијама катализованим пикринском киселином на нижим температурама, добијају *syn* изомери у неким случајевима.<sup>107</sup> Имајући то у виду, реакција између 4-хлорбензалдехида, 4-хлоранилина и метил ацетоацетата је тестирана на нижој температури (0–5 °C) јер је једино у овој реакцији добијен *syn* изомер код обе методе. Реакција је изведена по методи **B** због краћег реакционог времена. При наведеним условима, добијен је само *syn* производ (45%) што је потврђено <sup>1</sup>H NMR и NOESY спектрима.

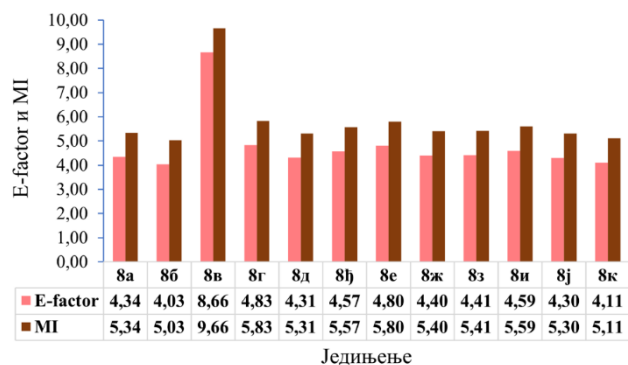
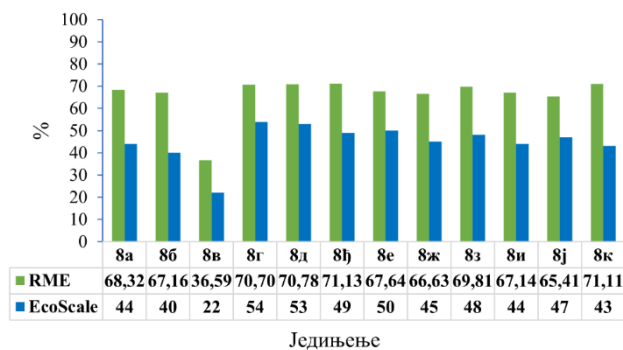
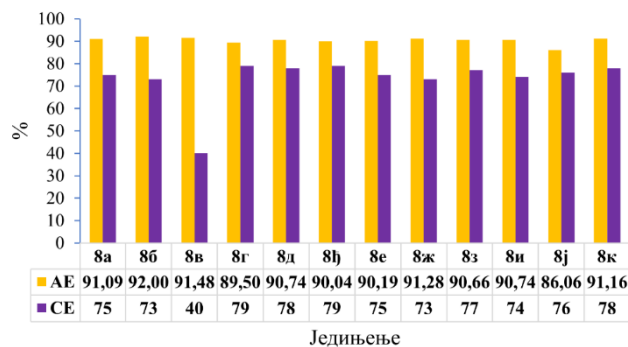
Различити однос *anti/syn* изомера код метода **A** и **B**, може се приписати различитој рН вредности реакционих смеша (3,5 за методу **A** и 1,5 за методу **B**) и/или различитим реакционим механизмима ових метода. Све реакције изведене уз рефлукс, произвеле су само *anti* изомере. Снижењем температуре, добијени су *syn* изомери у случајевима када су електрон привлачни супституенти коришћени. Из наведеног проистиче да су *anti* производи термодинамички, а *syn* кинетички. Објашњење за низак принос у наведеној реакцији изведеној на 0–5 °C огледа се у томе да је првенствено *syn* производ формиран као кинетички, а добијање *anti* изомера као термодинамичког производа је спречено на ниској температури. Присуство хлора као електрон привлачног супституента у анилину убрзава реакцију (Метода **B**) и води ка формирању *syn* производа.

Методом **B** добијени су производи у добром до одличном приносу за значајно краће време у поређењу са резултатима који су добијени у другим органокатализованим реакцијама.<sup>93,106,294,295</sup>

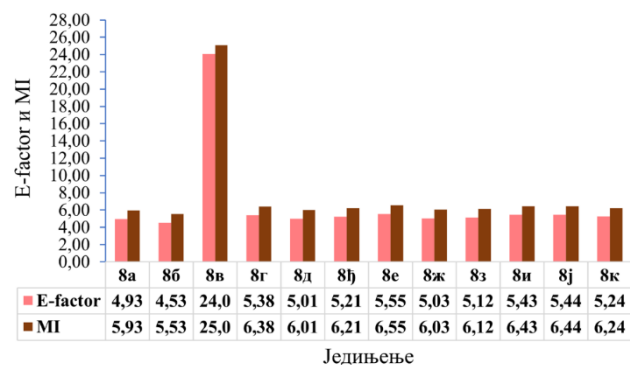
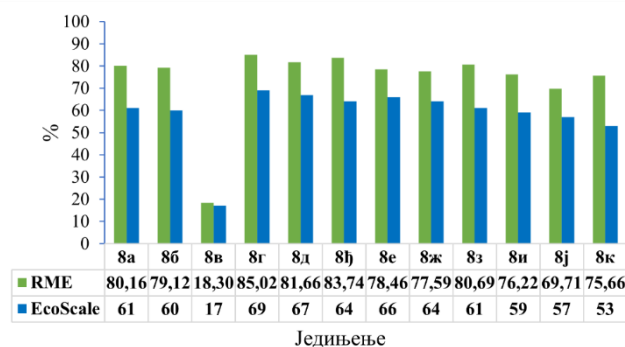
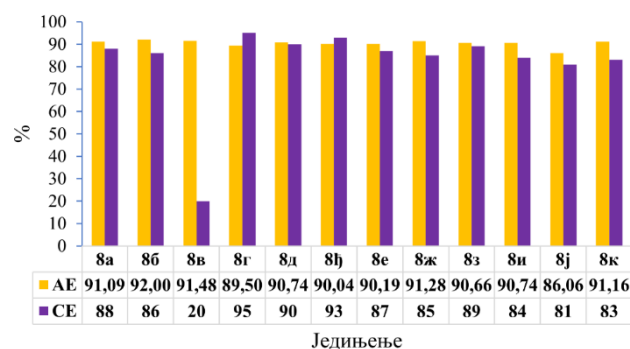
Резултати који су представљени, могу се упоредити са реакцијама катализованим различитим катализаторима на бази метала.<sup>296–298</sup> Важно је нагласити да су поред ових резултата, у литератури једино доступни резултати *Mukhopadhyay* и сарадника, који су се бавили испитивањем дијастереоселективности мултикомпонентне синтезе тетрахидропиридина.<sup>107</sup>

### 2.3.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционих метода за добијање тетрахиdropиридинских деривата 8a–k

Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционих метода А и Б за добијање тетрахиdropиридинских деривата 8a–k је одређена применом „зелене” хемијске метрике и то израчунавањем параметара као што су: АЕ, СЕ, RME, EcoScale, MI и E-factor (Слике 41 и 42).<sup>141,148,157,263</sup>



Слика 41. „Зелена” хемијска метрика израчуната за синтетисана једињења 8a–k методом А.



Слика 42. „Зелена” хемијска метрика израчуната за синтетисана једињења 8а–к методом Б.

### Поређење метода А и Б

На основу вредности за параметар АЕ, које су једнаке што је и очекивано јер су коришћени исти реактанти, може се рећи да је постигнута одлична атомска економичност. Вредности СЕ параметра су добре код обе методе, али су веће код методе Б изузев за једињење 8в јер је принос овог једињења двоструко лошији применом методе Б. RME вредности су такође боље код методе Б, као и вредности за EcoScale изузев у случају 8в. Главни разлог зашто су вредности ових параметара, за сва једињења осим за једињење 8в, боље применом методе Б је тај што су применом ове методе постигнути бољи приноси изолованих производа. Разматрањем параметара MI и E-factor код обе методе се може увидети да су вредности нешто веће од идеалних због веће масе реагенаса, а ове вредности су лошије код методе Б због примене веће количине катализатора. Ниже вредности параметра EcoScale су последица примене 2 еквив. одговарајућих ароматичних аледхида и 2 еквив. одговарајућих анилина, као и примена растварача и катализатора (већа количина реагенаса = већа цена/доступност = више

негативних поена), али и негативна својства етанола и анилина која утичу на безбедност (Слике 41, 42, 69 и 70). Узимајући у обзир вредности свих параметара као и рециклабилност употребљених катализатора, може се закључити да су обе методе засноване на принципима зелене хемије, при чему се предност може дати методи Б.

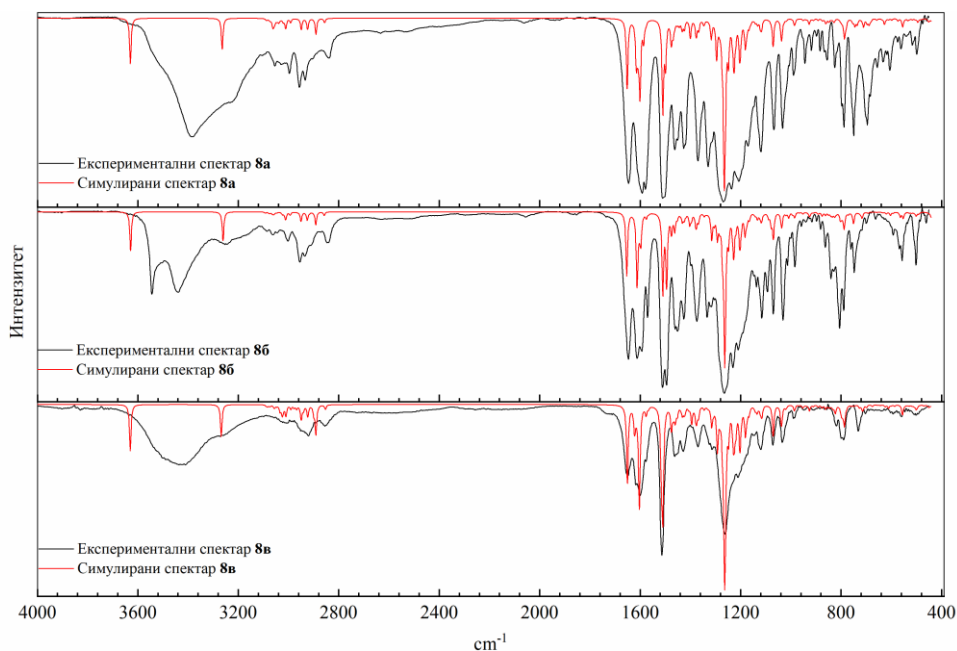
У *Експерименталном делу* је приказан прорачун „зелених” параметара и EcoScale параметар, који је израчунат помоћу *online* алата (Слика 69 и 70), за један репрезентативни унос (8a).<sup>141,148,157,263,264</sup>

### 2.3.2. Структурна карактеризација тетрахидропиридина 8a–в – експериментална и теоријска испитивања

Новосинтетисани тетрахидропиридини (8a–в) су окарактерисани помоћу NMR (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C и NOESY), IR и UV експерименталних и симулираних спектра као и помоћу елементалне анализе. Кристална структура сличног једињења из литературе је послужила као полазна геометрија за симулирање спектра тетрахидропиридина и за испитивање највероватнијег антиоксидативног механизма.<sup>299</sup> Оптимизације структура су првенствено изведене у гасној фази како би се извршило поређење са кристалном структуром, а затим је из тако оптимизованих структура урађена IR спектрална карактеризација. Додатно су IR спектрална својства испитана и у хлороформу и метанолу. За NMR спектралну карактеризацију је искоришћена структура оптимизована у гасној фази и извршена је оптимизација структура у хлороформу, док је за UV спектралну карактеризацију и за одређивање механизма антиоксидативне активости, оптимизација урађена у метанолу. Избор растварача за симулацију спектра је извршен према растварачима који су коришћени за експериментално одређивање спектра и *in vitro* одређивање антиоксидативне активности. Важно је нагласити да нема значајних структурних разлика између структура оптимизованих молекула у гасној фази, хлороформу и метанолу.<sup>293</sup>

За IR спектре израчунате фреквенције су скалиране факторима скалирања израчунатим помоћу методе најмањих квадрата (0,96 за траке изнад 2500 cm<sup>-1</sup> и 0,98 за траке испод 2500 cm<sup>-1</sup>). За симулиране NMR спектре су такође одређени фактори скалирања методом најмањих квадрата и износе 0,96 за <sup>1</sup>H и 0,95 за <sup>13</sup>C.

Тетрахидропиридински деривати 8a–в су окарактерисани помоћу експерименталних и симулираних IR спектра као што је представљено на Слици 43.<sup>293</sup>

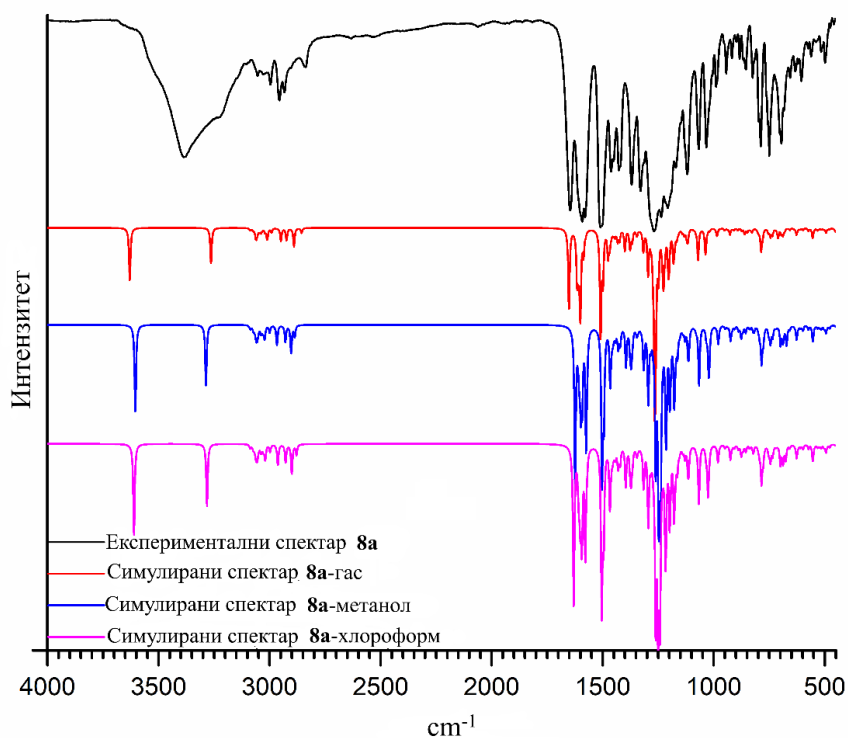


Слика 43. Експериментални и симулирани IR спектри нових тетрахидропиридина.

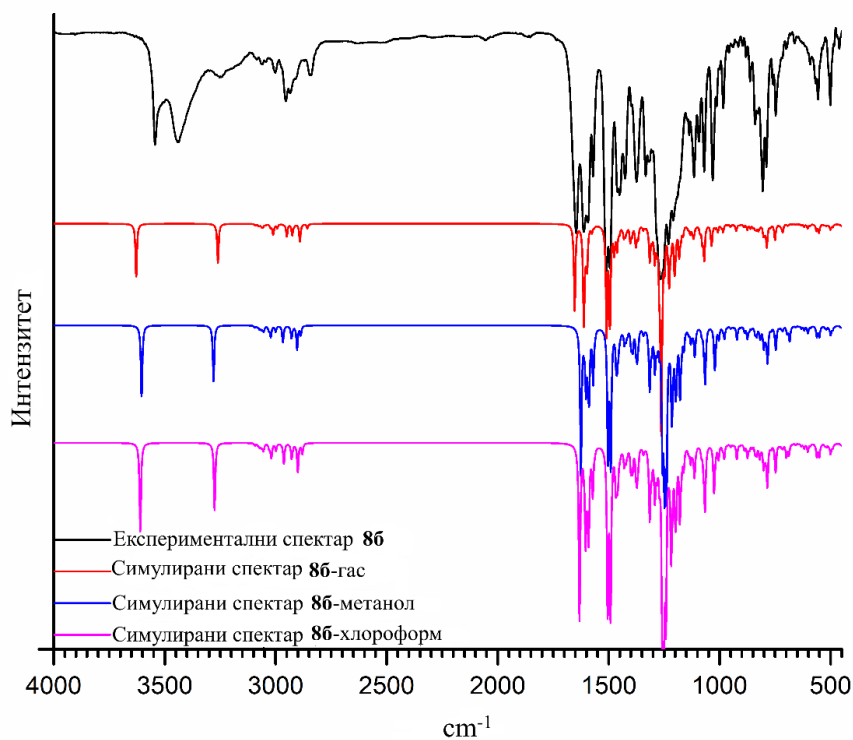
У спектрима наведених једињења широке траке у опсегу  $3380\text{--}3550\text{ cm}^{-1}$  потичу од ОН вибрација. У свим симулираним спектрима, ове траке су на нешто вишим вредностима што може бити објашњено интермолекулским водоничним везама између два молекула тетрахидропиридина. Симулиране су и интрамолекулске водоничне везе између ОН и суседне  $\text{OCH}_3$  групе на прстеновима **C** и **E** ( $\text{O}\text{--}\text{H}\dots\text{O}\text{--}\text{CH}_3$ ) при чему интератомско растојање од  $2,1\text{ \AA}$  код свих ванилинских тетрахидропиридина показује слабу интеракцију. Додатно, експериментални IR спектри су одређени у чврстом стању (КВг пилула), док је симулација спектра извршена у гасној фази. Одлично слагање је постигнуто између експерименталних и симулираних  $\text{N}\text{--}\text{H}$  вибрација истезања (око  $3250\text{ cm}^{-1}$ ) што потврђује присуство јаке  $\text{C}=\text{O}\dots\text{HN}$  водоничне везе. Траке у области  $2850\text{--}3050\text{ cm}^{-1}$  (и експерименталне и симулиране) приписују се вибрацијама истезања алифатичних и ароматичних  $\text{CH}$ , као и алифатичним  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$  групама у молекулима. Изражене траке на  $1650\text{ cm}^{-1}$  у свим спектрима потичу од вибрација истезања карбонилних естарских група.

Трака у области  $1580\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  потиче од  $\text{C}=\text{C}$  вибрација, док су на око  $1550$  и  $1270\text{ cm}^{-1}$  траке од ароматичних  $\text{C}=\text{C}$  вибрација савијања и алифатичних  $\text{C}\text{--}\text{N}$  вибрација истезања. Поређењем симулираних спектра добијених применом СРСМ (енг. *conductor-like polarizable continuum model*) солватационог модела (метанол и хлороформ) као и спектра израчунатих у гасној фази не уочавају се значајне разлике (Слике 44–46).<sup>293</sup>

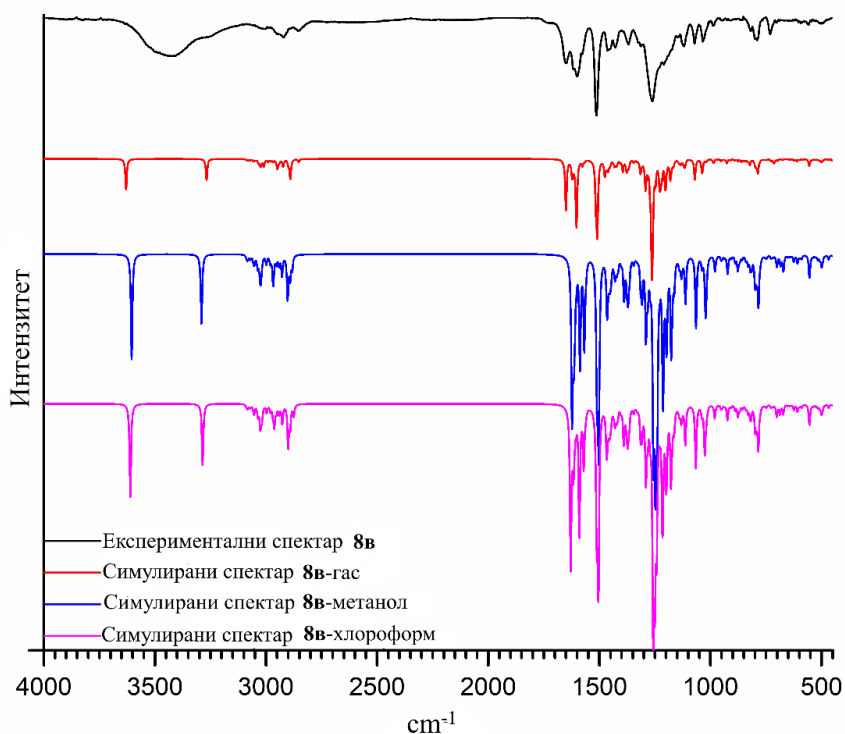




Слика 44. Експериментални и симулирани IR спектри добијени у гасној фази, метанолу и хлороформу за једињење 8a.



Слика 45. Експериментални и симулирани IR спектри добијени у гасној фази, метанолу и хлороформу за једињење 8b.



Слика 46. Експериментални и симулирани IR спектри добијени у гасној фази, метанолу и хлороформу за једињење **8в**.

Тетрахидопиридински деривати су анализирани и коришћењем NMR спектроскопије. У  $^1\text{H}$  NMR спектрима, једињења **8а–в** (Табеле 27 и 28), два метиленска протона на **A5** (прстен **A**, атом угљеника **5**, Схема 44) појављују се као дублети дублета на 2,67–2,74 ppm са константама купловања у опсегу 2,6–2,8 Hz ( $J_1$ ) и 14,9–15,1 Hz ( $J_2$ ) и на 2,89–2,91 ppm са константама купловања у опсегу 5,1–5,4 Hz ( $J_1$ ) и 14,7–15,0 Hz ( $J_2$ ). Протон на хиралном атому (**A6**) појављује се као широк синглет на око 5,00 ppm док се протон са **A2** атома налази између 6,24–6,28 ppm заједно са ароматичним протонима. Ароматични протони се појављују као мултиплети и дублети у области 6,20–7,10 ppm. Протон из амино групе (везан за **A4** атом) појављује се као широк синглет на око 10,20 ppm. Протони који потичу од две метокси групе (супституенти на прстеновима **A** и **C**) и метил група из естра појављују се као синглети на 3,70, 3,80 и 3,90 ppm. У случају једињења **8в**, два додатна синглета потичу од *p*-метил група на прстеновима **B** и **D** и појављују се у области 2,16–2,30 ppm.<sup>293</sup>

Табела 27.  $^1\text{H}$  NMR хемијска померања (ppm) за експерименталне и симулиране *anti* изомере једињења **8a–b**.

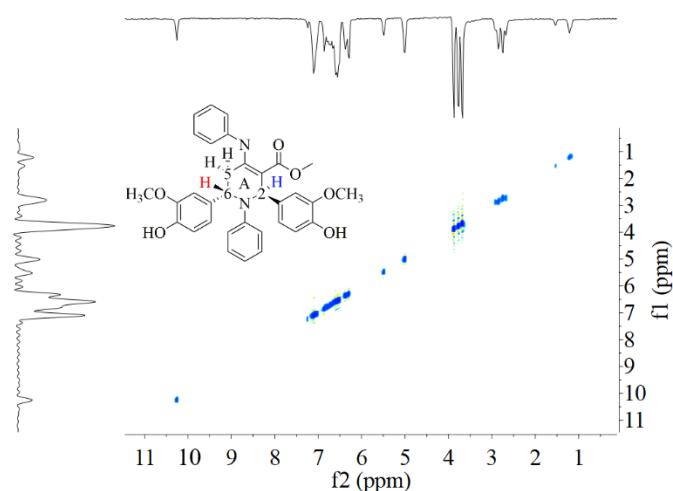
	<b>8a</b>		<b>8b</b>		<b>8b</b>	
	Експ.	Сим.	Експ.	Сим.	Експ.	Сим.
	$\Delta = 0,13$ ppm $\Delta = 2,34\%$ $R = 0,994$		$\Delta = 0,11$ ppm $\Delta = 1,96\%$ $R = 0,994$		$\Delta = 0,17$ ppm $\Delta = 3,24\%$ $R = 0,998$	
N–H	10,26	10,30	10,19	10,43	10,18	10,19
Ar–H			7,12			
			7,08			
	7,15 7,11	7,37 7,20	7,02	7,25 7,08	6,95 6,91	7,07 7,07
	7,07	7,07	6,98	7,05	6,89	6,93
	7,03 6,88	7,02 7,02	6,86	6,96 6,89	6,88 6,85	6,93 6,84
	6,85	7,01	6,82	6,87	6,81	6,81
	6,81 6,77	6,94 6,92	6,77	6,83 6,83	6,76 6,72	6,80 6,77
	6,74	6,86	6,69	6,73	6,67	6,72
	6,68 6,65	6,67 6,51	6,65	6,49 6,37	6,62 6,47	6,62 6,43
	6,61	6,49	6,61	6,35	6,28	6,17
	6,57 6,53 6,53	6,42 6,41	6,47	6,29 5,59	6,26	6,14
	6,36	6,35	6,43			
		5,86				
		6,31				
		6,27				
A2–H	6,31	6,39	6,24	6,39	6,24	6,20
O–H	5,54 5,52	5,43 5,21	5,58 5,54	5,42 5,33	5,52	5,23
A6–H	5,04	4,99	4,99	4,99	4,98	4,90
CH <sub>3</sub>	3,90 3,79	4,03 3,89	3,91	4,03 3,89	3,88 3,80	3,99 3,85
	3,71	3,87	3,80	3,89	3,71	3,83
			3,72		2,27 2,16	2,88 2,67
CH <sub>2</sub>	2,78 2,93	3,03 2,93	2,86	2,85 2,83	2,84 2,73	2,19 2,00
			2,71			

У  $^1\text{H}$  NMR спектру чистог *sup* производа **8j**, два метиленска протона на **A5** појављују се као мултиплети на 2,34–2,74 ppm. Протон на хиралном **A6** атому је присутан као дублет дублета на 4,41–4,43 ppm и 4,48–4,50 ppm са константама купловања од 3,7 Hz ( $J_1$ ) и 12,3 Hz ( $J_2$ ), док је протон на **A2** запажен на 5,94 ppm. Ароматични протони се појављују као мултиплети и дублети у области 6,68–7,50 ppm. Амино протон везан за **A4** атом се појављује као широк синглет на око 10,59 ppm. Метил протони од естарске метокси групе појављују се као синглет на 3,74 ppm.<sup>293</sup>

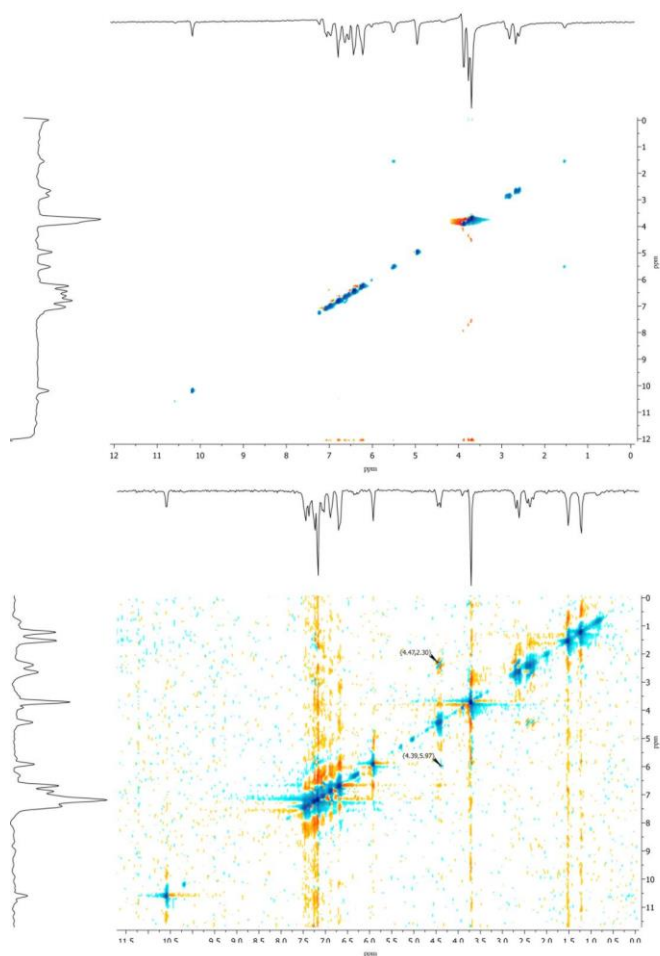
**Табела 28.**  $^1\text{H}$  NMR хемијска померања (ppm) за синтетисана једињења **8a–в** и симулирани *sup* изомери истих једињења. Експериментални подаци су потпуно исти као у Табели 27, вредности експерименталног *sup* изомера нису приказане.

	<b>8a</b>		<b>8b</b>		<b>8в</b>	
	$\Delta = 0,28$ ppm $\Delta = 5,10\%$ $R = 0,991$		$\Delta = 0,24$ ppm $\Delta = 4,53\%$ $R = 0,992$		$\Delta = 0,27$ ppm $\Delta = 6,14\%$ $R = 0,994$	
	Експ.	Сим.	Експ.	Сим.	Експ.	Сим.
N–H	10,26	10,31	10,19	10,29	10,18	10,41
			7,12 7,08	7,38 7,35		
	7,15 7,11 7,07	7,46 7,45 7,44	7,02	7,21		
	7,03 6,88 6,85	7,37 7,32 7,26	6,98 6,86	7,14 7,12	6,95 6,91 6,89	7,27 7,14 7,14
	6,81 6,77 6,74	7,24 7,22 7,05	6,82	7,1	6,88 6,85 6,81	7,14 7,07 6,96
Ar–H	6,68 6,65 6,61	7,03 6,95 6,86	6,77 6,69	7,10 7,09	6,76 6,72 6,67	6,78 6,76 6,52
	6,57 6,53 6,53	6,81 6,76 6,67	6,65	6,93	6,62 6,47 6,28	6,48 6,45 5,87
	6,36	6,67	6,61 6,47	6,87 6,82	6,26	5,74
			6,43	6,66		
			6,31 6,27	6,61 6,48		
*C–H	6,31	6,23	6,24	6,05	6,24	5,5
O–H	5,54 5,52	5,33 5,25	5,58 5,54	5,39 5,13	5,52	4,97
*C–H	5,04	4,68	4,99	4,43	4,98	4,32
CH <sub>3</sub>	3,90 3,79 3,71	3,96 3,85 3,60	3,91 3,80	4,01 3,76	3,88 3,80 3,71	3,75 3,43 3,40
			3,72	3,56	2,84 2,73	3,08 2,02
CH <sub>2</sub>	2,78 2,93	3,01 2,04	2,86 2,71	2,79 2,11	2,27 2,16	2,31 2,19

Испитивана једињења су окарактерисана на основу NOESY спектра (Слике 47 и 48).<sup>293</sup> Анализом ових спектра уочено је да између протона **A2** и **A6** нема интеракције што указује да су протони окренути супротно од равни прстена **A**. Због одсуства интеракције између ових протона, јасно је да су једињења искључиво *anti* изомери. Додатно, не постоји интеракција између протона на угљеницима **A5** и **A6**, што такође потврђује да су ови протони *anti* оријентисани. Овим се објашњава појава широког синглета на око 5 ppm (протон на **A6**) уместо дублет дублета у  $^1\text{H}$  NMR спектрима једињења **8a–в** као и у  $^1\text{H}$  NMR спектрима свих других *anti* производа.<sup>293</sup>

Слика 47. H–H NOESY спектар једињења **8a**.

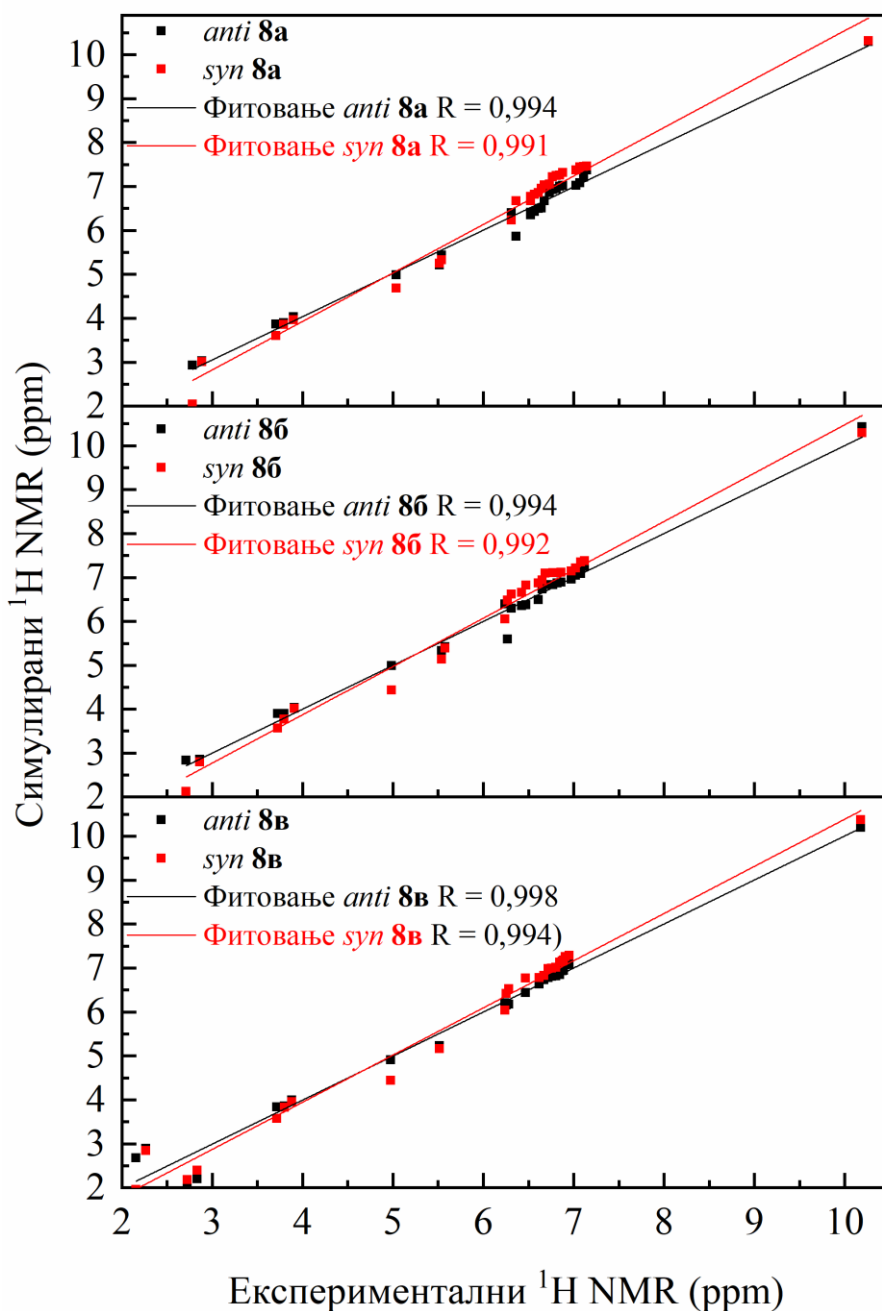
Са друге стране, NOESY спектар једињења *sup 8j* (Слика 48) показује да постоји слаба интеракција између протона на атомима **A5** и **A6**, као и између протона **A2** и **A6**. Ово указује на то да су **A2** и **A6** протони са исте стране равни прстена **A**.<sup>293</sup>

Слика 48. H–H NOESY спектар једињења **8b** (горе) и *sup 8j* (доле).

Како би се проверило да ли су добијени производи *anti* или *syn*, симулирани су NMR спектри применом GIAO (енг. *Gauge-Independent Atomic Orbital*) методе. Заправо, симулирана хемијска померања за *anti* (Табела 27) и *syn* производе (Табела 28) су поређена са експериментално добијеним вредностима (Табеле 27–29, Слика 49).<sup>293</sup>

Табела 29. Експериментална и симулирана <sup>13</sup>C NMR хемијска померања (ppm) за једињења **8a–v**.

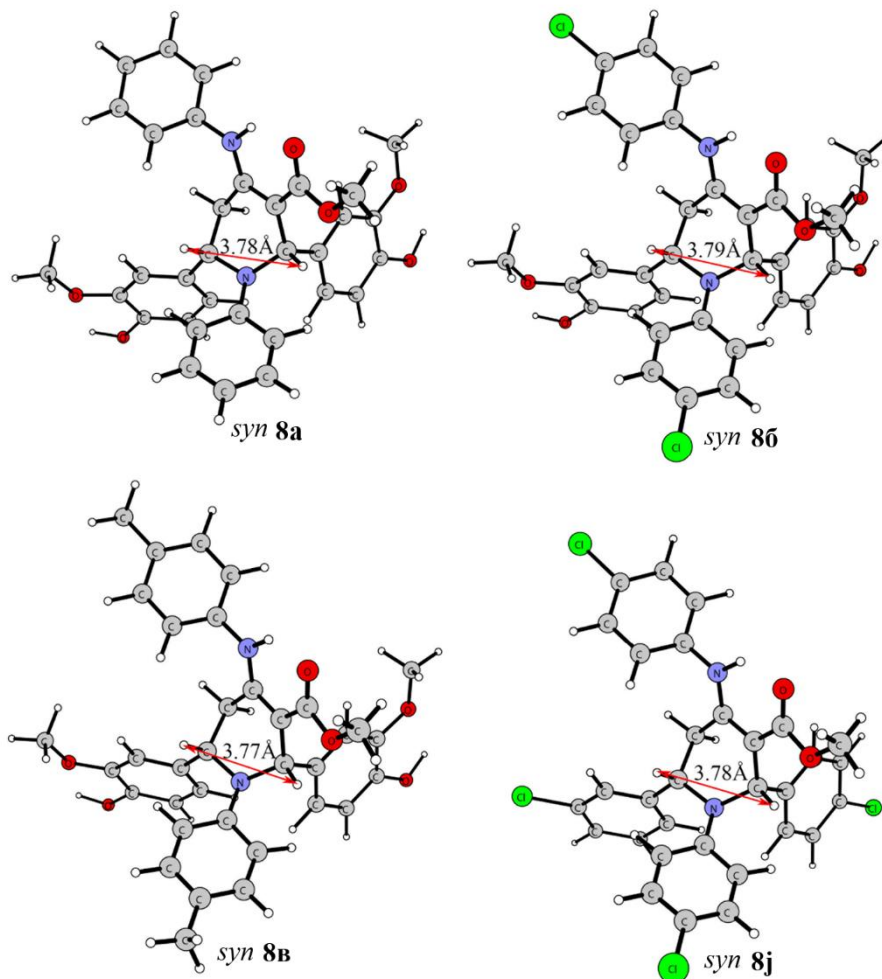
	<b>8a</b>		<b>8b</b>		<b>8v</b>	
	Експ.	Сим.	Експ.	Сим.	Експ.	Сим.
	$\Delta = 1,04$ ppm $\delta = 1,10\%$ R = 0,9993		$\Delta = 1,08$ ppm $\delta = 1,24\%$ R = 0,9992		$\Delta = 2,21$ ppm $\delta = 2,42\%$ R = 0,992	
C=O	168,48	168,32	168,37	168,55	168,53	169,69
A4	156,72	157,95	156,07	157,19	157,07	159,48
ArC–	147,05	147,21	146,77	146,94	146,68	148,50
ArC–	146,44	146,63	145,57	146,13	145,01	147,84
	144,64	146,03	144,88	145,82	144,65	146,78
	137,90	139,90	136,43	137,65	136,16	138,61
	135,76	137,40	134,94	136,03	135,35	137,90
ArC–OH	134,64	136,68	134,00	135,98	135,05	137,22
	128,83	128,99	131,52	134,03	129,42	135,27
	128,76	127,24	128,99	128,99	129,32	130,75
	125,90	125,56	128,61	128,25	126,03	129,07
	125,77	125,72	127,15	126,66	125,29	126,75
	119,29	120,02	121,37	119,88	119,31	120,60
	119,21	118,16	119,50	119,19	114,37	119,61
ArC	116,28	114,90	114,55	113,85	113,73	114,30
	114,39	113,37	114,25	113,69	113,36	114,26
	113,76	112,86	113,90	111,44	109,61	113,08
	113,17	111,82	109,26	108,49	109,11	109,89
A3	97,79	99,20	98,33	99,94	97,40	101,37
O–CH <sub>3</sub>	55,81 55,75	57,80 55,46	55,80 55,76	58,27 55,20	57,76 55,82	58,17 56,27
	55,13	54,89	55,32	54,59	55,44	55,95
A6	57,77	62,06	57,47	62,47	57,76	62,86
A2	50,88	51,77	51,05	51,80	50,77	52,20
A5	33,89	33,85	33,77	33,07	33,9	34,09
CH <sub>3</sub>					20,83 20,12	22,10 21,06



Слика 49. Зависност симулираних од експерименталних  $^1\text{H}$  NMR хемијских померања.

Из Табела 27–29 се може видети да су ниске средње вредности апсолутне ( $\Delta$ ) и релативне грешке ( $\delta$ ) за оба дијастереоизомера и да је вредност коефицијента корелације висока ( $R$  око 0,99). Даљим анализирањем спектра уочено је одлично слагање између одговарајућих експерименталних и симулираних спектра *anti* изомера при чему су грешке код ових случајева мало ниже. Хемијска померања за протоне на хиралним угљениковим атомима **A2** и **A6** су на знатно нижој вредности у односу на *syn* изомере (Табеле 27 и 28).<sup>293</sup> За *syn* дијастереоизомере симулирани спектрални подаци показују пикове на нижим хемијским померањима. С обзиром на то да ови пикови нису присутни у експерименталним спектрима, може се се без сумње рећи да *syn* изомери уопште нису

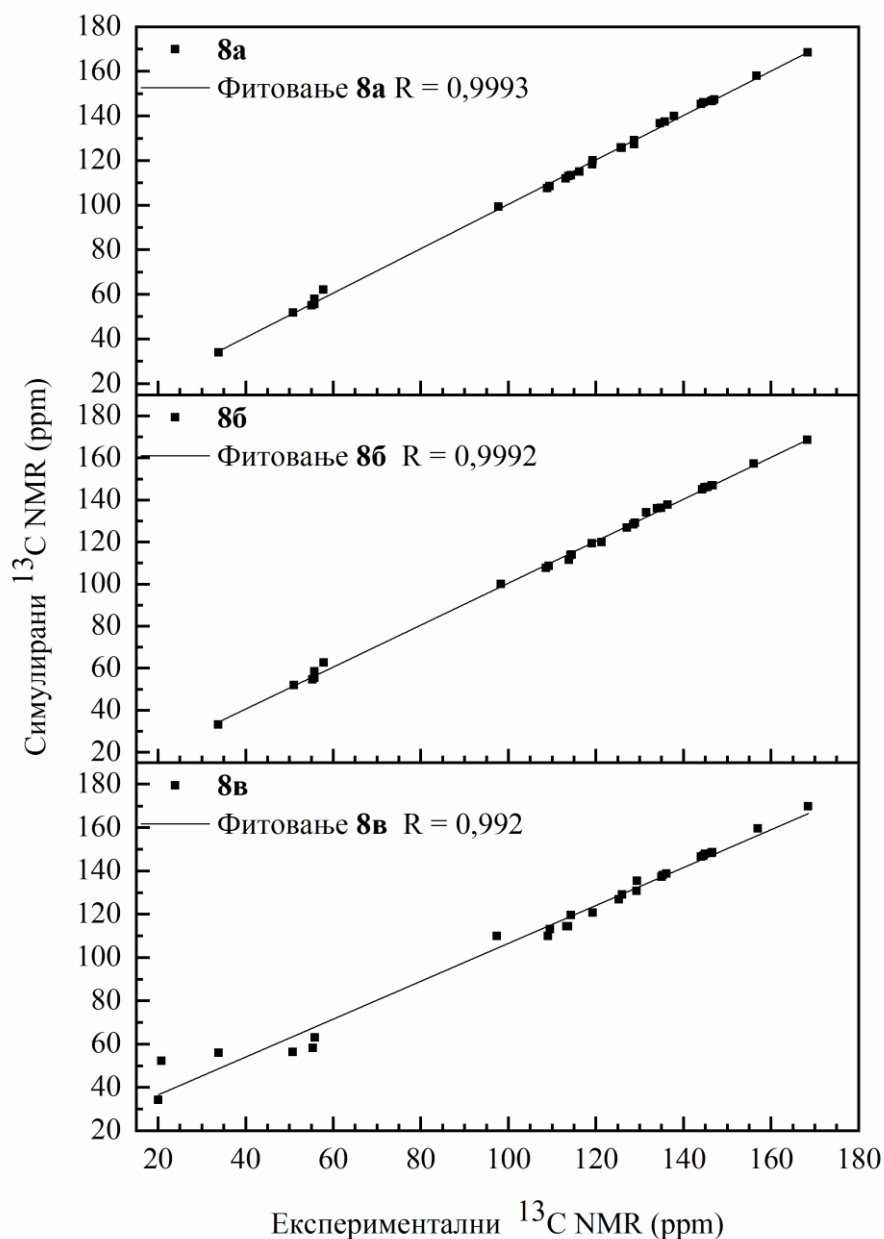
формирани. Такође, на основу оптимизованих структура *syn* изомера **8a–v** и **8j**, слабе интеракције између протона на **A2** и **A6** атомима се могу објаснити релативно великим растојањем између ових протона (у свим случајевима око 3,75 Å) (Слика 50).<sup>293</sup>



Слика 50. Оптимизоване структуре *syn* изомера једињења **8a–v** и **8j**.

У  $^{13}\text{C}$  NMR спектрима, угљеник **A5** је запажен на 33,87–33,90 ppm, док су хирални угљеници **A2** и **A6** запажени на 50,77–51,05 ppm и 57,76–57,86 ppm. Угљеник **A3** се појављује између 97,40–98,33 ppm. Ароматични угљеници супституисани хидроксилом и метокси групама у прстеновима **C** и **D**, као и угљеник из прстена **V** везан за азот **A1** и угљеник **A4** појављују се на 144,08–157,07 ppm, док су остали ароматични угљеници запажени у области 108,67–137,90 ppm. Карбонилни атоми из естарске групе су запажени на 168,37–168,53 ppm. Угљеници метокси група везаних за прстенове **C** и **E** запажени су на око 55,13–55,82 ppm. Метил угљеници из естарске групе се појављују на око 33 ppm, док се угљеници из метил група супституисаних на прстеновима **B** и **D** у једињењу **8v** појављује на 20,12–20,83 ppm. Из Табеле 29 и Сlike 51 се може видети добро слагање експерименталних и симулираних  $^{13}\text{C}$  NMR спектра.<sup>293</sup>

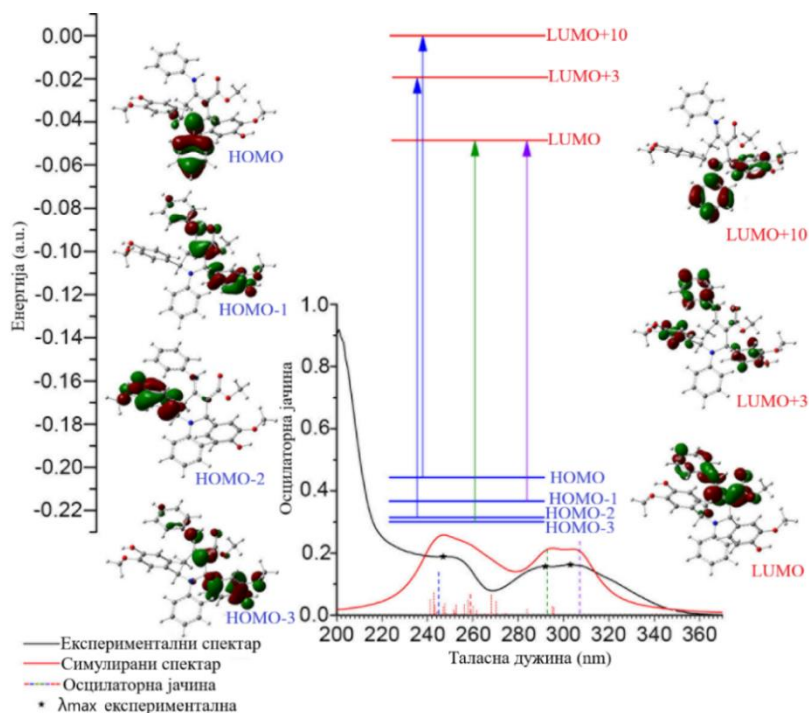




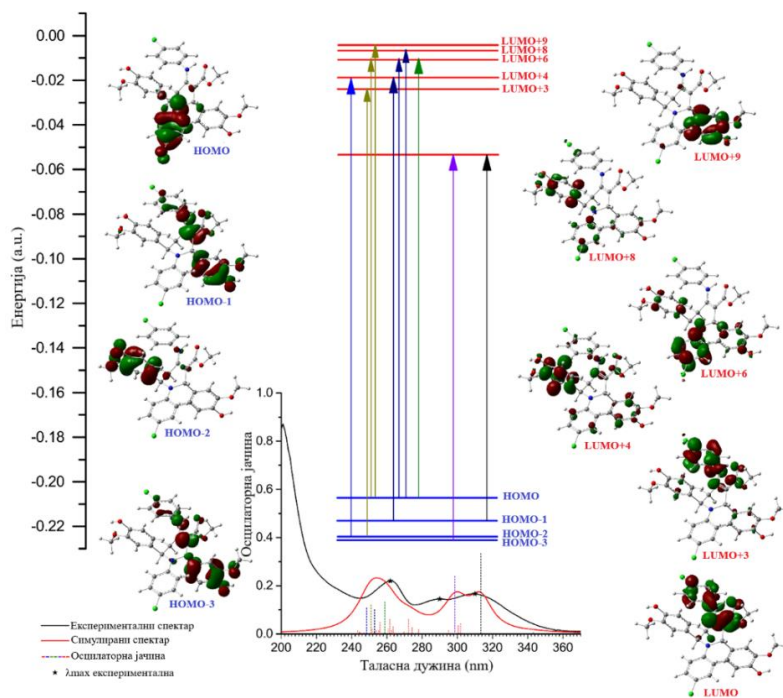
Слика 51. Зависност симулираних од експерименталних  $^{13}\text{C}$  NMR хемијских померања (ppm).

Као репрезентативни пример дати су експериментални  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектри једињења **8a** (видети *Прилог*).

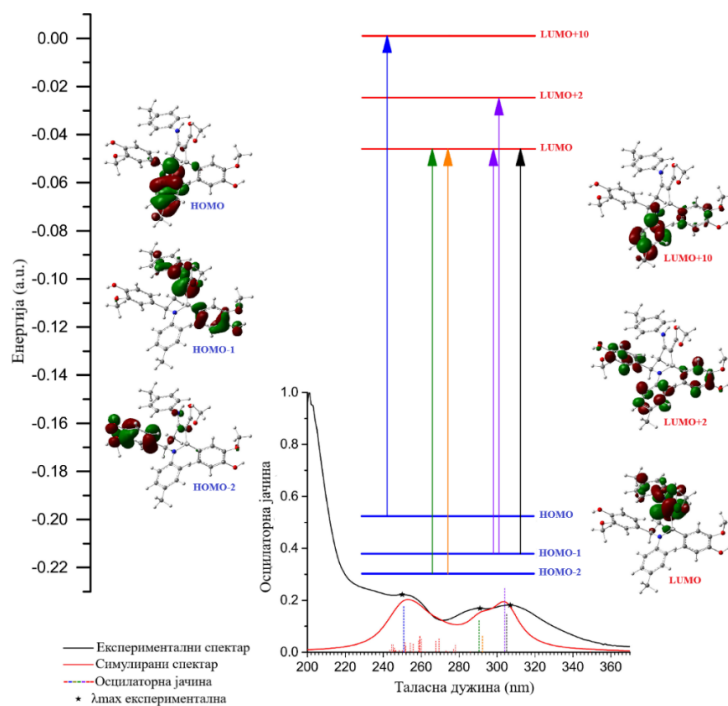
Поред NMR и IR спектара, тетрахиdropиридински деривати **8a–v** су окарактерисани помоћу експерименталних и симулираних UV-Vis спектара (Слике 52–54).<sup>293</sup> За једињења **8a–v** и у експерименталним и симулираним спектрима појављују се три велике апсорпционе траке у области на око 250 nm, 290 nm и 310 nm. Најзначајнија девијација се јавља код једињења **8b**, за које је у експерименталном спектру трака на 262 nm, док је у симулираном спектру она померана на 253 nm. За исто једињење, трака на 290 nm у експерименталном спектру је у симулираном померена на 299 nm.<sup>293</sup>



Слика 52. Експериментални и симулирани UV-Vis спектар једињења **8a** са Кон-Шамовим орбиталама и електронским прелазима.

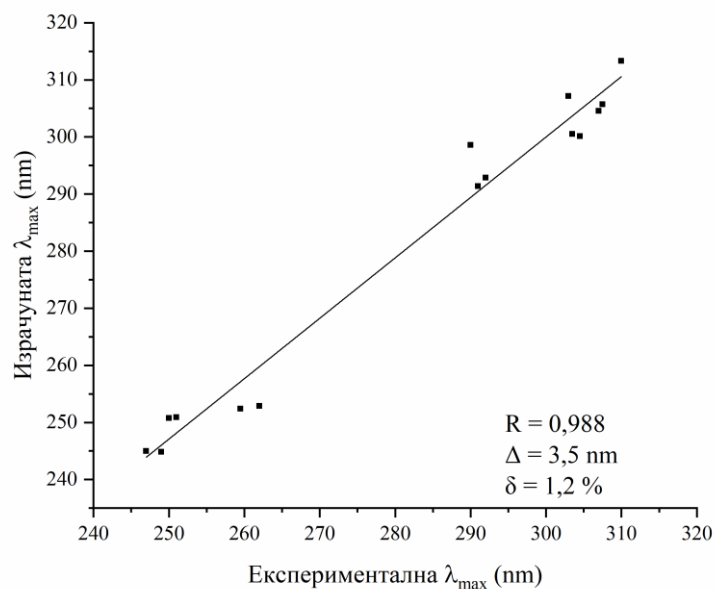


Слика 53. Експериментални и симулирани UV-Vis спектар једињења **8b** са Кон-Шамовим орбиталама и електронским прелазима.



Слика 54. Експериментални и симулирани UV-Vis спектар једињења **8в** са Кон-Шамовим орбиталама и електронским прелазима.

На Слици 55 представљена је зависност израчунатих од експерименталних таласних дужина ( $\lambda_{\max}$ ) у UV-Vis спектрима испитиваних тетрахидропиридина са средњом апсолутном и средњом релативном грешком које износе 3,5 nm и 1,2%.<sup>293</sup>



Слика 55. Зависност израчунатих од експерименталних таласних дужина ( $\lambda_{\max}$ ) у UV-Vis спектрима испитиваних тетрахидропиридина. У случајевима једињења **8б** и **8в**, више симулираних трака повезане су са једном експерименталном траком. У таквим случајевима коришћене су средње вредности симулираних  $\lambda_{\max}$  и додељене експерименталним вредностима.

Како би се разликовали делови молекула који су одговорни за електронске прелазе, Кон-Шамове орбитале су конструисане (Слике 52–54).<sup>293</sup> Анализа спектра је показала да НОМО → LUMO електронски прелаз, са најнижом енергијом између орбитала, није одговоран за појаву трака у UV-Vis спектрима јер постоји велико просторно растојање између ових орбитала. Заправо, НОМО је локализована на прстену **B** и атому азота из прстена **A**, док је LUMO позиционирана на естарској групи, двострукој вези из прстена **A**, на прстену **D** и атому азота између прстенова **A** и **D** (Схема 38, Слике 52–54).<sup>293</sup> Траке на нижим таласним дужинама свих испитиваних једињења су последица електронских прелаза са великом енергијом, али малим просторним раздвајањем. Траке на око 290 и 310 nm су последица прелаза релативно мале енергетске разлике. Симулирани UV спектри са тракама на  $\lambda_{\max}$  око 250 nm у случајевима **8a** и **8b**, и око 260 nm у случају **8b**, последица су неколико електронских прелаза. У спектрима једињења **8a** и **8b**, ова трака потиче од НОМО → LUMO+10 прелаза (43 и 52%). На први поглед НОМО → LUMO+10 прелаз не делује фаворизовано због релативно велике енергетске разлике орбитала, али позиционираност ових орбитала даје разумно објашњење. Заправо, прстен **B** и атом азота на прстену **A** деле област за НОМО и већински за LUMO+10 при чему је то мало просторно раздвајање пресудно у односу на велику енергетску разлику. У случају једињења **8a** постоји додатни електронски прелаз НОМО–2 → LUMO+3 (30%) који је одговоран за појаву ове траке. Код једињења **8b**, трака на  $\lambda_{\max}$  260 nm је нешто померена у симулираном спектру до близу 250 nm. Додатно, ова трака у једињењу **8b** се састоји од неколико спојених трака насталих од вишеструких електронских прелаза. Детаљно су ови прелази представљени на Слици 53.<sup>293</sup> Траке на  $\lambda_{\max}$  око 290 nm код једињења **8a** и **8b** су последица НОМО–3 → LUMO електронског прелаза (70%). Овај прелаз се дешава са прстена **C** и двоструке везе у прстену **A** до двоструке везе у прстену **A** и прстена **D** за оба једињења. Иста трака код једињења **8b** потиче од НОМО–2 → LUMO (70%) прелаза (из прстена **E** у прстен **D**). Трака на највећој таласној дужини у свим експерименталним спектрима на 310 nm је последица НОМО–1 → LUMO електронског прелаза (70, 52, 70%). У случају једињења **8b**, постоји додатан НОМО–1 → LUMO+2 прелаз одговоран за појаву ове траке. На молекулском нивоу, ово значи да до електронског прелаза долази из прстена **C**, двоструке везе у прстену **A** и атома азота између прстенова **A** и **D** у естарску групу, двоструке везе на прстену **A**, у прстен **D** и атом азота између прстенова **A** и **D**. У случају једињења **8b**, додатни НОМО–1 → LUMO+2 електронски прелаз се дешава из прстенова **C** и **D** и двоструке везе у прстену **A** до прстенова **B**, **C**, и **E**.<sup>293</sup>

### 2.3.3. Антиоксидативна активност новосинтетисаних тетрахидропиридина **8a–b**

Као експериментална метода за одређивање антиоксидативне активности добијених једињења коришћен је DPPH тест.<sup>218</sup> У Табели 30 су представљени добијени резултати.<sup>293</sup>

**Табела 30.** Израчунати термодинамички параметри антиоксидативних механизма за сва испитивана једињења коришћењем B3LYP/6-311+G(d,p) методе ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ).

Једињење	Извор радикала	HAT	SET-PT		SPLET		IC <sub>50</sub> $\mu\text{M}$
		BDE	IP	PDE	PA	ETE	
8a	NH	377		106	201	340	
	OH <sub>C</sub>	324	436	53	172	317	9,0±0,2
	OH <sub>E</sub>	327		55	168	323	
8b	NH	377		99	195	346	
	OH <sub>C</sub>	325	442	47	170	319	13,1±0,6
	OH <sub>E</sub>	328		50	167	326	
8v	NH	373		117	206	332	
	OH <sub>C</sub>	324	421	67	172	316	8,6±0,3
	OH <sub>E</sub>	326		69	169	322	
NDGA							1,81±0,1

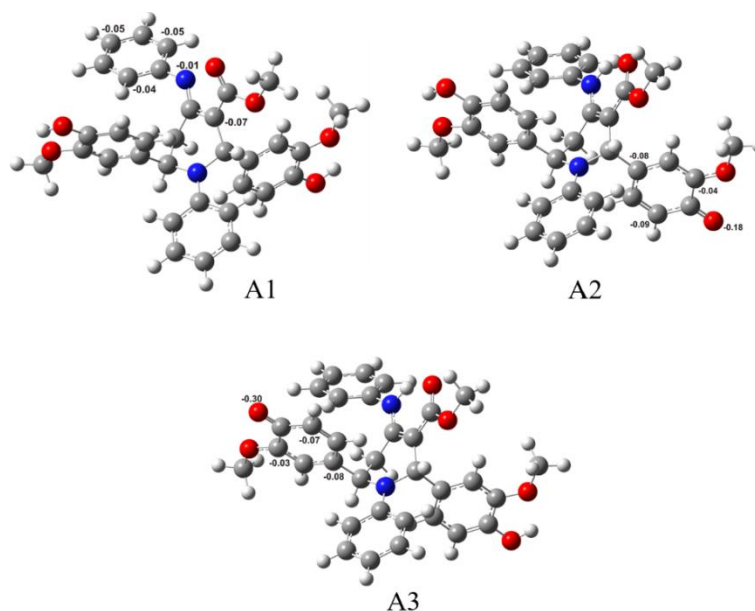
Поређењем IC<sub>50</sub> вредности стандардног једињења NDGA и испитиваних тетрахидропиридина уочава се да они испољавају нешто нижу активност. Поређењем тетрахидропиридина са једињењима која су позната као добри антиоксиданти (флавоноли, флавонони, изофлавоноли, фенолне киселине, Шифове базе),<sup>300–303</sup> може се закључити да испитивани тетрахидропиридини испољавају значајну антиоксидативну активност и могу се сматрати моћним радикалским „чистачима”. Поред експерименталног одређивања антиоксидативне активности, термодинамички су одређени реакциони путеви антирадикалске активности као и механизми антиоксидативне активности једињења **8a–v** са различитим радикалима.<sup>293</sup>

На основу резултата из Табеле 30 може се термодинамички одредити реакциони пут.<sup>252,276,304</sup> Детаљна објашњења за израчунавање термодинамичких параметара дата су у поглављу **1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања**. Укратко, приоритетни механизам антиоксидативне активности може се одредити на основу BDE, IP и PA вредности.<sup>246,277</sup>

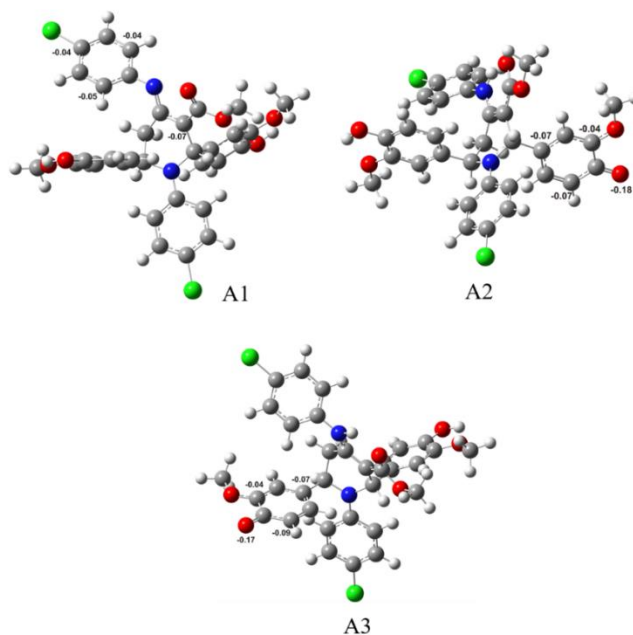
PA вредности су знатно ниже од BDE и IP вредности за сва испитивана једињења што јасно указује на то да је термодинамички приоритетан SPLET механизам. Ово је и очекивано с обзиром на то да је хетеролитичко раскидање O–H везе вероватније од хомолитичког у поларним растварачима.<sup>292</sup> На основу IP вредности испитиваних једињења, које су више у односу на BDE и PA вредности, очигледно је да SET-PT није оперативни механизам.<sup>293</sup>

У првом кораку SPLET механизма хетеролитичко раскидање O–H и N–H група једињења **8a–v** води ка формирању одговарајућих анјона. Стабилност насталих анјона је последица делокализације наелектрисања, тј. више делокализована наелектрисања доприносе већој стабилизацији анјона. За боље разумевање ове карактеристике

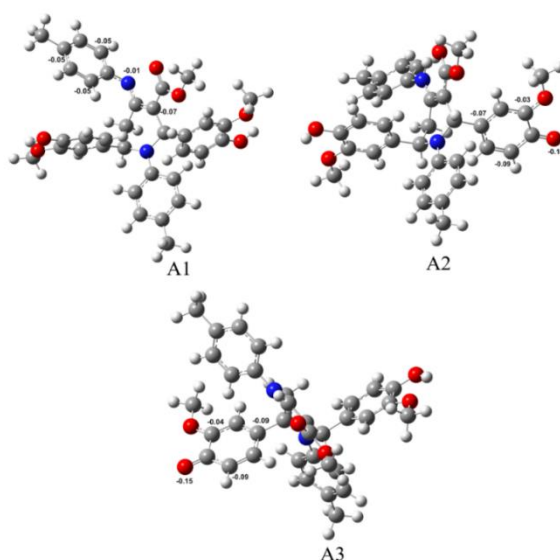
тетрахидропирина **8a–v**, представљене су апсолутне вредности разлике у наелектрисањима између основних молекула и одговарајућих анјона (Слике 56–58).<sup>293</sup> На основу овог, јасно је да је наелектрисање код анјона насталих депротонавањем О–Н веза *p*-фенолних група више делокализовано него код анјона насталог раскидањем N–H везе у свим случајевима, што укупно доприноси већој стабилности фенокси анјона.<sup>293</sup>



Слика 56. Разлика у наелектрисањима између свих анјона испитиваног једињења **8a** у метанолу и његовог основног молекула.

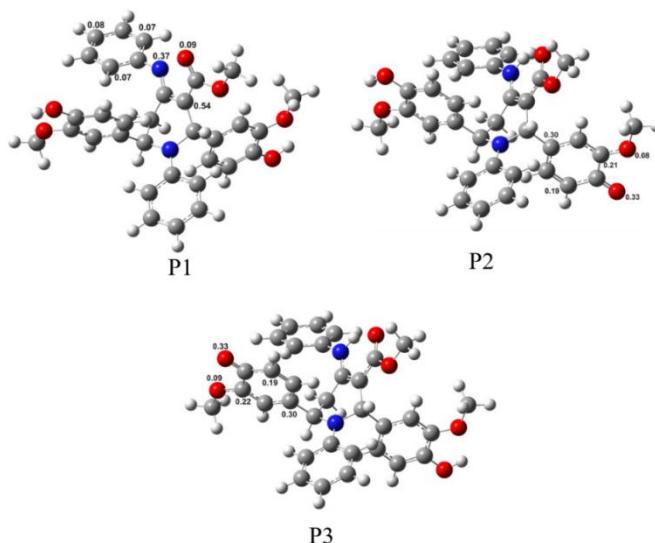


Слика 57. Разлика у наелектрисањима између свих анјона испитиваног једињења **8b** у метанолу и његовог основног молекула.

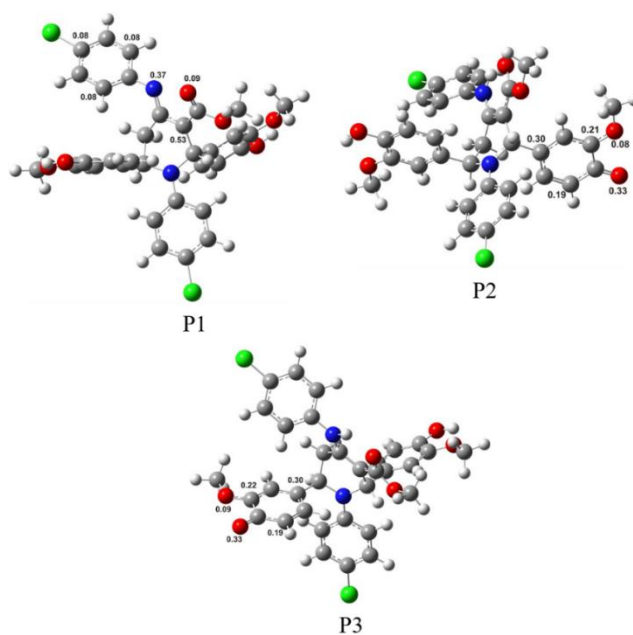


Слика 58. Разлика у наелектрисањима између свих анјона испитиваног једињења **8v** у метанолу и његовог основног молекула.

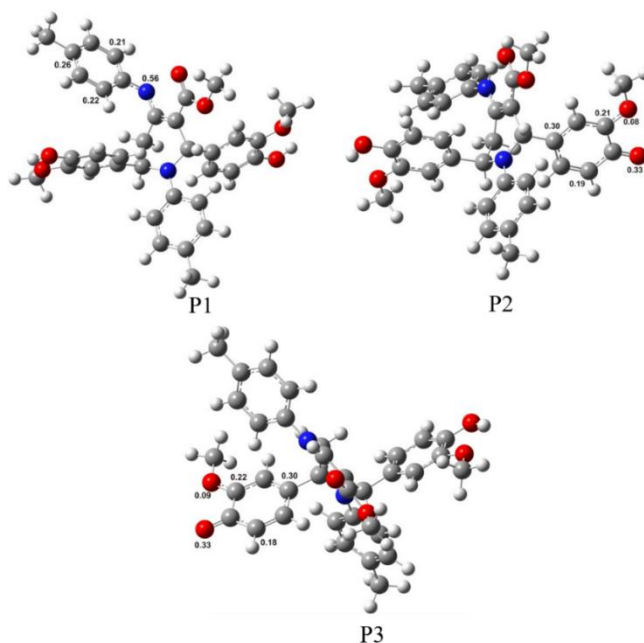
С обзиром на то да у другом кораку SPLET механизма настају радикали, стабилност насталих радикала утиче на целокупну реакцију и има значајну улогу у дефинисању антиоксидативне активности основних молекула. Један од начина да се то изрази је преко вредности спинске густине радикала. Наиме, стабилност радикалских врста се повећава са повећањем делокализације спинске густине. Вредности ових параметара за испитивана једињења су представљене на Сликама 59–61.<sup>293</sup> На основу ових вредности може се закључити да су радикали формирану хомолитичким раскидањем ОН везе *p*-хидроксилних група стабилнији од оних који потичу од N–Н групе. Ово је последица делокализације њихових неспарених електрона преко бензеновог прстена, док је код радикала који потичу од азота, делокализација углавном преко суседне двоструке везе, са занемарљивим доприносом суседног ароматичног прстена.<sup>293</sup>



Слика 59. Расподела спинске густине у свим радикалима испитиваног једињења **8a** у метанолу.



Слика 60. Расподела спинске густине у свим радикалима испитиваног једињења **8б** у метанолу.



Слика 61. Расподела спинске густине у свим радикалима испитиваног једињења **8в** у метанолу.

На механизме антиоксидативне активности утичу електронска својства слободнорадикалских врста.<sup>248</sup> Имајући то у виду, реакционе енталпије једињења **8а-в** са свих осам изабраних слободних радикала ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\cdot\text{OON}$ ,  $\text{CH}_3\text{-O-O}\cdot$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$ ,  $\cdot\text{OCH}_3$ ,  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $\text{CH}_2=\text{CHO}\cdot$  и  $\text{Cl}_3\text{C-O-O}\cdot$ ) су израчунате за претходно наведене механизме (НАТ, SET-РТ и SPLET, Табела 31).<sup>293</sup> Изабрани радикали су реактивне кисеоничне врсте које су присутне у организму или имитирају понашање липидних пероксилних радикала.<sup>251</sup> Алкоксилни радикали су знатно више штетни по људско тело од осталих



радикала. Пероксилни радикали  $\cdot\text{OON}$ ,  $\text{CH}_3\text{-O-O}\cdot$  и  $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$  су мање реактивни од хидроксилних и алкоксилних радикала. Са друге стране,  $\text{Cl}_3\text{C-O-O}\cdot$  је јако електронегативан и веома реактиван пероксилни радикал.<sup>293</sup> У Табели 31 представљени су резултати за радикалску инактивацију испитиваних једињења у метанолу.<sup>293</sup>

**Табела 31.** Израчунате реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) реакција једињења **8a–в** са одабраним радикалима у метанолу.

Радикал/Једињење	НАТ			SET-PT						SPLET					
	$\Delta H_{\text{BDE}}$			$\Delta H_{\text{IP}}$			$\Delta H_{\text{PDE}}$			$\Delta H_{\text{PA}}$			$\Delta H_{\text{ETE}}$		
	8a	8б	8в	8a	8б	8в	8a	8б	8в	8a	8б	8в	8a	8б	8в
NH + $\cdot\text{OH}$	-111	-111	-114				-130	-136	-119	-34	-41	-29	-77	-70	-85
ОН <sub>С</sub> + $\cdot\text{OH}$	-164	-163	-164	19	25	5	-183	-188	-169	-64	-65	-63	-100	-98	-101
ОН <sub>Е</sub> + $\cdot\text{OH}$	-161	-160	-161				-180	-185	-166	-67	-69	-67	-94	-91	-95
NH + $\cdot\text{OOH}$	27	27	24				-89	-95	-78	7	1	12	20	27	12
ОН <sub>С</sub> + $\cdot\text{OOH}$	-26	-25	-26	116	123	102	-142	-147	-128	-23	-24	-22	-3	0	-4
ОН <sub>Е</sub> + $\cdot\text{OOH}$	-23	-22	-23				-139	-144	-125	-26	-28	-26	3	6	3
NH + $\text{CH}_3\text{OO}\cdot$	37	37	33				-89	-96	-78	6	0	11	30	37	22
ОН <sub>С</sub> + $\text{CH}_3\text{OO}\cdot$	-17	-15	-17	126	350	112	-142	-148	-128	-23	-25	-23	7	9	6
ОН <sub>Е</sub> + $\text{CH}_3\text{OO}\cdot$	-14	-13	-14				-140	-145	-126	-27	-28	-26	13	16	12
NH + $\cdot\text{OO}\cdot$	111	111	108				-232	-239	-222	91	84	96	20	27	12
ОН <sub>С</sub> + $\cdot\text{OO}\cdot$	58	59	58	344	132	329	-286	-291	-271	61	60	62	-3	0	-4
ОН <sub>Е</sub> + $\cdot\text{OO}\cdot$	61	62	61				-283	-288	-269	57	56	58	3	6	3
NH + $\text{CH}_3\text{O}\cdot$	-40	-40	-44				-132	-139	-121	-36	-43	-32	-4	3	-12
ОН <sub>С</sub> + $\text{CH}_3\text{O}\cdot$	-93	-92	-93	92	99	78	-185	-191	-171	-66	-68	-66	-27	-24	-28
ОН <sub>Е</sub> + $\text{CH}_3\text{O}\cdot$	-90	-89	-91				-183	-188	-169	-70	-71	-69	-20	-18	-21
NH + $(\text{CH}_3)_3\text{C-O}\cdot$	-47	-47	-50				-139	-145	-128	-43	-49	-38	-4	3	-12
ОН <sub>С</sub> + $(\text{CH}_3)_3\text{C-O}\cdot$	-100	-99	-100	92	99	78	-192	-197	-178	-73	-74	-72	-27	-24	-28
ОН <sub>Е</sub> + $(\text{CH}_3)_3\text{C-O}\cdot$	-97	-96	-97				-189	-194	-175	-76	-78	-76	-21	-18	-21
NH + $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$	36	36	32				-61	-67	-50	35	29	40	1	7	-8
ОН <sub>С</sub> + $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$	-17	-16	-18	96	103	82	-114	-119	-100	5	4	6	-23	-20	-23
ОН <sub>Е</sub> + $\text{CH}_2=\text{CH-O-O}\cdot$	-15	-13	-15				-111	-116	-97	2	0	2	-16	-14	-17
NH + $\text{CCl}_3\text{O-O}\cdot$	2	2	-2				-11	-18	0	85	78	89	-83	-76	-91
ОН <sub>С</sub> + $\text{CCl}_3\text{O-O}\cdot$	-51	-50	-51	13	20	-1	-64	-70	-50	55	53	55	-106	-103	-107
ОН <sub>Е</sub> + $\text{CCl}_3\text{O-O}\cdot$	-48	-47	-49				-62	-67	-47	51	50	52	-100	-97	-100

Приоритетни механизам може бити одређен из вредности основних процеса  $\Delta_r H_{\text{BDE}}$ ,  $\Delta_r H_{\text{IP}}$  и  $\Delta_r H_{\text{PA}}$  вредности. Детаљна објашњења за израчунавање наведених параметара дата су у поглављу **1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања**. Негативније вредности указују на термодинамички вероватнији механизам. На основу вредности за  $\Delta_r H_{\text{IP}}$  јасно је да SET-PT није оперативни антирадикалски механизам у било ком испитиваном случају (Табела 31) што се слаже са термодинамичким резултатима

представљеним у Табели 30.<sup>293</sup> Негативне или позитивне ниске вредности за  $\Delta_r H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta_r H_{\text{PA}}$  указују на то да у поларној средини једињења **8a–v** имају антирадикалски потенцијал према свим испитиваним слободним радикалима осим  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . Инактивирање  $\text{O}_2^{\cdot-}$  са свим испитиваним једињењима није могуће због веома ендотермних процеса. Ово је у складу са добро познатом чињеницом да је  $\text{O}_2^{\cdot-}$  у равнотежи са  $\cdot\text{OOH}$ .<sup>279,280</sup> На основу вредности одговарајућих енталпија реакција других радикалских врста и испитиваних једињења за НАТ и SPLET механизам, може се закључити да су ова два механизма међусобно компетитивна. Термодинамички подаци за реакције **8a–v** са  $\cdot\text{OH}$  показују да су вредности  $\Delta_r H_{\text{BDE}}$  знатно ниже од  $\Delta_r H_{\text{PA}}$ , што указује на приоритет НАТ механизма у овом случају (Табела 31).<sup>293</sup> Свакако је битно нагласити да сва испитивана једињења реагују са хидроксилним радикалом веома брзо у свим испитиваним позицијама.<sup>305</sup> Као што је и очекивано, ОН групе су реактивније од НН групе. Алкоксилни радикали  $\cdot\text{OCH}_3$  и  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$  су веома реактивне радикалске врсте, али су њихове реакције мање егзотермне од реакција са  $\cdot\text{OH}$ . За разлику од реакција са  $\cdot\text{OH}$ , разлика између  $\Delta_r H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta_r H_{\text{PA}}$  није изражена. Додатно, ови параметри показују да је реакција са ОН групама бржа него са НН и да је НАТ механизам нешто фаворизованији. Вредности реакционих енталпија свих испитиваних пероксилних радикала су више него вредности енталпија за реакције са  $\cdot\text{OH}$  и алкоксилним радикалима. Ово је у сагласности са чињеницом да су пероксилни радикали мање реактивни од алкоксилних радикала и  $\cdot\text{OH}$ .<sup>305</sup> Анализа података представљених у Табели 31 показује да су НАТ и SPLET високо компетитивни механизми за реакције са  $\cdot\text{OOH}$  и  $\text{CH}_3\text{--O--O}\cdot$ . Термодинамички подаци за реакције са  $\text{CH}_2\text{=CH--O--O}\cdot$  и  $\text{Cl}_3\text{C--O--O}\cdot$  показују ендотермна понашања у случају SPLET механизма (Табела 31).<sup>293</sup> С обзиром на то да  $\Delta_r H_{\text{BDE}}$  испољава егзотермну природу реакције, може се сматрати да је НАТ вероватан механистички пут у овим случајевима. На основу термодинамичких података за реакције свих пероксилних радикала са НН групом испитиваних једињења, доказано је да реакција у овом положају није могућа.

## 2.4. Синтеза бензамид-диоксоизоиндолинских деривата

Бензамид-диоксоизоиндолински деривати су синтетисани применом „зелене” методологије у води без присуства катализатора и органских растварача и уз примену ултразвучног зрачења. Важно је нагласити да се у литератури не може наћи „зелена” синтеза ових једињења у присуству ултразвучног зрачења. У поређењу са традиционалним синтетичким методама, примена ултразвучног зрачења има бројне предности као што су: јефтина и брза метода која не захтева примену катализатора, селективност, повећање приноса и чистоће производа.<sup>306-309</sup>

За синтезу бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a–љ**, пошло се од бензоил хидразида **1**, који су добијени из метил естара **4**. Реакције тако добијених хидразида **1** и анхидрида фталне киселине су изведене у води и без катализатора (Схема 45).<sup>310</sup>

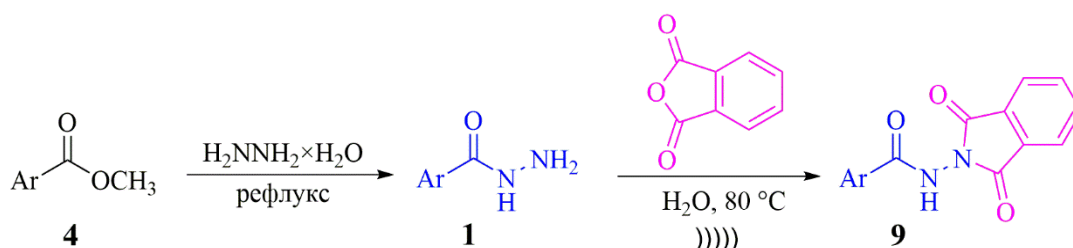


Схема 45. Синтеза бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a–љ**.

Као модел реакција за оптимизацију услова изведена је реакција између фталанхидрида и бензохидразида у води (Табела 32). Првобитно је реакција изведена на собној температури, али није дошло до очекиване реакције. Производ је детектован након што је реакциона смеша загревана до рефлукса 1 h, а добар принос је детектован након 5 h загревања.<sup>310</sup>

Табела 32. Оптимизација реакционих услова.

Редни број	Температура (°C)	Време (h)	Принос (%)
1	с.т. <sup>a</sup>	10	н.р.
2	100 <sup>a</sup>	1	25
3	100 <sup>a</sup>	3	65
4	100 <sup>a</sup>	5	82
5	с.т. <sup>b</sup>	5	н.р.
6	80 <sup>b</sup>	0,5	40
7	80 <sup>b</sup>	1	65
8	80 <sup>b</sup>	2	84

Реакциони услови: анхидрид фталне киселине (1 mmol), бензохидразид (1 mmol), 2 mL H<sub>2</sub>O.

<sup>a</sup>Реакције изведене уз загревање до рефлукса.

<sup>b</sup>Реакције изведене на с.т./уз загревање до 80 °C уз примену ултразвучног зрачења;

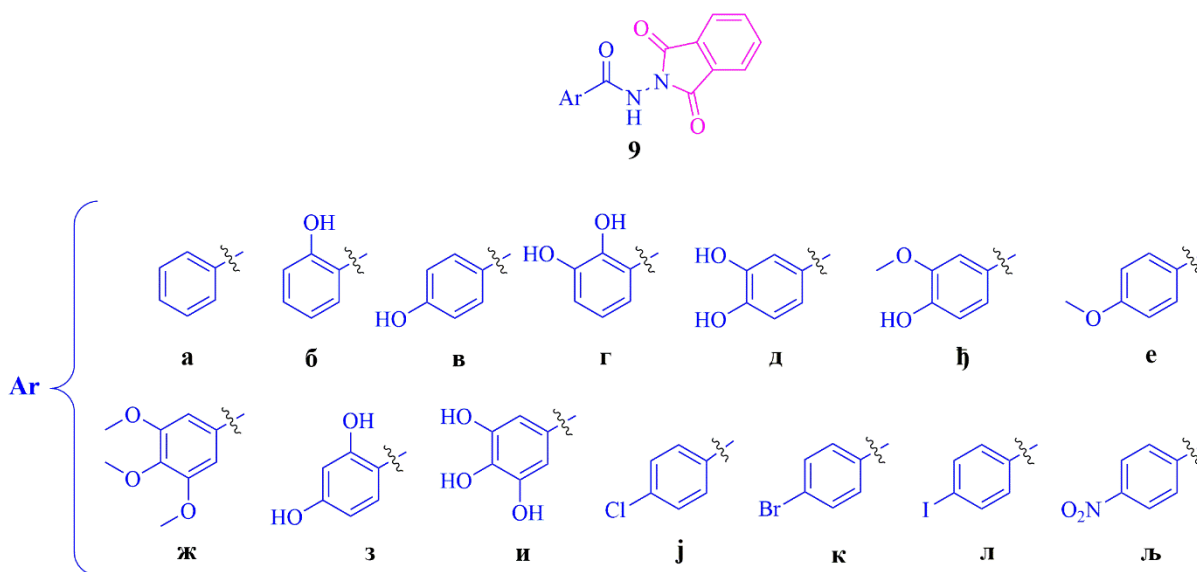
н.р. = нема реакције

У циљу убрзавања реакције, употребљено је ултразвучно зрачење уз загревање до 80 °C. У том случају, задовољавајући принос бензамид-диоксоизоиндолинског деривата **9a** је добијен након 2 h (Схема 45, Табела 32).<sup>310</sup> Према томе, оптимални услови за синтезу бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a–љ** су били загревање до 80 °C и ултразвучно зрачење 2 h у води као растварачу (Табела 33).<sup>310</sup>

Табела 33. Приноси изолованих бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9а–љ**.

Једињење	Време (h)	Принос (%)
<b>9а</b>	2	84
<b>9б</b>	2	73
<b>9в</b>	2	85
<b>9г</b>	2	80
<b>9д</b>	2	78
<b>9ђ</b>	2	74
<b>9е</b>	2	89
<b>9ж</b>	2	74
<b>9з</b>	2	72
<b>9и</b>	2	70
<b>9ј</b>	12	71
<b>9к</b>	12	87
<b>9л</b>	12	70
<b>9љ</b>	12	71

Производи **9а** и **9б–и** (са електрон-донорским супституентима) су једноставно изоловани таложењем и цеђењем, у добрим до одличним приносима (70–89%). Када су употребљени бензоил хидразиди са електрон-привлачним групама (**9ј–љ**), приноси реакција су били нижи. Продужавање реакционог времена до 12 h произвело је добре приносе реакционих производа (Табела 33), чије структуре су представљене на Слици 62.<sup>310</sup>

Слика 62. Структуре изолованих бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9**.

Важно је напоменути да су пет једињења из ове класе новосинтетисана (**9г–ђ**, **9з** и **9и**). Сви производи су окарактерисани  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR и IR спектроскопијом. За нова једињења урађена је и елементална анализа. Додатно, кристална структура једињења *N*-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-3,4,5-триметоксибензамида (**9ж**) је одређена. Као репрезентативни пример дати су  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектри једињења **9а** (видети *Прилог*).

Даљом анализом реакције, са циљем да се разјасни добијање бензамид-диоксоизоиндолинских деривата, механизам реакције за синтезу једињења **9** је

предложен и анализиран.<sup>311</sup> Реакција почиње нуклеофилним нападом азота из хидразида **1** на карбонилну групу фталанхидрида. На овај начин, 2-(бензоилхидразин-карбонил)-бензоева киселина (интермедијер **I**) је формирана (Схема 46).<sup>310</sup>

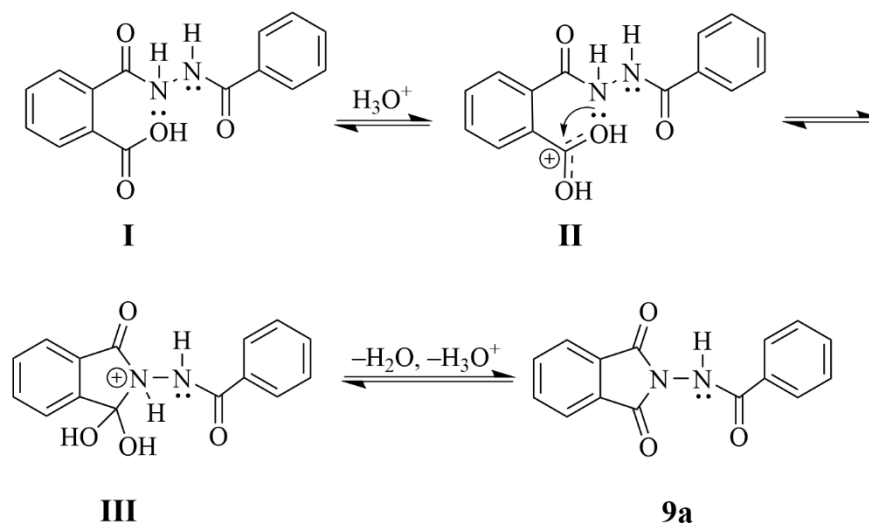
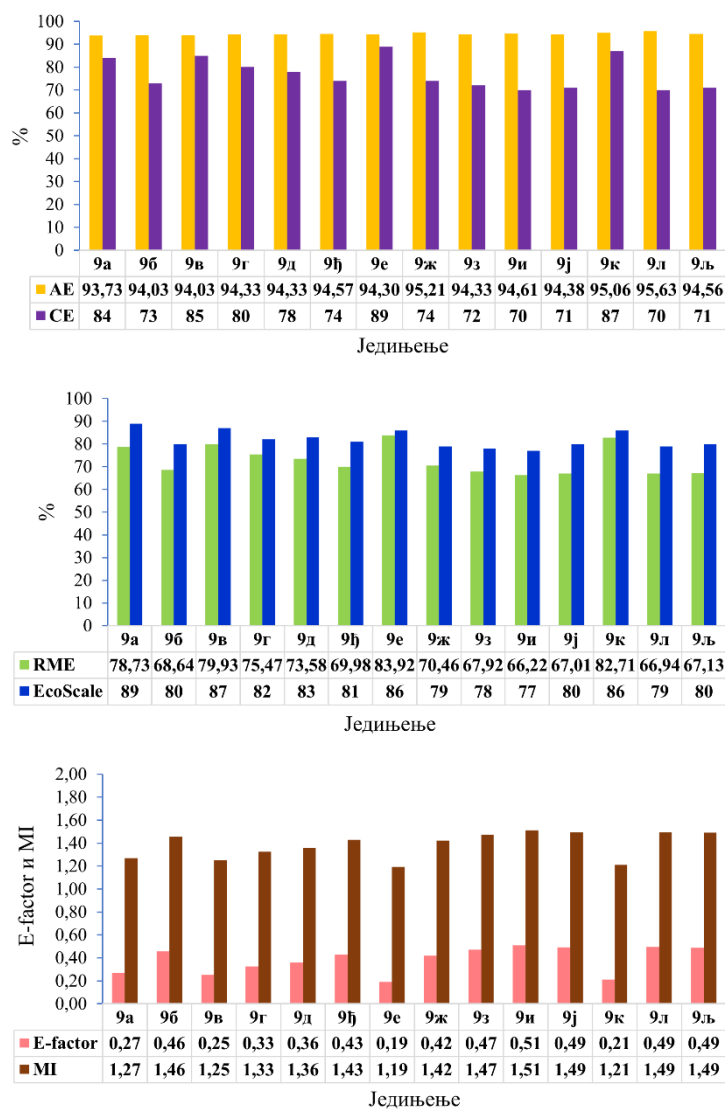


Схема 46. Претпостављени механизам за синтезу бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a-l**.

Важно је нагласити да је овај интермедијер уочен у случајевима када се реакција одвијала са нижим приносом након 5 h, а изолован је из реакције где је била присутна електрон привлачна нитро-група, тј. при добијању **9л**. Спектрална карактеризација овог интермедијера је дата у *Експерименталном делу* у одељку **3.12.2. Спектроскопски подаци интермедијера I у реакцији синтезе изоиндолин-1,3-диона**. У киселој средини, кисеоник са карбонилне групе (у карбоксилној групи интермедијера **I**) је протонован и интермедијер **II** је на тај начин образован. Због тога атом угљеника постаје електрофилнији и постоји могућност нуклеофилног напада азота. Ово омогућава циклизацију и формирање интермедијера **III**. Завршни корак у овој реакцији је дехидратација и депротоновање интермедијера **III**, што води ка добијању одговарајућих бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a-l**.<sup>310</sup>

#### 2.4.1. Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a-l**

Еколошка прихватљивост и ефикасност реакционе методе за добијање бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9a-l** је одређена применом „зелене” хемијске метрике и то израчунавањем параметара као што су: АЕ, СЕ, RME, EcoScale, MI и E-factor (Слика 63).<sup>141,148,157,263,310</sup>



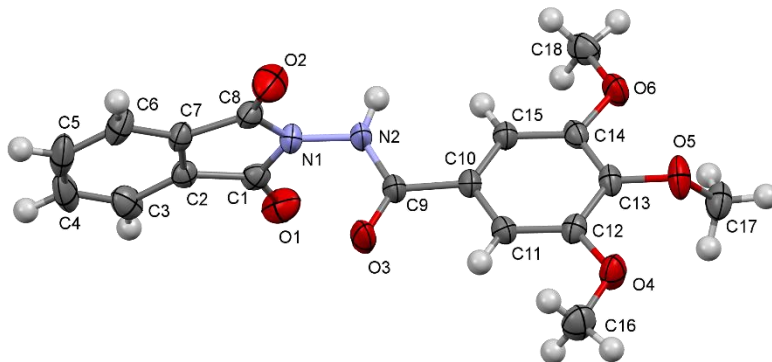
Слика 63. „Зелена” хемијска метрика израчуната за синтетисана једињења 9а–љ.

Добијени резултати показују да је АЕ веома висок и има вредности од 93,73% до 95,63%. Изведене реакције имају високе вредности и за СЕ (70–89%). Вредности за RME од 66,22 до 83,92% показују да ова метода представља „зелени” синтетички пут за добијање бензамид-диоксоизоиндолинских деривата. Вредности добијене за EcoScale (77–89%) указују на то да су једињења 9а–љ синтетисана у добром до одличном приносу уз примену јефтених хемикалија и под безбедним условима, а изолована без било каквог пречишћавања. Додатно, добијени резултати за MI и E-factor (1,51–1,19 и 0,51–0,19) потврђују „зелену” природу примењене методе.<sup>310</sup>

У Експерименталном делу је приказан прорачун „зелених” параметара и EcoScale параметар, који је израчунат помоћу *online* алата (Слика 71), за један репрезентативни унос (9а).<sup>141,148,157,263,264</sup>

## 2.4.2. Структурна карактеризација бензамид-диоксоизоиндолинских деривата

Молекулска структура једињења **9ж** одређена рендгенском структурном анализом представљена је на Слици 64.<sup>310</sup>



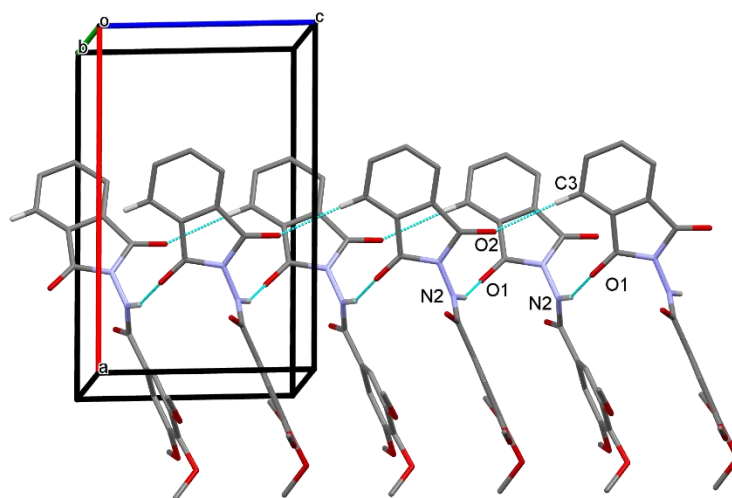
Слика 64. Кристална структура једињења **9ж** са нумерацијом атома и њиховим елипсоидним параметрима померања нацртаним на нивоу вероватноће од 40%.

Сви атоми осим водоника (изузев C17 метил групе) су смештени у три равни. Прва раван је дефинисана са два повезана прстена заједно са атомима O1 и O2 (средња квадратна девијација свих 11 атома је 0,023 Å). N2 атом је померен из ове равни за 0,133 (2) Å. Друга раван је дефинисана N1–N2–C9–O3 фрагментом (rms девијација четири атома је 0,011 Å). Диедарски угао између ове две равни је 86,56 (7)°. Трећа раван је дефинисана фенил прстеном и атомима везаним за овај прстен (rms девијација свих 10 атома је 0,026 Å). Метил групе, C16 и C18, су грубо смештене у овој равни. Диедарски угао између последње две равни је само 11,56 (9)°, па можемо рећи да је молекул **9ж** подељен на две половине које су међусобно ортогоналне и повезане преко N1–N2 везе. N2–C9 веза је нешто краћа од одговарајућих N–C веза формираних од N1 атома, али генерално све везе у молекулу **9ж** имају очекиване вредности (Табела 34).<sup>310</sup>

Табела 34. Изабране дужине веза (Å) у молекулу **9ж**.

O1–C1	1,208(2)
O2–C8	1,197(2)
O3–C9	1,213(2)
O4–C12	1,365(2)
O4–C16	1,423(2)
O5–C13	1,366(2)
O5–C17	1,393(2)
O6–C14	1,361(2)
O6–C18	1,418(2)
N1–N2	1,375(2)
N1–C1	1,388(2)
N1–C8	1,402(2)
N2–C9	1,361(2)
C1–C2	1,473(2)
C7–C8	1,480(2)
C9–C10	1,489(2)

Једини значајни донор Н везе у молекулу **9ж** је N2–Н група. Преко N2–Н...O1 водоничних веза, формира се ланац дуж *c* осе јединичне ћелије (Слика 65).<sup>310</sup>



**Слика 65.** Молекули једињења **9ж** су заједно повезани у ланце водоничним везама које су представљене светлоплавим испрекиданим линијама. Сви Н атоми који нису укључени у грађење водоничних веза су изостављени због јасноће.

Молекули у ланцу су додатно повезани преко слабих C3–Н...O2 водоничних веза. C2–C7 фенилни прстен учествује у  $\pi$ – $\pi$  интеракцији са истим прстеном суседног молекула. Два прстена су паралелна и образују центросиметрични димер са перпендикуларним растојањем између прстенова од само 3,37 Å (растојање између прстенастих тежишта је 3,71 Å). Ова  $\pi$ – $\pi$  интеракција и додатне слабе C–Н...O интермолекулске водоничне везе (Табела 35) повезују се како би формирали претходно споменуте ланце молекула **9ж**.<sup>310</sup>

**Табела 35.** Геометрија водоничног везивања у кристалној структури једињења **9ж**.

D–H...A	D–H (Å)	D...A (Å)	H...A (Å)	D–H...A (°)	Симетријски кодови
N2–H1...O1	0,83(2)	2,841(2)	2,05(2)	159(2)	$x, -y+0.5, z+0.5$
C3–H3...O2	0,93	3,408(2)	2,49	170	$x, y, z-1$
C4–H4...O4	0,93	3,509(3)	2,59	169	$x-1, y, z-1$
C5–H5...O3	0,93	3,350(2)	2,50	153	$-x+1, -y, -z+1$

### 2.4.3. Антиоксидативна активност бензамид-диоксоизоиндолинских деривата **9а–љ**

Свим синтетисаним бензамид-диоксоизоиндолинским дериватима (**9а–љ**) је одређена *in vitro* антиоксидативна активност (Табела 36). Њихова активност је одређена према стабилном слободном радикалу DPPH.<sup>310</sup> Као референтна једињења коришћени су NDGA и кверцетин. Резултати овог тестирања су показали да једињења *N*-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-2,3-дихидроксибензамид (**9г**), *N*-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-3,4-дихидроксибензамид (**9д**) и *N*-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-3,4,5-трихидроксибензамид (**9и**) испољавају најбољу антиоксидативну активност са IC<sub>50</sub> вредностима 2,6  $\mu$ M, 1,9  $\mu$ M и 1,2  $\mu$ M редом за наведена једињења.



Табела 36. Активност испитиваних и референтних једињења према стабилном слободном радикалу DPPH.

Једињење	Способност уклањања DPPH (%)						IC <sub>50</sub> (μM)
	25 μM		50 μM		100 μM		
	20 min	60 min	20 min	60 min	20 min	60 min	
<b>9а</b>	4,1±1,0	3,8±3,0	5,3±1,5	5,5±1,8	6,4±2,3	7,2±4,0	–
<b>9б</b>	3,7±1,8	6,3±1,5	7,6±3,7	7,4±2,6	10,2±1,7	10,9±2,8	–
<b>9в</b>	4,7±4,5	5,8±1,0	5,5±2,4	9,8±4,7	9,6±2,9	12,8±0,6	–
<b>9г</b>	95,3±0,2	95,4±0,2	94,9±0,3	94,9±0,2	96,2±0,5	96,3±0,4	2,6±0,1
<b>9д</b>	94,9±0,5	94,8±0,4	94,7±0,2	94,8±0,4	95,8±0,2	95,3±0,1	1,9±0,1
<b>9ђ</b>	4,3±1,6	6,3±2,1	8,6±1,9	11,3±2,5	12,5±1,0	15,5±2,4	–
<b>9е</b>	0,1±0,4	0,5±2,5	0,2±2,5	0,3±1,1	0,3±1,4	1,9±2,9	–
<b>9ж</b>	0,2±2,7	2,5±2,5	4,0±2,5	7,3±2,6	6,6±1,5	11,6±1,7	–
<b>9з</b>	11,9±1,9	15,7±1,7	22,6±0,4	26,6±0,9	37,4±3,5	40,3±1,0	–
<b>9и</b>	92,4±0,6	92,8±0,6	92,9±0,9	93,4±0,1	95,5±1,5	96,3±1,3	1,2±0,1
<b>9ј</b>	1,9±0,5	2,6±0,9	0,0±1,2	1,3±1,8	0,3±1,3	2,5±1,4	–
<b>9к</b>	1,4±3,3	1,7±3,2	1,6±2,9	4,0±2,5	3,6±2,8	7,3±3,3	–
<b>9л</b>	0,7±0,8	1,7±3,0	0,1±5,3	4,1±0,8	0,5±3,5	2,7±4,0	–
<b>9љ</b>	5,9±0,6	7,3±1,1	11,2±1,6	13,1±2,3	19,4±1,2	21,5±0,7	–
NDGA	94,6 ±0,7	94,6±0,6	94,2±0,7	94,2±0,7	94,5±0,2	94,1±0,7	1,7±0,1
Кверцетин	95,3 ±0,8	95,1±0,9	96,8 ±1,0	96,5±0,9	95,1±0,9	95,4±0,8	1,9±0,1

Применом термодинамичких параметара и реакционих енталпија за реакције најактивнијих једињења са неким медицински релевантним радикалима одређен је највероватнији механизам уклањања радикала (Табеле 37 и 38).<sup>310</sup>

**Табела 37.** Интеракција једињења **9г**, **9д** и **9и** са стабилним DPPH радикалом, израчунати термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) антиоксидативних механизма и реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) реакција ових једињења са одабраним радикалима у метанолу применом функционала B3LYP и базисног скупа 6-311 + G(d,p).

IC <sub>50</sub> (μM) Стехиометријски фактор	<b>9г</b>					<b>9д</b>					<b>9и</b>				
	2,6 ± 0,1					1,9 ± 0,1					1,2 ± 0,1				
	4,8					6,6					10,4				
	HAT		SET-PT			HAT		SET-PT			HAT		SET-PT		
Термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE
	329	486	4	115	375	334	488	8	127	368	349	510	1	122	389
	330		6	125	367	335		9	118	379	328		-20	106	384
											348		0	121	389
Реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
Радикал	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$
$\cdot\text{OCH}_3$	-99	109	-207	-97	-2	-93	111	-204	-84	-9	-78	133	-211	-90	12
	-97		-205	-86	-11	-92		-203	-94	2	-99		-231	-106	7
											-79		-211	-90	12
$\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$	-107	109	-216	-106	-1	-102	111	-213	-93	-8	-87	133	-220	-99	12
	-105		-214	-95	-10	-101		-212	-103	2	-107		-240	-114	7
											-87		-220	-99	12
$\cdot\text{OH}$	-170	30	-200	-89	-81	-165	32	-197	-77	-88	-150	54	-203	-83	-67
	-168		-198	-79	-89	-164		-196	-86	-77	-170		-224	-98	-72
											-150		-204	-83	-67
$\cdot\text{OON}$	-30	131	-161	-51	21	-25	133	-158	-38	14	-10	155	-165	-44	34
	-28		-159	-40	12	-24		-157	-48	24	-30		-185	-60	29
											-10		-165	-44	34
$\cdot\text{OOSCH}_3$	-23	139	-163	-52	29	-18	141	-159	-40	22	-3	163	-166	-45	42
	-22		-161	-41	20	-17		-158	-49	32	-23		-186	-61	37
											-4		-167	-46	42
$\cdot\text{OO-CH=CH}_2$	-22	118	-140	-30	7	-17	120	-137	-18	1	-2	142	-144	-23	21
	-21		-139	-19	-1	-16		-136	-27	11	-23		-164	-39	16
											-3		-144	-24	21
DPPH	6	109	-103	8	-2	11	111	-99	20	-9	26	132	-106	15	12
	8		-101	19	-11	12		-98	11	1	6		-126	-1	7
											26		-107	14	11
$\text{O}_2^{\cdot-}$	42	298	-256	21	21	47	300	-253	34	14	62	322	-259	28	34
	44		-254	32	12	48		-252	24	24	42		-280	12	29
											62		-260	28	34

**Табела 38.** Интеракција једињења **9г**, **9д** и **9и** са стабилним DPPH радикалом, израчунати термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) антиоксидативних механизма и реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) реакција ових једињења са одабраним радикалима у метанолу применом функционала M06-2X и базисног скупа 6-311 + G(d,p).

IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	<b>9г</b> 2,6 ± 0,1					<b>9д</b> 1,9 ± 0,1					<b>9и</b> 1,2 ± 0,1				
	НАТ		SET-PT		SPLET	НАТ		SET-PT		SPLET	НАТ		SET-PT		SPLET
Термодинамички параметри ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE	BDE	IP	PDE	PA	ETE
	340	527	-4	114	409	345	529	-1	127	401	349	527	6	127	406
	342		-1	126	399	347		1	120	411	328		-15	111	401
											348		5	126	406
Реакционе енталпије ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )															
Радикал	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$	$\Delta H_{\text{BDE}}$	$\Delta H_{\text{IP}}$	$\Delta H_{\text{PDE}}$	$\Delta H_{\text{PA}}$	$\Delta H_{\text{ETE}}$
·OCH <sub>3</sub>	-92	129	-221	-103	11	-87	131	-218	-90	3	-82	129	-211	-91	8
	-89		-219	-91	2	-85		-216	-97	13	-103		-232	-106	3
											-83		-212	-91	8
·OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	-100	125	-225	-107	7	-95	127	-222	-94	-1	-91	125	-215	-95	4
	-98		-223	-95	-3	-93		-220	-102	9	-111		-236	-110	-1
											-91		-216	-95	4
·OH	-153	63	-217	-99	-55	-148	65	-214	-85	-63	-144	63	-207	-86	-58
	-151		-214	-87	-64	-146		-212	-93	-53	-165		-228	-102	-63
											-145		-208	-87	-58
·OON	-20	156	-176	-59	39	-15	159	-174	-45	30	-11	156	-167	-46	35
	-18		-174	-47	29	-13		-172	-53	40	-31		-187	-62	31
											-11		-167	-47	35
·OOSH <sub>3</sub>	-14	161	-175	-57	43	-9	163	-172	-44	35	-5	161	-165	-45	40
	-12		-173	-45	33	-7		-170	-52	45	-25		-186	-60	35
											-5		-166	-45	40
·OO- CH=CH <sub>2</sub>	-17	137	-154	-37	19	-12	139	-152	-23	11	-8	137	-145	-24	16
	-15		-152	-25	10	-10		-150	-31	21	-28		-165	-40	11
											-9		-146	-25	16
DPPH	17	122	-104	14	4	23	124	-101	27	-4	27	121	-95	26	1
	20		-102	26	-6	25		-99	19	5	6		-115	11	-4
											26		-95	26	0
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	56	329	-273	17	39	61	331	-271	30	30	65	329	-264	30	35
	58		-271	29	29	63		-269	23	40	45		-284	14	31
											64		-264	29	35

На основу чињенице да је вредност стехиометријског фактора за добре антиоксиданте изнад 2, испитивана једињења, нарочито **9и**, се могу сматрати одличним антиоксидантима (Табела 37).<sup>310,312,313</sup> Добро је познато да једињења са неколико суседних хидроксилних група везаних за ароматични прстен испољавају одличну антиоксидативну активност.<sup>314</sup> Према томе, једињења са катехолском и пирогалолском јединицом представљају значајне антиоксиданте.<sup>284,286,315-317</sup> Ово се може објаснити стабилизацијом формираног фенокси радикала (након дехидрогеновања) преко интрамолекуларске водоничне везе са суседним хидроксилним групама.<sup>318</sup>

Антиоксидативна активност 1,3-диоксоизоиндолин-бензамида са пирогалолском јединицом (**9и**) је чак боља од активности референтних једињења кверцетина и NDGA. Једињења **9г** и **9д** имају једну катехолску јединицу, тј. једну хидроксилну групу мање од **9и**, па су према томе мање активни. Нижа активност једињења **9г** се може објаснити позицијом хидроксилних група. Заправо, хидроксилне групе код једињења **9г** су *орто* и *мета* позициониране у односу на амидну групу ( $-\text{CONH}_2$ ) са електрон-привлачним ефектом. Овај ефекат амидне групе отежава грађење радикала у *орто* хидроксилној групи. Сумирањем претходно наведених чињеница, може се закључити да број хидроксилних група и њихов положај у ароматичном прстену представљају најважније факторе за процену антиоксидативне активности.

Поред *in vitro* испитивања антирадикалске активности, једињења **9г**, **9д** и **9и** су подвргнута и термодинамичком испитивању у одсуству и присуству слободних радикала (Табеле 37 и 38).<sup>310</sup> Да би се дошло до тога који од механизма НАТ, SET-РТ и SPLET преовладава у одсуству слободних радикала, одговарајући термодинамички параметри (BDE, IP и PA) су израчунати помоћу функционала B3LYP и M06-2X (Табеле 37 и 38).<sup>246,252,277,293,304,305</sup> Важно је нагласити да су енергије добијене помоћу M06-2X нешто више него помоћу функционала B3LYP, али са истим исходом. Резултати добијени помоћу функционала B3LYP су представљени у Табели 37, док су за M06-2X представљени у Табели 38.<sup>310</sup>

Како би се испитао механизам антирадикалске активности, израчунате су реакционе енталпије за испитивана једињења са изабраним слободним радикалима помоћу метода функционала густине. Детаљи и једначине за рачунање термодинамичких параметара и реакционих енталпија дати су у одељку **1.6.4. Механизми антиоксидативног деловања**.

У оба случаја (одсуство и присуство слободних радикала), најнижа енергија указује на приоритетнији механизам реакције са радикалом. Термодинамички параметри и реакционе енталпије су добијени оптимизацијом свих релевантних врста у метанолу, јер је он коришћен и у експерименталном DPPH есеју. Као што је претходно споменуто, изабрани радикали ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\cdot\text{OON}$ ,  $\text{CH}_3\text{--O--O}\cdot$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$ ,  $\cdot\text{OCH}_3$ ,  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $\text{CH}_2=\text{CHO--O}\cdot$  и DPPH) за реакцију са испитиваним једињењима су одабрани на основу њиховог понашања у живој ћелији.<sup>251,284,319</sup> На основу добијених вредности за BDE, IP и PA (у одсуству слободних радикала) може се закључити да је приоритетан механизам антирадикалске активности SPLET. Наиме, PA је значајно нижи од BDE и IP. Са друге стране, добијене реакционе енталпије у присуству слободних радикала указују на то да реактивни радикали значајно утичу на реакциони пут.<sup>251,284</sup> SET-РТ се може елиминисати као могући механизам свих испитиваних једињења и свих радикала јер је  $\Delta H_{\text{IP}}$  знатно виши од  $\Delta H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta H_{\text{PA}}$ . Једина наглашена разлика између  $\Delta H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta H_{\text{PA}}$  је у случају реакције са  $\cdot\text{OH}$ . Овде су вредности  $\Delta H_{\text{BDE}}$  значајно ниже, указујући на НАТ као приоритетнији механизам уклањања  $\cdot\text{OH}$ . Разлике између  $\Delta H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta H_{\text{PA}}$  нису тако евидентне за реакције са пероксилним и алкоксилним радикалима ( $\cdot\text{OON}$ ,  $\text{CH}_3\text{--O--O}\cdot$ ,  $\cdot\text{OCH}_3$ ,  $\cdot\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ,  $\text{CH}_2=\text{CH--O--O}\cdot$ ) што указује на конкуренцију између НАТ и SPLET механизма. Сличан тренд је добијен за реакције са DPPH радикалом.  $\Delta H_{\text{BDE}}$  и  $\Delta H_{\text{PA}}$  имају ниске позитивне вредности, што указује на споре реакције. Слично претходно публикованим резултатима за друга фенолна једињења, реакционе енталпије са  $\text{O}_2\cdot^-$  имају највише вредности.<sup>279,280,284,293,305</sup>

### **3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО**

### 3.1. Опште напомене

Хемикалије које су коришћене приликом израде ове докторске дисертације биле су комерцијално доступне и набављене су од различитих трговачких компанија: *Sigma-Aldrich Co*, *Merck & Co*, *Fluka*. Све хемикалије употребљене за HPLC анализу биле су HPLC квалитета. Лимун, коришћен за припремање лимуновог сока, купљен је у локалном маркету.

Инфрацрвени спектри снимљени су на PerkinElmer Spectrum One FT-IR спектрометру коришћењем KBr пилула.

Сви UV-Vis спектри снимани су на собној температури у опсегу 200–500 nm на UV-Vis спектрофотометру (Agilent Technologies, Cary 300 Series).

<sup>1</sup>H NMR и <sup>13</sup>C NMR спектри снимљени су на Varian Gemini спектрометру (200 MHz за <sup>1</sup>H NMR и 50 MHz за <sup>13</sup>C NMR).

HPLC анализе изведене су употребом HPLC система (Shimadzu Prominence, Kyoto, Japan) са PDA детектором (SPD-M20A).

За реакције које су изведене применом ултразвука коришћено је ултразвучно купатило (BandelinSonorex RK 52 H, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Germany) фреквенције 35 kHz и снаге 150 W.

Тачке топљења су одређене на Mel-Temp апарату модел 1001. Елементалне микроанализе за угљеник, водоник и азот, одређене су применом стандардних метода у Центру за инструменталне анализе Хемијског факултета у Београду.

### 3.2. Рендгенска структурна одређивања

Рендгенска структурна одређивања изведена су применом Oxford Gemini S дифрактометра за монокристале и употребом монохроматизованог MoK $\alpha$  рендгенског зрачења ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ). Подаци су обрађени коришћењем софтвера CrysAlisPRO.<sup>320</sup> Кристалне структуре су решене директним методама применом SHELXS програма и утацњене методом најмањих квадрата применом SHELXL програма.<sup>321</sup> PLATON<sup>322</sup> и PARST<sup>323</sup> софтвери су коришћени за геометријска рачунања, а Mercury<sup>324</sup> и ORTEP3<sup>325</sup> су употребљени за молекулске графике. Да би се идентификовао релативни значај интермолекуларних интеракција унутар кристалног паковања Hirshfeld површинска анализа је извршена коришћењем CrystalExplorer-a.<sup>269</sup>

### 3.3. Рачунарске методе

#### 3.3.1. Рачунања помоћу метода функционала густине

Gaussian 09 програмски пакет коришћен је за сва израчунавања.<sup>326</sup> Равнотежне геометрије свих једињења, радикала, радикал катјона, радикал ањона, као и свих других врста које учествују у реакцијама при проучавању механизма, израчунате су помоћу

V3LYP функционала, а у неким случајевима и уз помоћ M06-2X функционала применом 6-311+G(d,p) базисног скупа.<sup>327–330</sup>

Утицај метанола ( $\epsilon = 32,6$ ), хлороформа ( $\epsilon = 4,7$ ), воде ( $\epsilon = 78,4$ ) и бензена ( $\epsilon = 2,3$ ) као растварача испитан је применом SMD модела (енг. *solvation model based on density*) у Gaussian 09.<sup>326,331</sup> SMD представља солватациони модел заснован на квантно-механичкој густини наелектрисања раствореног молекула у интеракцији са растварачем. „D” у називу модела означава „густину” и представља укупну електронску густину раствора без дефинисања парцијалних атомских наелектрисања.<sup>332</sup>

Како би се потврдило да су све оптимизоване структуре локални минимуми, израчунате су фреквенције. Оптимизоване геометрије су потврђене одсуством било какве имагинарне фреквенције.

Све релативне енталпије су израчунате на 298,15 K. Вредности енталпије солватације протона и електрона у метанолу коришћене су из литературе.<sup>333</sup>

Оптимизоване геометрије у гасној фази су употребљене за симулирање IR спектра, док су NMR хемијска померања за све атоме водоника и угљеника у односу на стандард тетраметилсилан – TMS (енг. *tetramethylsilane*) израчуната помоћу GIAO методе.

UV-Vis спектри су симулирани применом метода функционала густине – TD DFT (енг. *time dependent density functiona theory*) и структуре су оптимизоване у метанолу јер су експериментално спектри одређени у истом растварачу. У неким случајевима вредности таласних дужина су скалиране фактором скалирања који је одређен методом најмањих квадрата.

Термодинамички параметри су добијени оптимизацијом релевантних врста у метанолу ( $\epsilon = 32,6$ ), јер је метанол коришћен за експериментални DPPH тест, применом CPCM солватационог модела у програму Gaussian09.<sup>334–336</sup>

### 3.3.2. Припрема кристалне структуре сојине липоксигеназе

Молекуларни докинг је изведен на сојиној липоксигенази-Ib (енг. *soybean lipoxygenase-Ib* (PDB ID: 5T5V)).<sup>337</sup> Протеин је припремљен применом UCSF Chimera v1.10.1 софтвера.<sup>283,338</sup> Протеин је подвргнут процесу минимизације применом Sander модула са максималних 1000 корака, при чему је сваки наредни конформер имао мању енергију од претходног (енг. *steepest-descent energy minimization*). Други корак минимизације система је извршен у 4000 корака, при чему су парови конформера са најмањом и највећом енергијом истовремено минимизирани до постизања исте енергије (енг. *conjugate-gradient energy minimization*). Све функционалне групе које су биле на међусобном растојању већем од 5 Å су минимизиране.

### 3.3.3. AutoDock 4.2 подешавања

Припремљена протеинска структура је учитана у графички кориснички интерфејс програма Auto-DockTools. Неполарни атоми водоника су уклоњени, а додати су параметри растварача и Gasteiger-ова наелектрисања. Једињења **3б**, **3в**, **3ј**–**л** су употребљена као лиганди за доковање. Помоћу AutoDockTools модула су подешени

ригидни центар и ротирајуће везе лиганада. Доковање је изведено помоћу програма AutoDock 4.2.<sup>339</sup> Просторна решетка је генерисана тако да је подешавање координата изведено на начин да обухвати све минимализоване инхибиторе у распону од 10 Å у све три димензије. Lamarckian-ов генетски алгоритам коришћен је за генерисање конформација лиганада унутар активног центра протеина. Процедура глобалне оптимизације је почела са 200 насумично изабраних јединки, максимално 27000 генерација и максималном проценом енергије од  $1,0 \times 10^6$ . Укупно је извршено 200 конформационих претрага са толеранцијом RMS (енг. *root mean square*) вредности од 0,5 Å.

### 3.4. DPPH тест

Антиоксидативна активност добијених једињења испитана је применом DPPH методе.<sup>340</sup> DPPH раствор у 1 mL метанола (0,05 mM) помешан је са једнаком запремином једињења које се испитује (20 µL DMSO раствора испитиваног једињења и 980 µL метанола). Тако припремљени узорци су инкубирани на тамном месту и на собној температури. Апсорбанца је мерена на 517 nm након 20 и 60 минута. Као контролни раствор коришћен је метанол. За сва једињења која су показала добру активност одређене су и IC<sub>50</sub> вредности. IC<sub>50</sub> вредност представља концентрацију једињења која инхибира 50% DPPH радикала. Такође, за сва одређивања израчунате су вредности стандардних девијација и резултати су представљени са одговарајућом грешком. NDGA и кверцетин су коришћени као референтна једињења.<sup>217,221</sup>

Израчунавање антиоксидативне активности помоћу DPPH теста дато је једначином (11).<sup>217</sup>

$$(11) \% \text{ инхибиције DPPH радикала} = [(A_c - A_s)] / A_c \times 100$$

A<sub>c</sub> представља апсорбанцу контролног DPPH раствора у метанолу, а A<sub>s</sub> је апсорбанца узорка у DPPH раствору.<sup>217</sup>

Стехиометријски фактор је израчунат применом једначине:<sup>312,313</sup>

$$\text{стехиометријски фактор} = [\text{DPPH}]_0 / (2 \times \text{IC}_{50})$$

при чему је  $[\text{DPPH}]_0 = 25 \mu\text{M}$ .

### 3.5. *In Vitro* испитивање инхибиције сојине липоксигеназе

Испитивана једињења су, након растварања у DMSO, инкубирана на собној температури са натријум линолеатом као супстратом и ензимом сојине липоксигеназе тип Ib (LOX-Ib у раствору натријум хлорида) у TRIS пуферу.<sup>283</sup> Конверзија натријум линолеата до 13-хидропероксилинолне киселине одређена је на 234 nm и упоређена са стандардним инхибитором NDGA. Неколико концентрација је испитано са циљем да се одреди IC<sub>50</sub> вредност за једињења која показују добру инхибиторну активност. Сви резултати су вредности три или четири независна мерења са стандардном девијацијом < 10%. Инхибиторна активност је одређена на основу једначине (12), где A<sub>0</sub> представља



апсорбанцу узорка без супстанце која инхибира липоксигеназу, а  $A_1$  апсорбанца узорка са супстанцом која инхибира липоксигеназу.<sup>341</sup>

$$(12) \% \text{ инхибиције} = \frac{(A_0 - A_1) \times 100}{A_0}$$

### 3.6. Припремање лимуновог сока

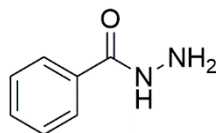
Лимун је исцеђен и добијени сок је филтриран кроз Бихнеров левак са диском од синтерованог стакла како би се уклонила пулпа. рН вредност филтрата је око 2. Овако добијен лимунов сок коришћен је у реакцијама добијања 1-бензоил-1*H*-пиразола као растварач и катализатор истовремено.<sup>259</sup>

### 3.7. Генерална процедура за синтезу хидразида 1

У реакцији различитих метил естара (1 mmol) и хидразин монохидрата (6 mmol) загревањем до рефлукса синтетисани су одговарајући хидразиди.<sup>342</sup> У свим случајевима крај реакције је одређен помоћу танкослојне хроматографије за коју је као елуент коришћена смеша етил ацетата и дихлорметана у односу 4:1. На крају реакције, у већини случајева остатак хидразина је упарен, а додатком воде сталожени су хидразиди који су затим процеђени и осушени. У неким случајевима хидразиди су изоловани прекристализацијом из смеше воде и етанола.<sup>260</sup>

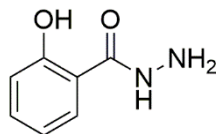
#### 3.7.1. Спектроскопски подаци бензохидразида и 2-хидроксибензохидразида

##### Бензохидразид



Бела кристална супстанца (етанол/вода (1:1)) (85%);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 9,77 (s, 1H), 7,87–7,76 (m, 2H), 7,56–7,38 (m, 3H), 4,49 (s, 2H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 126,94, 128,28, 131,01, 133,36, 165,87; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3300, 3198, 1662, 1616, 1567, 1349, 1121, 685.

##### 2-Хидроксибензохидразид



Црвена кристална супстанца (етанол/вода (1:1)) (55%);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,02–6,79 (m, 2H), 7,74 (dd,  $J = 7,9, 1,5$  Hz, 1H), 7,32–7,41 (m, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 114,21, 116,80, 118,73, 127,10, 133,13, 158,37, 168,45; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3304, 3192, 1665, 1610, 1489, 1458.

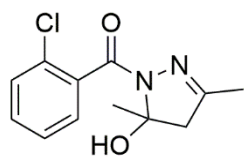
### 3.8. Генерална процедура за синтезу бензоил-пиразола 2*г*-ж и 3*а*-ж

Смеша ацетилацетона (1 mmol) и одговарајућег хидразида (1 mmol) мешана је на собној температури у лимуновом соку (3 mL). Ток реакције праћен је помоћу танкослојне хроматографије. У случајевима када је долазило до таложења производа за време реакције, смеша је филтрирана и испрана водом, а одговарајући производ изолован без даљег пречишћавања. У случајевима када су се добијале смеше два

производа или када су коначни производи били уљасте супстанце, реакционе смеше су растваране у етил ацетату и испиране водом, а производи су пречишћени хроматографијом на колони. Сви производи (**2г–ж** и **3а–ж**) су окарактерисани тачкама топљења,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR и IR спектрима. За нова једињења **2г** и **3е** структура је потврђена и елементалном анализом. Структура једињења **2е** је додатно потврђена рендгенском структурном анализом.<sup>259</sup>

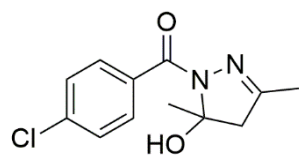
### 3.8.1. Спектроскопски подаци бензоил-пиразола **2г–ж** и **3а–ж**

#### (2-хлорфенил)(4,5-дихидро-5-хидрокси-3,5-диметилпиразол-1-ил)метанон (**2г**)



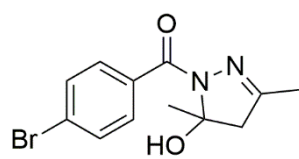
Бела прашкаста супстанца; (10%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (3:1); Т.Т. 95–97 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,95 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 2,98 (AB-q,  $\Delta\nu_{\text{AB}} = 51,7$  Hz,  $J = 18,4$  Hz, 2H), 4,85 (s, 1H), 7,44–7,29 (m, 4H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16,11, 26,67, 51,56, 92,00, 126,40, 128,35, 129,30, 130,30, 131,02, 135,70, 155,80, 166,49; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3445, 3067, 2985, 2856, 1643, 1623, 1441, 1378, 1221, 1125, 1050, 975, 874, 746; Израчунато за  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_2$  (252,7 g/mol): C, 57,04; N, 11,09; H, 5,19%; Нађено: C, 57,20; N, 11,12; H, 5,20%

#### (4-хлорфенил)(4,5-дихидро-5-хидрокси-3,5-диметилпиразол-1-ил)метанон (**2д**)



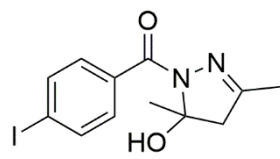
Жута прашкаста супстанца (7%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (3:1); Т.Т. 79–81 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,95 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,95 (AB-q,  $\Delta\nu_{\text{AB}} = 47,4$  Hz,  $J = 18,4$  Hz, 2H), 7,38 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,82 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16,20, 26,87, 51,02, 92,84, 127,89, 131,34, 132,65, 137,34, 155,45, 167,24; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3427, 3058, 2988, 1645, 1435, 1377, 1323, 1243, 1222, 1134, 1089, 1017, 964, 865, 756.

#### (4-бромфенил)(4,5-дихидро-5-хидрокси-3,5-диметилпиразол-1-ил)метанон (**2ђ**)

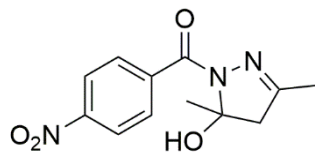


Жута прашкаста супстанца (18%); Елуент: дихлорметан/ацетон (10:0.05); Т.Т. 68–70 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,94 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,94 (AB-q,  $\Delta\nu_{\text{AB}} = 47,2$  Hz,  $J = 18,5$  Hz, 2H), 4,74 (s, 1H), 7,54 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,75 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16,23, 26,80, 50,96, 92,75, 125,81, 130,83, 131,42, 133,01, 155,59, 167,25; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3429, 3189, 3017, 2924, 1680, 1602, 1560, 1462, 1264, 1068, 1011, 847, 740, 654.

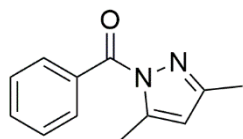
#### (4,5-дихидро-5-хидрокси-3,5-диметилпиразол-1-ил)(4-јодфенил)метанон (**2е**)



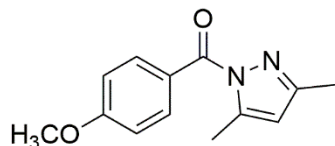
Бела кристална супстанца (етил ацетат/етанол (1:2)) (50%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (2:1); Т.Т. 110–112 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,96 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,96 (AB-q,  $\Delta\nu_{\text{AB}} = 47,4$  Hz,  $J = 18,4$  Hz, 2H), 5,00 (s, 1H), 7,60 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H), 7,78 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16,25, 26,84, 50,98, 92,79, 98,3, 131,39, 133,64, 136,86, 155,59, 167,52; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3429, 3016, 2985, 2910, 1637, 1625, 1587, 1432, 1323, 1221, 1125, 1007, 964, 824, 751, 605.

**(5-хидрокси-3,5-диметил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил)(4-нитрофенил)метанон (2ж):**

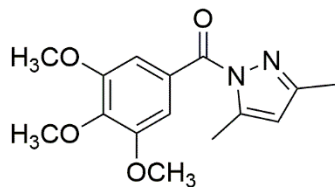
Жута уљаста супстанца (7%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (2:1);  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,96 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,98 (AB-q,  $\Delta\nu_{\text{AB}} = 46,7$  Hz,  $J = 18,5$  Hz, 2H), 4,88 (s, 1H), 8,02–7,92 (m, 2H), 8,29–8,18 (m, 2H),  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 16,21, 26,79, 51,11, 92,84, 122,78, 130,67, 140,09, 148,98, 156,56, 166,06; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3433, 2921, 2852, 1700, 1630, 1602, 1522, 1347, 1105, 967, 861, 709.

**(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)(фенил)метанон (3а)**

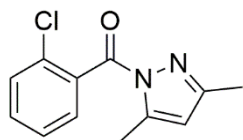
Жута уљаста супстанца (90%);  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,45 (s, 1H), 2,83 (s, 1H), 6,26 (s, 1H), 7,60–7,81 (m, 3H), 8,14–8,22 (m, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,84, 14,29, 110,96, 127,70, 131,24, 132,26, 133,27, 144,95, 151,94, 168,23; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2925, 1699, 1375, 1340, 1279, 917, 711, 694.

**(4-метоксифенил)(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)метанон (3б)**

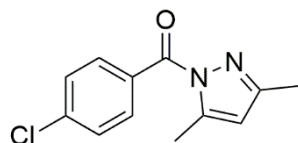
Безбојна уљаста супстанца (91%); Елуент: хексан/етил ацетат (4:1);  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,25 (s, 3H), 2,60 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 6,03 (s, 1H), 7,00–6,88 (m, 2H), 8,11–7,99 (m, 2H),  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,75, 14,14, 55,31, 110,53, 113,08, 125,16, 133,78, 144,74, 151,40, 162,96, 167,25; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2929, 2839, 1688, 1603, 1340, 1259, 1175, 1122, 1030, 920, 843, 756, 621.

**(3,4,5-триметоксифенил)(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)метанон (3в)**

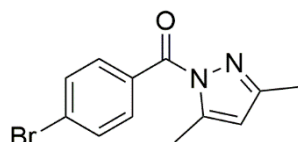
Бела игличаста супстанца (88%); Т.Т. 100–102°C;  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,25 (s, 3H), 2,60 (s, 3H), 3,88 (s, 6H), 3,91 (s, 3H), 6,06 (s, 1H), 7,31 (s, 2H),  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,84, 14,28, 56,22, 60,80, 109,28, 110,79, 127,83, 145,02, 151,77, 152,21, 167,19; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3101, 2926, 2838, 1707, 1590, 1471, 1455, 1415, 1376, 1348, 1238, 1123, 1025, 968, 819, 747.

**(2-хлорфенил)(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)метанон (3г)**

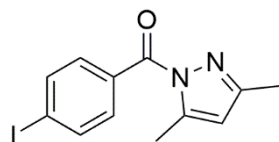
Браон уљаста супстанца (75%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (3:1);  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,19 (s, 3H), 2,68 (s, 3H), 6,07 (s, 1H), 7,54–7,31 (m, 4H),  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,80, 14,07, 111,56, 126,12, 129,18, 129,50, 130,95, 131,57, 135,06, 144,26, 152,93, 167,19; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2927, 1716, 1593, 1378, 1349, 1058, 922, 748.

**(4-хлорфенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3д)**

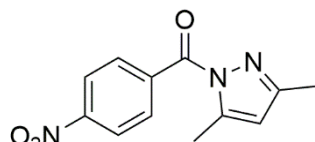
Получврста супстанца (81%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (3:1);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,25 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 6,07 (s, 1H), 7,44 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,97 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,85, 14,34, 111,20, 128,07, 131,64, 132,76, 138,73, 145,12, 152,28, 167,11; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2967, 2930, 1693, 1588, 1347, 1086, 970, 917, 847, 748, 685, 587.

**(4-бромфенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3ђ)**

Получврста супстанца (55%); Елуент: дихлорметан /ацетон (10:0,05);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,25 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 6,07 (s, 1H), 7,61 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,89 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,89, 14,37, 111,25, 127,42, 131,07, 132,13, 132,86, 145,15, 152,35, 167,29; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2962, 2928, 1697, 1587, 1346, 1068, 917, 845, 745.

**(4-јодфенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3е)**

Жута прашкаста супстанца (36%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (2:1); Т.Т. 65–67 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,25 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 6,07 (s, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,83 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,88, 14,35, 100,07, 111,24, 128,72, 132,70, 137,03, 145,10, 152,33, 167,52; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2924, 1694, 1583, 1376, 1352, 1008, 918, 833, 769, 742, 623; Израчунато за  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{IN}_2\text{O}$  (326.14 g/mol): C, 44,19; N, 8,59; I, 3,40%; Нађено: C, 44,03; N, 8,56; I, 3,41%.

**(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)(4-нитрофенил)метанон (3ж)**

Бела прашкаста супстанца (91%); Елуент: дихлорметан/етил ацетат (1:1); Т.Т. 125–126 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,23 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 6,10 (s, 1H), 8,11 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 8,29 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,77, 14,28, 111,74, 122,70, 131,89, 139,10, 145,29, 149,50, 153,10, 166,33; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3115, 2930, 1705, 1604, 1525, 1341, 1111, 985, 962, 924, 851, 710.

**3.8.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење 3а**

$$AE = \frac{\text{молекулска маса производа}}{\text{укупна молекулска маса реактаната}} \times 100 = \frac{200,24}{(136,15 + 100,12)} \times 100 = 84,75\%$$

$$CE = \frac{\text{број C атома производа} \times \text{број mol – ова производа}}{\text{збир производа броја C атома и mol – ова свих реактаната}} \times 100$$

$$= \frac{12 \times 0,001}{(7 \times 0,001 + 5 \times 0,001)} \times 100 = 90\%$$

$$RME = \frac{\text{маса производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100 = \frac{0,180g}{(0,136g + 0,100g)} \times 100 = 76,28\%$$

$$MI = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,136g + 0,100g)}{0,180g} = 1,31 (g/g)$$

$$E - factor = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,136g + 0,100g) - 0,180g}{0,180g} = 0,31 (g/g)$$

Ecoscale calculator

Reagents										
Link	Identifier*	name	MF*	MW	density	purity*	ml	g	mmoles	equiv.
<input type="checkbox"/>		Benzoylhydrazine	C7H8N2O	136.15332		100%	0	0.136153	1	Infinity
<input type="checkbox"/>		2,4-Pentanedione	C5H8O2	100.11732	0.975	100%	0.102684	0.100117	1	Infinity

Products										
Identifier*	name	MF*	MW	g	mmoles	g theor.	yield			
	(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)(phenyl)methanone	C12H12N2O	200.24	0.18022	0.900019976	0	0			

Conditions										
Reagents	Name	mmoles	eq.	Bp	Hazard	Price				
	Benzoylhydrazine	5.54	Infinity							
	2,4-Pentanedione	5.54	Infinity	133						
Yield						90				
Price / availability						-3				
Safety						0				
Technical setup	Possible items Inert atmosphere for conventional synthesis or microwave Conventional activation technique Pressure equipment > 1 atm Amplified/external electrical discharge					0				
Temperature / time	Possible items Room temperature, < 1h Room temperature, < 24h Heating, < 1h					0				
Workup and purification	Possible items Removal of solvent with bp < 150°C Crystallization and filtration Removal of solvent with bp > 150°C					-3				
EcoScale						89				

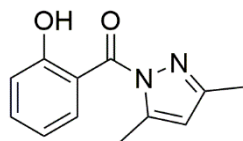
Слика 66. Приказ рачунања параметра EcoScale за једињење 3а.

### 3.9. Генерална процедура за синтезу фенолних бензоил-пиразола 3з–л

Одговарајући фенолни хидразид (1 mmol), ацетилацетон (1 mmol) и 20 mol% лимунске киселине мешани су на собној температури у смеси воде и етанола (2:1). Реакција је праћена помоћу танкослојне хроматографије (етил ацетат/дихлорметан = 1:1). На крају реакције, смеша је растворена у етил ацетату и испрана водом. У случајевима 3з и 3ј, хроматографија на колони је била неопходна за пречишћавање. Сви производи (3з–л) су окарактерисани тачкама топљења, IR и NMR ( $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ) спектрима. Додатно, структуре новодобијених једињења 3к и 3л су потврђене елементалном анализом и UV-Vis спектроскопијом. За једињење (4-хидрокси-3-метоксифенил)(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)метанон (3л) одређена је и кристална структура. Додатно је чистоћа ових једињења потврђена и помоћу HPLC анализе.<sup>260</sup>

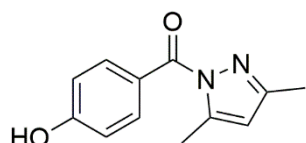
### 3.9.1. Спектроскопски подаци фенолних бензоил-пиразола 3з–л

#### (2-хидроксифенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3з)



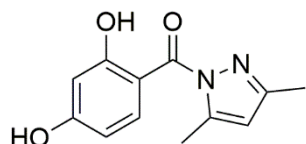
Безбојна уљаста супстанца (изоловани принос: 78%, HPLC чистоћа: 95,1%); Елуент: дихлорметан/ацетон (10:0,25);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,28 (s, 3H), 2,60 (s, 3H), 6,08 (s, 1H), 6,88–7,04 (m, 2H), 7,42–7,50 (m, 1H), 8,18 (dd,  $J = 8,1, 1,7$  Hz, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,78, 14,47, 111,37, 116,73, 118,57, 119,10, 134,12, 135,49, 145,87, 152,85, 160,88, 169,63; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3209, 2925, 1701, 1606, 1483, 1349, 1300, 1249, 1193, 1065, 923, 858, 760; UV ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm): 234, 310.

#### (4-хидроксифенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3и)



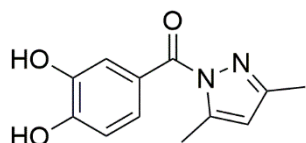
Получврста супстанца (изоловани принос: 89%, HPLC чистоћа: 95,5%);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,27 (s, 3H), 2,59 (s, 3H), 6,07 (s, 1H), 6,64 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,73 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 8,31 (s, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,52, 13,97, 110,74, 115,42, 124,15, 133,44, 145,24, 152,02, 160,77, 167,89; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3275, 2927, 1743, 1708, 1604, 1514, 1340, 1279, 1202, 1159, 1060, 921, 885, 756, 690; UV ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm): 260.

#### (2,4-дихидроксифенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3ј)



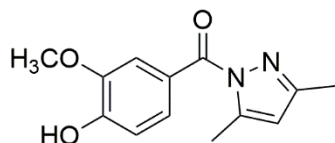
Жута уљаста супстанца (изоловани принос: 91%, HPLC чистоћа: 96,1%); Елуент: хексан/етил ацетат (4:1);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,31 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 6,09 (s, 1H), 6,27 (dd,  $J = 8,9, 2,3$  Hz, 1H), 6,34 (d,  $J = 2,3$  Hz, 1H), 7,96 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13,61, 13,93, 103,75, 108,49, 110,80, 136,11, 145,37, 152,31, 163,19, 164,75, 169,71; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3374, 2924, 1683, 1615, 1494, 1465, 1337, 1247, 1125, 1045, 975, 769, 690; UV ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm): 263, 301.

#### (3,4-Дихидроксифенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3к)



Бела прашкаста супстанца (изоловани принос: 89%, HPLC чистоћа: 95,6%); Т.Т. 125–127 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$ : 2,34 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 5,99 (br. s, OH, 2H), 6,15 (s, 1H), 6,76 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 7,24 (dd,  $J = 6,6, 2,0$  Hz, 1H), 7,29 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz)  $\delta$ : 13,36, 13,85, 110,64, 114,52, 117,93, 124,19, 125,10, 143,36, 145,61, 149,67, 152,00, 167,57; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3393, 3107, 2792, 1700, 1598, 1528, 1435, 1377, 1298, 1110, 1032, 971, 879, 784, 747, 666, 599; UV ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm): 201, 236, 279, 310; Израчунато за  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$  (232,24 g/mol): C, 62,06; N, 12,06; H, 5,21%; Нађено: C, 62,30; N, 12,02; H, 5,23%.



**(4-Хидрокси-3-метоксифенил)(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)метанон (3л)**

Безбојна кристална супстанца (етил ацетат/етанол (1:2) (изоловани принос: 95%, HPLC чистоћа: 95,7%); Т.Т. 115–117 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ: 2,26 (s, 3H), 2,60 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 6,05 (s, 1H), 6,17 (br. s, OH, 1H), 6,95 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,70 (dd, J = 8,4, 1,9 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz) δ: 13,76, 14,15, 56,02, 110,66, 113,70, 113,95, 124,77, 127,10, 145,03, 145,83, 150,02, 151,67, 167,39; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3425, 3075, 2986, 1682, 1602, 1513, 1427, 1284, 1032, 977, 847, 773, 649, 570; UV (λ<sub>max</sub>, nm): 200, 233, 278, 307; Израчунато за C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (246,10 g/mol): C, 63,40; N, 11,38; H, 5,73%; Нађено: C, 63,53; N, 11,34; H, 5,75%.

**3.9.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење 3з**

$$AE = \frac{\text{молекулска маса производа}}{\text{укупна молекулска маса реактаната}} \times 100 = \frac{216,24}{(152,15 + 100,12)} \times 100 = 85,72\%$$

$$CE = \frac{\text{број } C \text{ атома производа} \times \text{број } mol \text{ – ова производа}}{\text{збир производа броја } C \text{ атома и } mol \text{ – ова свих реактаната}} \times 100$$

$$= \frac{12 \times 0,00071}{(7 \times 0,001 + 5 \times 0,001)} \times 100 = 71\%$$

$$RME = \frac{\text{маса производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100 = \frac{0,154g}{(0,152g + 0,100g)} \times 100 = 60,86\%$$

$$MI = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,152g + 0,100g + 0,038g + 0,789g)}{0,154g}$$

$$= 7,03 (g/g)$$

$$E - factor = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}}$$

$$= \frac{(0,52g + 0,100g + 0,038g + 0,789g) - 0,154g}{0,154g} = 6,03 (g/g)$$

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
identifier*	name	MF*	MW	density	purity*	ml	g	mmoles	equiv.										
1	2-Hydroxybenzene-1-carbohydrazide	C7H8N2O2	152.15272		100%	0	0.152153	1	Infinity										
2	2,4-Pentanedione	C5H8O2	100.11732	0.975	100%	0.102684	0.100117	1	Infinity										
3	Citric acid	C6H8O7	192.12532		100%	0	0.03842	0.199973842	Infinity										
4	Ethanol	C2H6O	46.06904	0.79	100%	0.998734	0.789	17.12646931	Infinity										

Products										
identifier*	name	MF*	MW	g	mmoles	g theor.	yield:			
C12H12N2O2	(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone	C12H12N2O2	216.24	0.15353	0.70998150	0				

Conditions										
Reagents	Name	mmoles	eq.	bp	Hazard	Price				
	2-Hydroxybenzene-1-carbohydrazide	6.51	Infinity							
	2,4-Pentanedione	6.51	Infinity	133						
	Citric acid	1.3	Infinity							
	Ethanol	111.55	Infinity							
Yield	71					-14.5				
Price / availability						-11				
Safety						-10				
Technical setup	Possible items: Common set-up					0				
Temperature / time	Possible items: Room temperature, < 1h					-1				
Workup and purification	Possible items: Addition					-13				
EcocScale						50.5				

Слика 67. Приказ рачунања параметра EcoScale за једињење 3з.

### 3.10. Генерална процедура за синтезу пиразол-фталазина ба–и

Смеша ацетилацетона (2,5 mmol), 2,3-дихидрофталазин-1,4-диона (1 mmol), ароматичног алдехида (1 mmol) и 15 mol% [HDEA][ClAc] загревана је 6 h на 140 °C. Реакција је праћена помоћу танкослојне хроматографије (TLC). По завршетку реакције, реакциона смеша је растворена у етил ацетату, затим је органски део испран неколико пута водом, сушен преко анхидрованог натријум-сулфата, процеђен и растварач упарен под сниженим притиском. Остатак добијен након упаравања етил ацетата пречишћен је помоћу хроматографије на колони, при чему је као елуент коришћена смеша растварача етил ацетат/хексан (2:1). Сви производи (**ба–и**) окарактерисани су елементалном анализом, тачком топљења, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR и IR спектрима.<sup>284</sup>

#### Синтеза јонских течности [HDEA][Ac] и [HDEA][ClAc]

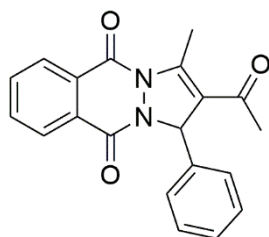
Јонске течности [HDEA][Ac] и [HDEA][ClAc] су добијене укапавањем стехиометријске количине сирћетне и хлорсирћетне киселине у дихлорметан-етанолски раствор диетаноламина. Реакциона смеша је мешана 2 h на собној температури. По завршетку реакције, органски растварачи су упарени под сниженим притиском, а затим је остатак сушен још 4 h под вакуумом. На овај начин су добијене јонске течности као вискозне и безбојне течности.<sup>166</sup>

#### Рециклирање [HDEA][ClAc]

Након комплетирања реакције, смеша је растворена у етил ацетату и испрана неколико пута водом. Затим, издвојени водени делови су спојени и упарени. Након упаравања воде, остатак [HDEA][ClAc] је поново коришћен директно без даљег пречишћавања. На овај начин рециклирани катализатор употребљен је четири пута у новим експериментима без значајног смањења приноса производа.<sup>284</sup>

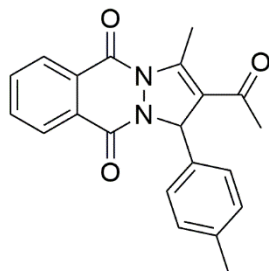
#### 3.10.1. Спектроскопски подаци пиразол-фталазина ба–и

##### 2-Ацетил-3-метил-1-фенил-1H-пиразол [1,2-б]фталазин-5,10-дион (ба)

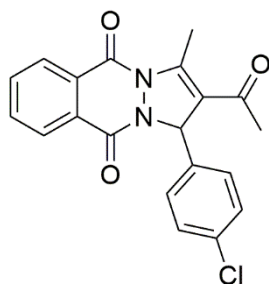


Жута кристална супстанца; Т.Т. 285–287 °C (реф. 288–290 °C);<sup>285</sup> <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,09 (s, 3H), 3,08 (d, *J* = 1,4 Hz, 3H), 6,50 (q, *J* = 1,4, 1H), 7,43–7,30 (m, 3H), 7,48 (dd, *J* = 7,9, 1,8 Hz, 2H), 7,84–7,79 (m, 2H), 8,22–8,26 (m, 1H), 8,36–8,32 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 14,5, 30,6, 66,1, 119,0, 127,3, 128,0, 128,3, 128,9, 129,1, 129,6, 133,4, 134,1, 136,5, 146,2, 154,2, 156,3, 193,3; IR (cm<sup>-1</sup>): 3370, 2922, 2851, 1647, 1602, 1516, 1419, 1354, 1318, 1290, 1275, 1105, 961, 697; Израчунато за C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (332,36 g/mol): C, 72,28; N, 8,43; H, 4,85%; Нађено: C, 72,01; N, 8,46; H, 4,87%.

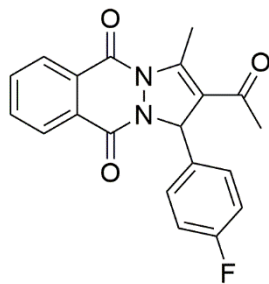


**2-Ацетил-3-метил-1-(*p*-толил)-1*H*-пиразол[1,2-*b*]фталазин-5,10-дион (6б)**

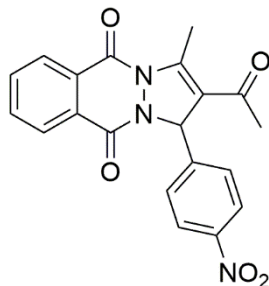
Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 169–171 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,08 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 3,07 (d,  $J = 1,5$  Hz, 3H), 6,46 (q,  $J = 1,4$ , 1H), 7,15 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 7,39–7,31 (m, 2H), 7,82–7,77 (m, 2H), 8,26–8,17 (m, 1H), 8,37–8,28 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,4, 21,2, 30,6, 65,9, 118,9, 127,3, 128,2, 128,9, 129,5, 133,3, 134,0, 139,0, 146,0, 154,1, 156,2, 193,5; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3315, 2922, 1663, 1618, 1466, 1408, 1351, 1317, 1114, 1012, 831, 699, 559, 526; Израчунато за  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$  (346,39 g/mol): C, 72,82; N, 8,09; H, 5,24%; Нађено: C, 72,53; N, 8,11; H, 5,22%.

**2-Ацетил-1-(4-хлорфенил)-3-метил-1*H*-пиразол[1,2-*b*]фталазин-5,10-дион (6в)**

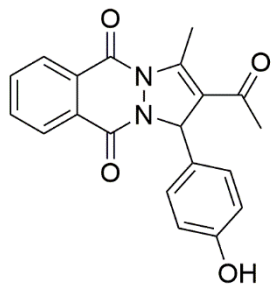
Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 173–174 °C (реф. 178–180 °C);  $^{285}\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,13 (s, 3H), 3,07 (d,  $J = 1,5$  Hz, 3H), 6,47 (q,  $J = 1,4$ , 1H), 7,37–7,31 (m, 2H), 7,47–7,38 (m, 2H), 7,89–7,76 (m, 2H), 8,26–8,21 (m, 1H), 8,36–8,32 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,6, 30,6, 65,5, 118,9, 127,4, 128,1, 128,8, 129,1, 129,6, 133,5, 134,3, 135,1, 146,3, 154,3, 156,3, 192,9; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3448, 2922, 2191, 1687, 1653, 1604, 1414, 1359, 1320, 1273, 1110, 821, 697, 614; Израчунато за  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_3$  (366,08 g/mol): C, 65,49; N, 7,64; H, 4,12%; Нађено: C, 65,55; N, 7,67; H, 4,14%.

**2-Ацетил-1-(4-флуорфенил)-3-метил-1*H*-пиразол[1,2-*b*]фталазин-5,10-дион (6з)**

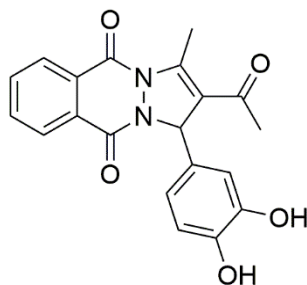
Жута кристална супстанца (етилацетат/етанол (1:2)); Т.Т. 208–210 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,12 (s, 3H), 3,08 (d,  $J = 1,4$  Hz, 3H), 6,50 (q,  $J = 1,3$ , 1H), 7,12–6,99 (m, 2H), 7,53–7,42 (m, 2H), 7,89–7,78 (m, 2H), 8,26–8,22 (m, 1H), 8,37–8,33 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,5, 30,5, 65,3, 115,6, 116,1, 118,8, 127,3, 128,0, 128,7, 129,5, 129,9, 130,2, 132,3, 133,4, 134,2, 146,1, 154,2, 156,2, 160,4, 165,4, 192,9; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3581, 3059, 2992, 2917, 1691, 1645, 1599, 1509, 1468, 1415, 1355, 1619, 1291, 1274, 1219, 1108, 961, 842, 701, 555; Израчунато за  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_3$  (350,35 g/mol): C, 68,57; N, 8,00; H, 4,32%; Нађено: C, 68,35; N, 7,97; H, 4,33%.

**2-Ацетил-3-метил-1-(4-нитрофенил)-1*H*-пиразол[1,2-*b*]фталазин-5,10-дион (6д)**

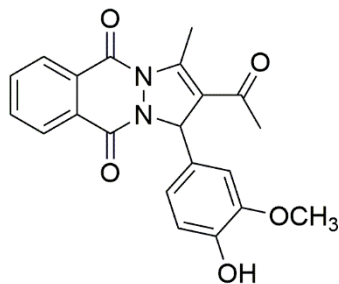
Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 211–214 °C (реф. 215–217 °C);  $^{285}\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,24 (s, 3H), 3,11 (d,  $J = 0,5$  Hz, 3H), 6,59–6,54 (m, 1H), 7,67 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 7,92–7,81 (m, 2H), 8,28–8,16 (m, 3H), 8,39–8,36 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,8, 30,6, 65,3, 119,3, 124,0, 127,4, 128,2, 128,4, 129,0, 129,5, 133,8, 134,5, 143,7, 146,3, 148,1, 154,3, 156,3, 192,1; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3436, 3075, 2922, 2850, 1689, 1648, 1603, 1516, 1470, 1414, 1355, 1321, 1292, 1108, 1015, 959, 876, 820, 694, 594; Израчунато за  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5$  (377,36 g/mol): C, 63,66; N, 11,14; H, 4,01%; Нађено: C, 63,43; N, 11,16; H, 4,03%.

**2-Ацетил-1-(4-хидроксифенил)-3-метил-1Н-пирозол[1,2-б]фталазин-5,10-дион (6ђ)**

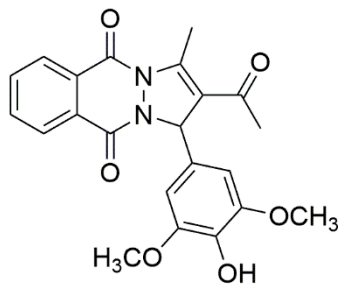
Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 205–206 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,09 (s, 3H), 3,07 (d,  $J = 1,5$  Hz, 3H), 6,44 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 6,73–7,64 (m, 2H), 7,25 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,88–7,78 (m, 2H), 8,26–8,21 (m, 1H), 8,40–8,30 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,5, 30,5, 65,9, 116,0, 119,1, 127,3, 127,8, 128,1, 128,8, 129,7, 133,5, 134,3, 145,9, 154,3, 156,2, 156,8, 193,7; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3370, 2922, 2851, 1647, 1602, 1516, 1419, 1354, 1318, 1290, 1275, 1105, 1015, 961, 837, 791, 697, 563; Израчунато за  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$  (348,36 g/mol): C, 68,96; N, 8,04; H, 4,63%; Нађено: C, 68,69; N, 8,07; H, 4,65%.

**2-Ацетил-1-(3,4-дихидроксифенил)-3-метил-1Н-пирозол[1,2-б]фталазин-5,10-дион (6е)**

Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 241–243 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$  и  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 2,05 (s, 3H), 3,00 (d,  $J = 1,5$  Hz, 3H), 6,33 (q,  $J = 1,4$  Hz, 1H), 6,77 (d,  $J = 1,7$  Hz, 2H), 6,91–6,88 (m, 1H), 7,83–7,77 (m, 2H), 8,19–8,14 (m, 1H), 8,32–8,27 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$  и  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 13,8, 29,8, 65,7, 114,9, 115,1, 119,1, 120,0, 126,7, 127,2, 127,6, 128,5, 129,2, 133,4, 134,1, 144,9, 145,5, 145,7, 154,1, 156,1, 194,5; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3483, 3223, 1687, 1637, 1598, 1518, 1470, 1375, 1356, 1289, 1200, 1106, 962, 891, 824, 764, 692, 579; Израчунато за  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$  (364,36 g/mol): C, 65,93; N, 7,69; H, 4,43%; Нађено: C, 65,75; N, 7,66; H, 4,41%.

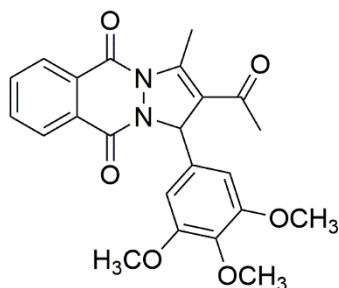
**2-Ацетил-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-3-метил-1Н-пирозол[1,2-б]фталазин-5,10-дион (6ж)**

Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 230–231 °С;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,10 (s, 3H), 3,07 (d,  $J = 1,5$  Hz, 3H), 3,90 (s, 3H), 5,80 (br, s, 1H), 6,45 (q,  $J = 1,4$  Hz, 1H), 6,87 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 6,94 (dd,  $J = 8,2, 1,9$  Hz, 1H), 7,02 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 7,87–7,76 (m, 2H), 8,30–8,19 (m, 1H), 8,36–8,31 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14,4, 30,5, 56,1, 65,9, 111,4, 114,7, 118,8, 121,2, 127,3, 127,9, 128,1, 128,9, 129,6, 133,4, 134,1, 145,9, 146,5, 146,7, 154,3, 156,3, 193,5; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3418, 2921, 2850, 1687, 1641, 1518, 1433, 1371, 1349, 1276, 1196, 1109, 1040, 959, 791, 696, 586; Израчунато за  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$  (378,38 g/mol): C, 66,66; N, 7,40; H, 4,80%; Нађено: C, 66,71; N, 7,42; H, 4,82%.

**2-Ацетил-1-(4-хидрокси-3,5-диметоксифенил)-3-метил-1Н-пиразол[1,2-б]фталазин-5,10-дион (бз)**

Браон прашкаста супстанца; Т.Т. 95–96 °C; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,09 (s, 3H), 3,08 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H), 3,89 (s, 6H), 5,57 (br, s, 1H), 6,44 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 6,70 (s, 2H), 7,85–7,81 (m, 2H), 8,30–8,21 (m, 1H), 8,38–8,30 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 14,4, 30,5, 56,5, 66,3, 105,6, 118,6, 127,2, 127,3, 127,9, 128,9, 129,6, 133,4, 134,2, 135,7, 145,9, 147,3, 154,5, 156,3, 193,6; IR (cm<sup>-1</sup>): 3420, 2939, 2842, 1721, 1687, 1646, 1602, 1516, 1465, 1430, 1355, 1306, 1111, 697;

Израчунато за C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (408,41 g/mol): C, 64,70; N, 6,86; H, 4,94%; Нађено: C, 64,45; N, 6,89; H, 4,96%.

**2-Ацетил-3-метил-1-(3,4,5-триметоксифенил)-1Н-пиразол[1,2-б]фталазин-5,10-дион (би)**

Жута прашкаста супстанца; Т.Т. 167–169 C; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,12 (s, 3H), 3,07 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,86 (s, 6H), 6,45 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 6,68 (s, 2H), 7,86–7,81 (m, 2H), 8,29–8,25 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,38–8,33 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 14,4, 30,5, 56,3, 60,7, 66,2, 105,9, 118,7, 127,3, 128,0, 128,9, 129,6, 131,7, 133,5, 134,2, 138,9, 145,9, 153,9, 154,5, 156,3, 193,4; IR (cm<sup>-1</sup>): 3452, 2927, 1655, 1682, 1599, 1504, 1465, 1421, 1353, 1315, 1255, 1199, 1128,

1042, 835, 786, 698; Израчунато за C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (422,44 g/mol): C, 65,40; N, 6,63; H, 5,25%; Нађено: C, 65,26; N, 6,65; H, 5,23%.

**3.10.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење ба**

$$AE = \frac{\text{молекулска маса производа}}{\text{укупна молекулска маса реактаната}} \times 100 = \frac{332,36}{(162,15 + 106,12 + 250,3)} \times 100 = 64,09\%$$

$$CE = \frac{\text{број } C \text{ атома производа} \times \text{број } mol \text{ — ова производа}}{\text{збир производа броја } C \text{ атома и } mol \text{ — ова свих реактаната}} \times 100 = \frac{20 \times 0,00082}{(8 \times 0,001 + 7 \times 0,001 + 5 \times 0,0025)} \times 100 = 60\%$$

$$RME = \frac{\text{маса производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100 = \frac{0,273g}{(0,162g + 0,106g + 0,250g)} \times 100 = 52,56\%$$

$$MI = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,162g + 0,106g + 0,250g + 0,030g)}{0,273g} = 2,01 (g/g)$$

$$E - factor = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,162g + 0,106g + 0,250g + 0,030g) - 0,273g}{0,273g} = 1,01 (g/g)$$

The screenshot shows the EcoScale calculator interface. It includes sections for Reagents, Products, and Conditions. The Reagents table lists 2,4-Pentanedione, Phthalhydrazide, bis(2-hydroxyethyl)ammonium 2-chloroacetate, and Benzaldehyde. The Products table shows 2-acetyl-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazolo[1,2-b]ph. The Conditions table lists reagents and their quantities. The interface also includes fields for Yield, Price/availability, Safety, Technical setup, Temperature/time, and Workup and purification, with a final EcoScale score of 64.

Link	identifier*	name	MP*	HW	density	purity*	ml	g	mmoles	equiv.
1		2,4-Pentanedione	CSH002	100.11732	0.975	100%	0.256711	0.250293	2.5	1
2		Phthalhydrazide	CBH2N2O2	162.14784		100%	0	0.162146	1	0.4
3		bis(2-hydroxyethyl)ammonium 2-chloroacetate	CBH14ClNO4	199.63		100%	0	0.029945	0.15	0.06
4		Benzaldehyde	CH6O	106.12404	1.05	100%	0.10107	0.106124	1	0.4

Products	identifier*	name	MP*	HW	g	mmoles	g theor.	yield
		2-acetyl-3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazolo[1,2-b]ph	C20H16N2O3	332.36	0.27254	0.8200144421	0.8309	32.6006

Conditions	Reagents	Name	mmoles	eq.	Bp	Hazard	Price
		2,4-Pentanedione	9.17	1	133		
		Phthalhydrazide	3.66	0.4			
		bis(2-hydroxyethyl)ammonium 2-chloroacetate	0.55	0.06			
		Benzaldehyde	3.66	0.4	179		

Yield: 62

Price/availability: -11

Safety: 0

Technical setup: 0

Temperature/time: 3

Workup and purification: -13

EcoScale: 64

Слика 68. Приказ рачунања EcoScale параметра за једињење 6a.

### 3.11. Генерална процедура за синтезу функционализованих тетрахидропиридина 8a–к

#### Метода А

Смеси анилина (2 mmol) и метил ацетоацетата (1 mmol) у 2 mL етанола додата је јонска течност DHS (15 mol%). Након 15 минута, овој смеси је додат одговарајући ароматични алдехид (2 mmol). Реакциона смеша је мешана уз рефлукс 6h и формирање производа је праћено помоћу танкослојне хроматографије. По завршетку реакције, растварач је упарен под сниженим притиском, остатку је додата смеша етанола и воде, затим је настали талог одвојен филтрирањем. Сви изоловани производи били су чисти одмах након цеђења, тако да додатно пречишћавање није било потребно. Производи су окарактерисани спектроскопским методама и елементалном анализом.<sup>254</sup>

#### Метода Б

Смеси анилина (2 mmol) и метил ацетоацетата (1 mmol) у 2 mL етанола додата је GA (30% етанолски раствор). Након 15 минута, овој смеси је додат одговарајући ароматични алдехид (2 mmol). Реакциона смеша је мешана на собној температури 1 h и формирање производа је праћено помоћу танкослојне хроматографије. По завршетку реакције, растварач је упарен под сниженим притиском, остатку је додата смеша етанола и воде, затим је настали талог одвојен филтрирањем. Сви изоловани производи били су чисти одмах након цеђења, тако да додатно пречишћавање није било потребно. Производи су окарактерисани спектроскопским методама и елементалном анализом.<sup>254</sup>

### Синтеза јонске течности DHS

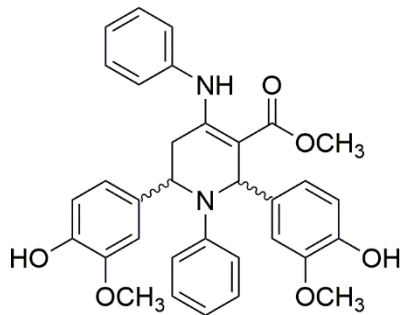
Јонска течност DHS је синтетисана на сличан начин као јонске течности [HDEA][Ac] и [HDEA][ClAc]. Реакциона смеша, припремљена уклапавањем стехиометријске количине сумпорне киселине у дихлорметан-етанолски раствор диетаноламина, мешана је 2 h на собној температури. По завршетку реакције, органски растварачи су упарени под сниженим притиском, а затим је остатак сушен још 4 h под вакуумом.<sup>343</sup> Добијено једињење је безбојна, вискозна течност. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3,25 (2H, t), 3,74 (2H, t); IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3231, 2452, 1620, 1533, 1364, 1310, 1112, 1025.<sup>254</sup>

### Рециклирање DHS/GA

Након филтрирања производа, остатак растварача је упарен под сниженим притиском, а резултујућа смеша растворена у води и водени део одвојен. Након упаравања воде, остаци DHS/GA су поново коришћени директно без даљег пречишћавања. На овај начин рециклирани катализатори су употребљени три пута у новим реакцијама без значајног смањења приноса производа.<sup>254</sup>

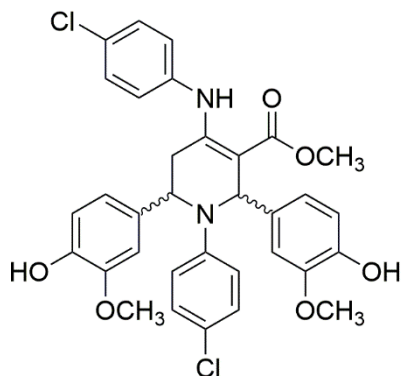
### 3.11.1. Спектроскопски подаци тетрахиdropиридина 8a–к

**Метил 2,6-бис(4-хидрокси-3-метоксифенил)-1-фенил-4-(фениламино)-1,2,5,6-тетрахиdropиридин-3-карбоксилат (8a)**



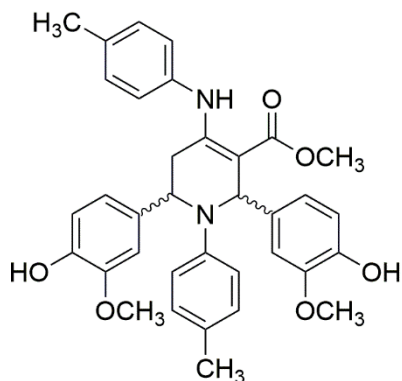
Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 190–192 °C; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,74 (1H, dd, *J* = 2,6 Hz, *J* = 14,9 Hz), 2,91 (1H, dd, *J* = 5,4 Hz, *J* = 15,0 Hz), 3,71 (3H, s), 3,79 (3H, s), 3,90 (3H, s), 5,04 (1H, br s), 5,52 (1H, s), 5,54 (1H, s), 6,31 (s, 1H), 6,39 (2H, dd, *J* = 7,4 Hz, *J* = 2,1 Hz), 6,53–6,88 (8H, m), 7,03–7,15 (5H, m), 10,26 (1H, br s), <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 33,89, 50,88, 55,13, 55,81, 57,77, 97,79, 108,90, 109,43, 113,16, 113,76, 114,39, 116,28, 119,21, 125,77, 125,90, 128,83, 134,64, 135,76, 137,90, 144,08, 144,64, 146,44, 147,05, 156,72, 168,48; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3387, 3029, 2996, 2956, 2632, 2535, 2060, 1939, 1816, 1646, 1591, 1578, 1509, 1451, 1426, 1369, 1329, 1236, 1119, 1067, 1033, 989, 943, 855, 825, 788, 749, 695, 605, 561, 498; Израчунато за C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (552,63 g/mol): C, 71,72; H, 5,84; N, 5,07; Нађено: C, 71,46; H, 5,82; N, 5,06.

**Метил 1-(4-хлорфенил)-4-((4-хлорфенил)амино)-2,6-бис(4-хидрокси-3-метоксифенил)-1,2,5,6-тетрахиdropиридин-3-карбоксилат (8б)**



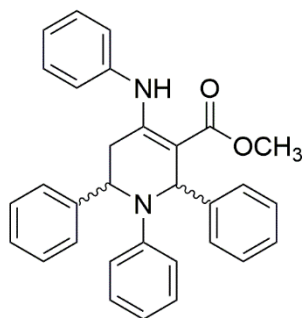
Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 174–176 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,67 (1H, dd,  $J = 2.6$  Hz,  $J = 15.0$  Hz), 2,89 (1H, dd,  $J = 5.3$  Hz,  $J = 15.0$  Hz), 3,72 (3H, s), 3,80 (3H, s), 3,91 (3H, s), 4,99 (1H, br s), 5,54 (1H, s), 5,58 (1H, s), 6,25 (2H, d,  $J = 5.3$  Hz), 6,31 (1H, s), 6,45 (2H, d,  $J = 9.1$  Hz), 6,57 (1H, s), 6,65 (2H, t,  $J = 7.7$  Hz), 6,82 (2H, t,  $J = 8.8$  Hz), 7,00 (2H, d,  $J = 9.1$  Hz), 7,10 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 10,19 (1H, br s),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 33,77, 51,05, 55,32, 55,76, 57,86, 98,33, 108,69, 109,26, 113,90, 114,25, 114,55, 119,10, 121,37, 127,15, 128,99, 131,52, 133,99, 134,94, 136,43, 144,29, 145,57, 146,77, 156,07, 168,37; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3543, 3437, 2954, 2846, 2629, 2295, 2056, 1853, 1643, 1612, 1593, 1510, 1451, 1374, 1316, 1265, 1230, 1115, 1069, 1031, 983, 862, 840, 805, 747, 557, 501; Израчунато за  $\text{C}_{33}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_6$  (621,51 g/mol): C, 63,77; H, 4,87; N, 4,51; Нађено: C, 63,96; H, 4,88; N, 4,50.

**Метил 2,6-бис(4-хидрокси-3-метоксифенил)-1-(*p*-толил)-4-(*p*-толиламино)-1,2,5,6-тетрахиdropиридин-3-карбоксилат (8в)**



Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 176–178 °C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,16 (3H, s), 2,27 (3H, s), 2,69 (1H, dd,  $J = 2.8$ ,  $J = 15.1$  Hz), 2,86 (1H, dd,  $J = 5.1$  Hz,  $J = 14.7$  Hz), 3,71 (3H, s), 3,80 (3H, s), 3,88 (3H, s), 4,99 (1H, br s), 5,49 (1H, br s), 6,24–6,28 (m, 3H), 6,45 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 6,62–6,95 (9H, m), 10,18 (1H, br s);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 20,12, 20,83, 33,90, 50,77, 55,44, 55,82, 57,76, 97,40, 109,11, 109,61, 113,36, 113,73, 114,36, 119,31, 125,29, 126,03, 129,32, 135,05, 135,35, 135,66, 136,16, 144,08, 144,66, 145,01, 146,45, 146,68, 157,07, 168,53; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3410, 3003, 2919, 2623, 2150, 1648, 1600, 1513, 1462, 1428, 1369, 1261, 1119, 1071, 1034, 989, 789, 731, 558; Израчунато за  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$  (580,68 g/mol): C, 72,40; H, 6,25; N, 4,82; Нађено: C, 72,30; H, 6,24; N, 4,81.

**Метил 1,2,6-трифенил-4-(фениламино)-1,2,5,6-тетрахиdropиридин-3-карбоксилат (8г)**

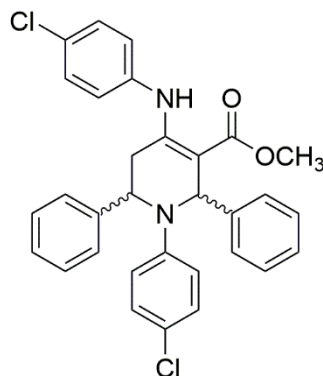


Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 180–182 °C (180–182°C);<sup>344</sup>  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,75 (1H, dd,  $J = 2.7$  Hz,  $J = 15.2$  Hz), 2,88 (1H, dd,  $J = 5.6$  Hz,  $J = 15.2$  Hz), 3,93 (3H, s), 5,14 (1H, br s), 6,32 – 6,23 (2H, m), 6,45 (1H, s), 6,52 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 6,62 (2H, d,  $J = 7.3$  Hz), 7,0–7,12 (5H, m), 7,16 (2H, dd,  $J = 2.7$  Hz,  $J = 6.7$  Hz), 7,21–7,25 (3H, m), 7,25–7,36 (4H, m), 10,25 (1H, br s);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 33,59, 50,99, 55,11, 58,16, 97,94, 112,90, 116,14, 125,71, 125,81, 126,27, 126,35, 126,60, 127,09, 128,19, 128,58, 128,80, 128,83, 137,80, 142,69, 143,90, 146,91, 156,19, 168,50; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3412, 3249, 3025, 2949, 2869, 2579, 1963, 1816, 1661, 1587, 1503, 1492, 1451, 1375, 1318, 1255, 1191, 1077, 1032, 1013, 979, 930, 800, 781, 728, 698, 584, 544,



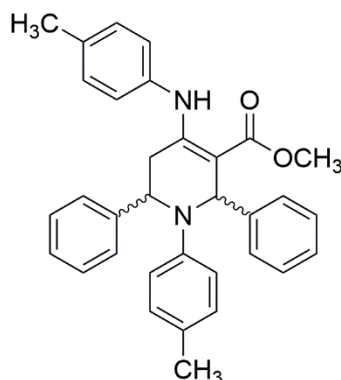
483; Израчунато за  $C_{31}H_{28}N_2O_2$  (460,58 g/mol): C, 80,84; H, 6,13; N, 6,08; Нађено: C, 80,23; H, 6,11; N, 5,98.

**Метил 1-(4-хлорфенил)-4-((4-хлорфенил)амино)-2,6-дифенил-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8д)**



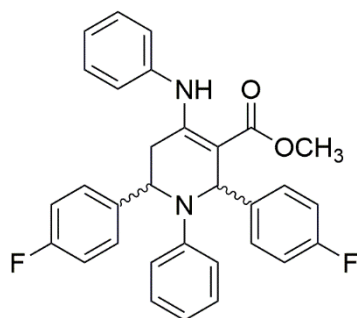
Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 203–204 °C, (204°C);<sup>344</sup>  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2,68 (1H, dd,  $J = 2,4$  Hz,  $J = 15,1$  Hz), 2,86 (1H, dd,  $J = 5,7$  Hz,  $J = 15,1$  Hz), 3,94 (3H, s), 5,10 (1H, d,  $J = 3,0$  Hz), 6,24 – 6,06 (2H, m), 6,40 (2H, t,  $J = 3,3$  Hz), 6,44 (1H, d,  $J = 2,2$  Hz), 6,97 (1H, d,  $J = 2,3$  Hz), 7,02 (2H, q,  $J = 2,1$  Hz), 7,07 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 7,14 (2H, dd,  $J = 7,1, 2,4$  Hz), 7,32 – 7,22 (8H, m), 10,19 (1H, br s);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 33,45, 51,14, 55,29, 58,28, 98,47, 114,01, 121,25, 126,27, 126,47, 126,56, 127,05, 127,44, 128,35, 128,69, 128,79, 129,00, 131,45, 136,34, 142,22, 143,14, 145,46, 155,54, 168,42; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3413, 3259, 3024, 2948, 2858, 2413, 1651, 1816, 1600, 1582, 1503, 1492, 1451, 1375, 1318, 1255, 1077, 1032, 1013, 979, 800, 728, 698, 483; Израчунато за  $C_{31}H_{26}N_2O_2Cl_2$  (529,46 g/mol): C, 70,32; H, 4,95; N, 5,29; Нађено: C, 69,98; H, 4,96; N, 5,31.

**Метил 2,6-дифенил-1-(*p*-толил)-4-(*p*-толиламино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8ђ)**



Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 224–225 °C (223–224°C);<sup>344</sup>  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2,14 (3H, s), 2,25 (3H, s), 2,71 (1H, dd,  $J = 2,8$  Hz,  $J = 15,1$  Hz), 2,83 (1H, dd,  $J = 5,5$  Hz,  $J = 15,0$  Hz), 3,91 (3H, s), 5,10 (1H, br s), 6,12 (1H, s), 6,16 (1H, s), 6,40 (2H, s), 6,44 (1H, s), 6,87 (4H, dd,  $J = 3,7$  Hz,  $J = 8,4$  Hz), 7,11–7,20 (2H, m), 7,20–7,34 (8H, m), 10,16 (1H, br s);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 20,07, 20,83, 33,52, 50,87, 55,20, 58,16, 97,45, 112,87, 125,02, 125,93, 126,17, 126,40, 126,63, 127,00, 128,15, 128,55, 129,39, 135,16, 135,58, 143,00, 144,25, 144,80, 156,57, 168,56; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3412, 3026, 3024, 2918, 2852, 2579, 1656, 1617, 1592, 1516, 1451, 1375, 1317, 1257, 1189, 1076, 979, 930, 767, 697, 471; Израчунато за  $C_{33}H_{32}N_2O_2$  (488,63 g/mol): C, 81,12; H, 6,60; N, 5,73; Нађено: C, 80,95; H, 6,58; N, 5,74.

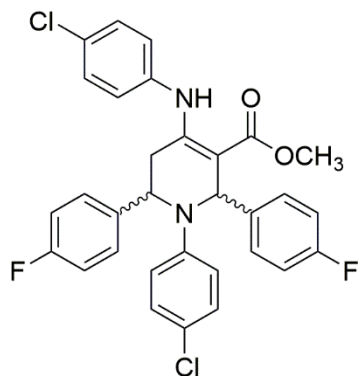
**Метил 2,6-бис(4-флуорфенил)-1-фенил-4-(фениламино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8е)**



Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 194–195 °C (191–193°C);<sup>299</sup>  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2,81 (2H, d,  $J = 5,9$  Hz), 3,92 (3H, s), 5,11 (1H, br s), 6,38–6,50 (5H, m), 6,66 (1H, t,  $J = 8,2$  Hz), 6,96 (5H, t,  $J = 8,1$  Hz), 7,05–7,18 (8H, m), 10,29 (1H, br s);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 33,78, 51,08, 57,33, 113,04, 114,79, 115,22, 115,24, 115,67, 125,71, 125,95, 127,85, 128,00, 128,09, 128,96, 137,69, 156,02, 168,34; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3412, 3253, 2948, 2432, 2049, 1664, 1606, 1588, 1504, 1374, 1322, 1249, 1224, 1155, 1078, 923, 860, 833, 747, 688, 524;

Израчунато за  $C_{31}H_{26}N_2O_2F_2$  (496,56 g/mol): C, 74,98; H, 5,28; N, 5,64; Нађено: C, 75,10; H, 5,27; N, 5,62.

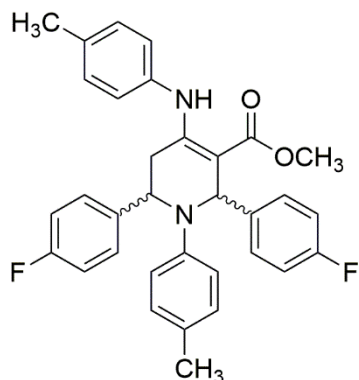
**Метил 1-(4-хлорфенил)-4-((4-хлорфенил)амино)-2,6-бис(4-флуорфенил)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8ж)**



Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 176–178 °C (174–177°C);<sup>345</sup>  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2,70 (1H, d,  $J = 15,2$  Hz), 2,83 (1H, dd,  $J = 5,2$  Hz,  $J = 14,6$  Hz), 3,93 (3H, s), 5,08 (1H, br s), 6,22–6,49 (5H, m), 6,93–7,00 (7H, m), 7,11 (2H, s), 7,15 (1H, s), 10,24 (1H, br s);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 33,69, 51,24, 54,98, 57,43, 98,34, 114,24, 114,98, 115,40, 115,46, 115,89, 126,89, 127,79, 127,97, 128,14, 128,84, 129,18, 131,71, 136,26, 137,55, 138,67, 145,11, 155,34, 168,24; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3448, 3243, 2920, 2851, 2354, 1890, 1658, 1606, 1591, 1504, 1255, 1155, 1093, 1072, 1013, 907, 830, 730, 493;

Израчунато за  $C_{34}H_{24}N_2O_2F_2Cl_2$  (564,44 g/mol): C, 65,85; H, 4,28; N, 4,95; Нађено: C, 65,95; H, 4,27; N, 4,94.

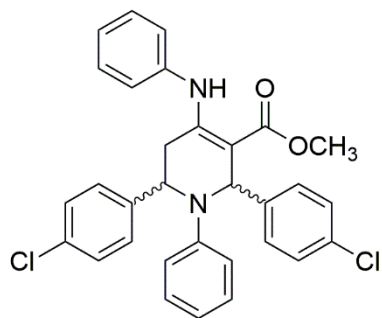
**Метил 2,6-бис(4-флуорфенил)-1-(*p*-толил)-4-(*p*-толиламино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8з)**



Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 204–206 °C (200–202°C);<sup>346</sup>  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2,18 (3H, s), 2,29 (3H, s), 2,63–2,87 (2H, m), 3,92 (3H, s), 5,08 (1H, br s), 6,27 (2H, d,  $J = 8,3$  Hz), 6,32–6,44 (1H, m), 6,87–7,14 (12H, m), 7,22–7,29 (3H, m), 10,20 (1H, br s);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 20,09, 20,86, 33,70, 50,97, 54,80, 57,30, 113,01, 114,71, 115,13, 115,61, 125,83, 128,03, 129,50, 135,03, 135,86, 144,42, 151,08, 156,36, 168,31; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3407, 3254, 3009, 2920, 2865, 2429, 2018, 1656, 1601, 1505, 1452, 1372, 1315, 1255, 1221, 1156, 1074, 979, 822, 796, 536, 501; Израчунато за  $C_{33}H_{30}N_2O_2F_2$  (524,23 g/mol): C, 75,55; H, 5,76; N, 5,34;

Нађено: C, 75,82; H, 5,77; N, 5,35.

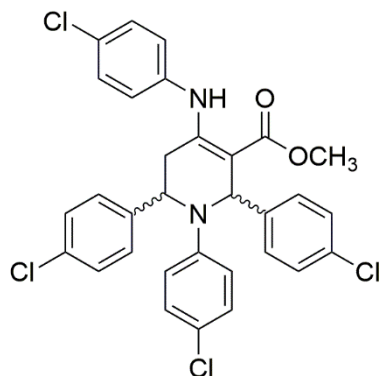
**Метил 2,6-бис(4-хлорфенил)-1-фенил-4-(фениламино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8и)**



Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 191–192 °C (189–191°C);<sup>294</sup>  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2,81 (2H, d,  $J = 5,5$  Hz), 3,92 (3H, s), 5,10 (1H, br s), 6,26–6,54 (5H, m), 6,66 (1H, t,  $J = 7,3$  Hz), 7,12 (8H, dd,  $J = 7,4$  Hz,  $J = 19,6$  Hz), 7,23 (5H, d,  $J = 3,9$  Hz), 10,27 (1H, br s);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 33,71, 51,11, 54,88, 57,39, 97,63, 113,07, 116,87, 125,75, 126,03, 127,80, 128,08, 128,41, 128,78, 129,03, 132,21, 132,93, 137,68, 140,94, 142,39, 146,49, 155,95, 168,28; IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3448, 3242, 3057, 2947, 2869, 1903, 1655, 1596,

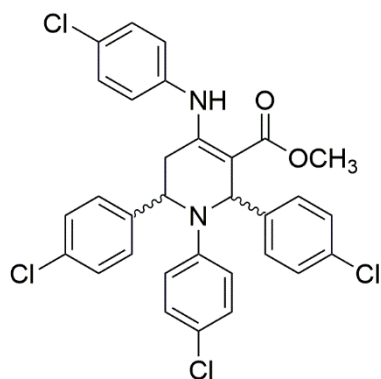
1500, 1406, 1370, 1328, 1263, 1072, 1012, 861, 748, 698, 528; Израчунато за  $C_{31}H_{26}N_2O_2Cl_2$  (528,14 g/mol): C, 70,32; H, 4,95; N, 5,29; Нађено: C, 69,97; H, 5,11; N, 5,43.



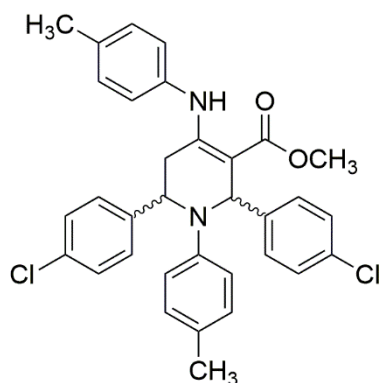
**anti Метил 1,2,6-трис(4-хлорфенил)-4-((4-хлорфенил)амино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8j)**

Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 191–193 °С (190–192°С);<sup>345</sup> <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,60–2,88 (2H, m), 3,91 (3H, s), 5,04 (1H, br s), 6,25–6,38 (5H, m), 6,98–7,25 (12H, m), 10,20 (1H, br s); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 33,59, 51,29, 55,04, 57,46, 98,11, 114,16, 122,04, 122,17, 123,83, 126,93, 127,69, 127,91, 128,56, 128,95, 129,21, 130,87, 131,81, 132,52, 133,30, 136,18, 140,37, 141,63, 145,01, 155,28, 168,17; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3437, 3249, 2945, 1909, 1656, 1583, 1490, 1370, 1316, 1254, 1090, 1073, 1012, 977, 801, 489; Израчунато за C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub> (598,35 g/mol):

C, 62,23; H, 4,04; N, 4,68; Нађено: C, 61,98; H, 4,06; N, 4,67.

**syn Метил 1,2,6-трис(4-хлорфенил)-4-((4-хлорфенил)амино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8j)**

Бела прашкаста супстанца; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,34–2,74 (2H, m), 3,74 (3H, s), 4,45 (1H, dd, *J* = 12,3, 3,7 Hz), 5,94 (1H, s), 6,70 (2H, d, *J* = 9,1 Hz), 6,89 (2H, d, *J* = 8,6 Hz), 7,07 (2H, d, *J* = 9,1 Hz), 7,18–7,23 (5H, m), 7,35–7,50 (5H, m), 10,59 (1H, br s).

**Метил 2,6-бис(4-хлорфенил)-1-(*p*-толил)-4-(*p*-толиламино)-1,2,5,6-тетрахидропиридин-3-карбоксилат (8к)**

Бела прашкаста супстанца; Т.Т. 211–214 °С (213–215°С);<sup>347</sup> <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,17 (3H, s), 2,29 (3H, s), 2,75 (2H, d, *J* = 4,5 Hz), 3,91 (3H, s), 5,05 (1H, br s), 6,26–6,38 (5H, m), 6,86–7,08 (7H, m), 7,23–7,25 (6H, m), 10,16 (1H, br s); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 20,07, 20,86, 33,58, 51,01, 54,88, 57,31, 57,31, 97,01, 112,98, 125,84, 127,83, 128,07, 128,31, 128,70, 129,55, 132,03, 132,76, 134,95, 135,94, 141,19, 142,68, 144,31, 156,28, 168,29; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3448, 3258, 2988, 2944, 1657, 1581, 1515, 1488, 1256, 1073, 1012, 797, 617, 537, 492; Израчунато за C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (557,52 g/mol): C, 71,09; H, 5,42; N, 5,02;

Нађено: C, 71,39; H, 5,39; N, 5,06.

## 3.11.2. Прорачун „зелених” параметара за једињење 8a

**Метода А**

$$AE = \frac{\text{молекулска маса производа}}{\text{укупна молекулска маса реактаната}} \times 100 = \frac{552,63}{(304,3 + 186,26 + 116,12)} \times 100 = 91,09\%$$

$$CE = \frac{\text{број } C \text{ атома производа} \times \text{број } mol \text{ – ова производа}}{\text{збир производа броја } C \text{ атома и } mol \text{ – ова свих реактаната}} \times 100 = \frac{33 \times 0,00075}{(8 \times 0,002 + 6 \times 0,002 + 5 \times 0,001)} \times 100 = 75\%$$

$$RME = \frac{\text{маса производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100 = \frac{0,414g}{(0,304g + 0,186g + 0,116g)} \times 100 = 68,32\%$$

$$MI = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,304g + 0,186g + 0,116g + 0,030g + 1,578g)}{0,414g} = 5,34 (g/g)$$

$$E - factor = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,304g + 0,186g + 0,116g + 0,030g + 1,578g) - 0,414g}{0,414g} = 4,34 (g/g)$$

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
identifier*	name	MF*	MW	density	purity*	ml	g	mmoles	equiv.					
1	Methyl acetoacetate	C5H8O3	116.11672	1.077	100%	0.107815	0.116117	1	1					
2	bis(2-hydroxyethyl)ammonium hydrogen s	C4H13NO6S	203.21032		100%	0	0.030482	0.15	0.15					
3	Ethanol	C2H6O	46.06904	0.79	100%	2	1.58	34.29635179	34.29635179					
4	Vanillin	C8H8O3	152.14972	1.06	100%	0.287075	0.304299	2	2					
5	Aniline	C6H7N	93.12828	1.0213	100%	0.182372	0.186257	2	2					

Products	name	MF*	MW	g	mmoles	g theor.	yield:
1	methyl 2,6-bis(4-hydroxy-3-methoxypheno	C33H32N2O6	552.63	0.41447	0.749995476	0.55263	74.9995

Conditions	Name	mmoles	eq.	bp	Hazard	Price
Reagents	Methyl acetoacetate	2.41	1	169		
	bis(2-hydroxyethyl)ammonium hydrogen sulfate	0.36	0.15			
	Ethanol	82.74	34.29			
	Vanillin	4.82	2	nan		
	Aniline	4.82	2	181		
	Yield	75				-13
	Price / availability					-25
	Safety					-15
Technical setup	Possible items	Selected items				
	Common set-up	Common set-up				
	Instruments for controlled addition of chemicals					
	Unconventional activation technique					
Temperature / time	Possible items	Selected items				
	Heating, < 1h	Heating, > 1h				
	Heating, > 1h					
	Cooling to 0°C					
Workup and purification	Possible items	Selected items				
	Adding solvent	Removal of solvent with bp < 150°C				
	Simple filtration	Adding solvent				
	Removal of solvent with bp < 150°C	Simple filtration				
EcoScale						44

Слика 69. Приказ рачунања EcoScale параметра за једињење 8a (метода А).

**Метода Б**

$$AE = \frac{\text{молекулска маса производа}}{\text{укупна молекулска маса реактаната}} \times 100 = \frac{552,63}{(304,3 + 186,26 + 116,12)} \times 100 = 91,09\%$$

$$CE = \frac{\text{број } C \text{ атома производа} \times \text{број } mol - \text{ова производа}}{\text{збир производа броја } C \text{ атома и } mol - \text{ова свих реактаната}} \times 100$$

$$= \frac{33 \times 0,00088}{(8 \times 0,002 + 6 \times 0,002 + 5 \times 0,001)} \times 100 = 88\%$$

$$RME = \frac{\text{маса производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100 = \frac{0,486g}{(0,304g + 0,186g + 0,116g)} \times 100 = 80,16\%$$

$$MI = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,304g + 0,186g + 0,116g + 0,7g + 1,578g)}{0,486g} = 5,93 (g/g)$$

$$E - factor = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,304g + 0,186g + 0,116g + 0,7g + 1,578g) - 0,486g}{0,486g} = 4,93 (g/g)$$

identifier*	name	MF*	MW	density	purity*	ml	g	mmoles	equiv.	
1	Methyl acetoacetate	C5H8O3	116.11672	1.077	100%	0.107815	0.116117	1	1	
2	Glycolic acid	C2H4O3	76.05196		100%	0	0.7	9.2042335298	9.2042335298	
3	Ethanol	C2H6O	46.06904	0.79	100%	2	1.58	34.206351738	34.206351738	
4	Vanillin	C8H8O3	152.14972	1.06	100%	0.287075	0.304290	2	2	
5	Aniline	C6H7N	93.12828	1.0213	100%	0.182372	0.186257	2	2	

Products	name	MF*	MW	g	mmoles	g theor.	yield
	methyl 2,6-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1	C33H32N2O6	552.63	0.48631	0.8799020381	0.55263	87.9902

Conditions	Name	mmoles	eq.	Bp	Hazard	Price
Reagents	Methyl acetoacetate	2.05	1	169		
	Glycolic acid	18.92	9.2	100		
	Ethanol	70.52	34.29			
	Vanillin	4.11	2	NAN		
	Aniline	4.11	2	181		
Yield	88					-6
Price / availability						-18
Safety						-15
Technical setup	Possible Items Common set-up Instruments for controlled addition of chemicals Unconventional activation technique					0
Temperature / time	Possible Items Room temperature, < 1h Room temperature, < 24h Heating, < 1h					0
Workup and purification	Possible Items None Cooling to room temperature Adding solvent					0
Selected Items	Common set-up Room temperature, < 1h Simple filtration Adding solvent					0
EcoScale						01

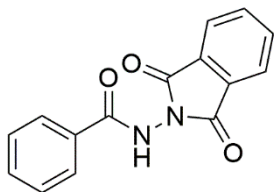
Слика 70. Приказ рачунања EcoScale параметра за једињење **8a** (метода Б).

### 3.12. Генерална процедура за синтезу изоиндолин-1,3-диона **9a-љ**

Смеша анхидрида фталне киселине (1 mmol) и одговарајућег хидразида (1 mmol) у води као растварачу (2 mL) загревана је на 80 °C уз употребу ултразвучног купатила. Реакција је праћена помоћу танкослојне хроматографије. У свим реакцијама, образовани талог је процеђен и испран водом. Сви изоиндолин-1,3-дионски производи (**9a-љ**) су окарактерисани тачкама топљења, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR и IR спектрима. За нова једињења, **9g-ђ**, **9z** и **9и**, чистоћа је потврђена и елементалном анализом. Додатно, за једињење **9ж** одређена је кристална структура по први пут.<sup>310</sup>

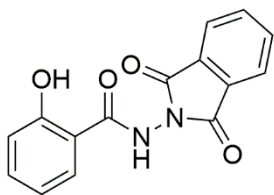
### 3.12.1. Спектроскопски подаци изоиндолин-1,3-диона 9а–љ

#### *N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)бензамид (9а)



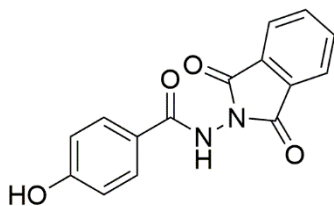
Беж прашкаста супстанца, Т.Т. 216–218 °С; Принос: 84%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,64–7,42 (m, 3H), 8,04–7,76 (m, 6H), 11,15 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 123,37, 127,67, 128,21, 129,61, 130,80, 132,23, 134,61, 164,94, 165,29; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3240 (NH), 1666–1800 (3C=O).

#### *N*-(1,3- Диоксоизоиндолин-2-ил)-2-хидроксибензамид (9б)



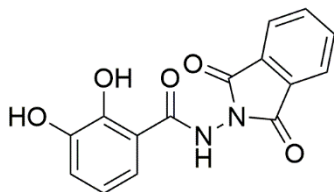
Беж прашкаста супстанца, Т.Т. 245–247 °С; Принос: 73%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 7,02 (dd,  $J = 14,4, 7,5$  Hz, 2H), 7,59–7,43 (m, 1H), 8,13–7,79 (m, 5H), 10,91 (s, 1H), 11,39 (s, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 115,14, 117,33, 119,58, 123,90, 129,61, 129,95, 134,70, 135,43, 158,04, 165,21, 166,08; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3043–3380 (NH/OH), 1655–1795 (3C=O).

#### *N*-(1,3- Диоксоизоиндолин-2-ил)-4-хидроксибензамид (9в)



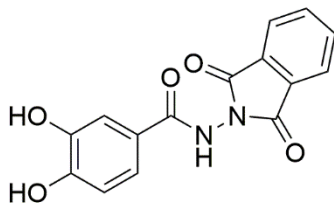
Бела прашкаста супстанца, Т.Т. > 250 °С; Принос: 85%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6,83 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,81 (d,  $J = 3,7$  Hz, 2H), 7,95–7,83 (m, 4H), 9,96 (s, 1H), 10,83 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 115,02, 121,33, 123,30, 129,69, 129,76, 134,52, 161,31, 165,02, 165,21; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3212–3457 (NH/OH), 1661–1797 (3C=O).

#### *N*-(1,3- Диоксоизоиндолин-2-ил)-2,3-дихидроксибензамид (9г)

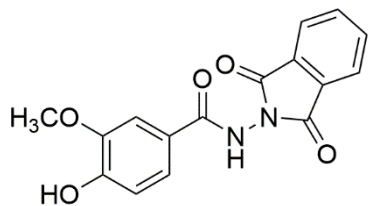


Беж прашкаста супстанца, Т.Т. 220 °С; Принос: 80%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 6,82 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H), 7,06 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 7,39 (d,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 8,06–7,90 (m, 4H), 9,95 (s, 1H), 11,04 (s, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 114,60, 118,86, 119,22, 119,96, 123,97, 129,63, 135,49, 146,37, 148,18, 165,22, 167,43; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3289–3503 (NH/OH), 1644–1787 (3C=O); Израчунато за  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5$  (298,25 g/mol): C, 60,41; N, 9,39; H, 3,38%; Нађено: C, 59,95; N, 9,46; H, 3,63%.

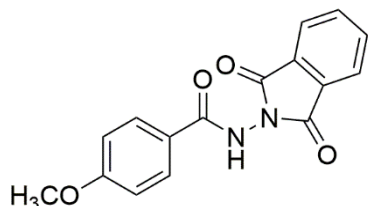
#### *N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-3,4-дихидроксибензамид (9д)



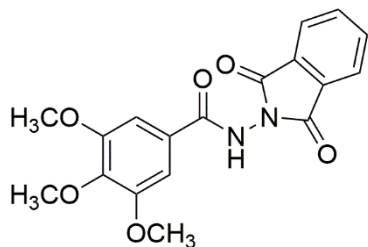
Беж прашкаста супстанца, Т.Т. 230–232 °С; Принос: 78%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 6,87 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,42–7,30 (m, 2H), 8,06–7,89 (m, 4H), 9,42 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 10,96 (s, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 115,37, 115,51, 120,10, 121,83, 123,89, 129,61, 135,44, 145,32, 149,98, 165,18, 165,64; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3301–3535 (NH/OH), 1674–1790 (3C=O); Израчунато за  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5$  (298,25 g/mol): C, 60,41; N, 9,39; H, 3,38%; Нађено: C, 60,22; N, 8,99; H, 3,71%.

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-4-хидрокси-3-метоксибензамид (9ђ)**

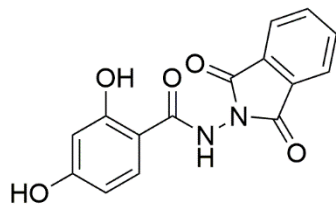
Бела прашкаста супстанца, Т.Т. 233–235 °С; Принос: 74%;  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3,86 (s, 3H), 6,88 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,57–7,44 (m, 2H), 8,00–7,80 (m, 4H), 9,75 (s, 1H), 10,95 (s, 1H),  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz, DMSO и  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55,72, 111,57, 115,00, 121,54, 121,79, 123,48, 129,64, 134,81, 147,26, 150,85, 164,84, 165,29; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3395 (NH/OH), 1672–1794 (3C=O), 1219–1277 ( $\text{OCH}_3$ ); Израчунато за  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5$  (312,28 g/mol): C, 61,54; N, 8,97; H, 3,87%; Нађено: C, 61,22; N, 9,07; H, 3,90%.

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-4-метоксибензамид (9е)**

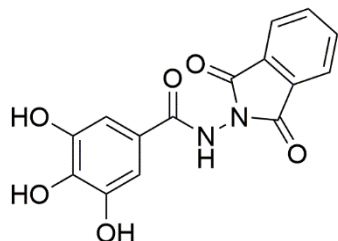
Жута прашкаста супстанца, Т.Т. 223–225 °С; Принос: 89%;  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3,87 (s, 3H), 6,98–6,87 (m, 2H), 7,80 (dd,  $J = 5,5, 3,1$  Hz, 2H), 7,97–7,83 (m, 4H), 8,32 (s, 1H);  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55,51, 114,03, 122,91, 124,01, 129,70, 130,17, 134,64, 163,24, 165,25, 165,43; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3214–3523 (NH), 1652–1796 (3C=O), 1207–1285 ( $\text{OCH}_3$ ).

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-3,4,5-триметоксибензамид (9ж)**

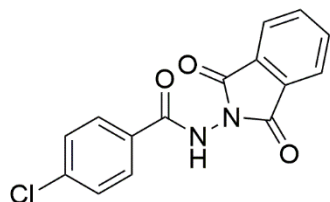
Бела кристална супстанца (1:1 = пропанол : дихлорметан), Т.Т. 226–228 °С; Принос: 74%;  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8,83 (s, 1H), 7,98–7,78 (m, 4H), 7,13 (d,  $J = 0,5$  Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,89 (s, 3H), 3,86 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 165,59, 165,34, 153,18, 142,19, 134,75, 130,12, 125,48, 124,05, 105,27, 60,89, 56,36; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3070–3504 (NH), 1682–1790 (3C=O), 1224–1270 ( $\text{OCH}_3$ ).

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-2,4-дихидроксибензамид (9з)**

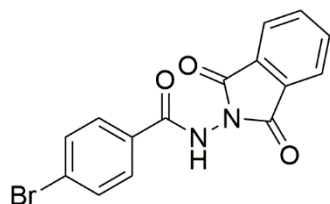
Браон прашкаста супстанца, Т.Т. 230–232 °С; Принос: 72%;  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 6,49–6,34 (m, 2H), 7,79 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 8,05–7,90 (m, 4H), 10,37 (s, 1H), 10,73 (s, 1H), 11,54 (s, 1H);  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 102,78, 105,86, 108,15, 123,79, 129,53, 131,02, 135,33, 160,80, 163,21, 165,32, 166,62; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3307 (NH/OH), 1648–1790 (3C=O); Израчунато за  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5$  (298,25 g/mol): C, 60,41; N, 9,39; H, 3,38%; Нађено: C, 60,05; N, 9,70; H, 3,56%.

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-3,4,5-трихидроксибензамид (9и)**

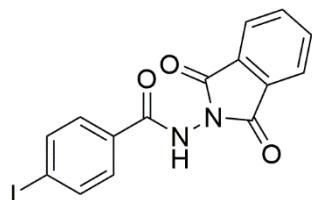
Жута прашкаста супстанца, Т.Т. 226–228 °С; Принос: 70%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 6,97 (s, 2H), 8,04–7,91 (m, 4H), 9,00 (s, 1H), 9,32 (s, 2H), 10,88 (s, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 107,38, 120,74, 123,78, 129,52, 135,34, 137,85, 146,71, 165,40, 165,53; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3363 (NH/OH), 1652–1786 (3C=O); Израчунато за  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_6$  (314,25 g/mol): C, 57,33; N, 8,91; H, 3,21%; Нађено: C, 57,10; N, 9,05; H, 3,26%.

***N*-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)бензамид (9ј)**

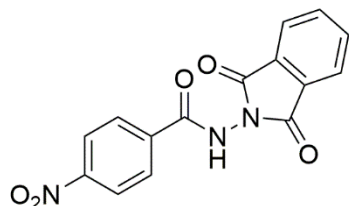
Беж прашкаста супстанца, Т.Т. > 250 °С; Принос: 71%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 7,73 – 7,61 (m, 2H), 8,09–7,91 (m, 6H), 11,46 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 123,86, 128,95, 129,47, 129,67, 135,39, 137,68, 164,41, 165,15; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3043–3512 (NH/OH), 1683–1735 (3C=O).

***N*-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)бензамид (9к)**

Браон прашкаста супстанца, Т.Т. 248–250 °С; Принос: 87%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 11,47 (s, 1H), 8,10–7,96 (m, 4H), 7,92 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,81 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 123,86, 126,69, 129,43, 129,79, 131,88, 135,38, 164,55, 165,16; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3346 (NH), 1682–1797 (3C=O).

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-4-јодбензамид (9л)**

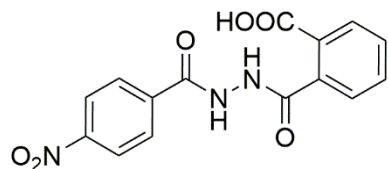
Бела прашкаста супстанца, Т.Т. > 250 °С; Принос: 70%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 7,80–7,66 (m, 2H), 8,08–7,90 (m, 6H), 11,43 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 100,82, 100,91, 123,88, 129,54, 130,18, 135,41, 137,74, 164,86, 165,18; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3057–3511 (NH), 1682–1734 (3C=O).

***N*-(1,3-Диоксоизоиндолин-2-ил)-4-нитробензамид (9љ)**

Браон прашкаста супстанца, Т.Т. 247–250 °С; Принос: 71%;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 8,06–7,90 (m, 4H), 8,19 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 8,41 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 11,76 (s, 1H),  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 123,59, 123,92, 123,96, 129,08, 129,35, 129,40, 135,43, 136,14, 149,89, 163,99, 164,98; IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3349 (NH), 1691–1795 (3C=O), 1467 ( $\text{NO}_2$ ).

### 3.12.2. Спектроскопски подаци интермедијера I у реакцији синтезе изоиндолин-1,3-диона

#### 2-(2-(4-Нитробензоил)хидразин-1-карбонил)бензоева киселина (I)



Бела прашкаста супстанца;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO)  $\delta$ : 12,95 (s, 1H), 11,01 (s, 1H), 10,45 (s, 1H), 8,43–8,29 (m, 2H), 8,24–8,11 (m, 2H), 7,82 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 7,71–7,53 (m, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO)  $\delta$ : 167,63, 167,38, 164,06, 149,37, 138,23, 135,90, 131,41, 131,16, 129,97, 129,31, 129,10, 128,35, 123,59.

### 3.12.3. Прорачун „зелених” параметара за једињење 9a

$$AE = \frac{\text{молекулска маса производа}}{\text{укупна молекулска маса реактаната}} \times 100 = \frac{266,26}{(136,06 + 148,02)} \times 100 = 93,73\%$$

$$CE = \frac{\text{број C атома производа} \times \text{број mol – ова производа}}{\text{збир производа броја C атома и mol – ова свих реактаната}} \times 100$$

$$= \frac{15 \times 0,00084}{(7 \times 0,001 + 8 \times 0,001)} \times 100 = 84\%$$

$$RME = \frac{\text{маса производа}}{\text{укупна маса реактаната}} \times 100 = \frac{0,224g}{(0,136g + 0,148g)} \times 100 = 78,73\%$$

$$MI = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)}}{\text{маса производа}} = \frac{(0,136g + 0,148g)}{0,224g} = 1,27 (g/g)$$

$$E - factor = \frac{\text{укупна маса свих реагенаса (изузев воде)} - \text{маса производа}}{\text{маса производа}}$$

$$= \frac{(0,136g + 0,148g) - 0,224g}{0,224g} = 0,27 (g/g)$$

Reagents	Name	mmoles	eq.	Bp	Hazard	Price
Phthalic anhydride		4.47	1	284		
Benzoylhydrazine		4.47	1			

Products	name	MP	MW	g	mmoles	g theor.	yield
N-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)benzamide			266.26	0.223658	0.83999497	0.20626	83.99980000

Conditions	Value
Yield	0.4
Price / availability	0
Safety	0
Technical setup	0
Temperature / time	-3
Workup and purification	0

EcoScale: 89

Слика 71. Приказ рачунања EcoScale параметра за једињење 9a.



## 4. ЗАКЉУЧАК

На основу представљених и описаних резултата у овој дисертацији, могу се извести следећи закључци:

- Извршена је синтеза четири класе азотних хетероцикала и то: бензоил-1*H*-пиразола, пиразол-фталазина, тетрахидропиридина и изоиндолин-1,3-диона у добром до одличном приносу. Међу добијеним хетероциклима, осамнаест су новосинтетисана једињења.
- Синтетичке методе за добијање наведених једињења су нове и засноване су на принципима зелене хемије што су и потврдили израчунати „зелени” параметри АЕ, СЕ, RME, MI, E-factor и EcoScale.
- Поређењем „зелених” методологија за добијање наведених азотних хетероцикличних једињења, најбољи резултати израчунатих „зелених” параметара су добијени код синтезе изоиндолин-1,3-диона.
- За карактеризацију добијених једињења коришћене су следеће методе: IR и NMR спектроскопија, UV-Vis спектрофотометрија, HPLC хроматографија, одређивање тачака топљења. Структуре нових једињења су додатно потврђене елементалном анализом. У случајевима у којима су добијени погодни кристали, извршена је и рендгенска структурна анализа (**2e**, **3l**, **6g** и **9j**).
- Теоријска израчунавања помоћу метода функционала густине су показала одлично слагање симулираних спектра са експерименталним што је додатно потврдило структуре једињења.
- Испитана је и *in vitro* антиоксидативна активност наведених класа азотних хетероцикала према слободном стабилном DPPH радикалу. Од бензоил-1*H*-пиразолских деривата, једињење **3k** је показало одличну антиоксидативну активност ( $IC_{50} = 1,8 \mu M$ ), од пиразол-фталазина једињење **6e** је показало значајну активност ( $IC_{50} = 4,1 \mu M$ ), једињење **8v** је од испитиваних тетрахидропиридина показало најбољу активност ( $IC_{50} = 8,6 \mu M$ ), док су се из класе изоиндолин-1,3-диона чак три једињења показала као одлични антиоксиданти (**9g** са  $IC_{50} = 2,6 \mu M$ , **9d** са  $IC_{50} = 1,9 \mu M$  и **9i** са  $IC_{50} = 1,2 \mu M$ ).
- Процена највероватнијег радикалског механизма за претходно наведена једињења извршена је помоћу метода функционала густине и термодинамичких параметара.
- Једињења **3z-l** су *in vitro* тестирана и као инхибитори сојине липоксигеназе, при чему је једињење **3i** показало најбољу инхибиторну активност ( $IC_{50} = 27,1 \mu M$ ).
- За наведена једињења урађен је и молекулски докинг да би се стекао увид у супрамолекулски склоп LOX-пиразол и у биоактивне конформације LOX-*Pb* инхибитора. Једињење **3i**, са *p*-хидроксилном групом у бензоил фрагменту, испољава највећу *in vitro* активност што се може објаснити чињеницом да је поред погодног водоничног везивања *p*-хидроксилне групе са Ser742 и Thr239, остатак молекула смештен у хидрофобној шупљини.



## **5. ЛИТЕРАТУРА**

1. A. Marella, M. Shaquiquzzaman, M. Akhter, G. Verma and M. M. Alam, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2015, **30**, 597–606.
2. M. Asif, *Curr. Med. Chem.*, 2012, **19**, 2984–2991.
3. K. Speck and T. Magauer, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2013, **9**, 2048–2078.
4. A. M. Bender, N. W. Griggs, J. P. Anand, J. R. Traynor, E. M. Jutkiewicz and H. I. Mosberg, *ACS Chem. Neurosci.*, 2015, **6**, 1428–1435.
5. S.-F. Barbuceanu, D. Ilies, G. Saramet, V. Uivarosi, C. Draghici and V. Radulescu, *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, **15**, 10908–10925.
6. A. Bettencourt, M. Castro, J. Silva, F. Fernandes, O. Coutinho, M. Sousa, M. Proença and F. Areias, *Molecules*, 2018, **23**, 2530.
7. P. J. Dunn, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 1452–1461.
8. E. Campaigne, *J. Chem. Educ.*, 1986, **63**, 860.
9. P. Arora, V. Arora, H. S. Lamba and D. Wadhwa, *Ijpsr*, 2012, **3**, 2947–2954.
10. A. F. Pozharskii, A. T. Soldatenkov and A. R. Katritzky, *Heterocycles in Life and Society*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2011.
11. J. Alvarez-Builla, J. J. Vaquero and J. Barluenga, *Modern Heterocyclic Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2011, vol. 1.
12. A. T. Balaban, D. C. Oniciu and A. R. Katritzky, *Chem. Rev.*, 2004, **104**, 2777–2812.
13. F. W. Bergstrom, *Chem. Rev.*, 1944, **35**, 77–277.
14. E. C. Franklin, *Chem. Rev.*, 1935, **16**, 305–361.
15. F. W. Lichtenthaler, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 728–737.
16. P. Vollhardt and N. Schore, *Organic chemistry: Structure and function*, W. H. Freeman and Company, New York, New York, 6th edn., 1998.
17. N. Kerru, L. Gummidi, S. Maddila, K. K. Gangu and S. B. Jonnalagadda, *Molecules*, 2020, **25**, 1909.
18. E. Turac, E. Sahmetlioglu, L. Toppare and H. Yuruk, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2011, **120**, 1713–1719.
19. D. Frem, *J. Serbian Chem. Soc.*, 2016, **81**, 687–695.
20. D. Chen, S.-J. Su and Y. Cao, *J. Mater. Chem. C*, 2014, **2**, 9565–9578.
21. P. Steel, *Molecules*, 2004, **9**, 440–448.

22. H. Kiyani, F. Albooyeh and S. Fallahnezhad, *J. Mol. Struct.*, 2015, **1091**, 163–169.
23. L. Knorr and A. Blank, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1884, **17**, 2049–2052.
24. L. Knorr, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1896, **29**, 249–259.
25. S. Khaghaninejad and M. M. Heravi, *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Elsevier, 2014, vol. 111, pp. 95–146.
26. E. Buchner, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1889, **22**, 2165–2167.
27. A. W. Brown, *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Elsevier Inc., 1st edn., 2018, vol. 126, pp. 55–107.
28. G. Steinbach, P. M. Lynch, R. K. S. Phillips, M. H. Wallace, E. Hawk, G. B. Gordon, N. Wakabayashi, B. Saunders, Y. Shen, T. Fujimura, L.-K. Su, B. Levin, L. Godio, S. Patterson, M. A. Rodriguez-Bigas, S. L. Jester, K. L. King, M. Schumacher, J. Abbruzzese, R. N. DuBois, W. N. Hittelman, S. Zimmerman, J. W. Sherman and G. Kelloff, *N. Engl. J. Med.*, 2000, **342**, 1946–1952.
29. G. Friedrich, *J. Chromatogr. B*, 2002, **766**, 295–305.
30. J. García-Lozano, J. Server-Carrió, E. Escrivà, J.-V. Folgado, C. Molla and L. Lezama, *Polyhedron*, 1997, **16**, 939–944.
31. T. Kameyama and T. Nabeshima, *Neuropharmacology*, 1978, **17**, 249–256.
32. E. R. Baizman, A. M. Ezrin, R. A. Ferrari and D. Luttinger, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987, **243**, 40–54.
33. W. R. Tracey, M. C. Allen, D. E. Frazier, A. A. Fossa, C. G. Johnson, R. B. Marala, D. R. Knight and A. Guzman-Perez, *Cardiovasc. Drug Rev.*, 2006, **21**, 17–32.
34. G. E. Gutowski, M. O. Chaney, N. D. Jones, R. L. Hamill, F. A. Davis and R. D. Miller, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1973, **51**, 312–317.
35. S. C. Shetty and V. C. Bhagat, *Asian J. Chem.*, 2008, **20**, 5037–5045.
36. N. M. M. Hamada and E. M. Sharshira, *Molecules*, 2011, **16**, 2304–2312.
37. E. Hernández-Vázquez, R. Aguayo-Ortiz, J. J. Ramírez-Espinosa, S. Estrada-Soto and F. Hernández-Luis, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **69**, 10–21.
38. U. Pandit and A. Dodiya, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 3364–3371.
39. M. Abdel-Aziz, G. E.-D. A. Abuo-Rahma and A. A. Hassan, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 3480–3487.
40. M. J. Ahsan, K. Choudhary, S. S. Jadav, S. Yasmin, M. Y. Ansari and R. Sreenivasulu, *Med. Chem. Res.*, 2015, **24**, 4166–4180.

41. V. Kumar, K. Kaur, G. K. Gupta and A. K. Sharma, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **69**, 735–753.
42. J. V. Faria, P. F. Vegi, A. G. C. Miguita, M. S. dos Santos, N. Boechat and A. M. R. Bernardino, *Bioorg. Med. Chem.*, 2017, **25**, 5891–5903.
43. A. Ansari, A. Ali, M. Asif and S. Shamsuzzaman, *New J. Chem.*, 2017, **41**, 16–41.
44. J. Wu, B.-A. Song, D.-Y. Hu, M. Yue and S. Yang, *Pest Manag. Sci.*, 2012, **68**, 801–810.
45. Y. Fu, M.-X. Wang, D. Zhang, Y.-W. Hou, S. Gao, L.-X. Zhao and F. Ye, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 46858–46865.
46. P. Lei, X. Zhang, Y. Xu, G. Xu, X. Liu, X. Yang, X. Zhang and Y. Ling, *Chem. Cent. J.*, 2016, **10**, 40.
47. R. M. Claramunt, P. Cornago, V. Torres, E. Pinilla, M. R. Torres, A. Samat, V. Lokshin, M. Valés and J. Elguero, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 6881–6891.
48. A. Ficks, C. Sibbald, M. John, S. Dechert and F. Meyer, *Organometallics*, 2010, **29**, 1117–1126.
49. V. Mukundam, A. Kumar, K. Dhanunjayarao, A. Ravi, S. Peruncheralathan and K. Venkatasubbaiah, *Polym. Chem.*, 2015, **6**, 7764–7770.
50. P. Fricero, L. Bialy, A. W. Brown, W. Czechtizky, M. Méndez and J. P. A. Harrity, *J. Org. Chem.*, 2017, **82**, 1688–1696.
51. K. Anandarajagopal, J. Anbu Jeba Sunilson, A. Illavarasu, N. Thangavelpandian and R. Kalirajan, *Int. J. ChemTech Res.*, 2010, **2**, 45–49.
52. D. Nair, P. Pavashe, S. Katiyar and I. N. N. Namboothiri, *Tetrahedron Lett.*, 2016, **57**, 3146–3149.
53. M. Iizuka and Y. Kondo, *European J. Org. Chem.*, 2007, **2007**, 5180–5182.
54. N. Satheesha Rai, B. Kalluraya, B. Lingappa, S. Shenoy and V. G. Puranic, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, **43**, 1715–1720.
55. S. Ailawadi, Jyoti, M. Yadav and D. Pathak, *Der Pharma Chem.*, 2011, **3**, 215–222.
56. S. M. Nelana, K. Kumar, I. A. Guzei, T. Mahamo and J. Darkwa, *J. Organomet. Chem.*, 2017, **848**, 159–165.
57. F. Rosa, P. Machado, P. Vargas, H. Bonacorso, N. Zanatta and M. Martins, *Synlett*, 2008, **2008**, 1673–1678.
58. M. M. D. Pramanik, R. Kant and N. Rastogi, *Tetrahedron*, 2014, **70**, 5214–5220.

59. Y. Shao, H. Zheng, J. Qian and X. Wan, *Org. Lett.*, 2018, **20**, 2412–2415.
60. W.-M. Shu, J.-R. Ma, K.-L. Zheng, H.-Y. Sun, M. Wang, Y. Yang and A.-X. Wu, *Tetrahedron*, 2014, **70**, 9321–9329.
61. N. M. Shah, M. P. Patel and R. G. Patel, *J. Heterocycl. Chem.*, 2012, **49**, 1310–1316.
62. C. B. Sangani, J. A. Makwana, Y.-T. Duan, N. J. Thumar, M.-Y. Zhao, Y. S. Patel and H.-L. Zhu, *Res. Chem. Intermed.*, 2016, **42**, 2101–2117.
63. O. S. Zaky, M. A. Selim, M. M. Ebied and K. U. Sadek, *J. Heterocycl. Chem.*, 2019, **56**, 2796–2803.
64. L. Jalili-Baleh, H. Nadri, A. Moradi, S. N. A. Bukhari, M. Shakibaie, M. Jafari, M. Golshani, F. Homayouni Moghadam, L. Firoozpour, A. Asadipour, S. Emami, M. Khoobi and A. Foroumadi, *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **139**, 280–289.
65. S. Zhang, Y. Zhao, Y. Liu, D. Chen, W. Lan, Q. Zhao, C. Dong, L. Xia and P. Gong, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 3504–3510.
66. L. Zhang, L.-P. Guan, X.-Y. Sun, C.-X. Wei, K.-Y. Chai and Z.-S. Quan, *Chem. Biol. Drug Des.*, 2009, **73**, 313–319.
67. C.-K. Ryu, R.-E. Park, M.-Y. Ma and J.-H. Nho, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 2577–2580.
68. J. Li, Y.-F. Zhao, X.-Y. Yuan, J.-X. Xu and P. Gong, *Molecules*, 2006, **11**, 574–582.
69. D.-C. Liu, G.-H. Gong, C.-X. Wei, X.-J. Jin and Z.-S. Quan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2016, **26**, 1576–1579.
70. B. M. Groves, L. J. Rubin, M. F. Frosolono, A. E. Cato and J. T. Reeves, *Am. Heart J.*, 1985, **110**, 1200–1204.
71. M. Asif, *CIBTech J. Pharm. Sci.*, 2015, **4**, 17–26.
72. B. L. Mylari, E. R. Larson, T. A. Beyer, W. J. Zembrowski, C. E. Aldinger, M. F. Dee, T. W. Siegel and D. H. Singleton, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 108–122.
73. Y. Zhu, H. Li, Q. Su, J. Wen, Y. Wang, W. Song, Y. Xie, W. He, Z. Yang, K. Jiang and H. Guo, *J. Biol. Chem.*, 2019, **294**, 19923–19933.
74. M. Yoshioka, H. Yahagi, M. Minami and H. Saito, *Jpn. J. Pharmacol.*, 1987, **44**, 187–196.
75. J. A. Bernstein, *Curr. Med. Res. Opin.*, 2007, **23**, 2441–2452.
76. P. Taslimi, K. Turhan, F. Türkan, H. Sedef Karaman, Z. Turgut and İ. Gulcin, *Bioorg. Chem.*, 2020, **97**, 103647.

77. D. S. Raghuvanshi and K. N. Singh, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 5702–5705.
78. R. Ghorbani-Vaghei, S. Noori, Z. Toghraei-Semiromi and Z. Salimi, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 47925–47928.
79. M. R. Nabid, S. J. T. Rezaei, R. Ghahremanzadeh and A. Bazgir, *Ultrason. Sonochem.*, 2010, **17**, 159–161.
80. A. M. Jadhav, S. G. Balwe, J. S. Kim, K. T. Lim and Y. T. Jeong, *Tetrahedron Lett.*, 2019, **60**, 560–565.
81. H. N. Roy, M. Rana, A. Z. Al Munsur, K.-I. Lee and A. K. Sarker, *Synth. Commun.*, 2016, **46**, 1370–1376.
82. G. Sabitha, C. Srinivas, A. Raghavendar and J. S. Yadav, *Helv. Chim. Acta*, 2010, **93**, 1375–1380.
83. M. B. Teimouri, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 10849–10853.
84. D. Pavithra and K. R. Ethiraj, *Polycycl. Aromat. Compd.*, 2020, **0**, 1–14.
85. E. K. Moltzen, H. Pedersen, K. P. Boegesoe, E. Meier, K. Frederiksen, C. Sanchez and H. L. Lemboel, *J. Med. Chem.*, 1994, **37**, 4085–4099.
86. P. Sauerberg, P. H. Olesen, S. Nielsen, S. Treppendahl, M. J. Sheardown, T. Honore, C. H. Mitch, J. S. Ward and A. J. Pike, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 2274–2283.
87. K. K. Redda, K. N. Rao, A. S. Heiman, F. Y. Onayemi and J. B. Clark, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1991, **39**, 786–791.
88. C. J. Pelle, C. O. Okoro, T. L. Wilson, U. C. Onubogu, K.-J. Yoon and K. K. Redda, *Synth. Commun.*, 1996, **26**, 2703–2714.
89. L. Silva, L. L. Carrion, A. von Groll, S. S. Costa, E. Junqueira, D. F. Ramos, J. Cantos, V. R. Seus, I. Couto, L. da S. Fernandes, H. G. Bonacorso, M. A. P. Martins, N. Zanatta, M. Viveiros, K. S. Machado and P. E. Almeida da Silva, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2017, **49**, 308–314.
90. J. S. Vianna, I. B. Ramis, D. Bierhals, A. von Groll, D. F. Ramos, N. Zanatta, M. C. Lourenço, M. Viveiros and P. E. Almeida da Silva, *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, 2019, **17**, 296–299.
91. C. A. Seyfried, H. E. Greiner and A. F. Haase, *Eur. J. Pharmacol.*, 1989, **160**, 31–41.
92. J. C. Jaen, L. D. Wise, T. G. Heffner, T. A. Pugsley and L. T. Meltzer, *J. Med. Chem.*, 1988, **31**, 1621–1625.
93. M. Misra, S. K. Pandey, V. P. Pandey, J. Pandey, R. Tripathi and R. P. Tripathi, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 625–633.

94. A. Krauze, R. Vītolīņa, V. Garaliene, L. Sīle, V. Kluša and G. Duburs, *Eur. J. Med. Chem.*, 2005, **40**, 1163–1167.
95. Z. Tian, X. Shao, Z. Li, X. Qian and Q. Huang, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 2288–2292.
96. A. A. Mohammadi, S. Taheri, A. Amouzegar, R. Ahdenov, M. R. Halvagar and A. S. Sadr, *J. Mol. Struct.*, 2017, **1139**, 166–174.
97. E. M. Snowdon, M. C. Bowyer, P. R. Grbin and P. K. Bowyer, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 6465–6474.
98. R. G. Buttery, L. C. Ling and D. J. Stern, *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 837–843.
99. G. Buechi and H. Wuest, *J. Org. Chem.*, 1971, **36**, 609–610.
100. I. R. Hunter, M. K. Walden, J. R. Scherer and R. E. Lundin, *Cereal Chem.*, 1969, **46**, 189–195.
101. R. G. Buttery, W. J. Orts, G. R. Takeoka and Y. Nam, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4353–6.
102. R. G. Buttery and L. C. Ling, *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 1878–1882.
103. P. J. Costello and P. A. Henschke, *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 7079–7087.
104. P. A. Clarke, A. V. Zaytzev and A. C. Whitwood, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 5209–5212.
105. K. Madhu Kumar Reddy, K. Peddanna, M. Varalakshmi, N. Bakthavatchala Reddy, G. Sravya, G. V. Zyryanov and C. Suresh Reddy, *Phosphorus. Sulfur. Silicon Relat. Elem.*, 2019, **194**, 812–819.
106. S. Verma, S. L. Jain and B. Sain, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2011, **7**, 1334–1341.
107. C. Mukhopadhyay, S. Rana, R. J. Butcher and A. M. Schmiedekamp, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 5835–5840.
108. S. Sun, C. Cheng, J. Yang, A. Taheri, D. Jiang, B. Zhang and Y. Gu, *Org. Lett.*, 2014, **16**, 4520–4523.
109. R. M. Carballo, M. A. Ramírez, M. L. Rodríguez, V. S. Martín and J. I. Padrón, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 3837–3840.
110. A. P. Dobbs and S. J. J. Guesné, *Synlett*, 2005, 2101–2103.
111. B. Han, J.-L. Li, C. Ma, S.-J. Zhang and Y.-C. Chen, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2008, **47**, 9971–9974.
112. S.-T. Chen, M.-Y. Chang and N.-C. Chang, *Heterocycles*, 2002, **57**, 2321.

113. J. L. Santos, P. R. Yamasaki, C. M. Chin, C. H. Takashi, F. R. Pavan and C. Q. F. Leite, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 3795–3799.
114. P. Singh, S. Kaur, V. Kumar, P. M. S. Bedi, M. P. Mahajan, I. Sehar, H. C. Pal and A. K. Saxena, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, **21**, 3017–3020.
115. T. N. Bansode, J. V. Shelke and V. G. Dongre, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 5094–5098.
116. R. Rios-Tamayo, M.-G. Agustin, A.-P. Carolina, S.-R. Dolores, V. D. de la G. Ana María, C. Garcia-Collado, J. M. Alberto, J. C. Manuel and J. Cabeza Barrera, *Drug Des. Devel. Ther.*, 2017, **11**, 2399–2408.
117. P. H. Schafer, A. Parton, L. Capone, D. Cedzik, H. Brady, J. F. Evans, H.-W. Man, G. W. Muller, D. I. Stirling and R. Chopra, *Cell. Signal.*, 2014, **26**, 2016–2029.
118. A. A.-M. Abdel-Hafez, *Arch. Pharm. Res.*, 2004, **27**, 495–501.
119. A. Mohammadi-Farani, A. Ahmadi, H. Nadri and A. Aliabadi, *DARU J. Pharm. Sci.*, 2013, **21**, 47.
120. S. M. Capitosti, T. P. Hansen and M. L. Brown, *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, **12**, 327–336.
121. J. Merchant, K. Tutsch, A. Dresen, R. Arzoomanian, D. Alberti, C. Feierabend, K. Binger, R. Marnoccha, J. Thomas, J. Cleary and G. Wilding, *Clin. Cancer Res.*, 2002, **8**, 2193–201.
122. T. Hirakawa, K. Nasu, Y. Aoyagi, K. Takebayashi and H. Narahara, *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2017, **15**, 53.
123. R. G. S. Berlinck, R. Britton, E. Piers, L. Lim, M. Roberge, R. Moreira da Rocha and R. J. Andersen, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 9850–9856.
124. H. Nadaroglu, A. A. Gungor, Ö. Gundogdu, N. H. Kishali, B. Sever and M. D. Altintop, *J. Mol. Struct.*, 2019, **1197**, 386–392.
125. A. Tan, E. Bozkurt, N. Kishali and Y. Kara, *Helv. Chim. Acta*, 2014, **97**, 1107–1114.
126. X. Guo, F. S. Kim, S. A. Jenekhe and M. D. Watson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 7206–7207.
127. M.-Z. Huang, F.-X. Luo, H.-B. Mo, Y.-G. Ren, X.-G. Wang, X.-M. Ou, M.-X. Lei, A.-P. Liu, L. Huang and M.-C. Xu, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 9585–9592.
128. A. Cul, A. Daïch, B. Decroix, G. Sanz and L. Van Hijfte, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 11029–11039.
129. P.-L. Zhao, W.-F. Ma, A.-N. Duan, M. Zou, Y.-C. Yan, W.-W. You and S.-G. Wu, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **54**, 813–822.



130. M. V. Khedkar, S. R. Khan, D. N. Sawant, D. B. Bagal and B. M. Bhanage, *Adv. Synth. Catal.*, 2011, **353**, 3415–3422.
131. M. V. Khedkar and B. M. Bhanage, *Front. Chem. Sci. Eng.*, 2013, **7**, 226–232.
132. P. T. Anastas and J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press, 1998.
133. P. Anastas and N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 301–312.
134. S. Sanjay Makone and S. Nivruttirao Niwadange, *Int. Adv. Res. J. Sci. Eng. Technol.*, 2016, **3**, 113–115.
135. T. Hudlicky, D. A. Frey, L. Koroniak, C. D. Claeboe and L. E. Brammer Jr., *Green Chem.*, 1999, **1**, 57–59.
136. G. Brahmachari, M. Mandal, I. Karmakar, K. Nurjamal and B. Mandal, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2019, **7**, 6369–6380.
137. S. Abou-Shehada, P. Mampuy, B. U. W. Maes, J. H. Clark and L. Summerton, *Green Chem.*, 2017, **19**, 249–258.
138. R. A. Sheldon, *Pure Appl. Chem.*, 2000, **72**, 1233–1246.
139. R. A. Sheldon, *Green Chem.*, 2007, **9**, 1273.
140. A. D. Curzons, D. N. Mortimer, D. J. C. Constable and V. L. Cunningham, *Green Chem.*, 2001, **3**, 1–6.
141. C. R. McElroy, A. Constantinou, L. C. Jones, L. Summerton and J. H. Clark, *Green Chem.*, 2015, **17**, 3111–3121.
142. C. Jimenez-Gonzalez, C. S. Ponder, Q. B. Broxterman and J. B. Manley, *Org. Process Res. Dev.*, 2011, **15**, 912–917.
143. N. J. Willis, C. A. Fisher, C. M. Alder, A. Harsanyi, L. Shukla, J. P. Adams and G. Sandford, *Green Chem.*, 2016, **18**, 1313–1318.
144. J. Andraos, *Org. Process Res. Dev.*, 2005, **9**, 149–163.
145. J. A. Gladysz, *Pure Appl. Chem.*, 2001, **73**, 1319–1324.
146. K. Van Aken, L. Streckowski and L. Patiny, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2006, **2**, 1–7.
147. F. Roschangar, R. A. Sheldon and C. H. Senanayake, *Green Chem.*, 2015, **17**, 752–768.
148. A. P. Dicks, A. Hent and K. J. Koroluk, *Green Chem. Lett. Rev.*, 2018, **11**, 29–35.
149. A. V. Dolzhenko and A. V. Dolzhenko, *Green Synthetic Approaches for Biologically Relevant Heterocycles*, Elsevier, 2015, pp. 101–139.

150. F. Wöhler, *Ann. der Phys. und Chemie*, 1828, **88**, 253–256.
151. J. Andraos, *Org. Process Res. Dev.*, 2005, **9**, 404–431.
152. J. Andraos, *Org. Process Res. Dev.*, 2009, **13**, 161–185.
153. H. J. Niemczyk and S. D. Van Arnum, *Green Chem. Lett. Rev.*, 2008, **1**, 165–171.
154. R. A. Sheldon, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2018, **6**, 32–48.
155. C. Jiménez-González, D. J. C. Constable and C. S. Ponder, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 1485–1498.
156. M. G. T. C. Ribeiro and A. A. S. C. Machado, *Green Chem. Lett. Rev.*, 2013, **6**, 1–18.
157. D. J. C. Constable, A. D. Curzons and V. L. Cunningham, *Green Chem.*, 2002, **4**, 521–527.
158. D. J. C. Constable, A. D. Curzons and V. L. Cunningham, *Green Chem.*, 2002, **4**, 521–527.
159. S. Narayan, J. Muldoon, M. G. Finn, V. V. Fokin, H. C. Kolb and K. B. Sharpless, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2005, **44**, 3275–3279.
160. D. Amantini, F. Fringuelli, O. Piermatti, F. Pizzo and L. Vaccaro, *Green Chem.*, 2001, **3**, 229–232.
161. A. Chanda and V. V. Fokin, *Chem. Rev.*, 2009, **109**, 725–748.
162. U. M. Lindström, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 2751–2772.
163. E. J. Beckman, *J. Supercrit. Fluids*, 2004, **28**, 121–191.
164. A. Aggarwal, N. L. Lancaster, A. R. Sethi and T. Welton, *Green Chem.*, 2002, **4**, 517–520.
165. S. G. Zlotin and N. N. Makhova, *Mendeleev Commun.*, 2010, **20**, 63–71.
166. D. Simijonović, Z. D. Petrović and V. P. Petrović, *J. Mol. Liq.*, 2013, **179**, 98–103.
167. J. S. Sandhu, *Green Chem. Lett. Rev.*, 2011, **4**, 289–310.
168. J. H. Clark, *Pure Appl. Chem.*, 2001, **73**, 103–111.
169. Y. Gu, *Green Chem.*, 2012, **14**, 2091.
170. R. Mekheimer, M. Al-Sheikh, H. Medrasi and N. Alsofyani, *Molecules*, 2018, **23**, 619.
171. B. S. Vachan, M. Karuppasamy, P. Vinoth, S. Vivek Kumar, S. Perumal, V. Sridharan and J. C. Menéndez, *Adv. Synth. Catal.*, 2020, **362**, 87–110.

172. K. Martina, S. Tagliapietra, V. V. Veselov and G. Cravotto, *Front. Chem.*, 2019, **7**, 1–21.
173. G. T. Whiteker, *Org. Process Res. Dev.*, 2019, **23**, 2109–2121.
174. A. Mane, P. Salokhe, P. More and R. Salunkhe, *J. Mol. Catal. B Enzym.*, 2015, **121**, 75–81.
175. Z.-L. Min, Q. Zhang, X. Hong, X.-L. Cao and X.-M. Hu, *Asian J. Chem.*, 2015, **27**, 3205–3207.
176. N. Kerru, L. Gummidi, S. V. H. S. Bhaskaruni, S. N. Maddila and S. B. Jonnalagadda, *Res. Chem. Intermed.*, 2020, **46**, 3067–3083.
177. B. Pouramiri, R. G. Far and M. Zahedifar, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2018, **54**, 1056–1060.
178. Y. A. Tayade and D. S. Dalal, *Catal. Letters*, 2017, **147**, 1411–1421.
179. M. Khumalo, S. N. Maddila, S. Maddila and S. B. Jonnalagadda, *J. Chem. Sci.*, 2020, **132**, 36.
180. M. Kangani, N. Hazeri, A. Yazdani-Elah-Abadi and M.-T. Maghsoodlou, *Polycycl. Aromat. Compd.*, 2018, **38**, 322–328.
181. J. Fraga-Dubreuil, G. Çomak, A. W. Taylor and M. Poliakoff, *Green Chem.*, 2007, **9**, 1067.
182. H. R. Lobo, B. S. Singh and G. S. Shankarling, *Green Chem. Lett. Rev.*, 2012, **5**, 487–533.
183. A. Yashin, Y. Yashin, X. Xia and B. Nemzer, *Antioxidants*, 2017, **6**, 70.
184. B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine (3rd Ed) Oxford science publications*, Oxford University Press, 3rd, illustr edn., 1999.
185. K. Brainina, N. Stozhko and M. Vidrevich, *Antioxidants*, 2019, **8**, 297.
186. C. M. Kafer and J. A. Milner, *J. Nutr. Biochem.*, 2008, **19**, 347–361.
187. K. Srinivasan, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2014, **54**, 352–372.
188. I. Choi, H. Cha and Y. Lee, *Molecules*, 2014, **19**, 16811–16823.
189. X. Wen, M. Takenaka, M. Murata and S. Homma, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2004, **68**, 2313–2318.
190. F. M. Nunes and M. A. Coimbra, *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 1773–1782.
191. M. Clifford, *Food Chem.*, 1979, **4**, 63–71.

192. K. Habschied, A. Lončarić and K. Mastanjević, *Foods*, 2020, **9**, 238.
193. M. P. Kähkönen, A. I. Hopia, H. J. Vuorela, J.-P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala and M. Heinonen, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954–3962.
194. J.-M. Lü, P. H. Lin, Q. Yao and C. Chen, *J. Cell. Mol. Med.*, 2010, **14**, 840–860.
195. A. Augustyniak, G. Bartosz, A. Čipak, G. Duburs, L. Horáková, W. Łuczaj, M. Majekova, A. D. Odysseos, L. Rackova, E. Skrzydlewska, M. Stefek, M. Štrosová, G. Tirzitis, P. R. Venskutonis, J. Viskupicova, P. S. Vranka and N. Žarković, *Free Radic. Res.*, 2010, **44**, 1216–1262.
196. A. A. Bunaciu, H. Y. Aboul-Enein and S. Fleschin, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2012, **47**, 245–255.
197. M. Wojcik, I. Burzynska-Pedziwiatr and L. Wozniak, *Curr. Med. Chem.*, 2010, **17**, 3262–3288.
198. W. A. Yehye, N. A. Rahman, A. Ariffin, S. B. Abd Hamid, A. A. Alhadi, F. A. Kadir and M. Yaeghoobi, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **101**, 295–312.
199. C. C. S. Lin and D. Y. C. Fung, *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 576–580.
200. C. André, I. Castanheira, J. M. Cruz, P. Paseiro and A. Sanches-Silva, *Trends Food Sci. Technol.*, 2010, **21**, 229–246.
201. A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty and K. Dhama, *Biomed Res. Int.*, 2014, **2014**, 1–19.
202. T. L. Duarte and J. Lunec, *Free Radic. Res.*, 2005, **39**, 671–686.
203. J. Cillard, P. Cillard, M. Cormier and L. Girre, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1980, **57**, 252.
204. L. R. Fukumoto and G. Mazza, *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 3597–3604.
205. A. Simić, D. Manojlović, D. Šegan and M. Todorović, *Molecules*, 2007, **12**, 2327–2340.
206. Y. Sakihama, *Toxicology*, 2002, **177**, 67–80.
207. D. K. Maurya and T. P. A. Devasagayam, *Food Chem. Toxicol.*, 2010, **48**, 3369–3373.
208. A. Weidinger and A. Kozlov, *Biomolecules*, 2015, **5**, 472–484.
209. B. Halliwell and M. Whiteman, *Br. J. Pharmacol.*, 2004, **142**, 231–255.
210. P. Kovacic and J. Jacintho, *Curr. Med. Chem.*, 2001, **8**, 773–796.
211. F. J. Corpas and J. B. Barroso, *New Phytol.*, 2013, **199**, 633–635.
212. I. Dalle-Donne, A. Scaloni, D. Giustarini, E. Cavarra, G. Tell, G. Lungarella, R. Colombo, R. Rossi and A. Milzani, *Mass Spectrom. Rev.*, 2005, **24**, 55–99.

213. I. Mirończuk-Chodakowska, A. M. Witkowska and M. E. Zujko, *Adv. Med. Sci.*, 2018, **63**, 68–78.
214. A. Cherubini, C. Ruggiero, M. C. Polidori and P. Mecocci, *Free Radic. Biol. Med.*, 2005, **39**, 841–852.
215. R. C. Rose and A. M. Bode, *FASEB J.*, 1993, **7**, 1135–1142.
216. M. N. Alam, N. J. Bristi and M. Rafiquzzaman, *Saudi Pharm. J.*, 2013, **21**, 143–152.
217. D. Park, J. H. Jeon, S.-C. Kwon, S. Shin, J. Y. Jang, H. S. Jeong, D. I. Lee, Y.-B. Kim and S. S. Joo, *Biochem. Cell Biol.*, 2009, **87**, 943–952.
218. C. Kontogiorgis and D. Hadjipavlou-Litina, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2003, **18**, 63–69.
219. J. C. Espín, C. Soler-Rivas and H. J. Wichers, *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 648–656.
220. C. Soler-Rivas, J. C. Espín and H. J. Wichers, *Phytochem. Anal.*, 2000, **11**, 330–338.
221. S. Okoh, O. Asekun, O. Familoni and A. Afolayan, *Antioxidants*, 2014, **3**, 278–287.
222. R. J. Ruch, S. Cheng and J. E. Klaunig, *Carcinogenesis*, 1989, **10**, 1003–1008.
223. L. Marcocci, J. J. Maguire, M. T. Droylefaix and L. Packer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, **201**, 748–755.
224. N. Kooy, J. Royall, H. Ischiropoulos and J. Beckman, *Free Radic. Biol. Med.*, 1994, **16**, 149–156.
225. S. Sharma and A. P. Vig, *Biomed Res. Int.*, 2014, **2014**, 1–8.
226. N. P. Seeram, S. M. Henning, Y. Niu, R. Lee, H. S. Scheuller and D. Heber, *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 1599–1603.
227. A. Ghiselli, M. Serafini, G. Maiani, E. Azzini and A. Ferro-Luzzi, *Free Radic. Biol. Med.*, 1995, **18**, 29–36.
228. J. Robak and R. J. Gryglewski, *Biochem. Pharmacol.*, 1988, **37**, 837–841.
229. E. Kunchandy and M. N. A. Rao, *Int. J. Pharm.*, 1990, **58**, 237–240.
230. K. Anthony and M. Saleh, *Antioxidants*, 2013, **2**, 398–407.
231. G. K. Jayaprakasha, R. P. Singh and K. K. Sakariah, *Food Chem.*, 2001, **73**, 285–290.
232. P. Prieto, M. Pineda and M. Aguilar, *Anal. Biochem.*, 1999, **269**, 337–341.
233. V. Fogliano, V. Verde, G. Randazzo and A. Ritieni, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 1035–1040.

234. A. Wei and T. Shibamoto, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 7218–7225.
235. G. A. Czapski, K. Czubowicz and R. P. Strosznajder, *Pharmacol. Reports*, 2012, **64**, 1179–1188.
236. T. Noro, Y. Oda, T. Miyase, A. Ueno and S. Fukushima, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1983, **31**, 3984–3987.
237. R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek and S. E. Çelik, *Microchim. Acta*, 2008, **160**, 413–419.
238. I. F. F. Benzie and J. J. Strain, *Anal. Biochem.*, 1996, **239**, 70–76.
239. I. Tahir, M. R. Khan, N. A. Shah and M. Aftab, *BMC Complement. Altern. Med.*, 2016, **16**, 406.
240. S. Luo, X. Jiang, L. Jia, C. Tan, M. Li, Q. Yang, Y. Du and C. Ding, *Molecules*, 2019, **24**, 704.
241. H.-J. Lee, J.-H. Han, Y. K. Park and M.-H. Kang, *Nutr. Res. Pract.*, 2018, **12**, 118.
242. S. K. Aggarwal, *J. Clin. Diagnostic Res.*, 2013, **7**, 1568–1571.
243. K. P. Poulianiti, A. Karioti, A. Kaltsatou, G. I. Mitrou, Y. Koutedakis, K. Tepetes, G. Christodoulidis, G. Giakas, M. D. Maridaki, I. Stefanidis, A. Z. Jamurtas, G. K. Sakkas and C. Karatzaferi, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, **2019**, 1–14.
244. A. Rao, S. D. Ahmad, S. M. Sabir and S. Awan, *J. Med. Plants Res.*, 2013, **7**, 155–164.
245. A. Costa-Mugica, A. E. Batista- Gonzalez, D. Mondejar, Y. Soto-López, V. Brito-Navarro, A. M. Vázquez, D. Brömme, C. Zaldívar-Muñoz, A. Vidal-Novoa, A. M. de O. e Silva and J. Mancini-Filho, *Brazilian J. Pharm. Sci.*, 2012, **48**, 31–37.
246. J. Rimarčík, V. Lukeš, E. Klein and M. Ilčin, *J. Mol. Struct. Theochem*, 2010, **952**, 25–30.
247. E. Klein, V. Lukeš and M. Ilčin, *Chem. Phys.*, 2007, **336**, 51–57.
248. J. Xie and K. M. Schaich, *J. Agric. Food Chem.*, 2014, **62**, 4251–4260.
249. I. S. Young, *J. Clin. Pathol.*, 2001, **54**, 176–186.
250. A. Galano, G. Mazzone, R. Alvarez-Diduk, T. Marino, J. R. Alvarez-Idaboy and N. Russo, *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 2016, **7**, 335–352.
251. A. Amić, Z. Marković, J. M. D. Marković, S. Jeremić, B. Lučić and D. Amić, *Comput. Biol. Chem.*, 2016, **65**, 45–53.
252. A. Galano, *J. Mex. Chem. Soc.*, 2017, **59**, 231–262.
253. Z. Marković, J. Đorović, Z. D. Petrović, V. P. Petrović and D. Simijonović, *J. Mol.*

- Model.*, 2015, **21**, 293.
254. Z. D. Petrović, D. Simijonović, J. Đorović, V. Milovanović, Z. Marković and V. P. Petrović, *ChemistrySelect*, 2017, **2**, 11187–11194.
255. I. Ahmad, S. A. Nawaz, N. Afza, A. Malik, I. Fatima, S. B. Khan, M. Ahmad and M. I. Choudhary, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 2005, **53**, 907–910.
256. R. Wisastra and F. Dekker, *Cancers (Basel)*, 2014, **6**, 1500–1521.
257. Z. D. Petrović, J. Đorović, D. Simijonović, S. Trifunović and V. P. Petrović, *Chem. Pap.*, 2018, **72**, 2171–2180.
258. S. Hayward, T. Cilliers and P. Swart, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2017, **16**, 199–211.
259. V. Milovanović, Z. D. Petrović, S. Novaković, G. A. Bogdanović, D. Simijonović and V. P. Petrović, *J. Mol. Struct.*, 2019, **1195**, 85–94.
260. V. Milovanović, Z. D. Petrović, S. Novaković, G. A. Bogdanović, D. Simijonović, M. Mladenović, J. Branković and V. P. Petrović, *Med. Chem. (Los. Angeles)*, 2020, **16**, 1–12.
261. H. G. Bonaccorso, H. Lewandowski, R. L. Drekenner, M. B. Costa, C. M. P. Pereira, A. D. Wastowski, C. Peppe, M. A. P. Martins and N. Zanatta, *J. Fluor. Chem.*, 2003, **122**, 159–163.
262. M. a P. Martins, C. M. P. Pereira, S. Moura, G. F. Fiss, C. P. Frizzo, D. J. Emmerich, N. Zanatta and H. G. Bonaccorso, *Arkivoc*, 2006, **2006**, 187–194.
263. G. Brahmachari, I. Karmakar and K. Nurjamal, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2018, **6**, 11018–11028.
264. THE ECOSCALE, <http://ecoscale.cheminfo.org/>.
265. Y. Chen, D.-C. Li, Y. Zhu and D.-Q. Wang, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, 2008, **64**, o1629–o1629.
266. M. Arfan, M. N. Tahir, R. Khan, S. Saba and M. S. Iqbal, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, 2009, **65**, o1834–o1835.
267. T. Sedaghat, Y. Ebrahimi, L. Carlucci, D. M. Proserpio, V. Nobakht, H. Motamedi and M. R. Dayer, *J. Organomet. Chem.*, 2015, **794**, 223–230.
268. M. A. P. Martins, D. N. Moreira, C. P. Frizzo, P. T. Campos, K. Longhi, M. R. B. Marzari, N. Zanatta and H. G. Bonaccorso, *J. Mol. Struct.*, 2010, **969**, 111–119.
269. S. K. Wolff, D. J. Grimwood, J. J. McKinnon, M. J. Turner, D. Jayatilaka and M. A. Spackman, *CrystalExplorer ver. 3.1.*, University of Western Australia, Perth, 2013.

270. A. Saeed, A. Mumtaz and U. Flörke, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, 2007, **63**, o4122–o4122.
271. H. D. Mkoyi, S. O. Ojwach, I. A. Guzei and J. Darkwa, *J. Organomet. Chem.*, 2013, **724**, 95–101.
272. I. A. Guzei, K. Li, G. A. Bikzhanova, J. Darkwa and S. F. Mapolie, *Dalt. Trans.*, 2003, **4**, 715–722.
273. C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot and S. C. Ward, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater.*, 2016, **72**, 171–179.
274. L. Valgimigli, R. Amorati, M. G. Fumo, G. A. DiLabio, G. F. Pedulli, K. U. Ingold and D. A. Pratt, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 1830–1841.
275. A. Torres de Pinedo, P. Peñalver and J. C. Morales, *Food Chem.*, 2007, **103**, 55–61.
276. A. Pérez-González, A. Galano and J. R. Alvarez-Idaboy, *New J. Chem.*, 2014, **38**, 2639.
277. E. Klein, V. Lukeš and M. Ilčin, *Chem. Phys.*, 2007, **336**, 51–57.
278. Z. Marković, D. Milenković, J. Đorović, J. M. Dimitrić Marković, V. Stepanić, B. Lučić and D. Amić, *Food Chem.*, 2012, **134**, 1754–1760.
279. X. Li, P. Fang, J. Mai, E. T. Choi, H. Wang and X. Yang, *J. Hematol. Oncol.*, 2013, **6**, 19.
280. F. Muller, *J. Am. Aging Assoc.*, 2000, **23**, 227–253.
281. V. P. Petrović, D. Simijonović, V. M. Milovanović and Z. D. Petrović, *R. Soc. Open Sci.*, 2018, **5**, 181232.
282. Z. D. Petrović, J. Đorović, D. Simijonović, S. Trifunović and V. P. Petrović, *Chem. Pap.*, 2018, **72**, 2171–2180.
283. D. Simijonović, E.-E. Vlachou, Z. D. Petrović, D. J. Hadjipavlou-Litina, K. E. Litinas, N. Stanković, N. Mihović and M. P. Mladenović, *Bioorg. Chem.*, 2018, **80**, 741–752.
284. D. Simijonović, Z. D. Petrović, V. M. Milovanović, V. P. Petrović and G. A. Bogdanović, *RSC Adv.*, 2018, **8**, 16663–16673.
285. A. R. Kiasat, S. Noorizadeh, M. Ghahremani and S. J. Saghanejad, *J. Mol. Struct.*, 2013, **1036**, 216–225.
286. L. Valgimigli, R. Amorati, M. G. Fumo, G. A. DiLabio, G. F. Pedulli, K. U. Ingold and D. A. Pratt, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 1830–1841.
287. M. C. Foti, L. R. C. Barclay and K. U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12881–12888.



288. M. C. Foti, E. R. Johnson, M. R. Vinqvist, J. S. Wright, L. R. C. Barclay and K. U. Ingold, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 5190–5196.
289. M. Lucarini, V. Mugnaini and G. F. Pedulli, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 928–931.
290. J. S. Wright, E. R. Johnson and G. A. DiLabio, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 1173–1183.
291. P. Belitz, H.-D., Grosch, Werner, Schieberle, *Food Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 4th edn., 2009.
292. Z. Marković, D. Milenković, J. Đorović, J. M. Dimitrić Marković, V. Stepanić, B. Lučić and D. Amić, *Food Chem.*, 2012, **134**, 1754–1760.
293. Z. D. Petrović, D. Simijonović, J. Đorović, V. Milovanović, Z. Marković and V. P. Petrović, *ChemistrySelect*, 2017, **2**, 11187–11194.
294. A. T. Khan, T. Parvin and L. H. Choudhury, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 8398–8402.
295. A. T. Khan, M. Lal and M. M. Khan, *Tetrahedron Lett.*, 2010, **51**, 4419–4424.
296. H. Eshghi, A. Khojastehnezhad, F. Moeinpour, S. Rezaeian, M. Bakavoli, M. Teymouri, A. Rostami and K. Haghbeen, *Tetrahedron*, 2015, **71**, 436–444.
297. J. Safaei-Ghomi and A. Ziarati, *J. Iran. Chem. Soc.*, 2013, **10**, 135–139.
298. M. Kataria, S. Pramanik, M. Kumar and V. Bhalla, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 1483–1486.
299. M. M. Khan, S. Khan, S. Iqbal, S. Saigal and R. Yousuf, *New J. Chem.*, 2016, **40**, 7504–7512.
300. S. Marković and J. Tošović, *Food Chem.*, 2016, **210**, 585–592.
301. Z. D. Petrović, J. Đorović, D. Simijonović, V. P. Petrović and Z. Marković, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 24094–24100.
302. J. Tošović, S. Marković, J. M. Dimitrić Marković, M. Mojović and D. Milenković, *Food Chem.*, 2017, **237**, 390–398.
303. Y.-Z. Cai, Mei Sun, Jie Xing, Q. Luo and H. Corke, *Life Sci.*, 2006, **78**, 2872–2888.
304. A. Galano, G. Mazzone, R. Alvarez-Diduk, T. Marino, J. R. Alvarez-Idaboy and N. Russo, *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 2016, **7**, 335–352.
305. Z. Marković, J. Đorović, Z. D. Petrović, V. P. Petrović and D. Simijonović, *J. Mol. Model.*, 2015, **21**, 293.
306. A. Dandia, R. Singh, S. Bhaskaran and S. D. Samant, *Green Chem.*, 2011, **13**, 1852.

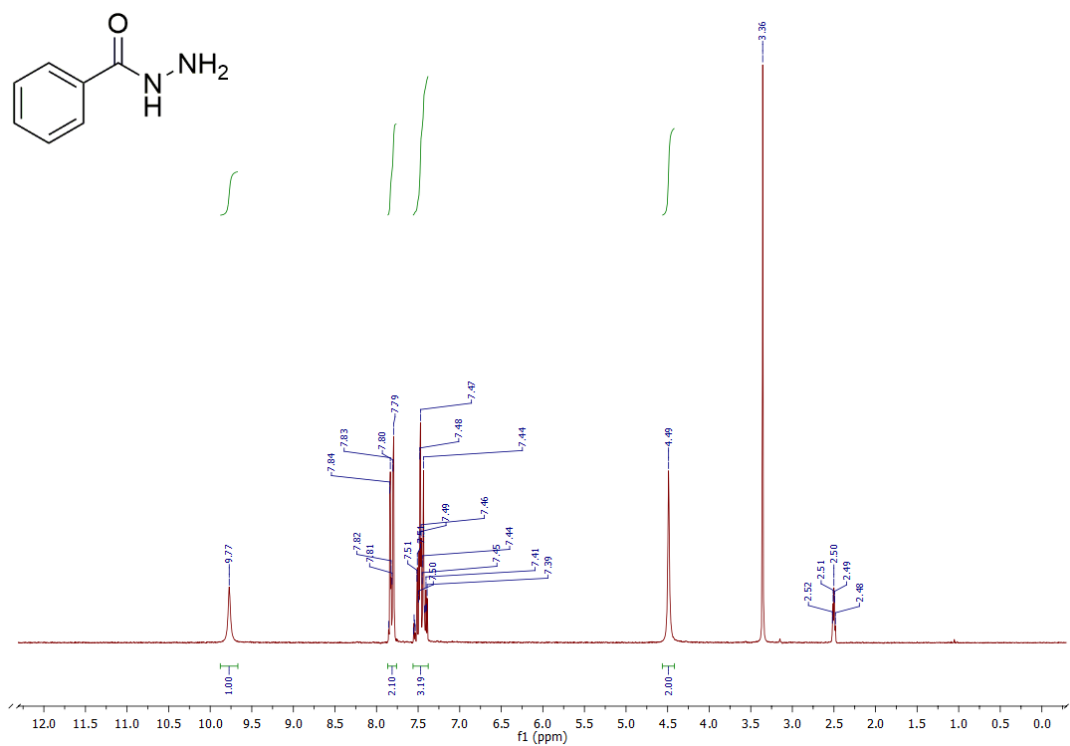
307. R. Hosseini, M. Mamaghani, K. Tabatabaeian, F. Shirini and M. Rassa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012, **22**, 5956–5960.
308. J. Wang, X. Bai, C. Xu, Y. Wang, W. Lin, Y. Zou and D. Shi, *Molecules*, 2012, **17**, 8674–8686.
309. J. Safari and L. Javadian, *Ultrason. Sonochem.*, 2015, **22**, 341–348.
310. V. M. Milovanović, Z. D. Petrović, S. Novaković, G. A. Bogdanović, V. P. Petrović and D. Simijonović, *Tetrahedron*, 2020, **76**, 131456.
311. Z. Wu, F. Ban and R. J. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 3642–3648.
312. D. Dimić, D. Milenković, J. Dimitrić Marković and Z. Marković, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2017, **19**, 12970–12980.
313. M. C. Foti, *J. Agric. Food Chem.*, 2015, **63**, 8765–8776.
314. A. I. Prihantini, S. Tachibana and K. Itoh, *Procedia Environ. Sci.*, 2015, **28**, 758–768.
315. B. Badhani, N. Sharma and R. Kakkar, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 27540–27557.
316. Z. Sroka and W. Cisowski, *Food Chem. Toxicol.*, 2003, **41**, 753–758.
317. M. C. Foti, E. R. Johnson, M. R. Vinqvist, J. S. Wright, L. R. C. Barclay and K. U. Ingold, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 5190–5196.
318. E. Bendary, R. R. Francis, H. M. G. Ali, M. I. Sarwat and S. El Hady, *Ann. Agric. Sci.*, 2013, **58**, 173–181.
319. H.-D. Belitz, W. Grosch and P. Schieberle, *Food Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009.
320. *Rigaku Oxford Diffraction, CrysAlisPro Software system*, Rigaku Corporation, Oxford, UK, 2015.
321. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.*, 2015, **71**, 3–8.
322. A. L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.*, 2003, **36**, 7–13.
323. M. Nardelli, *J. Appl. Crystallogr.*, 1995, **28**, 659–659.
324. C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler and J. van de Streek, *J. Appl. Crystallogr.*, 2006, **39**, 453–457.
325. L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.*, 2012, **45**, 849–854.
326. M. J. Frisch, W. G. Trucks, B. H. Schlegel, E. G. Scuseria, A. M. Robb, R. J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, A. G. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, P. H. Hratchian, F. A. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, L. J. Sonnenberg, M. Hada,

- M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, A. J. M. Jr., E. J. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, N. K. Kudin, N. V. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, C. J. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, E. R. Stratmann, O. Yazyev, J. A. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, W. J. Ochterski, L. R. Martin, K. Morokuma, G. V. Zakrzewski, A. G. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, D. A. Daniels, O. Farkas, B. J. Foresman, V. J. Ortiz, J. Cioslowski, and J. D. Fox, *Gaussian 09 Rev C*, Gaussian Inc., Wallingford, 2009.
327. A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648–5652.
328. S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich and H. Krieg, *J. Chem. Phys.*, 2010, **132**, 154104.
329. C. Lee, W. Yang and R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 1988, **37**, 785–789.
330. Y. Zhao and D. G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.*, 2008, **120**, 215–241.
331. A. V. Marenich, C. J. Cramer and D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. B*, 2009, **113**, 4538–4543.
332. J. Đorović, J. M. D. Marković, V. Stepanić, N. Begović, D. Amić and Z. Marković, *J. Mol. Model.*, 2014, **20**, 2345.
333. Z. Marković, J. Tošović, D. Milenković and S. Marković, *Comput. Theor. Chem.*, 2016, **1077**, 11–17.
334. M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani and V. Barone, *J. Comput. Chem.*, 2003, **24**, 669–681.
335. V. Barone and M. Cossi, *J. Phys. Chem. A*, 1998, **102**, 1995–2001.
336. F. Weigend and R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **7**, 3297.
337. A. R. Offenbacher, S. Hu, E. M. Poss, C. A. M. Carr, A. D. Scouras, D. M. Prigozhin, A. T. Iavarone, A. Palla, T. Alber, J. S. Fraser and J. P. Klinman, *ACS Cent. Sci.*, 2017, **3**, 570–579.
338. E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng and T. E. Ferrin, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 1605–1612.
339. G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell and A. J. Olson, *J. Comput. Chem.*, 2009, **30**, 2785–2791.
340. C. Kontogiorgis and D. Hadjipavlou-Litina, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2003, **18**, 63–69.
341. Y. Shingai, A. Fujimoto, M. Nakamura and T. Masuda, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 8180–8186.
342. M. Nassiri Koopaei, M. J. Assarzadeh, A. Almasirad, S. F. Ghasemi-Niri, M. Amini, A.

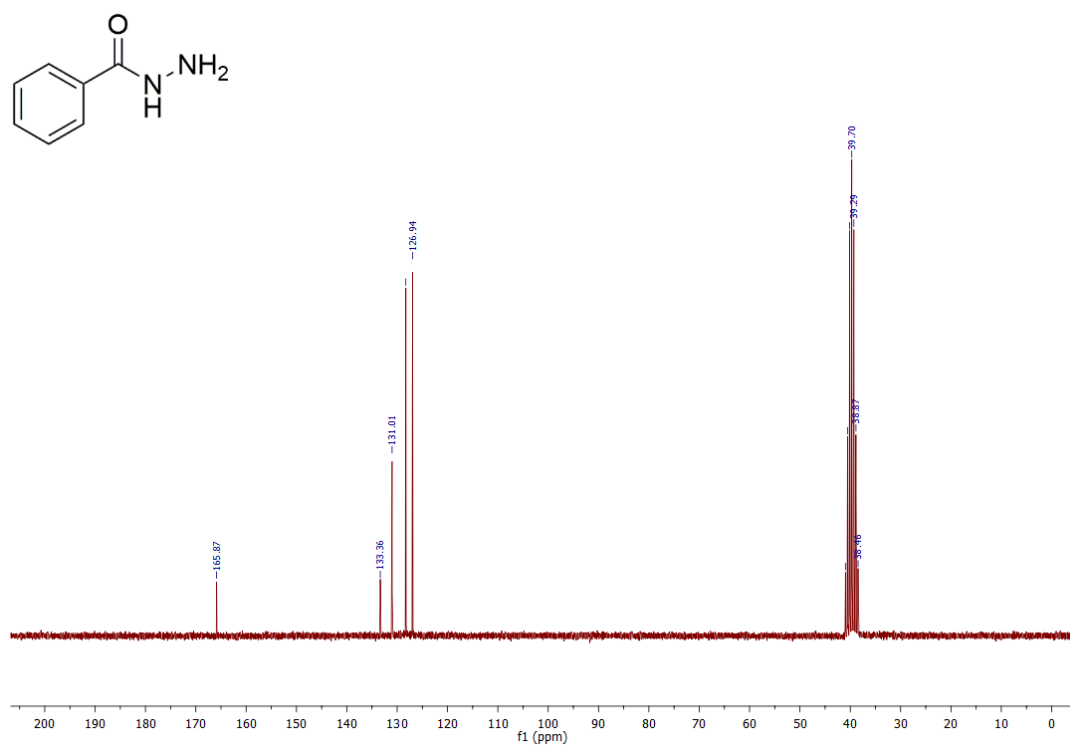
- Kebriaeezadeh, N. Nassiri Koopaei, M. Ghadimi and A. Tabei, *Iran. J. Pharm. Res. IJPR*, 2013, **12**, 721–7.
343. V. P. Petrović, D. Simijonović, M. N. Živanović, J. V. Košarić, Z. D. Petrović, S. Marković and S. D. Marković, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 24635–24644.
344. H. R. Shaterian and K. Azizi, *J. Mol. Liq.*, 2013, **180**, 187–191.
345. V. Palermo, A. Sathicq, N. Liberto, S. Fernandes, P. Langer, J. Jios and G. Romanelli, *Tetrahedron Lett.*, 2016, **57**, 2049–2054.
346. S. S. Sajadikhah, M. T. Maghsoodlou, N. Hazeri, S. M. Habibi-Khorassani and S. J. Shams-Najafi, *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.*, 2012, **143**, 939–945.
347. S. Mishra and R. Ghosh, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 2857–2861.

## **6. ПРИЛОГ**

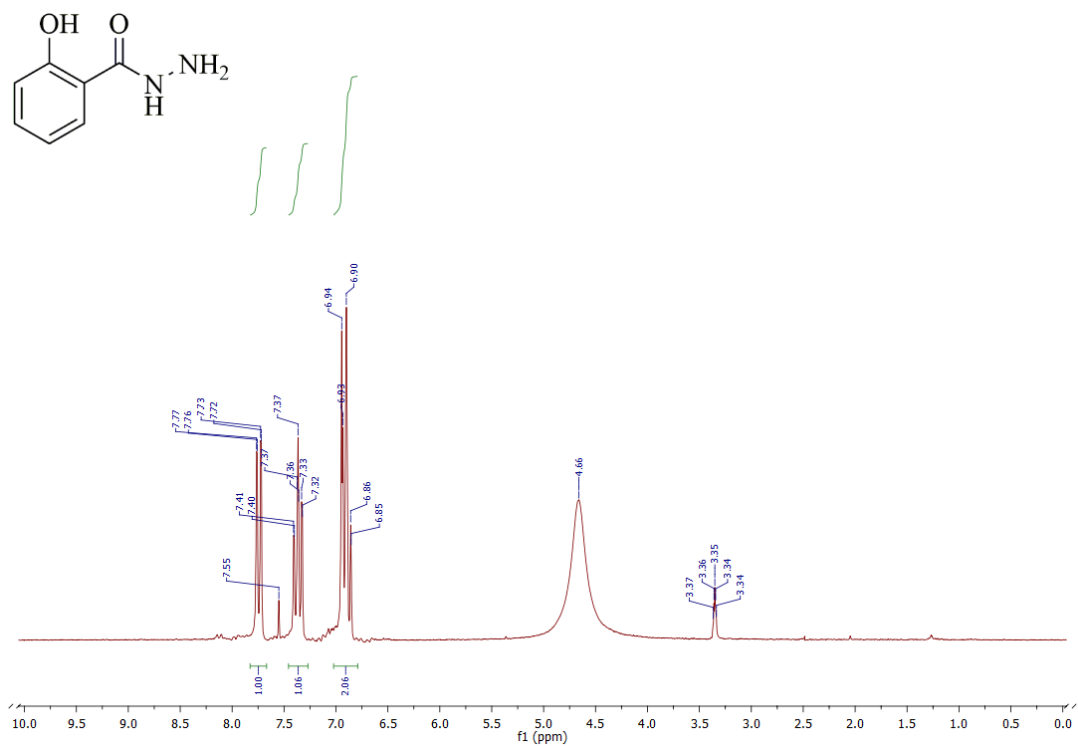
## **6.1. Прилог 1: NMR спектри**



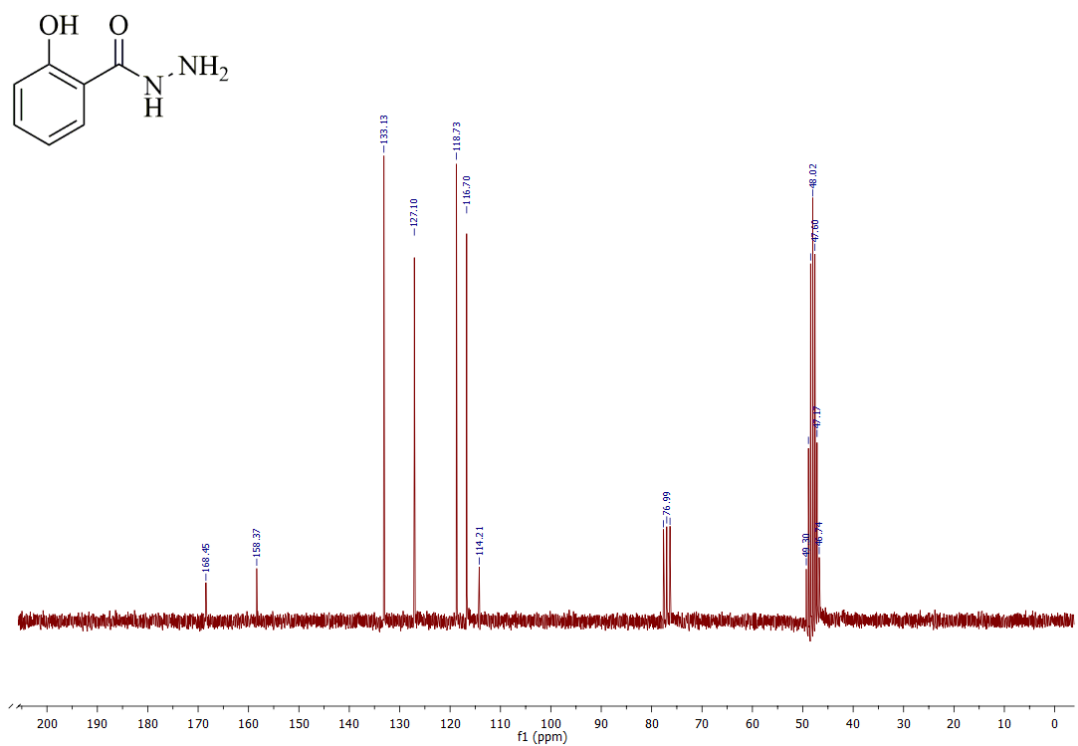
Слика П1. <sup>1</sup>H NMR бензохидразида у DMSO-d<sub>6</sub>.



Слика П2. <sup>13</sup>C NMR бензохидразида у DMSO-d<sub>6</sub>.

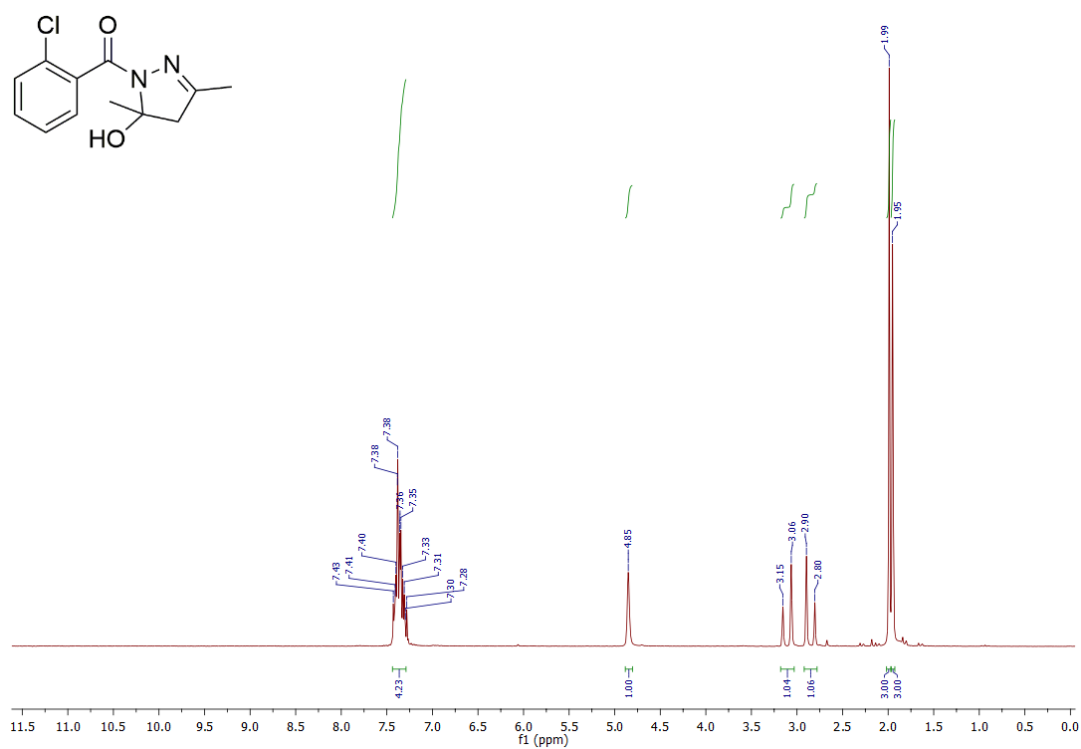


Слика ПЗ. <sup>1</sup>H NMR 2-хидроксибензохидраза у DMSO-d<sub>6</sub>.

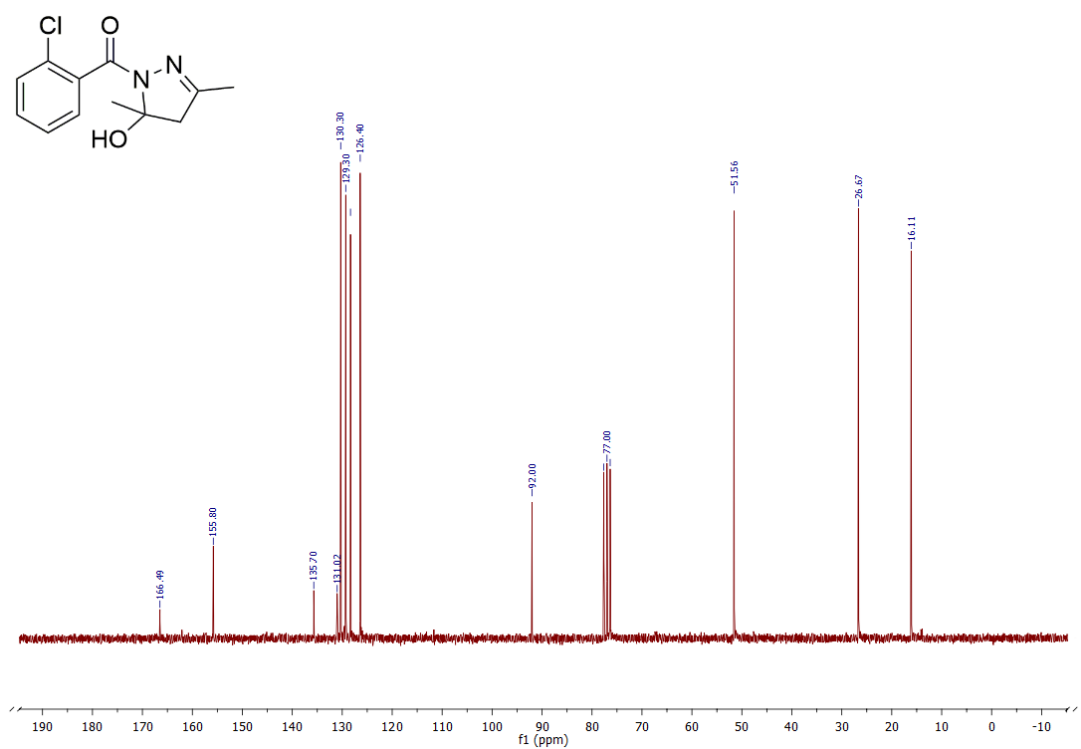


Слика П4. <sup>13</sup>C NMR 2-хидроксибензохидраза у DMSO-d<sub>6</sub>.

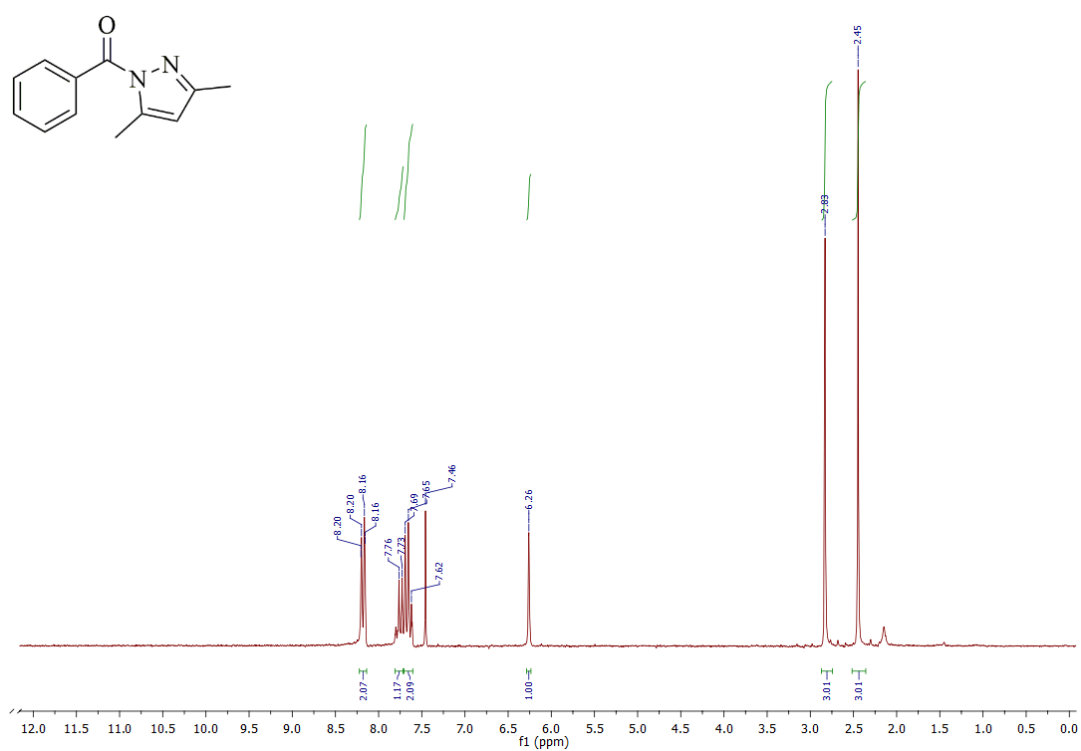
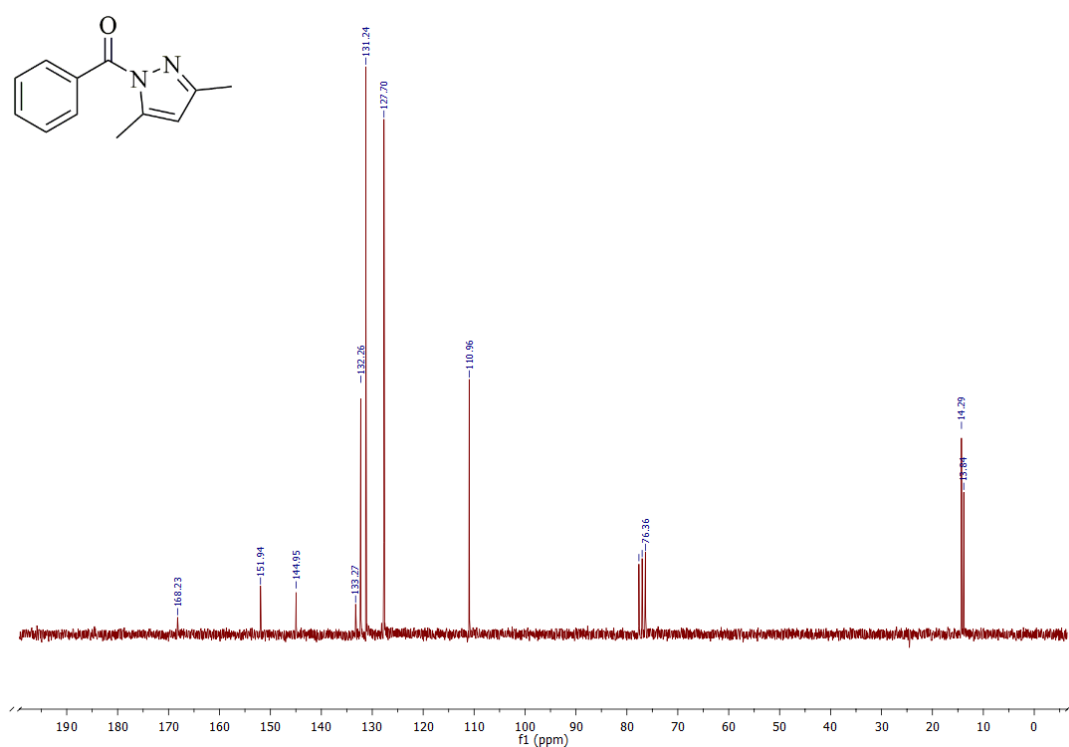


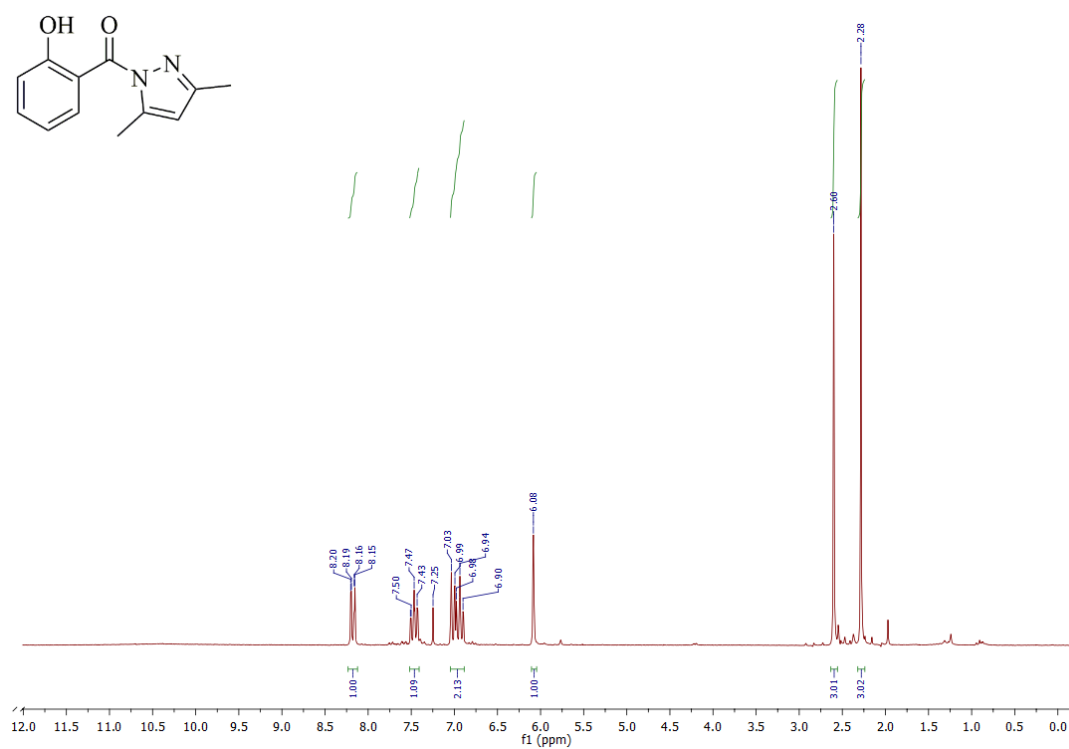


Слика П5. <sup>1</sup>H NMR једињења **2g** у CDCl<sub>3</sub>.

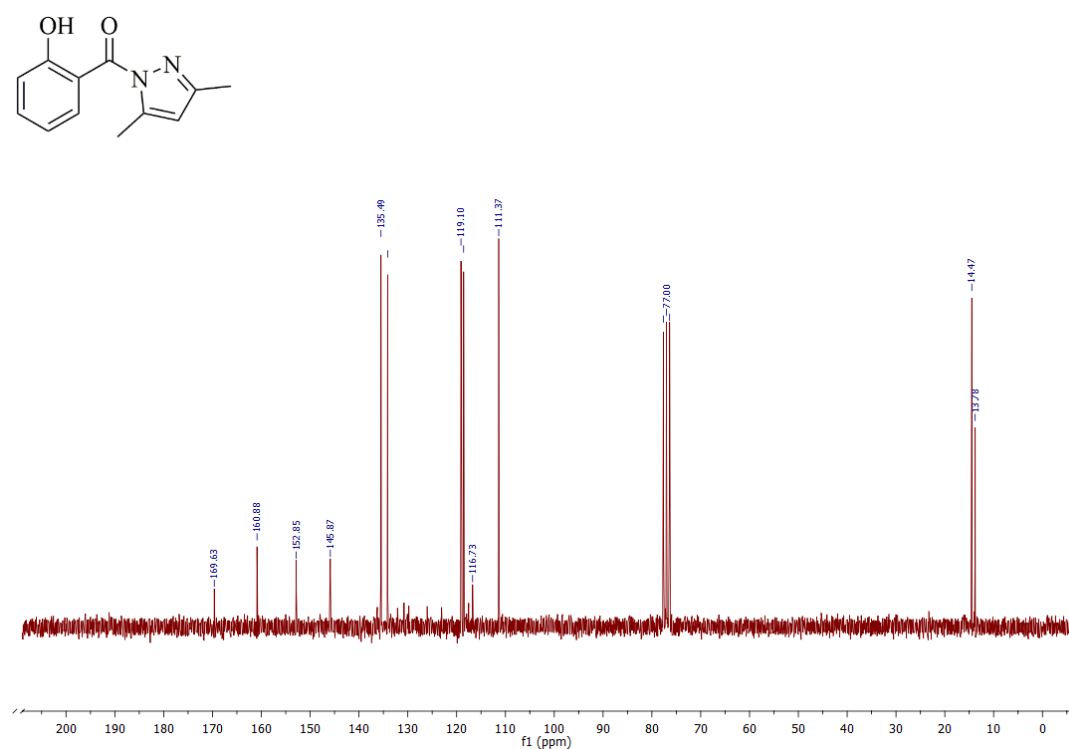


Слика П6. <sup>13</sup>C NMR једињења **2g** у CDCl<sub>3</sub>.

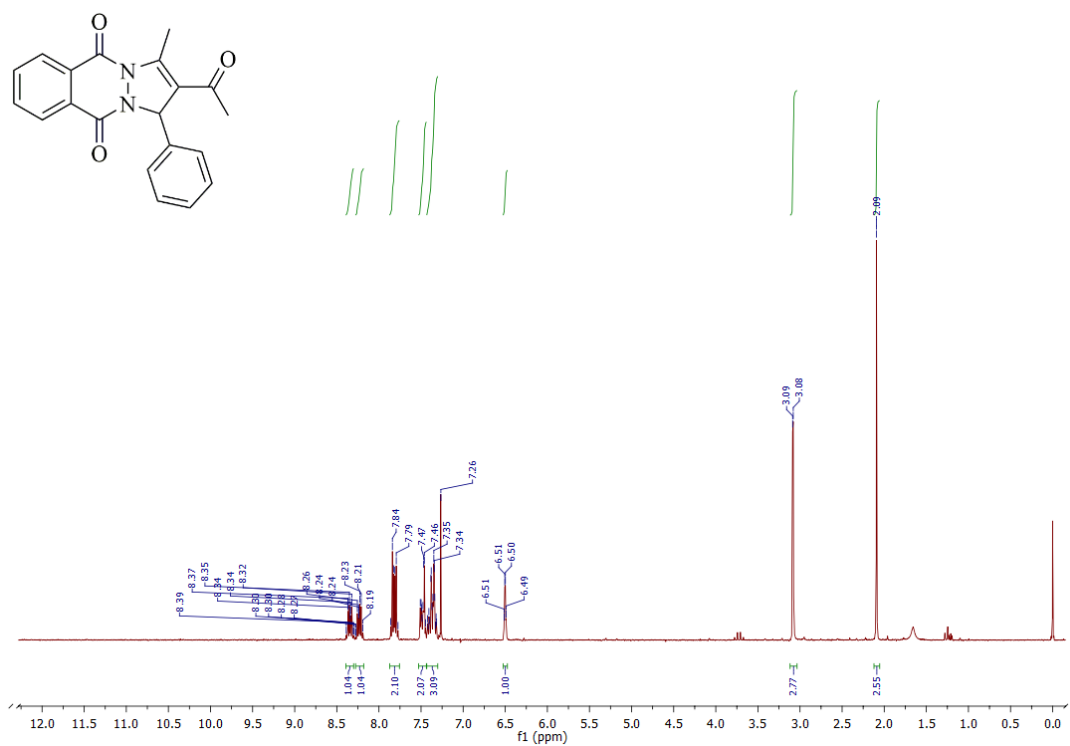
Слика П7.  $^1\text{H}$  NMR једињења **3a** у  $\text{CDCl}_3$ .Слика П8.  $^{13}\text{C}$  NMR једињења **3a** у  $\text{CDCl}_3$ .



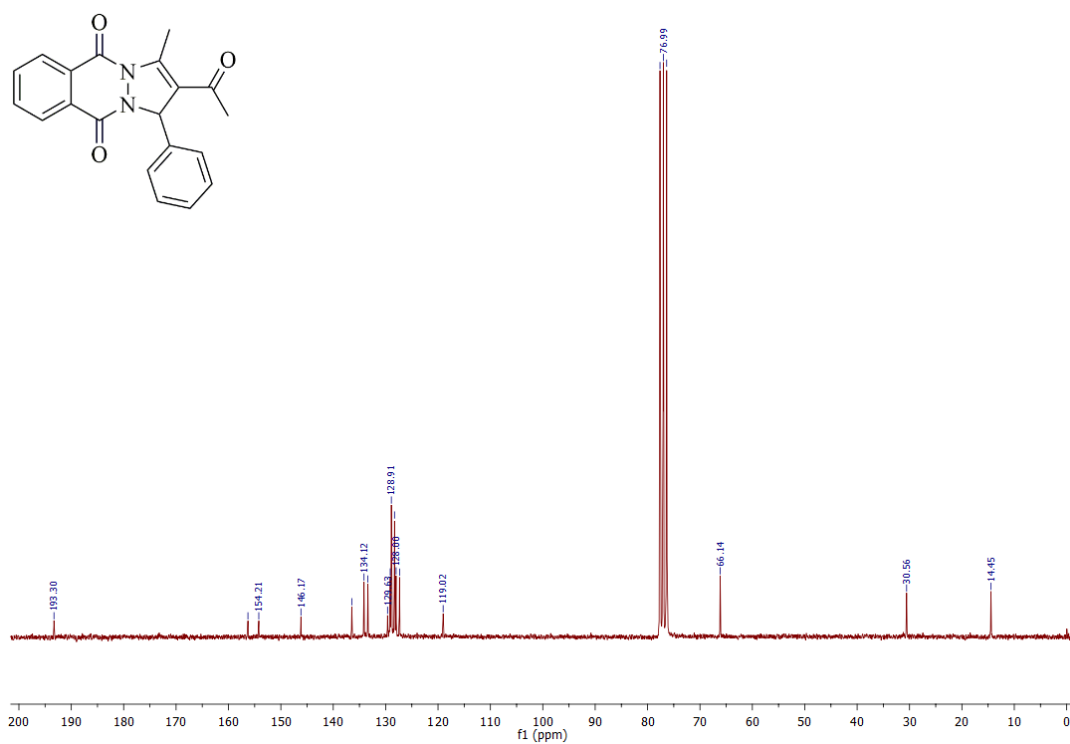
Слика П9.  $^1\text{H}$  NMR једињења 3z у  $\text{CDCl}_3$ .



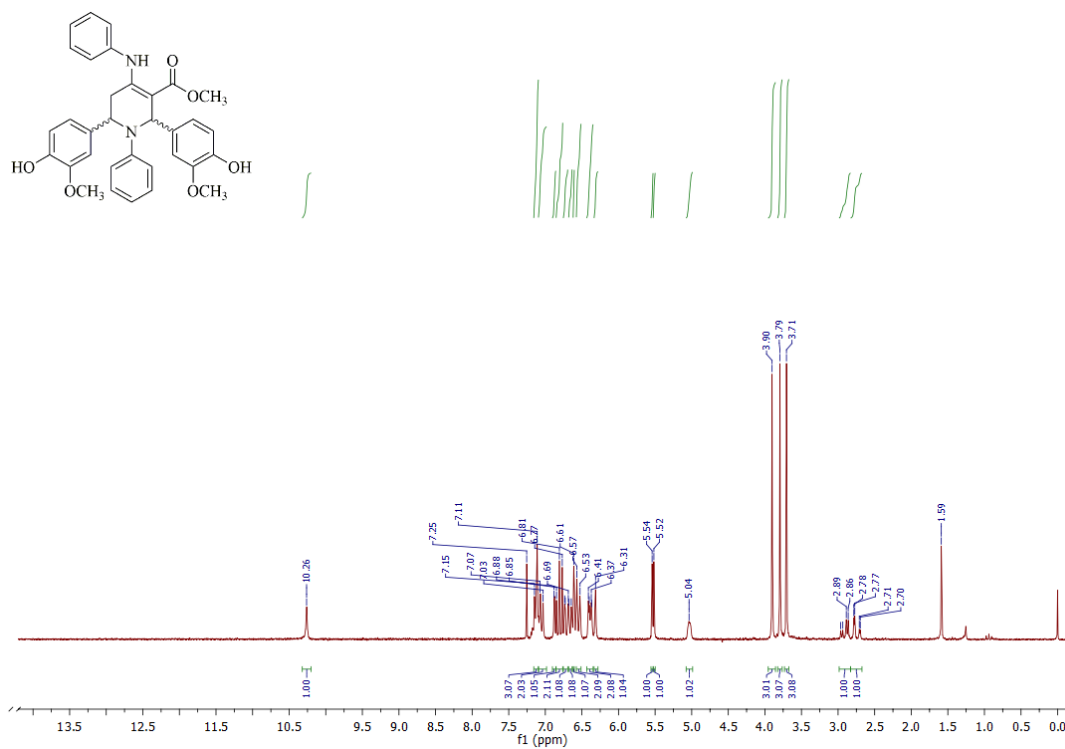
Слика П10.  $^{13}\text{C}$  NMR једињења 3z у  $\text{CDCl}_3$ .



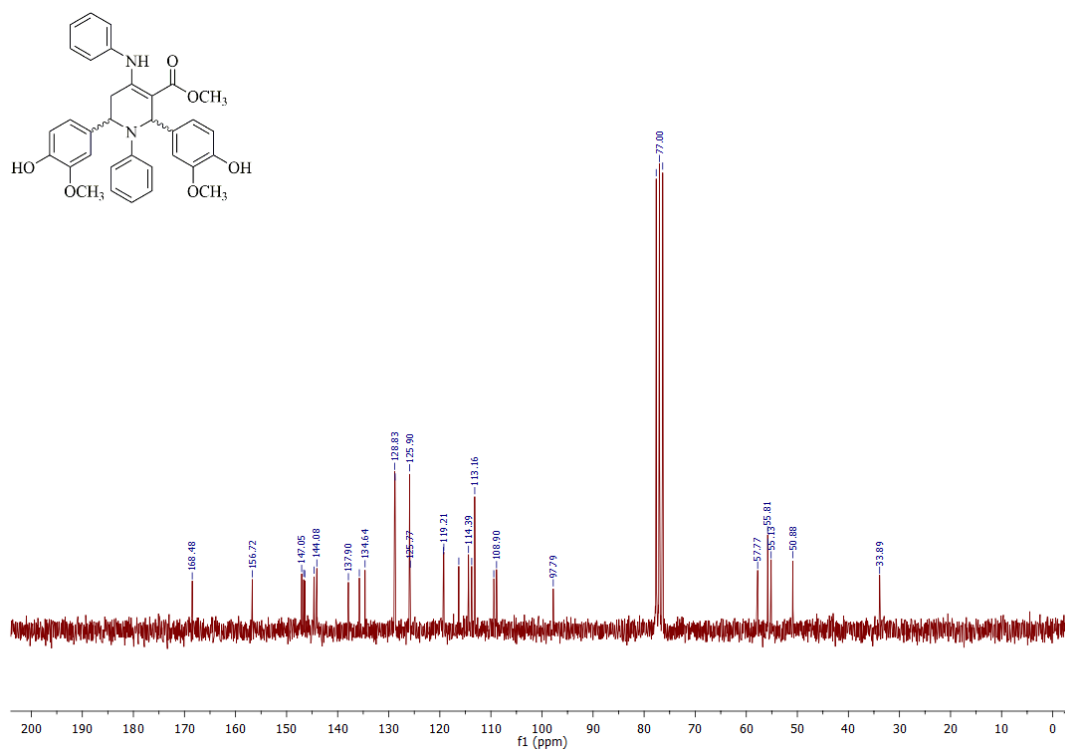
Слика П11. <sup>1</sup>H NMR једињења **6a** у CDCl<sub>3</sub>.



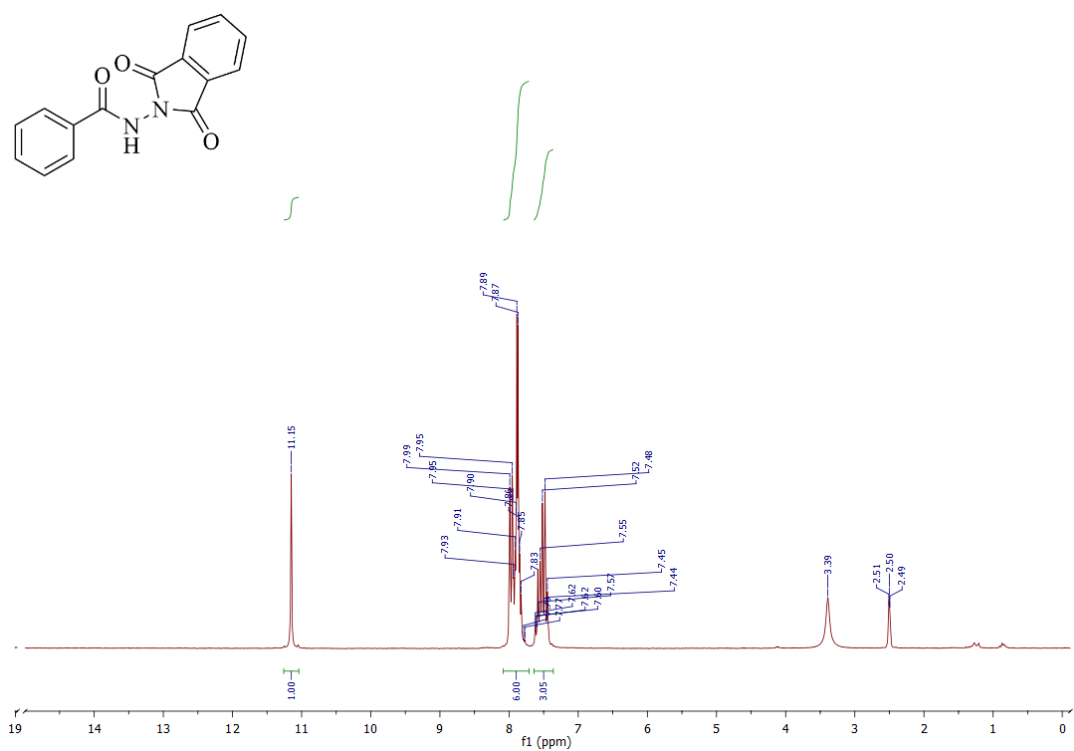
Слика П12. <sup>13</sup>C NMR једињења **6a** у CDCl<sub>3</sub>.



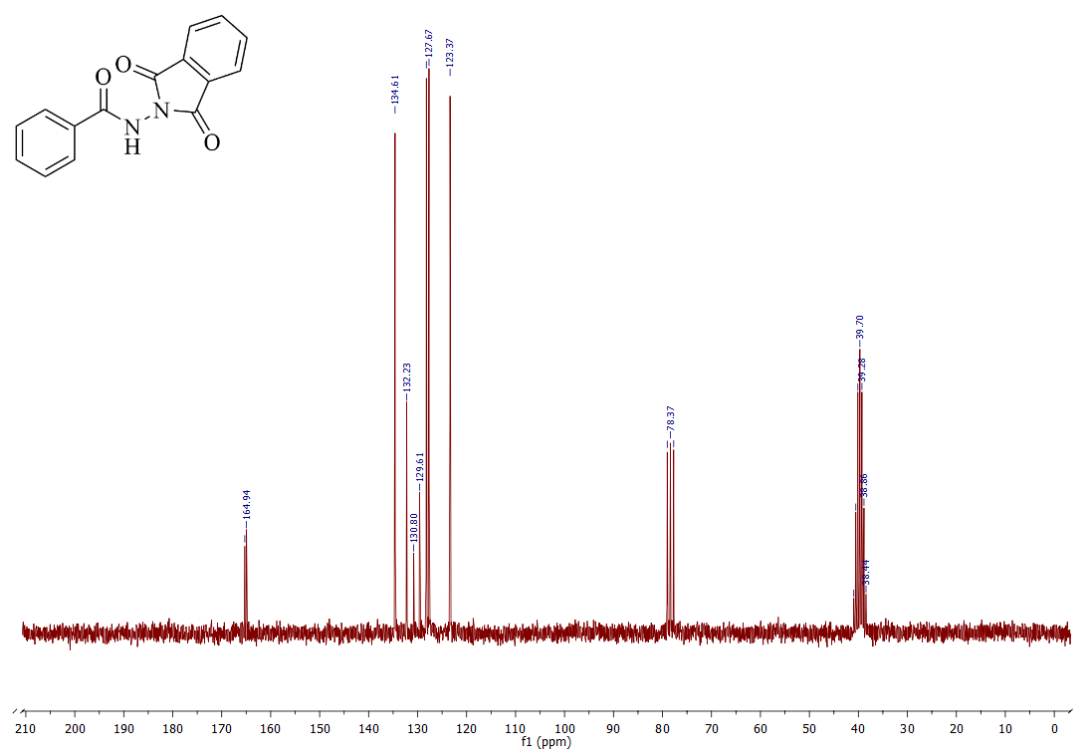
Слика П13. <sup>1</sup>H NMR једињења 8a у CDCl<sub>3</sub>.



Слика П14. <sup>13</sup>C NMR једињења 8a у CDCl<sub>3</sub>.

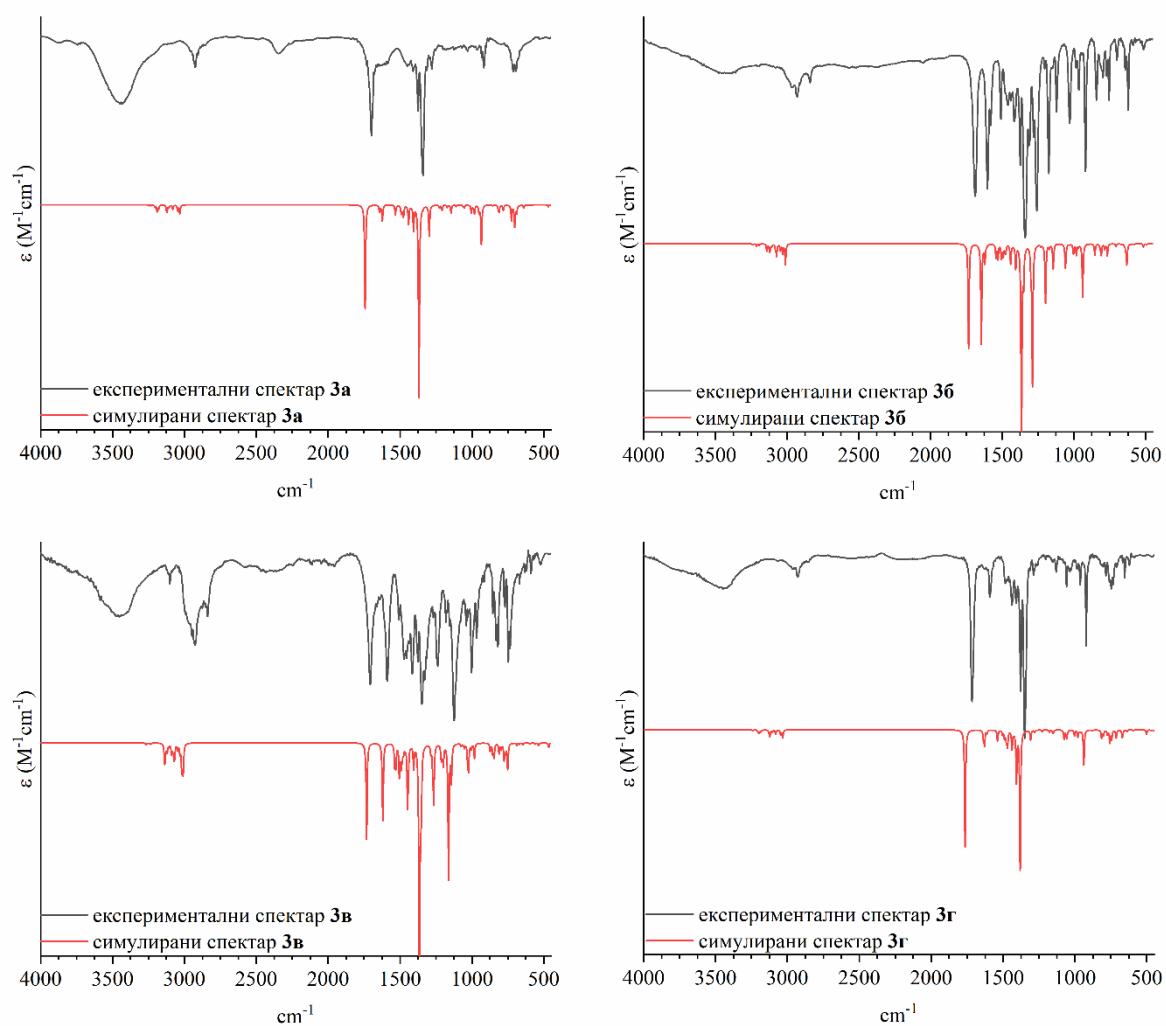


Слика П15. <sup>1</sup>H NMR једињења 9a у смеши CDCl<sub>3</sub> и DMSO.



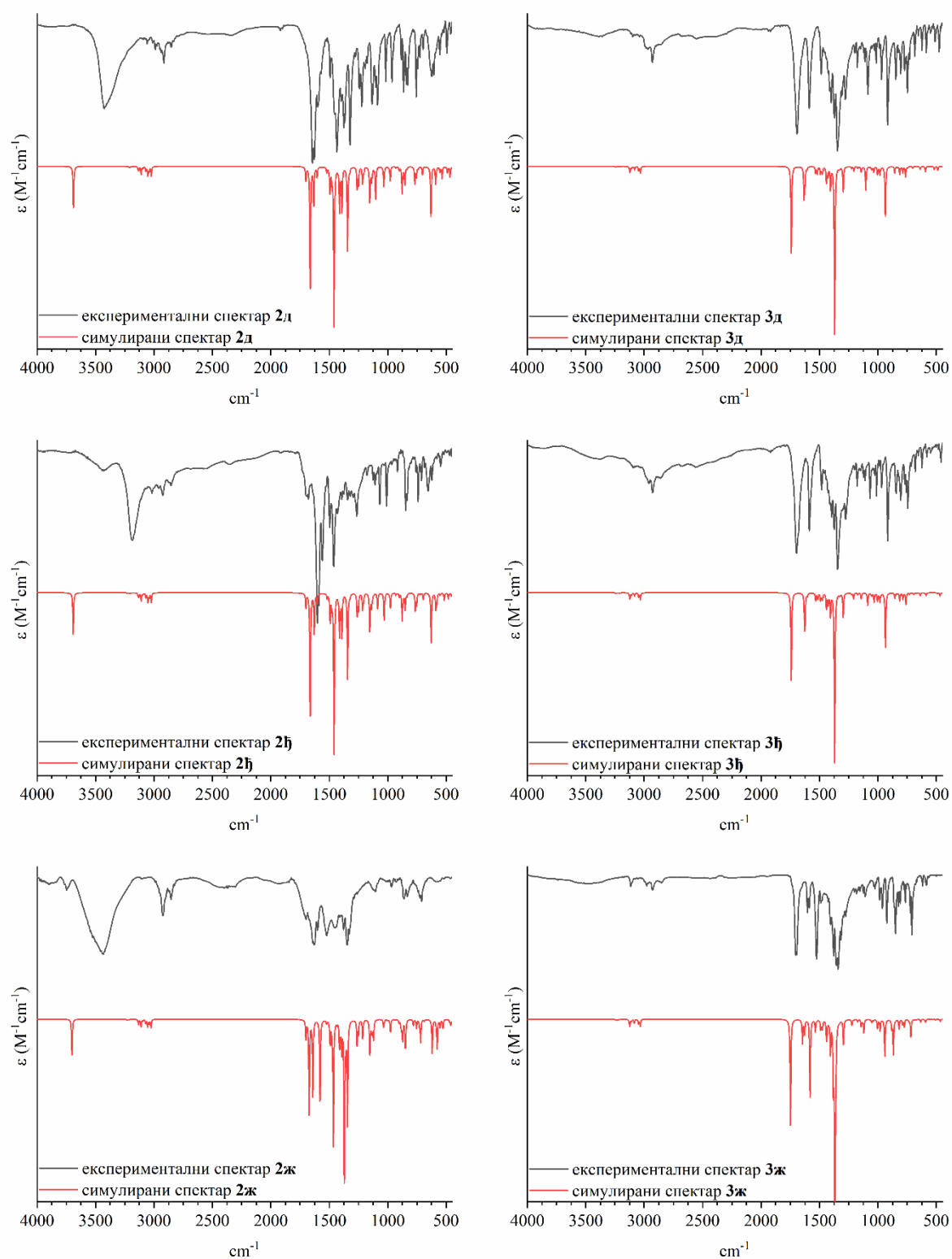
Слика П16. <sup>13</sup>C NMR једињења 9a у смеши CDCl<sub>3</sub> и DMSO.

**6.2. Прилог 2: Бензоил-1*H*-пиразолски деривати (IR спектри и хемијска померања за експериментални и симулирани  $^1\text{H}$  NMR и  $^{13}\text{C}$  NMR)**



Слика П17. Експериментални и симулирани IR спектри у гасној фази за једињења **3a–г**.





Слика П18. Експериментални и симулирани IR спектри у гасној фази за једињења 2д, 2ђ, 2ж и 3д, 3ђ, 3ж.

Табела П1. Хемијска померања за експерименталне и симулиране  $^1\text{H}$  NMR спектре (ppm).

	3а		3б		3в		3г		3д	
	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.
$\text{CH}_3$	2,45	2,22	2,29	2,25	2,65	2,60	2,21	2,19	2,73	2,63
	2,83	2,61	2,69	2,60	2,33	2,25	2,76	2,68	2,32	2,25
$\text{OCH}_3$	/		4,01	3,85	3,90	3,88	/		/	
			3,90	3,88						
			4,05	3,91						
$\text{C4-H}$	6,26	6,18	6,35	6,03	6,31	6,06	6,34	6,07	6,36	6,07
Ar	7,69	7,52	7,12	6,95	7,36	7,31	7,69	7,43	7,68	7,44
	8,18	7,98	8,26	8,05					8,21	7,97
	2д		3ђ		2ђ		3ж		2ж	
	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.
$\text{CH}_3$	2,07	2,03	2,73	2,63	2,06	2,02	2,23	2,21	1,94	1,96
	1,91	1,95	2,33	2,25	1,91	1,94	2,65	2,66	2,05	2,02
$\text{C4-H}$	/		6,33	6,07	/		6,10	6,17	/	
$\text{C4-H}_a, \text{H}_b$	3,01	2,95	/		3,01	2,94	/		3,03	2,98
Ar	7,63	7,38	7,94	7,61	7,70	7,54	8,11	7,98	8,21	8,00
	8,14	7,82	8,20	7,89	8,12	7,78	8,29	8,33	8,61	8,27
$\text{C5-OH}$	5,04	4,14	/		5,05	4,74	/		4,95	4,88

Табела П2. Хемијска померања за експерименталне и симулиране  $^{13}\text{C}$  NMR спектре (ppm).

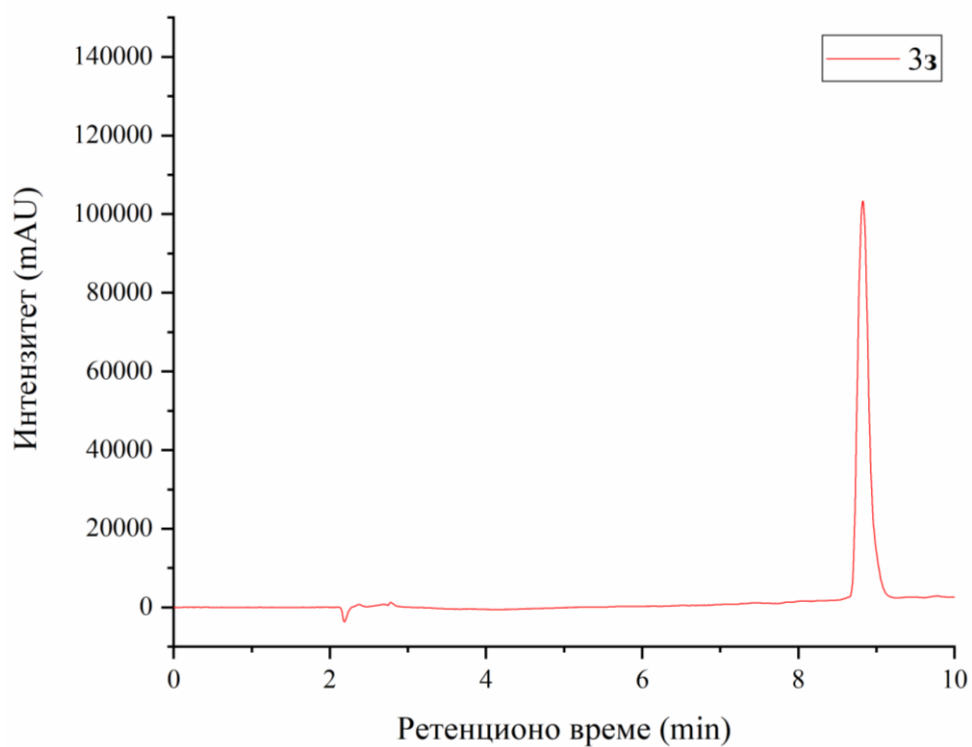
	3а		3б		3в		3г		3д	
	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.
CH <sub>3</sub>	14,29	16,38	14,14	15,82	13,84	15,74	13,80	15,61	13,85	15,61
	13,84	15,53	13,75	15,55	14,28	15,68	14,07	16,01	14,34	16,15
C4-H	110,96	110,34	110,53	109,95	110,79	109,97	111,56	110,99	111,20	110,82
C-CH <sub>3</sub>	144,95	147,28	144,74	146,54	145,02	146,87	144,26	146,41	145,12	146,95
	151,94	152,85	151,4	152,16	152,21	152,73	152,93	154,51	152,28	153,22
C=O	168,23	166,68	167,25	165,66	167,19	166,14	167,19	166,72	167,11	165,70
Ar	133,27	133,30	125,16	124,33	127,83	127,76	131,57	136,36	131,64	131,24
	131,24	131,58	133,78	133,96	109,28	107,30	135,06	139,44	132,76	132,95
	127,70	126,40	113,08	111,06	151,77	153,09	129,18	127,95	128,07	126,36
	132,26	131,67	162,96	162,69	151,77	141,63	130,95	130,03	138,73	146,35
					151,77	151,80	126,12	125,88		
						129,50	128,50			
OCH <sub>3</sub>		/	55,31	54,84	60,80	58,98				/
					56,22	54,60				
					56,22	54,30				
	2д		3ђ		2ђ		3ж		2ж	
	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.	експ.	сим.
CH <sub>3</sub>	16,20	18,06	13,89	15,58	16,23	17,99	13,77	15,56	16,21	18,03
	26,87	26,42	14,37	16,42	26,8	26,56	14,28	16,46	26,79	26,77
C4-H		/	111,25	110,92		/	111,74	111,53		/
C4-H <sub>a</sub> , H <sub>b</sub>	51,02	52,72		/	50,96	52,84		/	51,11	52,78
C5	92,84	94,79	145,15	147,00	92,75	94,74	149,50	147,38	92,84	94,96
C3	155,45	157,81	152,35	153,33	155,59	157,78	153,10	154,39	156,56	159,02
C=O	167,24	166,04	167,29	165,60	167,25	165,95	166,33	165,28	166,06	164,81
Ar	132,65	132,12	132,13	131,80	125,81	132,75	139,10	140,42	140,09	141,27
	131,34	131,43	132,86	132,79	131,42	131,38	131,89	131,46	130,67	130,24
	131,34	126,28	131,07	129,47	130,83	129,43	122,70	122,36	122,78	122,66
	137,34	145,07	132,86	145,26	133,01	143,57	145,29	148,28	148,98	147,70

**6.3. Прилог 3: Фенолни бензоил-пиразолски деривати  
(HPLC хроматограми и UV-Vis спектри)**

Табела ПЗ. HPLC хроматограм једињења Зз.

	Ретенционо време (min)	Област	Висина пика	%
1	2,370	13418	976	0,9055
2	2,690	9532	565	0,6433
3	2,774	3681	577	0,2484
4	6,965	1171	55	0,0790
5	7,435	4531	194	0,3058
6	7,872	2542	259	0,1715
7	8,032	4723	335	0,3187
8	8,245	6793	366	0,4584
9	8,821	1409231	103080	95,0974
10	9,365	14020	651	0,9461
11	9,776	12240	768	0,8260

Таласна дужина: 310 nm; Трајање: 10 min; Запремина: 20,00  $\mu$ l

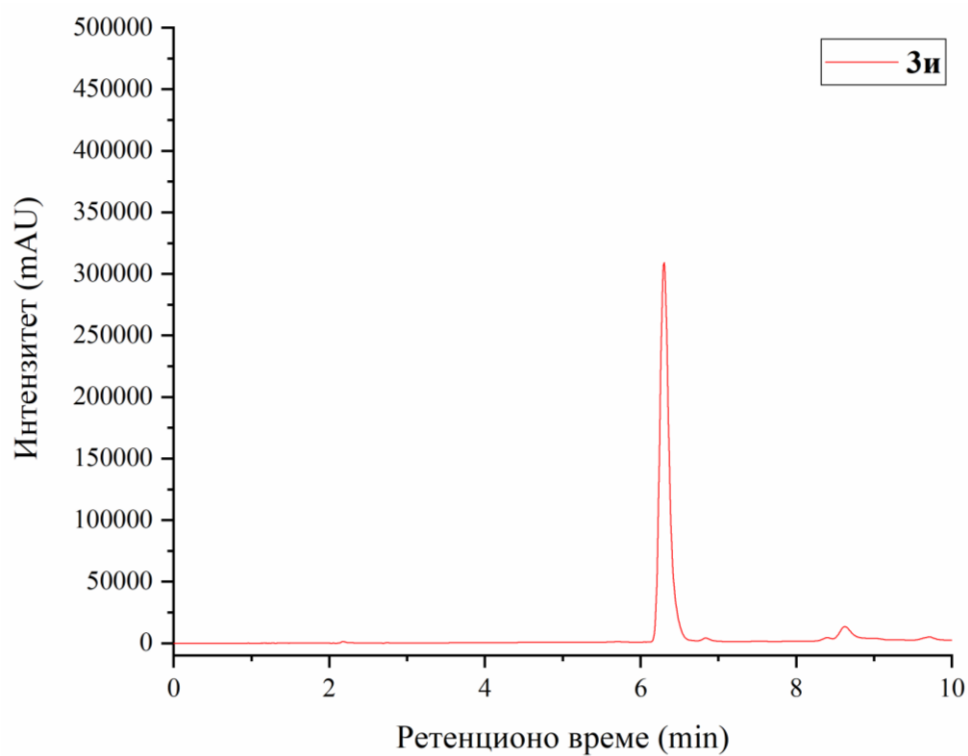


Слика П19. HPLC хроматограм једињења Зз.

Табела П4. HPLC хроматограм једињења **3и**.

	Ретенционо време (min)	Област	Висина пика	%
1	2,173	7775	1351	0,0820
2	2,734	1325	279	0,0140
3	4,619	3637	264	0,0384
4	5,701	3614	399	0,0381
5	6,295	9049774	841741	95,4632
6	6,835	16397	2447	0,1730
7	7,517	3774	268	0,0398
8	8,006	10369	632	0,1094
9	8,397	37591	3533	0,3965
10	8,620	231850	12548	2,4457
11	9,355	25179	2118	0,2656
12	9,703	88579	4606	0,9344

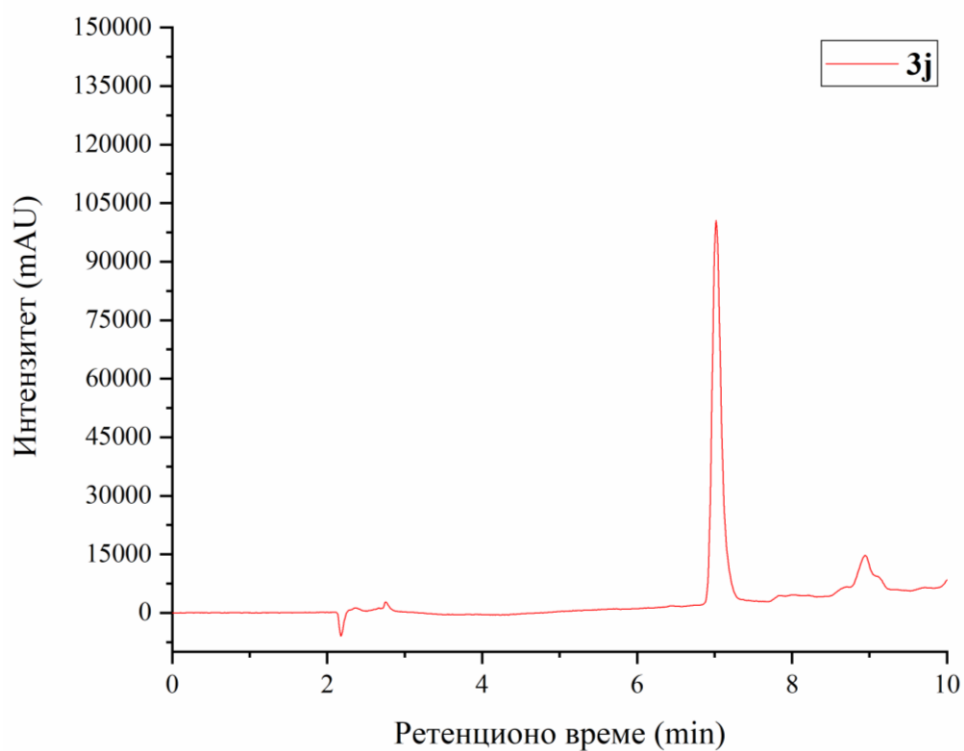
Таласна дужина: 260 nm; Трајање: 10 min; Запремина: 20,00  $\mu$ l

Слика П20. HPLC хроматограм једињења **3и**.

Табела П5. HPLC хроматограм једињења 3j.

	Ретенционо време (min)	Област	Висина пика	%
1	2,360	15884	1004	0,9769
2	2,667	8135	588	0,5003
3	2,749	4878	752	0,3000
4	7,015	1562931	98365	96,1243
5	7,840	1962	225	0,1207
6	8,017	2966	194	0,1824
7	8,704	3195	317	0,1965
8	8,938	23298	1640	1,4329
9	9,685	2700	177	0,1660

Таласна дужина: 301 nm; Трајање: 10 min; Запремина: 20,00  $\mu$ l

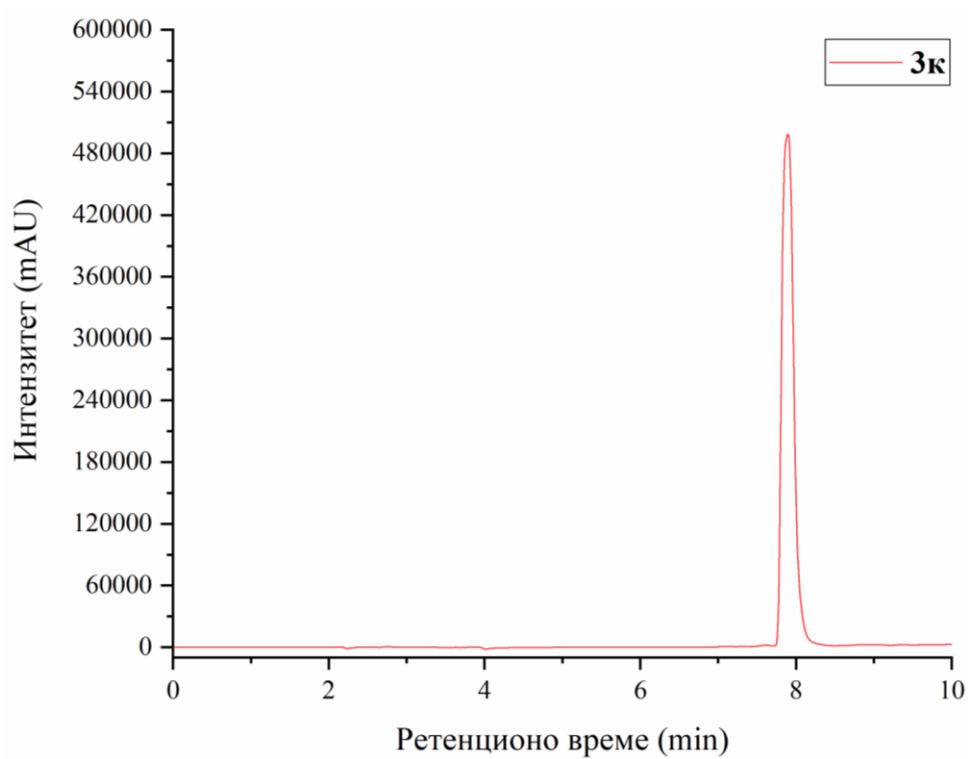


Слика П21. HPLC хроматограм једињења 3j.

Табела П6. HPLC хроматограм једињења 3к.

	Ретенционо време (min)	Област	Висина пика	%
1	2,441	18145	1233	0,2952
2	2,592	4475	883	0,0728
3	2,759	10508	1020	0,1709
4	4,373	27374	1360	0,4453
5	4,533	16053	1409	0,2611
6	7,069	26496	2095	0,4310
7	7,343	20727	1839	0,3372
8	7,605	44706	3055	0,7272
9	7,890	5878466	502971	95,6249
10	8,950	65497	3394	1,0654
11	9,647	34981	3117	0,5690

Таласна дужина: 310 nm; Трајање: 10 min; Запремина: 20,00  $\mu$ l



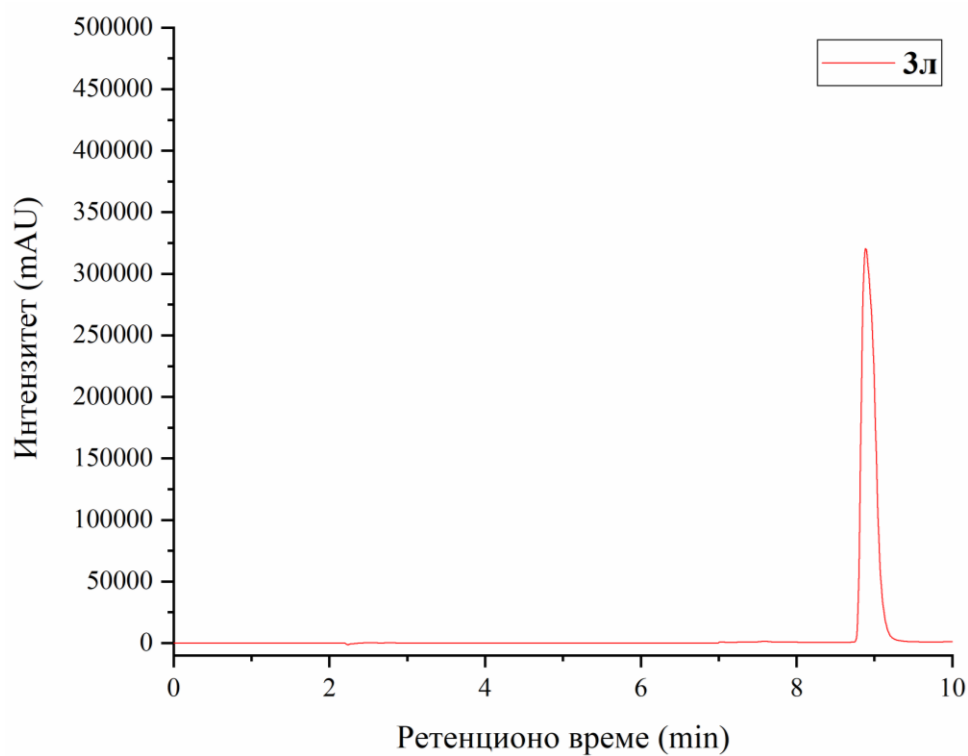
Слика П22. HPLC хроматограм једињења 3к.



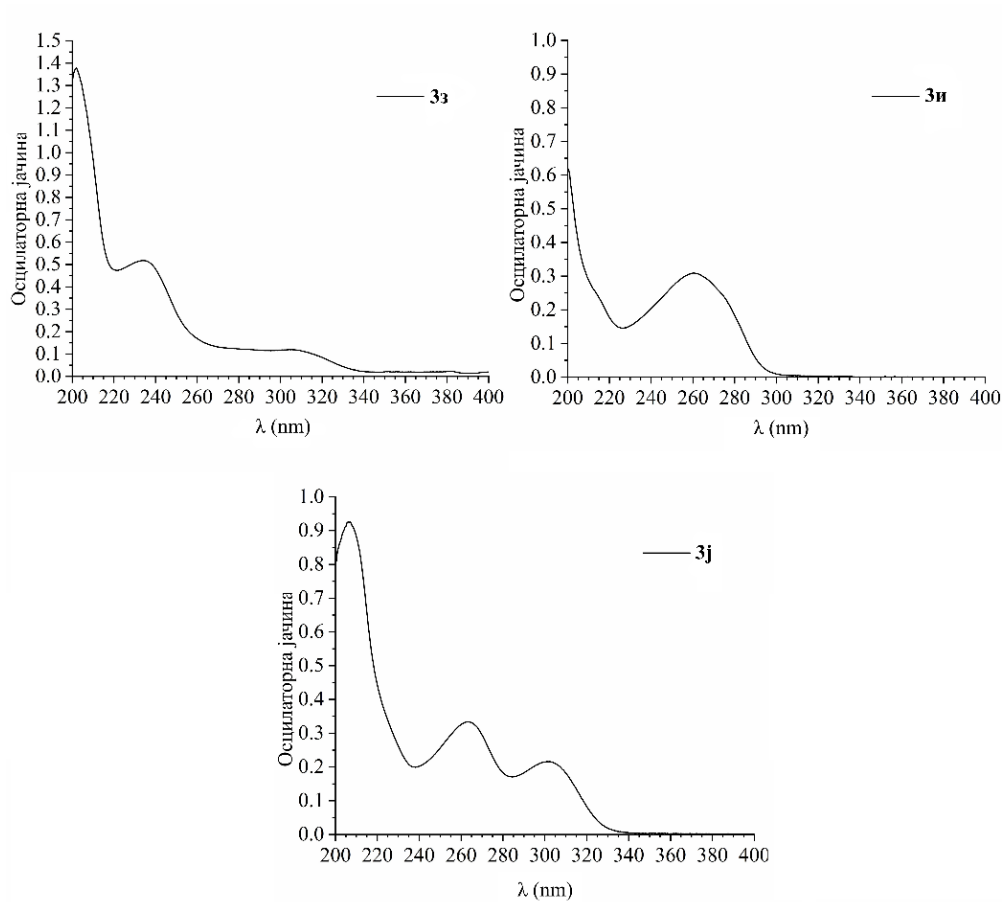
Табела П7. HPLC хроматограм једињења 3л.

	Ретенционо време (min)	Област	Висина пика	%
1	2,512	23353	1100	0,4802
2	2,781	8836	805	0,1817
3	7,347	37036	2120	0,7615
4	7,579	47007	2704	0,9666
5	7,845	40845	2066	0,8399
6	8,203	18750	1745	0,3855
7	8,483	29318	1719	0,6028
8	8,883	4652652	347013	95,6673
9	9,987	5571	416	0,1145

Таласна дужина: 310 nm; Трајање: 10 min; Запремина: 20,00  $\mu$ l

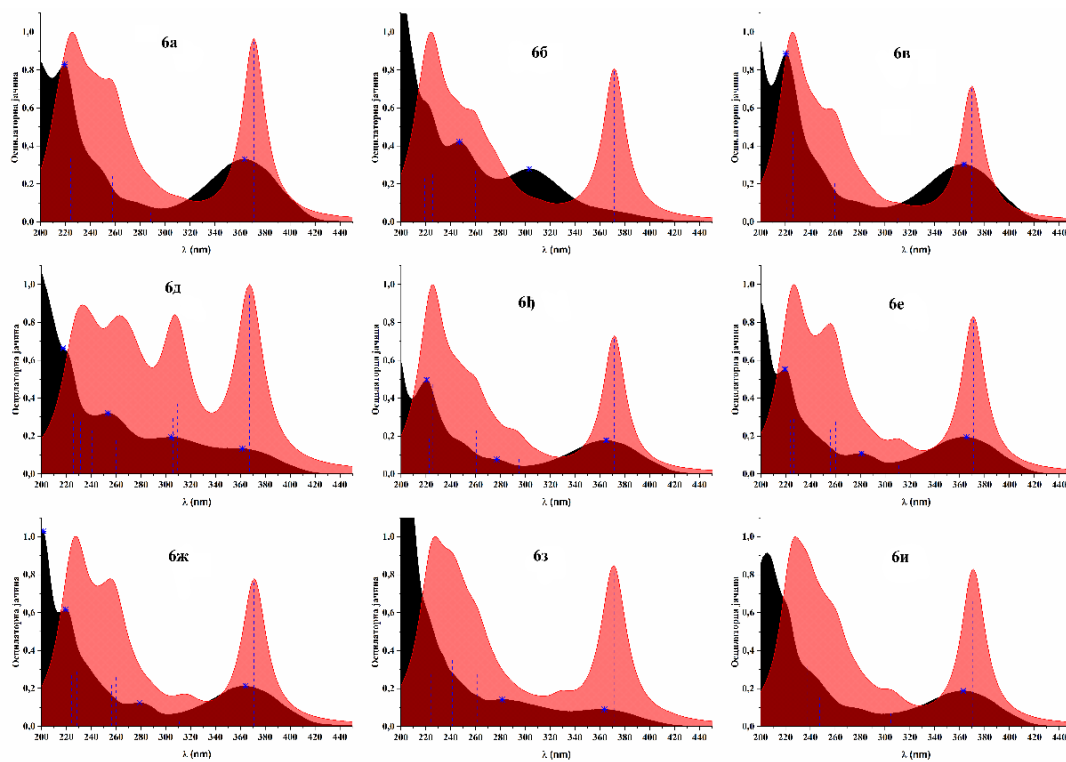


Слика П23. HPLC хроматограм једињења 3л.

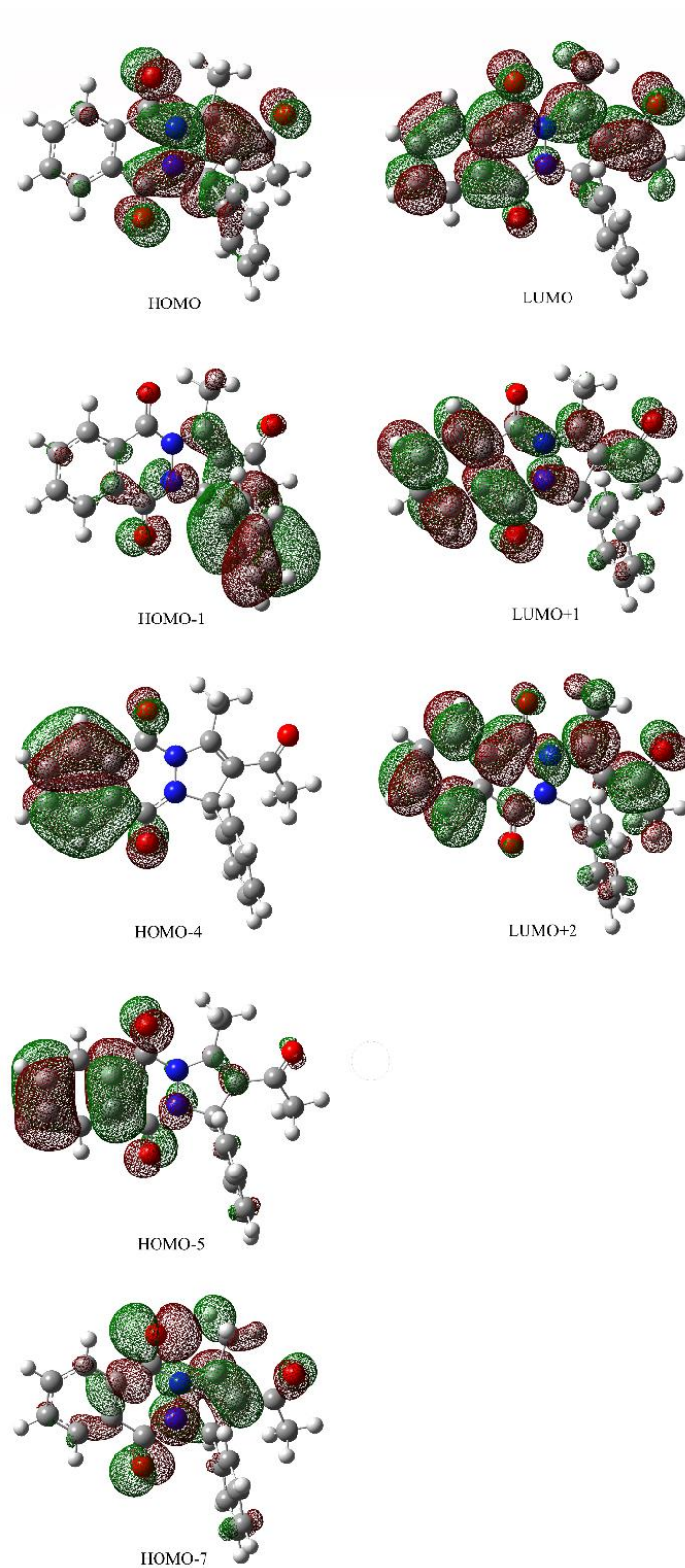


Слика П24. UV-Vis спектри једињења 3z, 3n и 3j.

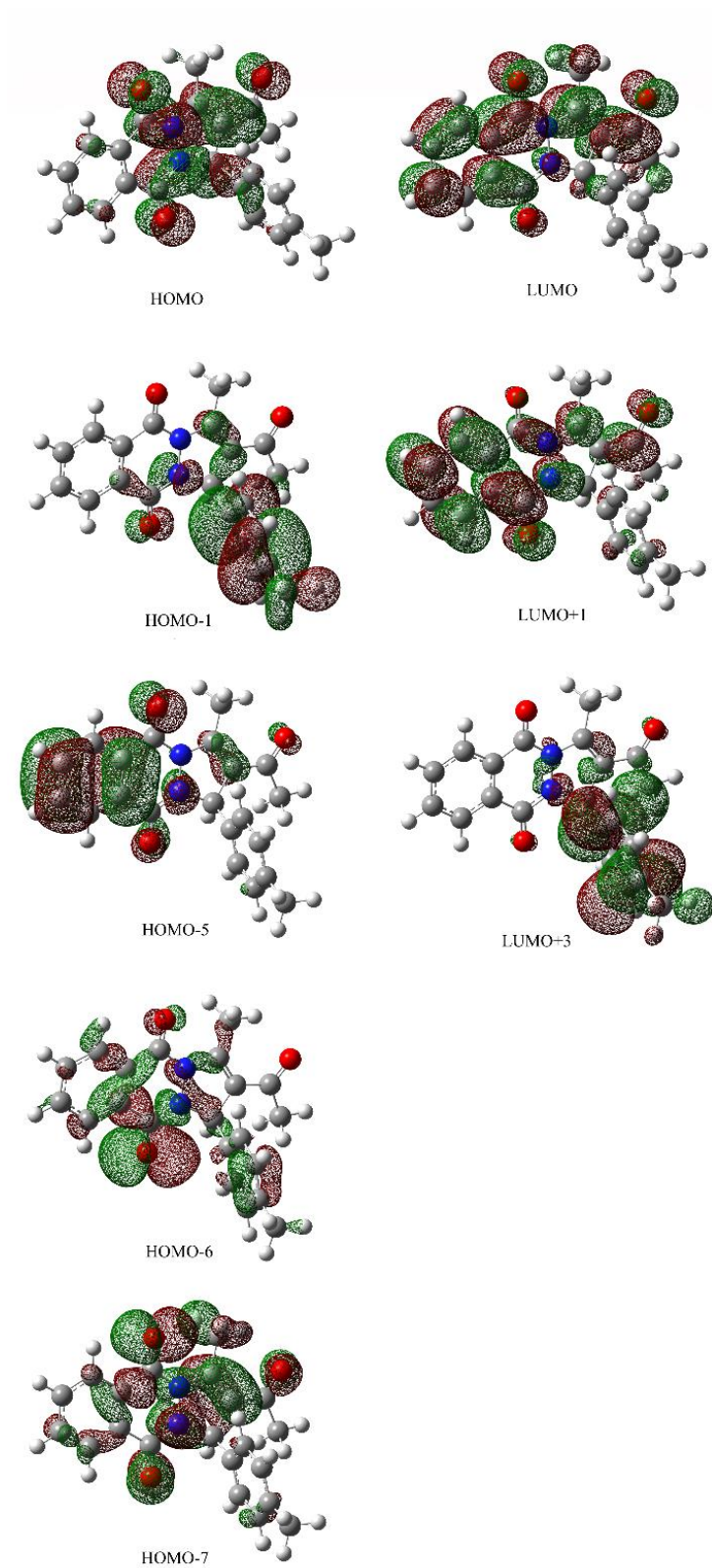
**6.4. Прилог 4: Пиразол-фталазин дионски деривати (UV-Vis спектри, Кон-Шамове орбитале, електронски прелази и енергије орбитала)**



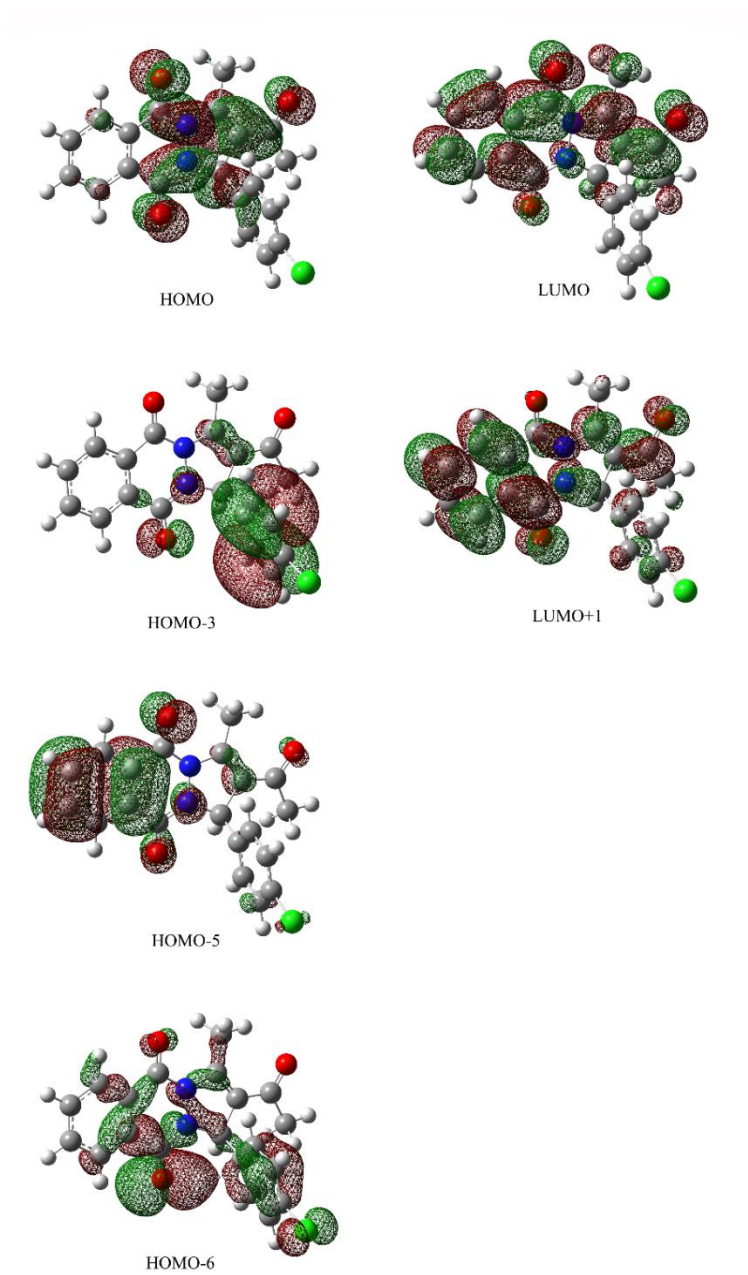
Слика П25. UV-Vis спектри свих пирозол-фталазин-диона изузев спектра једињења бг.



Слика П26. Кон-Шамове орбитале једињења 6a.

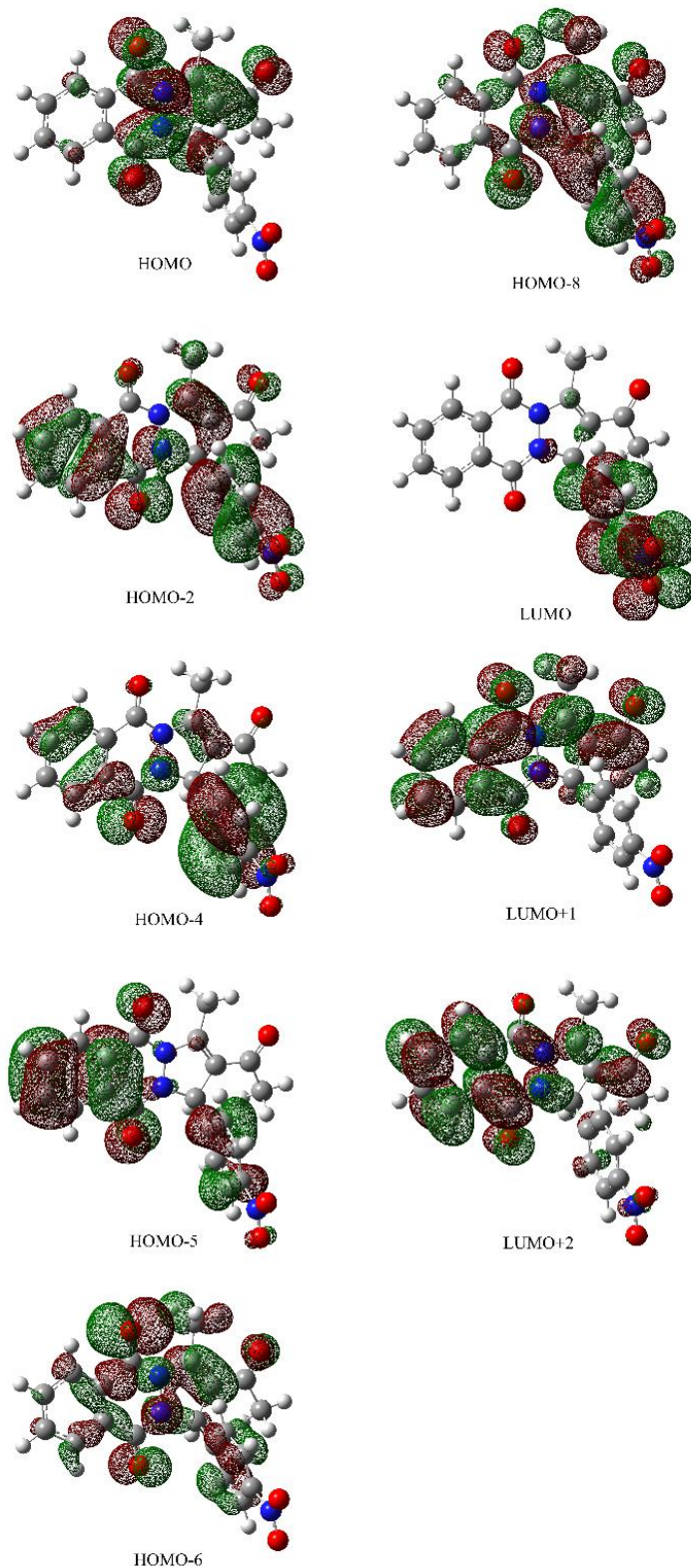


Слика П27. Кон-Шамове орбитале једињења 66.



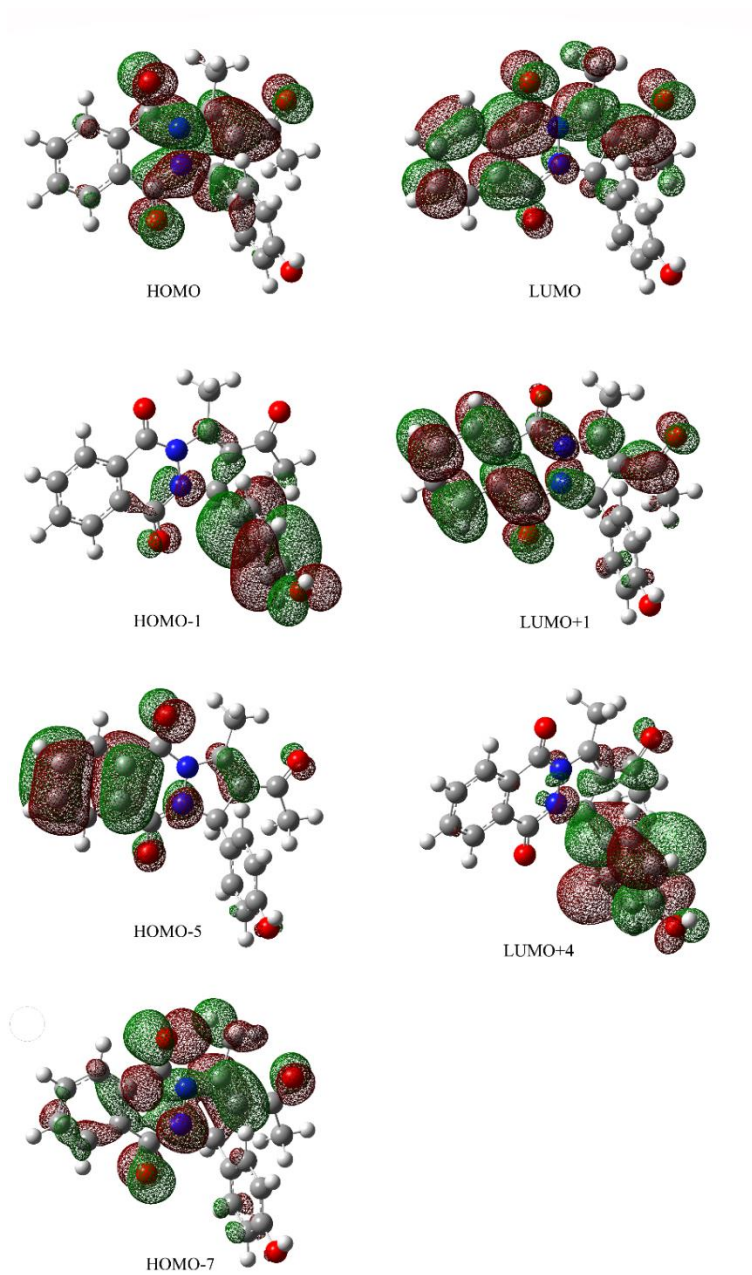
Слика П28. Кон-Шамове орбитале једињења 6в.



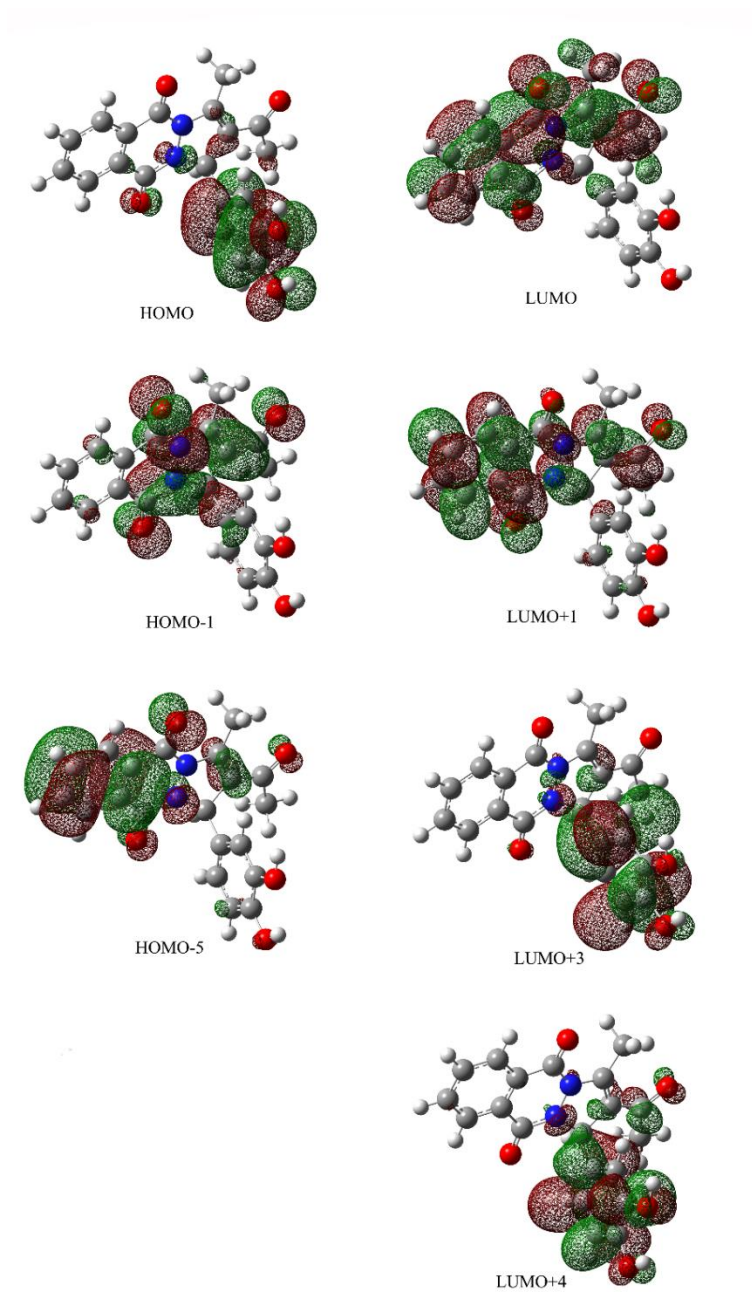


Слика П29. Кон-Шамове орбитале једињења 6д.

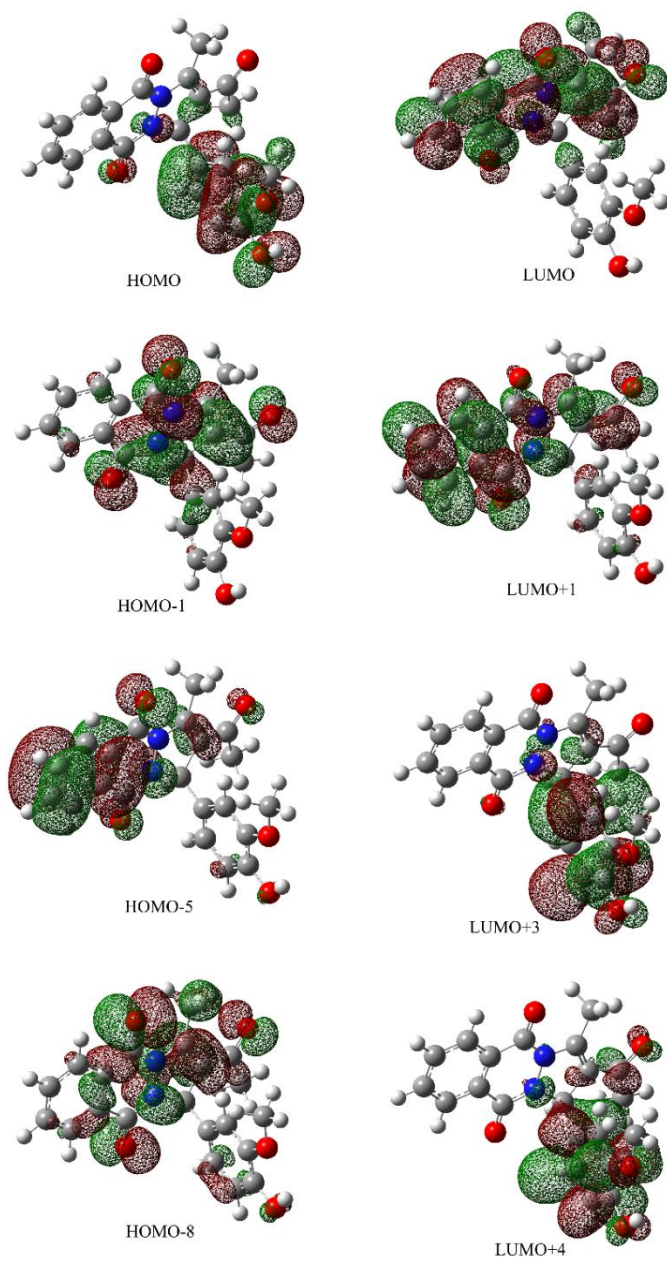




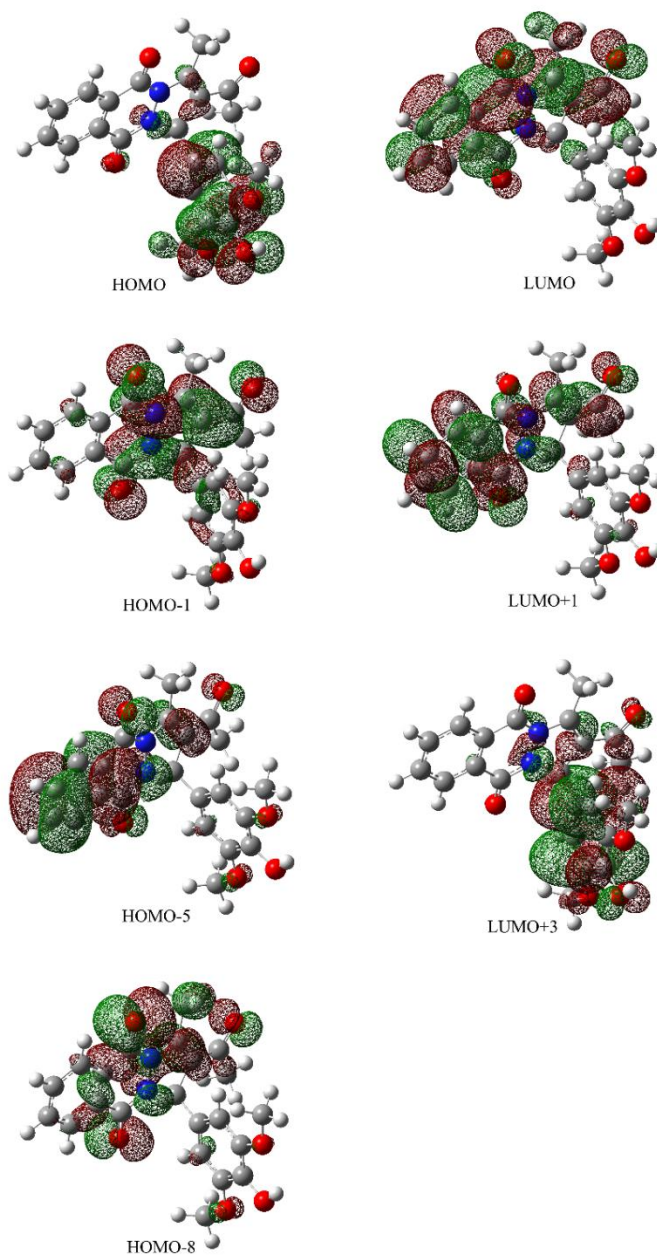
Слика П30. Кон-Шамове орбитале једињења 6j.



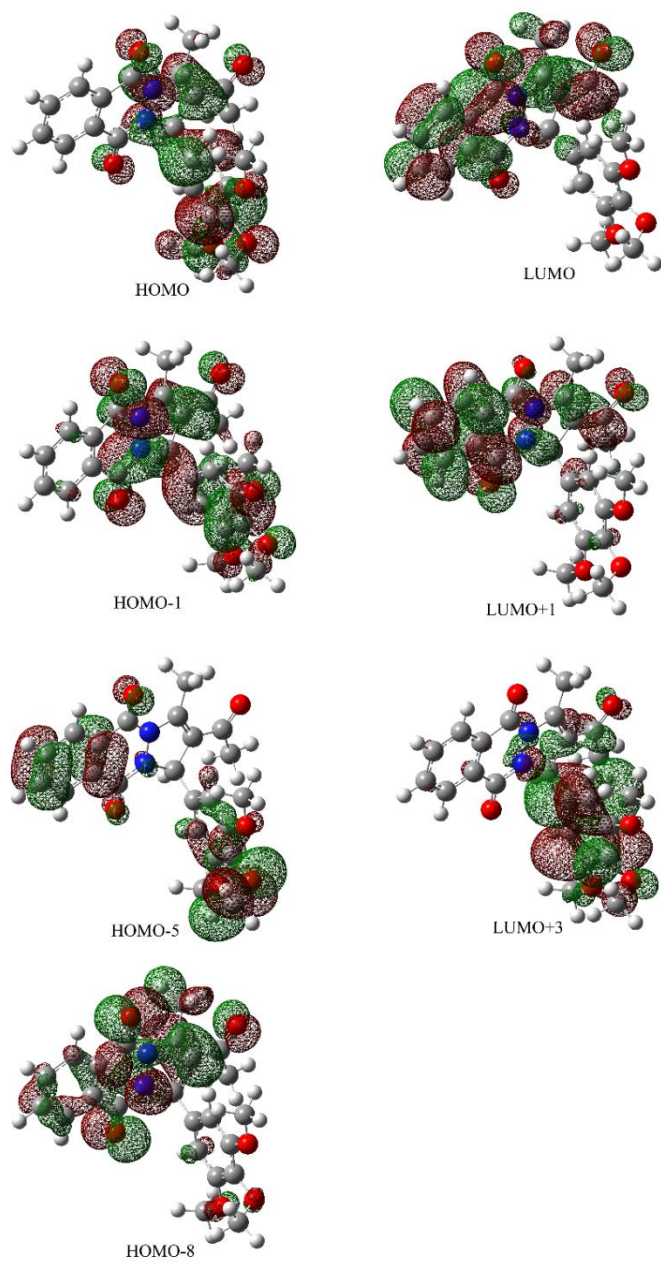
Слика ПЗ1. Кон-Шамове орбитале једињења 6e.



Слика П32. Кон-Шамове орбитале једињења 6ж.



Слика П33. Кон-Шамове орбитале једињења 63.



Слика П34. Кон-Шамове орбитале једињења **6и**.



Табела П8. Електронски прелази одговорни за појаву трака у UV-Vis спектрима **ба–в, бд**.

<b>ба</b>			<b>бб</b>			<b>бв</b>			<b>бд</b>		
$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз	
370,9	HOMO	LUMO	371,1	HOMO	LUMO	369,7	HOMO	LUMO	367,4	HOMO	LUMO+1
288,2	HOMO	LUMO+2	259,7	HOMO-6	LUMO	310,7	HOMO	LUMO+1	309,1	HOMO-2	LUMO
257,7	HOMO-4	LUMO		HOMO-5	LUMO	259,6	HOMO-6	LUMO		HOMO	LUMO+2
225,5	HOMO-7	LUMO+1	225,5	HOMO-7	LUMO+1		HOMO-5	LUMO	306,0	HOMO	LUMO+2
224,5	HOMO-5	LUMO+1		HOMO-5	LUMO+1	226,1	HOMO-5	LUMO+1	260,1	HOMO-6	LUMO+1
			224,6	HOMO-5	LUMO+1	221,5	HOMO-3	LUMO+1	240,8	HOMO-8	LUMO+1
			219,2	HOMO-1	LUMO+3					HOMO-6	LUMO+1
									231,4	HOMO-4	LUMO+2
										HOMO-2	LUMO+2
									225,8	HOMO-5	LUMO+2

Табела П9. Електронски прелази одговорни за појаву трака у UV-Vis спектрима **бђ–и**.

<b>бђ</b>			<b>бе</b>			<b>бж</b>			<b>бз</b>			<b>би</b>		
$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз		$\lambda$ (nm)	ел. прелаз	
371,5	HOMO	LUMO	370,8	HOMO-1	LUMO	371,1	HOMO-1	LUMO	371,1	HOMO-1	LUMO	370,2	HOMO-1	LUMO
294,8	HOMO-1	LUMO+1	311,2	HOMO	LUMO+1	310,9	HOMO-1	LUMO+1	328,9	HOMO	LUMO+1	304,6	HOMO	LUMO+1
260,4	HOMO-5	LUMO	260,4	HOMO-5	LUMO	260,3	HOMO-8	LUMO	261,6	HOMO-8	LUMO	261,4	HOMO-8	LUMO
225,8	HOMO-7	LUMO+1	256,0	HOMO	LUMO+3		HOMO-5	LUMO		HOMO-5	LUMO		HOMO-5	LUMO
	HOMO-5	LUMO+1	226,6	HOMO	LUMO+4	256,5	HOMO	LUMO+3	241,4	HOMO	LUMO+3	247,7	HOMO-8	LUMO
222,4	HOMO-1	LUMO+4	224,0	HOMO-5	LUMO+1	228,8	HOMO	LUMO+4	224,5	HOMO-8	LUMO+1	237,9	HOMO	LUMO+3
						224,2	HOMO-5	LUMO+1		HOMO-5	LUMO+1	225,7	HOMO-8	LUMO+1
													HOMO-5	LUMO+1

Табела П10. Енергије (а.у.) орбитала испитиваних пиразол-фталазин-диона **ба–в, бд**.

<b>ба</b>		<b>бб</b>		<b>бв</b>		<b>бд</b>	
Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала
-0,05335	LUMO+2	-0,02842	LUMO+3	-0,06709	LUMO+1	-0,06780	LUMO+2
-0,06618	LUMO+1	-0,06577	LUMO+1	-0,09482	LUMO	-0,09633	LUMO+1
-0,09395	LUMO	-0,09362	LUMO	-0,23590	HOMO	-0,11680	LUMO
-0,23457	HOMO	-0,23405	HOMO	-0,27793	HOMO-3	-0,23819	HOMO
-0,28327	HOMO-4	-0,25238	HOMO-1	-0,28801	HOMO-5	-0,28200	HOMO-2
-0,28756	HOMO-5	-0,28714	HOMO-5	-0,29507	HOMO-6	-0,28684	HOMO-4
-0,29726	HOMO-7	-0,29310	HOMO-6			-0,29020	HOMO-5
		-0,29653	HOMO-7			-0,29998	HOMO-6
						-0,30797	HOMO-8

Табела П11. Енергије (а.у.) орбитала испитиваних пиразол-фталазин-диона **бђ–и**.

<b>бђ</b>		<b>бе</b>		<b>бж</b>		<b>бз</b>		<b>би</b>	
Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала	Енергија (а.у.)	Орбитала
-0,01940	LUMO+4	-0,01028	LUMO+4	-0,00995	LUMO+4	-0,01920	LUMO+3	-0,02571	LUMO+3
-0,06554	LUMO+1	-0,02826	LUMO+3	-0,02546	LUMO+3	-0,06557	LUMO+1	-0,06607	LUMO+1
-0,09363	LUMO	-0,06563	LUMO+1	-0,06562	LUMO+1	-0,09364	LUMO	-0,09390	LUMO
-0,23409	HOMO	-0,09382	LUMO	-0,09363	LUMO	-0,22233	HOMO	-0,23389	HOMO
-0,24049	HOMO-1	-0,23144	HOMO	-0,22796	HOMO	-0,23427	HOMO-1	-0,23473	HOMO-1
-0,28692	HOMO-5	-0,23446	HOMO-1	-0,23423	HOMO-1	-0,28639	HOMO-5	-0,28646	HOMO-5
-0,29625	HOMO-7	-0,28704	HOMO-5	-0,28697	HOMO-5	-0,29907	HOMO-8	-0,29623	HOMO-8
				-0,29993	HOMO-8				

## **6.5. Прилог 5: Кристалографски подаци**

Табела П12. Кристалографски подаци за једињење 2з.

Емпиријска формула	$C_{12}H_{13}IN_2O_2$
Молекулска маса	344,14
Дифрактометар	Xcalibur Sapphire3 Gemini
Боја, облик кристала	безбојни, призматични
Величина кристала ( $mm^3$ )	0,22 x 0,33 x 0,36
Температура (К)	293(2)
Таласна дужина ( $\text{\AA}$ )	0,71073
Кристални ситем	моноклиничан
Просторна група	$P 2_1/c$
Параметри јединичне ћелије	
$a$ ( $\text{\AA}$ )	5,5981(2)
$b$ ( $\text{\AA}$ )	8,9424(3)
$c$ ( $\text{\AA}$ )	26,4013(8)
$\alpha$ ( $^\circ$ )	90
$\beta$ ( $^\circ$ )	90,176(3)
$\gamma$ ( $^\circ$ )	90
$V$ ( $\text{\AA}^3$ )	1321,65(8)
$Z$	4
$D_{calc}$ ( $Mg/m^3$ )	1,730
$\mu$ ( $mm^{-1}$ )	2,415
$\theta$ опсег за прикупљене података ( $^\circ$ )	2,75–29,13
Број измерених рефлексија	14451
Независне рефлексије, $R_{int}$	0,0281
Подаци /параметри	3175/157
Степен поклапања вредности	1,165
Финални $R_1/wR_2$ индекси [ $I > 2\sigma(I)$ ]	0,0760/0,1846
Финални $R_1/wR_2$ индекси (сви подаци)	0,0820/0,1878



Табела П13. Кристалографски подаци за једињење 3л.

Емпиријска формула	$C_{13}H_{14}N_2O_3$
Молекулска маса	246,26
Боја, облик кристала	безбојни, призматични
Величина кристала ( $mm^3$ )	0,24 x 0,38 x 0,47
Температура (K)	293(2)
Таласна дужина ( $\text{\AA}$ )	0,71073
Кристални систем	орторомбичан
Просторна група	P b c a
Параметри јединичне ћелије	
$a$ ( $\text{\AA}$ )	11,3950(4)
$b$ ( $\text{\AA}$ )	14,1568(3)
$c$ ( $\text{\AA}$ )	15,5158(5)
$\alpha$ ( $^\circ$ )	90
$\beta$ ( $^\circ$ )	90
$\gamma$ ( $^\circ$ )	90
$V$ ( $\text{\AA}^3$ )	2502,96(13)
$Z$	8
$D_{calc}$ ( $Mg/m^3$ )	1,028
$\mu$ ( $mm^{-1}$ )	0,094
$\theta$ опсег за прикупљене података ( $^\circ$ )	2,64–28,91
Број измерених рефлексија	14465
Независне рефлексије, $R_{int}$	0,0203
Подаци / параметри	3042/170
Степен поклапања вредности	1,028
Финални $R_1/wR_2$ индекси [ $I > 2\sigma(I)$ ]	0,0423/ 0,1020
Финални $R_1/wR_2$ индекси (сви подаци)	0,0579/ 0,1108

Табела П14. Кристалографски подаци за једињење бг.

Емпиријска формула	$C_{40}H_{30}F_2N_4O_6$
Молекулска маса	700,68
Боја, облик кристала	жути, игличасти
Величина кристала ( $mm^3$ )	0,12 x 0,25 x 0,47
Температура (К)	293(2)
Таласна дужина ( $\text{\AA}$ )	0,71073
Кристални систем	орторомбичан
Просторна група	<i>Pbca</i>
Параметри јединичне ћелије	
$a$ ( $\text{\AA}$ )	22,7947(13)
$b$ ( $\text{\AA}$ )	7,8451(4)
$c$ ( $\text{\AA}$ )	37,255(2)
$V$ ( $\text{\AA}^3$ )	6662,3(6)
$Z$	8
$Z'$	16
$D_{calc}$ ( $Mg/m^3$ )	1,397
$\mu$ ( $mm^{-1}$ )	0,103
F(000)	2912
$\theta$ опсег за прикупљене података ( $^\circ$ )	2,80–29,17
Број измерених рефлексија	28282
Независне рефлексије, $R_{int}$	7874, 0,0471
Комплетност (%) за $\theta = 26,00^\circ$	99,9 %
Подаци / ограничења / параметри	7874 / 0 / 473
Степен поклапања вредности	1,030
Финални $R_1/wR_2$ индекси [ $I > 2\sigma(I)$ ]	0,0615, 0,1176
Финални $R_1/wR_2$ индекси (сви подаци)	0,1427, 0,1465
Најмањи и највећи пикови у диферентној мапи електронске густине ( $e \text{\AA}^{-3}$ )	0,345–0,181

Табела П15. Кристалографски подаци за једињење 9ж.

Емпиријска формула	$C_{18}H_{16}N_2O_6$
Молекулска маса	356,33
Температура (К)	293(2)
Таласна дужина (Å)	0,71073
Кристални ситем	моноклиничан
Просторна група	$P2_1/c$
Параметри јединичне ћелије	
$a$ (Å)	12,3966(4)
$b$ (Å)	17,7670(5)
$c$ (Å)	7,7088(2)
$\beta$ (°)	91,325(3)
$V$ (Å <sup>3</sup> )	1697,41(8)
$Z$	4
$D_{calc}$ (Mg/m <sup>3</sup> )	1,394
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	0,106
$F(000)$	744
Величина кристала (mm <sup>3</sup> )	0,48 x 0,23 x 18 mm <sup>3</sup>
$\theta$ опсег за прикупљене података (°)	2,29 to 26,43
Распон индекса	$-15 \leq h \leq 15, -22 \leq k \leq 22, -9 \leq l \leq 9$
Број измерених рефлексија	15896
Независне рефлексије, $R_{int}$	3471, 0,0245
Комплетност (%) за $\theta = 26,00^\circ$	99,9 %
Подаци / ограничења / параметри	3471 / 0 / 242
Степен поклапања вредности за $F^2$	1,012
Финални $R_1/wR_2$ индекси [ $I > 2\sigma(I)$ ]	0,0451, 0,1099
Финални $R_1/wR_2$ индекси (сви подаци)	0,0580, 0,1196
Најмањи и највећи пикови у диферентној мапи електронске густине (e Å <sup>-3</sup> )	0,273 и -0,227

**6.6. Прилог 6: Објављени научни радови у којима су представљени резултати докторске дисертације**

## Catalysis

## One-Pot Synthesis of Tetrahydropyridine Derivatives: Liquid Salt Catalyst vs Glycolic Acid Promoter. Structure and Antiradical Activity of the New Products

Zorica D. Petrović,<sup>[a]</sup> Dušica Simijonović,<sup>[a]</sup> Jelena Đorović,<sup>[a, b]</sup> Vesna Milovanović,<sup>[a]</sup> Zoran Marković,<sup>[b, c]</sup> and Vladimir P. Petrović<sup>\*(a)</sup>

Diethanolammonium hydrogensulfate (DHS), as a liquid salt, and glycolic acid (GA) were used for the synthesis of highly functionalized tetrahydropyridines (THPs). Due to the simplicity of the reaction procedure, excellent diastereoselectivity, and catalyst regeneration, these green protocols may be considered as an attractive approach for the preparation of THPs. Unlike numerous reported reactions for the synthesis of THPs that last for hours and with heating, GA-promoted reactions finished mostly within an hour and at room temperature. As improvement to other organocatalysed reactions for the synthesis of

THPs with moderate yields, this protocol provided good to excellent yields. Application of these procedures produced three vanillic compounds reported here for the first time. Their structure was elucidated based on experimental and theoretical data (IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, NOESY, UV-Vis, and DFT). Experimental and theoretical antioxidant evaluation of these compounds has been carried out. DFT thermodynamical parameters supported experimental results that newly synthesized THPs deserve considerable attention as potent radical scavengers.

## Introduction

Recently, multicomponent reactions (MCRs) have been recognized as very useful and efficient one-pot domino tool for the rapid formation of a wide range of different organic compounds.<sup>[1–5]</sup> Due to their properties such as atom economic, lower costs, and energy-saving, they have occupied a prominent place in the world of organic chemistry.<sup>[6]</sup> In the contrast to conventional multistep synthesis, these reactions provide instantaneous and elegant approach for the formation of new C–C and C–heteroatom bonds, as well as introduction of versatile functionalities. They often find application in the synthesis of structurally more or less complex biologically active N–heterocycles.

Some of piperidine core containing compounds are obtained using these reactions.<sup>[7,8]</sup> It is well known that these compounds exert numerous biological activities and that its structural motif is the part of many alkaloids and opiates. Morphine is probably the most famous representative of this class of compounds. Besides the analgesic effect of morphine,<sup>[9]</sup>

they express cytotoxic activity,<sup>[10]</sup> they are commonly used as neuroleptics,<sup>[11]</sup> analeptics,<sup>[12]</sup> selective estrogen receptor modulators,<sup>[13]</sup> and many other activities.

Functionalized dehydropiperidines i.e. tetrahydropyridines, can be found in various natural alkaloids, biologically active synthetic molecules, and plentiful fine organic chemicals.<sup>[14,15]</sup> Many of them exert broad spectrum of pharmaceutical activities such as anti-hypertensive,<sup>[16]</sup> antibacterial,<sup>[17]</sup> antimalarial,<sup>[18]</sup> anticonvulsant,<sup>[19]</sup> anantihistaminic,<sup>[20]</sup> and anti-inflammatory.<sup>[21]</sup> For example, oligopeptide thioestrepton exerts multiple bioactivities. Apart from its antibiotic properties, thioestrepton exhibits antimalarial activity, as well as selective cytotoxicity against cancer cells.<sup>[22]</sup> Over the last ten years, numerous piperidine-containing compounds have been included into preclinical and clinical trials.<sup>[23]</sup>

For the synthesis of these scaffolds, several conventional methods have been used: Aza Diels-Alder reaction and some of its modifications, intramolecular Michael reaction, intramolecular Mannich reaction, tandem cyclopropane ring opening/Conia-ene cyclizations, and aza-Prins-cyclization.<sup>[24–28]</sup> Most of these methods are associated with numerous limitations and disadvantages, such as tedious and long procedure, lower yields, and use of toxic and expensive reagents and solvents.

Generally, organocatalysis provides effective way towards green chemistry, and suitable alternative for replacement of toxic metal and other catalysts which are environmentally harmful. It is known that liquid salts or ionic liquids (ILs) have been introduced to the assortment of available green solvents and tested as catalyst in numerous organic transformations including Heck and Mannich reactions.<sup>[29–35]</sup> Bearing this in mind, in the present study we synthesized liquid salt diethanolammonium hydrogensulfate (DHS), and tested for its

[a] Prof. Z. D. Petrović, Dr. D. Simijonović, J. Đorović, V. Milovanović, Dr. V. P. Petrović  
University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry  
Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Republic of Serbia  
E-mail: vladachem@kg.ac.rs

[b] J. Đorović, Prof. Z. Marković  
Bioengineering Research and Development Center  
Prvoslava Stojanovića 6, Kragujevac, Republic of Serbia.

[c] Prof. Z. Marković  
Department of Chemical-Technological Sciences  
State University of Novi Pazar  
Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Republic of Serbia

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/slct.201701873>





Cite this: *RSC Adv.*, 2018, **8**, 16663

# A new efficient domino approach for the synthesis of pyrazolyl-phthalazine-diones. Antiradical activity of novel phenolic products†

Dušica Simijonović,<sup>1</sup> Zorica D. Petrović,<sup>1</sup> Vesna M. Milovanović,<sup>1</sup> Vladimir P. Petrović<sup>1</sup> and Goran A. Bogdanović<sup>2</sup>

Pyrazolyl-phthalazine-dione derivatives (PPDs) were synthesized in the ionic liquid catalyzed one-pot multicomponent reaction of acetylacetone, 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione, and different aldehydes in moderate to good yields. Six new PPDs were obtained, and the crystal structure of 2-acetyl-1-(4-fluorophenyl)-3-methyl-1*H*-pyrazolo[1,2-*b*]phthalazine-5,10-dione (PPD-4) was determined. The most interesting structural features of the novel PPD-4 is the formation of a rather short intermolecular distance between the F atom of one molecule and the midpoint of the neighbouring six-membered heterocyclic ring. This interaction arranges all molecules into parallel supramolecular chains. UV-Vis spectra of all PPDs were acquired and compared to the simulated ones obtained with TD-DFT. All synthesized compounds were subjected to evaluation of their *in vitro* antioxidative activity using a stable DPPH radical. It was shown that PPD-7, with a catechol motive, is the most active antioxidant, while PPD-9, with two neighbouring methoxy groups to the phenolic OH, exerted a somewhat lower, but significant antioxidative potential. The results of DFT thermodynamical study are in agreement with experimental findings that PPD-7 and PPD-9 should be considered as powerful radical scavengers. In addition, the obtained theoretical results (bond dissociation and proton abstraction energies) specify SPLET as a prevailing radical scavenging mechanism in polar solvents, and HAT in solvents with lower polarity. On the other hand, the obtained reaction enthalpies for inactivation of free radicals suggest competition between HAT and SPLET mechanisms, except in the case of the ·OH radical in polar solvents, where HAT is labeled as preferred.

Received 28th March 2018  
Accepted 27th April 2018

DOI: 10.1039/c8ra02702a  
rsc.li/rsc-advances

## Introduction

The synthesis of different bioactive nitrogen-containing heterocyclic compounds has always been a topic of synthetic organic chemistry. Among a huge number of nitrogen-containing heterocyclic compounds, heterocycles with phthalazine and pyrazole moieties are especially recognized in the fields of medicine and pharmacy as the integral parts of some drugs.<sup>1</sup> Such compounds express a broad spectrum of biological activities, such as anticancer,<sup>2</sup> anticonvulsant,<sup>3</sup> anti-inflammatory,<sup>1b,4</sup> vasorelaxant,<sup>5</sup> antitubercular,<sup>6</sup> antihypertensive,<sup>7</sup> and antimicrobial activities.<sup>5,8a,b</sup> Budralazine, hydralazine,

azelastine, and zaleplon are some of commercially available drugs used in the treatment of vasorelaxation, hypertension, allergic rhinitis, and insomnia (Fig. 1).<sup>1</sup> Additionally, these compounds serve as new luminescence materials or fluorescence probes.<sup>9</sup>

In view of their importance, several procedures have been reported for the synthesis of phthalazine derivatives, including the reaction of (i) phthalhydrazide and dialkyl acetylenedicarboxylates in the presence of N-heterocycles,<sup>10</sup> (ii) phthalhydrazide, aromatic aldehydes, and malononitrile,<sup>11</sup> and (iii)

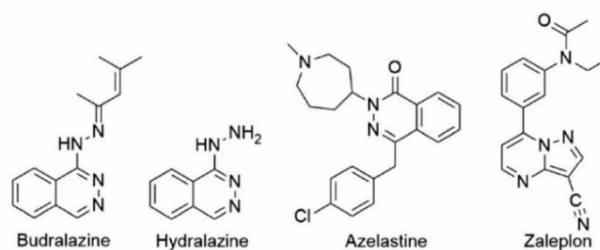


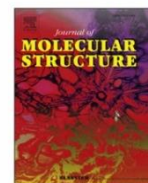
Fig. 1 Structure of some commercially available drugs with phthalazine and pyrazolo moieties.

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: dusicachem@kg.ac.rs; Tel: +381-34-336-223; +381-34-335-039

<sup>2</sup>Vinča Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, P. O. Box 522, 11001 Belgrade, Serbia

† Electronic supplementary information (ESI) available: Characterization of compounds, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR spectra, melting points, Kohn-Sham orbitals of PDDs, Experimental and simulated UV-Vis spectra. CCDC 1584133. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c8ra02702a





## Structural characterization of benzoyl-1*H*-pyrazole derivatives obtained in lemon juice medium: Experimental and theoretical approach



Vesna Milovanović<sup>a</sup>, Zorica D. Petrović<sup>a,\*</sup>, Slađana Novaković<sup>b</sup>, Goran A. Bogdanović<sup>b</sup>, Dušica Simijonović<sup>a</sup>, Vladimir P. Petrović<sup>a</sup>

<sup>a</sup> University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, 34000, Kragujevac, Serbia

<sup>b</sup> Vinča Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, P.O. Box 522, 11001, Belgrade, Serbia

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 6 March 2019

Received in revised form

10 May 2019

Accepted 22 May 2019

Available online 28 May 2019

#### Keywords:

Spectral characterization

Crystal structure

Density functional theory

Green synthetic procedure

### ABSTRACT

Simple, one-pot, and low-cost reactions of acetylacetone with a variety of substituted benzoyl hydrazides in lemon juice, as eco-friendly medium, were performed. In reactions of benzoyl hydrazides with electron-donating groups on phenyl ring, the 1-benzoyl-1*H*-pyrazole derivatives were obtained in short reaction time, and in good to high yields. On the other hand, benzoyl hydrazides with electron-withdrawing groups reacted slower, yielding the mixture of 1-benzoyl-5-hydroxy-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole and benzoyl-1*H*-pyrazole derivatives. It is worth pointing out that two products, (2-chlorophenyl)(4,5-dihydro-5-hydroxy-3,5-dimethylpyrazol-1-yl)methanone and (4-iodophenyl)(3,5-dimethyl-1*H*-pyrazol-1-yl)methanone are reported here for the first time. All obtained compounds were characterized using IR, UV–Vis and NMR, experimentally and theoretically, as well as with melting points. Good agreement between experimental and simulated IR, UV–Vis, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra was achieved. In addition, crystal structures and Hirshfeld surfaces analysis of (4,5-dihydro-5-hydroxy-3,5-dimethylpyrazol-1-yl)(4-iodophenyl)methanone were reported.

© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Nitrogen-containing heterocycles attract the attention of the researchers during decades. These compounds present very interesting pharmacophores and building blocks for compounds with biological or clinical interest. Heterocycles with pyrazolo moiety are often an integral part of medically interesting compounds. Pyrazolo-containing heterocycles have been applied as commercially available drugs such as Celecoxib (anti-inflammatory drug) [1], Zoniporide (cardioprotective drug) [2], Fezolamine (antidepressant) [3]. In addition, these compounds express antimicrobial [4,5], antiproliferative [6,7], antitubercular [8], antiangiogenic [9], analgesic [7,10], anticonvulsant [11], hypoglycemic [12], anxiolytic [13], and antiviral activity [14,15].

According to their multifaceted activities, compounds with pyrazolo moiety are constituents of agro-chemicals, such as herbicides (pyrazolynate, topramezone, azimsulfuron), fungicides

(furametpyr, bixafen, pyraclostrobin), insecticides (fenpiclonil, tricyclazole, fipronil) [16]. The pyrazoles are important intermediates in organic chemistry [17] and useful ligands in coordination chemistry [18,19]. As one of the most flexible nitrogen donor heterocycles, pyrazoles can be easily incorporated into polydentate ligand structures [18,20]. There are several methods for the synthesis of pyrazoles, such as: reaction of chalcones and hydrazines [21,22], coupling of hydrazine, aldehyde and ethyl acetoacetate [23], the Knorr hydrazine condensation with 1,3-dicarbonyls or their derivatives, [24–29]. In addition, Suzuki–Miyaura cross-coupling reactions are powerful tool for the synthesis of pyrazole derivatives [30]. These reactions are often performed at elevated temperature in organic solvents, and in the presence of different harmful catalysts [28–31].

Many analytical techniques, such as NMR, IR, UV–Vis, X-ray, ESI-MS, etc., as well as quantum chemical calculations, have been developed to elucidate physico-chemical properties of these compounds. Further, Hirshfeld surface analysis (HSA) is a powerful tool for the analysis of intermolecular interactions within their crystal packing [21,32,33].

\* Corresponding author.

E-mail address: [zorica.petrovic@pmf.kg.ac.rs](mailto:zorica.petrovic@pmf.kg.ac.rs) (Z.D. Petrović).





# Green synthesis of benzamide-dioxoisindoline derivatives and assessment of their radical scavenging activity – Experimental and theoretical approach

Vesna M. Milovanović<sup>a</sup>, Zorica D. Petrović<sup>a</sup>, Slađana Novaković<sup>b</sup>, Goran A. Bogdanović<sup>b</sup>, Vladimir P. Petrović<sup>a</sup>, Dušica Simijonović<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup> University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, 34000, Kragujevac, Serbia

<sup>b</sup> Department of Theoretical Physics and Condensed Matter Physics, "VINCA" Institute of Nuclear Sciences - National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

<sup>c</sup> University of Kragujevac, Institute for Information Technologies, Department of Science, Kragujevac, Jovana Cvijića bb, 34000, Kragujevac, Serbia

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 11 May 2020

Received in revised form

22 June 2020

Accepted 24 July 2020

Available online 5 August 2020

### Keywords:

Green synthesis

Ultrasound irradiation

X-ray diffraction

Antioxidants

Thermodynamics

## ABSTRACT

A series of benzamide-dioxoisindoline derivatives **3** was obtained, starting from phthalic anhydride and different benzoyl hydrazides **2**, by ultrasound irradiation in water as solvent and without any catalyst. Five obtained compounds have been reported in this study for the first time and crystal structure of compound **3h** was determined. All compounds were subjected to experimental determination of their antioxidative potential. DPPH test revealed that newly synthesized phenolic compounds **3d**, **3e**, and **3j** are the best antioxidants. Additionally, probable radical scavenging pathway was analysed for reactions of the most active compounds and some radicals that can be found in living cells.

© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Heterocyclic compounds containing isoindoline moiety have been of great interest to the researchers for many years. Isoindoline nucleus is known to be an integral part of many compounds that exert wide spectra of biological and pharmaceutical activities [1]. It was shown that this compound class possesses anticancer [2,3], anti-inflammatory [4], sedative [4], analgesic [5], antihyperglycemic [6], antipsychotic [7], antihypertensive [8], and cytotoxic [9] activity. Commercial drugs, such as lenalidomide [2], apremilast [4], indoprofen [5], (s)-pazinaclone [4], contain isoindoline scaffold, Fig. 1. These compounds exert affinities for dopamine, serotonin [10] and GABA receptors [11], and therefore they have been known as potential anti-Alzheimer's agents [12,13]. They also exert similar effect as L-DOPA in Parkinsonism treatment [14]. In addition, isoindolines have found industrial application as a dye, such as

pigment yellow 139, which belongs to the class of highly resistant dyes [4]. The most common method for the synthesis of 1,3-dioxoisindoline derivatives involves condensation of phthalic anhydride with different substituted primary amines in the presence of acids or bases as catalysts [15–17]. The literature also claims a procedure for the synthesis of a range of 1,3-dioxoisindoline derivatives by palladium-catalyzed carbonylation reactions of *o*-dihaloarenes, *o*-halobenzoic acids and their esters, and with primary amines [18,19].

All previously mentioned methods for the synthesis of 1,3-dioxoisindolines have one or more deficiency, such as high temperature, a multistep synthesis, low yields, transition metal catalysts, usage of CO gas, usage of toxic materials such as some mineral acids, NEt<sub>3</sub>, MeOH, etc., and the feature of not following green chemistry principles. Also, the usage of microwave irradiation for the synthesis of 1,3-dioxoisindolines, requires the use of organic solvents and additives [20–22].

Ultrasound irradiation has become significant green and cheap methodology in the syntheses of various organic compounds [23–33]. It is important to emphasize that literature fails with ultrasound assisted green synthesis of *N*-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)

\* Corresponding author. University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, R. Domanovića 12, 34000, Kragujevac, Serbia.  
E-mail address: [dusicachem@kg.ac.rs](mailto:dusicachem@kg.ac.rs) (D. Simijonović).



## RESEARCH ARTICLE



## Pyrazole Derivatives of Medically Relevant Phenolic Acids: Insight into Antioxidative and Anti-LOX Activity



Vesna Milovanović<sup>1</sup>, Zorica D. Petrović<sup>1,\*</sup>, Slađana Novaković<sup>2</sup>, Goran A. Bogdanović<sup>2</sup>, Dušica Simijonović<sup>1,4</sup>, Milan Mladenović<sup>3</sup>, Jovica Branković<sup>1</sup> and Vladimir P. Petrović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia;

<sup>2</sup>Department of Theoretical Physics and Condensed Matter Physics, "VINCA" Institute of Nuclear Sciences - National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia; <sup>3</sup>Center for Computational Biochemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia;

<sup>4</sup>Institute for Information Technologies, Department of Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Serbia

## ARTICLE HISTORY

Received: October 30, 2019  
 Revised: March 16, 2020  
 Accepted: March 25, 2020

DOI:  
 10.2174/1573406416666200802152643



CrossMark

**Abstract: Background:** From the point of view of medicinal chemistry, compounds containing phenolic and pyrazolic moiety are significant since they are often constituents of bioactive compounds.

**Objective:** The aims of this study were to synthesize pyrazole derivatives of medically relevant phenolic acids, confirm their structure, and evaluate their antioxidative and anti-LOX activities.

**Methods:** Phenolic pyrazole derivatives were obtained, starting from esters of medically relevant phenolic acids. The structures of all obtained compounds were determined by NMR and IR spectroscopy, and UV-Vis spectrophotometry. In addition, the single-crystal X-ray diffraction was used. Pyrazole derivatives were tested for their *in vitro* antioxidative (DPPH assay), and lipoxygenase (LOX) inhibitory activities. Radical quenching mechanism was estimated using DFT and thermodynamic approach, while molecular docking was used to estimate the binding mode within the enzyme.

**Results:** Pyrazole derivatives were obtained in high yields. The crystal structure of a new compound **3e** was determined. Pyrazole derivative with catechol moiety **3d** exhibited excellent radical scavenging activity, while compound **3b** exhibited the best anti-LOX activity. Molecular docking study revealed that there is no direct interaction of any ligand with the active site of LOX-Ib, but pyrazoles **3a-e** behave as inhibitors blocking the approach of linoleic acid to the active site.

**Conclusion:** In this research, protocatechuic and vanillic acid pyrazole derivatives have been obtained for the first time. *In vitro* antioxidative assay suggests that pyrazole derivative of protocatechuic acid is a powerful radical scavenger, while anti-LOX assay indicates a pyrazole derivative with 4-hydroxyphenyl moiety.

**Keywords:** Phenolic pyrazoles synthesis, X-ray crystal structure, antioxidative activity, anti-LOX activity, density functional theory, molecular docking.

### 1. INTRODUCTION

Phenolic compounds represent a large class of secondary plant metabolites. Nowadays, the interest in the synthesis of phenolic compounds has increased due to their beneficial effects on health, especially due to their antioxidant properties [1]. Hydroxybenzoic acids, such as salicylic, *p*-hydroxybenzoic,  $\beta$ -resorcylic, protocatechuic and vanillic acid, are widespread in nature and can be isolated from a lot of plants [1-7]. These compounds exhibit numerous biological activities [3, 7-12]. Protocatechuic acid and vanillic acid have been described as compounds which exert the highest antiradical activity equated with standard butylated hydroxy-

toluene (BHT) [7]. Derivatives of hydroxybenzoic acid, such as esters, cyclic anhydrides, and acyl halides with hydrazine, are often used as precursors for the synthesis of phenolic hydrazides [13].

The interest in the synthesis of compounds with hydrazide particles is significant because of their unique biological and physicochemical properties. These compounds have been used as key intermediates for the synthesis of drugs, including monoamine oxidase inhibitors phenelzine or isocarboxazid, and the well-known anti-tuberculosis agent isoniazid [14]. Hydrazides can be converted into pyrazoles in the reaction with 1,3-dicarbonyl compounds [15-18] and coupling with esters and aldehydes [19]. Heterocycles with pyrazole units are very significant biologically active compounds. Considering the fact that living organisms have the difficulties to form an *N-N* bond [20-22], it is highly impor-

\*Address correspondence to this author at the Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia; Tel/Fax: +381-34-336-223; E-mail: [zorica.petrovic@pmf.kg.ac.rs](mailto:zorica.petrovic@pmf.kg.ac.rs)

## 7. БИОГРАФИЈА



Весна (Мирослав) Миловановић, рођена је 09. 10. 1992. године у Видању, општини Клина. Основну школу „Драгиша Михаиловић“ у Крагујевцу завршила је 2007. године као носилац дипломе Вук Караџић, а средњу медицинску школу 2011. године са одличним успехом. Природно-математички факултет у Крагујевцу, одсек Хемија, уписала је 2011. године, а дипломирала 2015. године са просечном оценом 9,24. Током студија три пута је награђивана као студент генерације. Мастер академске студије уписала је 2015. године на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, а завршила 2016. године са просечном оценом 9,89. На Приматијади, одржаној у Бугарској 2016. године, освојила је треће место на такмичењу научних радова.

Октобра 2016. године уписала је докторске академске студије на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, смер Органска хемија и положила је све планом и програмом предвиђене испите са просечном оценом 10,00. У звање истраживач-приправник изабрана је 19. 01. 2017. године, а у звање истраживач-сарадник 15. 01. 2020. године. У току основних, мастер и докторских академских студија Весна је била корисник стипендије Министарства Републике Србије. Добитница је ДААД стипендије за истраживачки боравак на Универзитету у Минстеру, у Немачкој за период од 01. 10. 2019. до 29. 02. 2020. године. Такође, учесница је на билатералном пројекту са Словачком, одобреним од Министарства просвете, науке и технолошког развоја (2019–2020). Члан је Српског хемијског друштва.

Изводила је вежбе из предмета Органска хемија 2 и Биоорганска хемија и активно учествовала на фестивалима науке. До сада има објављених шест научних радова у часописима од међународног значаја, један научни рад у часопису од националног значаја и седам саопштења на иностраним и националним конференцијама.



**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Весна М. Миловановић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Синтезе деривата одабраних N-хетероцикала засноване на принципима зелене хемије и испитивање антиоксидативног потенцијала добијених једињења

која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

*Овом Изјавом такође потврђујем:*

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 20.9.2021. године,

Весна Миловановић  
потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Весна М. Миловановић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Синтезе деривата одабраних N-хетероцикала засноване на принципима зелене хемије и испитивање антиоксидативног потенцијала добијених једињења

која је одбрањена на Природно-математичком факултету

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам


не дозвољавам<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- ⑥ Ауторство - некомерцијално - без прерада<sup>2</sup>

У Крагујевцу \_\_\_\_\_, 20.9.2021. године,

  
потпис аутора

---

<sup>2</sup> Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org/rs/>