

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАКУЛТЕТ ЗА ФИЗИЧКУ ХЕМИЈУ

Ана А. Филиповић

Фоторедокс функционализација *N*-арил-
тетрахидроизохинолина у микрофлуидним
реакторима и испитивање интеракције добијених
деривата са ензимима ацетилхолинестеразом и
бутирилхолинестеразом

Докторска дисертација

Београд 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHYSICAL CHEMISTRY

Ana A. Filipović

Photoredox functionalization of *N*-aryl-
tetrahydroisoquinolines in microfluidic reactors and
the examination of interactions between the
obtained derivatives and enzymes
acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase

Doctoral Dissertation

Belgrade 2023.

Ментори:

- 1. др Ана Поповић Бијелић, ванредни професор**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију
-

- 2. др Бојан Бонцић, научни саветник**
Универзитет у Београду – Институт за хемију технологију и металургију,
Институт од националног значаја за Републику Србију
-

Чланови комисије за оцену и одбрану докторске дисертације:

- 1. др Јасмина Димитрић–Марковић, редовни професор**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију
-

- 2. др Драгомир Станисављевић, редовни професор**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију
-

- 3. др Итана Нуша Бубања, виши научни сарадник, асистент са докторатом**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију
-

- 4. др Дана Васиљевић–Радовић, научни саветник**
Универзитет у Београду – Институт за хемију технологију и металургију,
Институт од националног значаја за Републику Србију
-

- 5. др Александра Бонцић, виши научни сарадник**
Универзитет у Београду – Институт за нуклеарне науке „Винча”,
Институт од националног значаја за Републику Србију
-

Датум одбране: _____

Захвалница

Докторска дисертација „Фоторедокс функционализација *N*-арил-тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима и испитивање интеракције добијених деривата са ензимима ацетилхолинестеразом и бутирилхолинестеразом" урађена је на Институту за хемију, технологију и металургију, Институту од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду у оквиру пројеката Доказ Концепта РОС5183 „Микрофлуидни уређаји за примену у фоторедокс катализи", пројекта Трансфер Технологије ТТ1108 „Модуларни фотореактори за примену у класичној и микрофлуидној фотохемији" финансираних од стране Фонда за иновациону делатност Републике Србије, под руководством др Бојана Бонцића, научног саветника Института за Хемију технологију и металургију, Универзитета у Београду, као и у оквиру пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије ТР32008 „Микро, нано системи и сензори за примену у електропривреди, процесној индустрији и заштити животне средине".

Део експеримената из ове дисертације који се тичу биолошке активности су урађени на Институту за нуклеарне науке „Винча", Институту од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду у лабораторији за физичку хемију и Факултету за физичку хемију, Универзитета у Београду.

Захваљујем се др Ани Поповић Бијелић, ванредној професорки Факултета за физичку хемију, Универзитета у Београду за велику подршку и корисне савете које сам добила у току израде и писања ове дисертације.

Велику захвалност дугујем др Бојану Бонцићу, научном саветнику Института за хемију технологију и металургију што ми је омогућио да радим на овом пројекту, увео у проблематику органске синтезе и давао корисне савете и идеје током израде дисертације уз слободу за независтан и креативан рад.

Велику захвалност дугујем др Дани Васиљевић-Радовић, научној саветници Института за хемију, технологију и металургију за указано поверење, интересовање и моралној подршци коју ми је пружила током израде ове тезе.

Искрену захвалност дугујем и др Здравку Џамбаском, вишем научном сараднику Института за хемију, технологију и металургију на драгоцену помоћ и свакодневну подршку при раду у лабораторији и на стручним саветима током израде и интерпретације резултата из ове области.

Такође велику захвалност дугујем и др Александри Бонцић, вишој научној сарадници Института за нуклеарне науке „Винча" на урађеним биолошким тестовима у овој дисертацији, на увођењу у проблематику ензимологије и стручним саветима током израде и интерпретације резултата из ове области.

Велику захвалност дугујем и др Јасмини Димитрић-Марковић, редовној професорки Факултета за физичку хемију, др Драгомиру Станисављевићу, редовном професору Факултета за физичку хемију и др Итани Нуша Бубањи, вишој научној сарадници, на ангажовању и корисним саветима приликом израде финалне верзије рада.

Захвалност дугујем и др Милени Рашљић Рафаиловић, научној сарадници Института за хемију технологију и металургију, др Милчету Смиљанић, вишој научној сарадници Института за хемију технологију и металургију, и Жарку Лазићу, стручном саветнику Института за хемију технологију и металургију, на стручној помоћи, корисним саветима и сугестијама током процеса израде микрофлуидног реактора од силицијума и стакла.

Захваљујем се и др Милошу Воркапићу вишем научном сараднику Института за хемију, технологију и металургију, на несебичној и стручној помоћи приликом израде микрофлуидних канала на *3D* штампачу.

Захвалност дугујем и др Горану Јањићу, научном саветнику Института за хемију технологију и металургију за студије молекулског моделовања урађене у овој дисертацији.

Захвалност се упућује и свим осталим колегама из Центра за микроелектронске технологије који су на било који начин допринели овом раду и омогућили његов успех.

Велику захвалност дугујем својим родитељима, сестри Марији и брату Ненаду, на неизмерној подршци и охрабрењу да наставим напред.

Посебну захвалност дугујем мојој дивној деци Алекси и Петру, и супругу Ненаду на љубави, стрпљењу и мотивацији. Хвала им за њихову несебичну подршку, инспирацију и разумевање током целог процеса израде дисертације.

Наслов докторске дисертације: Фоторедокс функционализација *N*-арил-тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима и испитивање интеракције добијених деривата са ензимима ацетилхолинестеразом и бутирилхолинестеразом

Сажетак:

У оквиру овог мултидисциплинарног истраживања развијена је методологија директне фоторедокс функционализације биолошки активних *N*-арил-тетрахидроизохинолина видљивом светлошћу, у позицији *C*-1 тетраhydroизохинолинског прстена, у микрофлуидним реакторима. За директну функционализацију примењена су два различита приступа, реакција укрштеног дехидрогенативног купловања и реакција адиције α -амино радикала. Оптимизација реакционих услова је урађена у класичном фотохемијском реактору а затим је испитана фоторедокс функционализација у микрофлуидним реакторима. Како је транспарентност реактора у спектру таласних дужина видљиве светлости основни услов успешног извођења ових реакција, дизајнирана су три типа микрофлуидних реактора од транспарентних материјала и то: а) полидиметилсилоксански (*PDMS*), б) флуорисани етилен-пропиленски (*FEP*) и в) стакло-силицијумски микрофлуидни реактор. Примена микрофлуидних реактора је омогућила синтезу са смањеним реакционим временом и побољшаним реакционим приносом у односу на конвенционалне реакторе. Идентификација добијених деривата потврђена је нуклеарном магнетном резонантном спектроскопијом (НМР) на основу одговарајућих помераја, константи купловања и мултиплицитета сигнала у добијеним спектрима, као и потврдом присуства молекулског јона у масеном спектру, док је присуство различитих функционалних група које чине структуру добијених деривата потврђено инфрацрвеном спектроскопијом са Фуријеовом трансформацијом (ФТИЦ).

Већина синтетисаних тетраhydroизохинолинских деривата поседовала је биолошку активност која се огледала у њиховој *in vitro* способности инхибиције активности ацетилхолинестеразе (*AChE*), главне терапеутске мете у Алцхајмеровој болести. Поред *AChE*, поједини деривати су показивали и активност ка бутирилхолинестерази (*BuChE*), потенцијалној мети у третману касне фазе Алцхајмерове болести. Механизам инхибиције ових ензима објашњен је на примеру најактивнијих једињења коришћењем различитих физичко-хемијских метода. Кинетичка мерења дала су увид у тип инхибиције, објашњавајући на који начин и којим афинитетом се инхибитор везује за ензиме. Флуоресцентна мерења дала су увид у конформационе промене које настају у ензимима услед везивања тетраhydroизохинолина, док су докинг студије објасниле улогу појединих аминокиселина и хемијских веза предвиђајући њихова места везивања. Овако добијени резултати могу дати значајан допринос даљем развоју лекова на бази тетраhydroизохинолина у терапији Алцхајмерове болести.

Кључне речи: Фоторедокс катализа, Тетрахидроизохинолини, Укрштено дехидрогенативно купловање, α -амино радикали, Микрофлуидни реактори, Ацетилхолинестераза, Бутирилхолинестераза, Ензимска кинетика, Молекулски докинг, Спектроскопија

Научна област: Физичка хемија

Ужа научна област: Физичка хемија – биофизичка хемија, Физичка хемија – спектрохемија, Физичка хемија – хемијска кинетика

Title of doctoral dissertation: Photoredox functionalization of *N*-aryl-tetrahydroisoquinolines in microfluidic reactors and the examination of interactions between the obtained derivatives and enzymes acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase

Abstract:

This thesis describes multidisciplinary approach directed towards the development of the methodology for direct photoredox functionalization of biologically active *N*-aryl-tetrahydroisoquinolines (THIQ) using custom made microfluidic reactors under visible light irradiation condition. Two mechanistically distinct approaches for direct functionalization of *N*-aryl-THIQs were applied: the cross-dehydrogenative coupling reaction (CDC) and the α -amino radical addition reaction. The determination of the optimal reaction condition was performed in batch systems prior to the transfer of the photoredox functionalizations to microfluidic reactors. Since the transparency of the reactor in the visible light spectrum region is essential for successful occurrence of these photoredox reactions, three types of microfluidic reactors were designed from transparent materials a) polydimethylsiloxane (PDMS), b) fluorinated ethylene-propylene (FEP), and c) glass-silicon microfluidic reactor. The application of microfluidic reactors enabled synthesis with reduced reaction time, and an improved reaction yield compared to batch reactors. The identification of the obtained derivatives was confirmed by nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) based on the chemical shifts, coupling constants, and signal multiplicity in the measured spectra and by confirming the presence of a molecular ion in the mass spectrum. Additionally, the presence of various functional groups characteristic for the obtained derivatives was confirmed by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR).

The majority of the synthesized tetrahydroisoquinoline derivatives exhibited inhibitory potency towards acetylcholinesterase *in vitro*, which is the primary therapeutic target in Alzheimer's disease. In addition to acetylcholinesterase, several derivatives also displayed activity against butyrylcholinesterase, a potential target in the late-stage treatment of Alzheimer's disease. The mechanism of enzyme inhibition by these compounds was elucidated using various physicochemical methods, with a focus on the most active compounds. The type of inhibition and the binding affinity of the inhibitor to the enzyme were determined by kinetic measurements. Fluorescence measurements provided insights into conformational changes occurring in the enzymes upon binding of tetrahydroisoquinoline, while docking studies revealed the role of specific amino acids and chemical bonds by predicting their binding sites. The results obtained in this thesis could contribute to the further development of tetrahydroisoquinoline-based drugs in Alzheimer's disease therapy.

Keywords: Photoredox catalysis, Tetrahydroisoquinolines, Cross dehydrogenative coupling, α -amino radicals, Microfluidic devices, Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Enzyme kinetics, Molecular docking, Spectroscopy

Scientific field: Physical chemistry

Scientific subfield: Physical chemistry – biophysical chemistry, Physical chemistry – spectrochemistry, Physical chemistry – chemical kinetics

Листа скраћеница:

ABS	–	Акрилонитрил–бутадиен–стирен (енг. <i>Acrylonitrile Butadiene Styrene</i>)
AChE	–	Ацетилхолинестераза (енг. <i>Acetylcholinesterase</i>)
Ala	–	Аланин
Asp	–	Аспарагин
ACh	–	Ацетилхолин (енг. <i>Acetylcholine</i>)
BuCh	–	Бутирилхолин (енг. <i>Butyrylcholine</i>)
BuChE	–	Бутирилхолинестераза (енг. <i>Butyrylcholinesterase</i>)
CAS	–	Каталитичка тријада (енг. <i>Catalytic Anionic Subsite</i>)
CDC	–	Укрштено дехидрогенативно купловање (енг. <i>Cross–Dehydrogenative Coupling</i>)
CFL	–	Компактна флуоресцентна сијалица (енг. <i>Compact Fluorescent Lamp</i>)
FEP	–	Флуорисани етилен–пропилен (енг. <i>Fluorinated Ethylene Propylene</i>)
Glu	–	Глицин
His	–	Хистидин
Ile	–	Изолеуцин
IUPAC	–	Међународна унија за чисту и примењену хемију (енг. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
Leu	–	Леуцин
MLCT	–	Пренос електрона са метала на лиганд (енг. <i>Metal–to Ligand Charge Transfer</i>)
PAS	–	Периферно анјонско место (енг. <i>Peripheral Anionic Site</i>)
PDB	–	Протеинска база података (енг. <i>Protein Data Bank</i>)
PDMS	–	Полидиметилсилоксан (енг. <i>Polydimethylsiloxane</i>)
PFA	–	Перфлуороалкоксиалкан (енг. <i>Perfluoroalkoxy Alkane</i>)
Phe	–	Фенилаланин
PMI	–	Масена искоришћеност реактаната (енг. <i>Process Mass Intensity</i>)
Pro	–	Пролин
REA	–	Релативна ензимска активност (енг. <i>Relative Enzyme Activity</i>)
Ser	–	Серин
SET	–	Пренос једног електрона (енг. <i>Single–Electron Transfer</i>)
STY	–	Запреминско временски принос (енг. <i>Space–Time Yield</i>)
TFA	–	Трифлуоросирћетна киселина (енг. <i>Trifluoroacetic Acid</i>)
THIQ	–	Тетрахидроизохинолин (енг. <i>1,2,3,4–Tetrahydroisoquinoline</i>)
Thr	–	Треонин
TLC	–	Танкослојна хроматографија (енг. <i>Thin Layer Chromatography</i>)
Trp	–	Триптофан
Tyr	–	Тирозин
Val	–	Валин
АБ	–	Алцхајмерова болест
ИЦ	–	Инфрацрвено зрачење (енг. <i>Infrared</i>)
НМР	–	Нуклеарна магнетна резонантна спектроскопија (енг. <i>Nuclear magnetic resonance spectroscopy</i>)
УЉ	–	Ултраљубичасто зрачење (енг. <i>Ultraviolet</i>)
УЉ/вид	–	Ултраљубичасто–видљива спектроскопија (енг. <i>Ultraviolet–visible spectroscopy</i>)
ФТИЦ	–	Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом (енг. <i>Fourier–transform infrared spectroscopy</i>)

САДРЖАЈ

1.	УВОД	1
1.1.	Фотокатализа видљивом светлошћу	1
2.	ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	4
2.1.	Фоторедокс катализа.....	4
2.2.	Фотокатализатори које побуђује видљива светлост	5
2.2.1.	Фотофизички процеси у фоторедокс катализи	7
2.3.	Тетрахидроизохинолини као привилегована класа биолошки активних једињења, биолошка активност и синтезе.....	10
2.3.1.	Биолошка активност	10
2.3.2.	Синтеза тетраhydroизохинолина.....	12
2.3.3.	Функционализација С–Н везе терцијарних амина формирањем α -аминорадикала.....	20
2.4.	Фотохемијски микрофлуидни реактори у синтези биолошки активних једињења	21
2.4.1.	Предности примене микрофлуидних реактора за извођење фотохемијских реакција	22
2.4.2.	Технологија израде микрофлуидних реактора.....	26
2.4.3.	С–Н функционализација терцијарних амина у микрофлуидном реактору	29
2.5.	Михаелис–Ментен ензимска кинетика	31
2.6.	Инхибиција ензима	33
2.6.1.	Компетитивна инхибиција	34
2.6.2.	Некомпетитивна инхибиција	36
2.6.3.	Акомпетитивна инхибиција	38
2.6.4.	Мешовита инхибиција	40
2.7.	Инхибиција ацетилхолинестеразе као третман Алцхајмерове болести	43
2.7.1.	Ацетилхолин.....	44
2.7.2.	Улога ацетилхолинестеразе и бутирилхолинестеразе.....	44
2.7.3.	Структура холинестераза	45
2.7.4.	Лекови за третман Алцхајмерове болести	49
2.7.5.	Инхибитори холинестераза	49
2.7.6.	Тетрахидроизохинолини као инхибитори холинестераза.....	52
2.8.	Флуоресценција протеина и механизми гашења флуоресценције	54
3.	ЦИЉ	56

4.	МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ	57
4.1.	Синтеза <i>N</i> -арил деривата <i>THIQ</i> реакцијом аминавања арил-јодида са тетрахидроизохинолином.....	57
4.2.	Процедура за Манихову реакцију фоторедокс функционализације деривата <i>THIQ</i> у микрофлуидном реактору	59
4.3.	Процедура за Штрекерову реакцију фоторедокс функционализације деривата <i>THIQ</i> у микрофлуидном реактору	59
4.4.	Процедура за реакцију алкиниловања <i>THIQ</i> у микрофлуидном реактору.....	59
4.5.	Процедура за реакцију фоторедокс функционализације деривата <i>THIQ</i> са α,β -незасићеним карбонилним једињењима у микрофлуидном реактору.....	59
4.6.	Физичкохемијске методе анализе.....	60
4.6.1.	Танкослојна хроматографија и препаративна хроматографија на колони.....	60
4.6.2.	НМР спектроскопија.....	60
4.6.3.	Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом (ФТИЦ).....	61
4.6.4.	Масена спектрометрија	61
4.6.5.	Ултраљубичаста/видљива спектрофотометрија (УЉ/вид)	62
4.6.6.	Флуоресцентна спектроскопија	62
4.7.	Ензимски тестови	63
4.7.1.	Одређивање активности <i>AChE</i> и <i>BuChE</i> Елмановом методом	63
4.8.	Теоријски прорачуни	64
5.	РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	65
5.1.	Дизајн и израда микрофлуидног реактора.....	65
5.2.	Функционализација <i>THIQ</i> реакцијама фотокатализованог укрштеног дехидрогенативног купловања	70
5.2.1.	Фоторедокс функционализација тетрахидроизохинолина органокатализованом Маниховом реакцијом	71
5.2.2.	Синтеза α -аминонитрила Штрекеровом реакцијом	79
5.2.3.	Фоторедокс алкиниловање тетрахидроизохинолина, дуалним каталитичким системом у присуству видљиве светлости	81
5.3.	Функционализација C–Н везе терцијарних амина формирањем α -аминорадикала	84
5.4.	Испитивање утицаја тетрахидроизохинолина на активност <i>AChE</i> и <i>BuChE</i>	90
5.5.	Ензимска кинетика и одређивање типа инхибиције.....	95
5.6.	Утицај везивања инхибитора <i>AChE</i> и <i>BuChE</i> на гашење флуоресценције триптофана – индуковане конформационе промене у ензиму	100
5.7.	Теоријски прорачуни (молекулски докинг).....	104
5.7.1.	Инхибиција <i>AChE</i>	106

5.7.2.	Инхибиција <i>BuChE</i>	110
6.	ЗАКЉУЧАК	116
7.	ЛИТЕРАТУРА	118
8.	ПРИЛОЗИ	136
9.	БИОГРАФИЈА АУТОРА	167
	Изјава о ауторству.....	170
	Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада	171
	Изјава о коришћењу	172

1. УВОД

1.1. Фотокатализа видљивом светлошћу

Видљива светлост која представља чист, јефтин и готово бесконачно доступан извор енергије, добија све већу пажњу међу хемичарима у последње време. Реакције које су инициране светлошћу, интеракцијом светлости и материје, проучава област хемије која се назива фотохемија. Међународна унија за чисту и примењену хемију (енг. *International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*) дефинише фотохемију као грану хемије која се бави хемијским ефектима светлости (далека ултраљубичаста област, (енг. *ultraviolet*, УЉ), до инфрацрвене области, (енг. *Infrared*, ИЦ)) [1].

Иако су се фотохемијске реакције дешавале милијардама година у природи, интересовање за испитивање хемијских промена изазваних светлошћу у лабораторијским условима испољено је тек у 18. веку. Један од првих фотохемијских експеримената изведен је у лабораторији Карл Вилхелм Шелеа 1777. године [2]. Он је запазио да соли сребро–халогенида поцрне након излагања сунчевој светлости и закључио да је то последица редукције сребрне соли. Током 18. и 19. века није постојало велико интересовање за фотохемију али су ови рани експерименти и открића били почетна тачка за развој фотохемије и довели су до даљих истраживања и открића у овој области [3].

Развојем фотохемијских закона Гротхаус–Дрејперовог (1842) и Штарк–Ајнштајновог (1913) дошло је до бољег разумевања фотохемије и већег интересовања за истраживање на том пољу [4,5].

Према првом закону фотохемије, (Гротхаус–Дрејперов), молекул мора да апсорбује фотон светлости да би дошло до фотохемијске реакције тј. до хемијске промене, при чему молекул прелази у побуђено стање. Овај закон описује квантитавни однос између интензитета светлости која пада на материјал и брзине фотохемијске реакције. То даље имплицира да већи интензитет светлости резултује већом брзином фотохемијске реакције, под условом да су остали параметри константни. Овај закон је посебно важан у фотокаталитичким реакцијама где се светлост користи за активирање каталитичких материјала. Према другом закону фотохемије (Штарк–Ајнштајнов) један фотон може активирати само један молекул у побуђено стање. Овај закон описује квантну ефикасност фотохемијских реакција и пружа основу за разумевање квантне природе фотохемијских реакција. Посебно је релевантан у фотохемијским реакцијама у којима се користе фотоактивни материјали за генерисање хемијских промена под утицајем светлости.

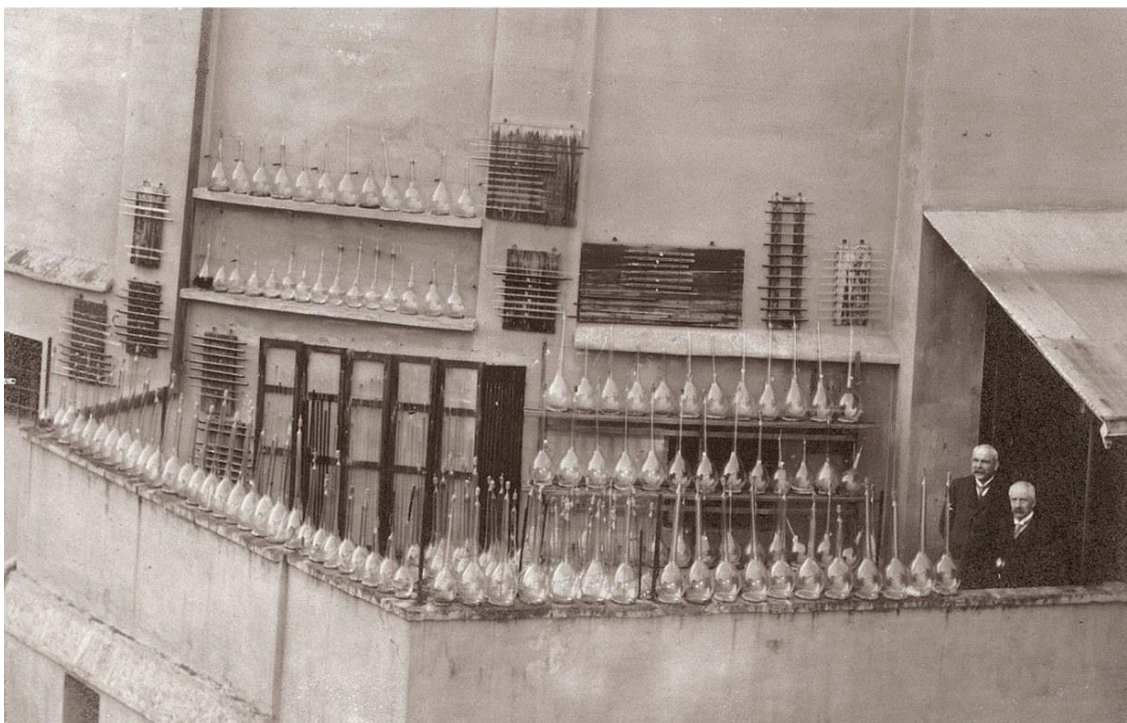
Научна сазнања из области органске фотохемије интензивирала су се током 20. века кроз радове Ђакомо Чамичана [6], Александра Шонберга [7] и Гунтер Ото Шенка [8]. Чамичан је италијански хемичар који је радио на Универзитету у Болоњи где је заједно са својим колегом Полом Силбером развијао фотохемијске реакције користећи видљиву светлост [9]. Њихови најранији фотохемијски експерименти су изведени на факултетским балконима применом сунчеве светлости, слика 1. Чамичано је препознао потенцијал сунчеве светлости као извора енергије и промовисао је примену фотохемијских процеса за конверзију соларне у хемијску енергију. Његов рад и идеје су имале значајан утицај на развој фотохемије и инспирисале су многе истраживаче да истражују и примењују фотохемијске процесе у различитим областима науке и технике.

Наведени пионири фотохемије су створили основу за данашња истраживања хемијских трансформација посредованих видљивом светлошћу иако су знали веома мало о природи светлости, њеном утицају на органске молекуле и о настанку електронских

побуђених стања. Развој физичке хемије и спектроскопије омогућио је разумевање интеракције светлости и материје тј. настанак електронских побуђених синглетних и триплетних стања и деактивацију побуђених стања преносом електрона или енергије, што је омогућило да се објасне механизми многих фотореакција [10,11].

Светлост се може сматрати идеалним реагентом за еколошки прихватљиву такозвану зелену хемијску синтезу. У фотохемијским реакцијама фотони светлости су реагенси без еколошког трага и то је оно што чини фотохемију зеленом и одрживом. Од конвенционалних реагенса се разликује по томе што није токсична, не ствара отпад и може се добити из обновљивих извора, а уједно показује и велики потенцијал за примену у индустрији. Активација молекула светлошћу омогућава реакционе путеве који се не могу остварити термохемијском активацијом [12–14].

Да ли ће молекул апсорбовати видљиво зрачење (енг. *Visible Light*, вид) или ултраљубичасто зрачење (енг. *Ultraviolet*, УЉ) зависи од енергије фотона као и од електронске конфигурације молекула тј. енергијске разлике између електронских стања у молекулу. Електромагнетни спектар од највећег интереса за синтезу у органској фотохемији је у области од 200 до 700 nm ($598 - 171 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) јер енергија зрачења из ове области одговара енергији ексцитације многих органских једињења [15].



Слика 1. Ђакомо Чамичан и Пол Силбер изводе експерименте на факултетском балкону користећи сунчеву светлост, преузето са интернета

<https://chemistry.unibo.it/en/department/presentation/history-of-the-department> [16].

Фотохемијске реакције инициране УЉ зрачењем често показују ниску селективност због могућих споредних реакција које укључују нежељену активацију компоненти реакционе смеше и распадање производа под реакционим условима. Као последица тога, пажња је усмерена на могућност употребе видљиве светлости за покретање фотохемијских реакција. Међутим развој фотохемијских процеса применом видљиве светлости је ограничен чињеницом да већина органских молекула не може да апсорбује светлост из видљивог дела спектра (380 – 750 nm). За њихово побуђивање најчешће се користи зрачење краћих таласних дужина из УЉ дела спектра (око 250 – 300 nm), табела 1.

Табела 1. Таласне дужине побуђивања одређених функционалних група.

Група	λ_{\max} (nm)
Електрони из σ – везе (C–C; C–H; итд)	~ 150
–O–, –N–, –S–	~ 190
C=C	~ 180
C=C– C=C	~ 220
бензен	~ 260
C=O	~ 280
C=C–C=O	~ 350

Да би се светлосна енергија искористила за побуђивање молекула који не апсорбују изнад 300 nm потребни су сензибилизатори или фотокатализатори за пренос енергије фотона на реакциону врсту, при чему се енергија фотона претвара у употребљиву хемијску енергију. Из тог разлога, посебна пажња у истраживању је посвећена развоју фоторедокс катализатора који су способни да апсорбују видљиву светлост и посредују у жељеним хемијским трансформацијама.

Захваљујући великом напретку у овој области истраживања, фотокатализатори, укључујући и фоторедокс катализаторе које побуђује видљива светлост, широко се користе за претварање сунчеве енергије у електричну струју и гориво [17,18] као и за разградњу хемијских загађивача [19].

Са практичне тачке гледишта, видљиву светлост је много лакше користити, јер је мањи ризик по безбедност услед излагања штетном УЛ зрачењу, и није потребна посебна опрема осим једноставног и доступног извора светлости као што је стона лампа или сунчева светлост.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Фоторедокс катализа

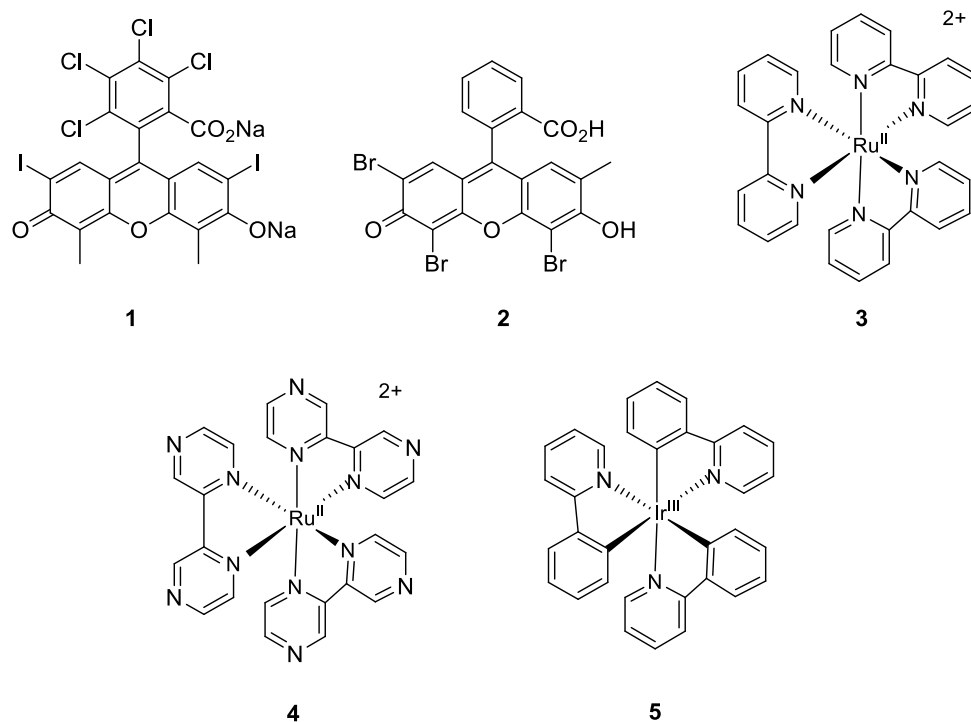
Фоторедокс катализа се може дефинисати као каталитички процес у ком долази до претварања електромагнетне енергије у хемијску енергију помоћу хромофорних фотокатализатора као што су нпр. метални комплекси рутенијума или иридијума, или нпр. органски сензибилатори попут неких органских боја [20–22]. Уопштено, фоторедокс катализа посредством видљиве светлости описује употребу видљиве светлости ниске енергије (380 – 750 nm) за покретање иначе енергијски неповољних хемијских редокс реакција. У поређењу са другим каталитичким приступима, фоторедокс катализа омогућава активацију органских супстрата под благим реакционим условима, што подразумева примену видљиве светлости на собној температури, док се видљиво зрачење користи као одрживи извор енергије [23]. Из наведеног видимо да предност фотокаталитичких реакција јесте једноставно побуђивање органских молекула, а како су услови у којима се реакције изводе врло благи то омогућава примену код великог броја реакција. Од великог је интереса као зелена и блага алтернатива у односу на конвенционалне синтезе које примењују УЛ зрачење.

Први примери фоторедокс каталитичких реакција посредством видљиве светлости објављени су пре пола века и поставили су темеље за даљи развој у овој области. Крајем седамдесетих година прошлог века Келог и сарадници су показали да комплекси на бази рутенијума ефикасно испуњавају улогу фотокатализатора, при чему учествују у редокс процесима са жељеним супстратом [24]. Отприлике у исто време су и друге публикације потврдиле да би комплекси на бази рутенијума применом видљиве светлости могли да учествују у редукцији широког спектра супстрата органског порекла (ароматични кетони, електрон дефицитарни олефини, бензил–халогениди и други) [25,26].

Први који су уочили велики потенцијал рутенијума као фотокатализатора за редукцију органских супстрата били су Деронзиер и Окада [27]. Упркос раним открићима и резултатима, област фоторедокс катализе остала је слабо истражена све до 2008. године када су групе МекМилана, Јуна и Стивенсона независно својим резултатима доказале огроман потенцијал фоторедокс катализе и примене фоторедокс катализатора [28–30]. Од тада ова област привлачи пажњу великог броја научника и представља једно од најбрже растућих поља у хемијској катализи [31–33].

2.2. Фотокатализатори које побуђује видљива светлост

Данас су познати бројни фотоактивни катализатори (слика 2) који апсорбују светлост из видљиве области спектра и учествују у процесима преноса електрона са органским супстратима, при чему настају реактивни органски радикали који играју главну улогу у овом типу реакција. О актуелности истраживања сведоче ревијални радови који покривају ову област, а који су публиковани у последњих десет година [22,34,35].



Слика 2. Хемијске структуре најчешће коришћених фотокатализатора: 1. Бенгал Розе; 2. Еозин Y ; 3. $Ru(bpy)_3^{2+}$; 4. $Ru(bpz)_3^{2+}$; 5. $Ir(ppy)_3$.

Кључни фактор у развоју нових фоторедокс метода хемијске синтезе је избор фотокатализатора. Одговарајући катализатори се могу изабрати на основу редокс потенцијала потребних за оксидацију односно редукцију жељеног супстрата. Фоторедокс катализатори индукују размену електрона у интеракцији са супстратима захваљујући добро дефинисаним разликама редокс потенцијала. Ницевиц и његов тим сарадника детаљно су испитали потенцијале оксидације и редукције велике групе комерцијалних реагенса применом цикличне волтаметрије, што је веома значајно за избор одговарајућег катализатора на основу функционалне групе супстрата [36].

Таласна дужина зрачења а самим тим и избор извора светлости се одређује на основу области апсорпције изабраног фотокатализатора. Када немамо доступне податке о апсорпцији фотокатализатора, боја самог катализатора може бити користан водич при избору светлости. Различите боје фотокатализатора имају склоност да апсорбују различите делове спектра светлости. Фотокатализатори који су светло жуте до светло наранцасте прашкасте супстанције имају бољу способност да апсорбују плаво светло. Ово се односи на комплексе рутенијума и иридијума, који су често коришћени у фоторедокс катализи. Тамније наранцасте и црвене прашкасте супстанције имају склоност да апсорбују зелено светло, Пример за то је Еозин Y . Плави катализатори апсорбују црвену светлост, и пример за то је метилен плаво.

Фотокатализатори који се најчешће користе се могу поделити у неколико категорија:

- полипиридински комплекси прелазних метала: најчешће рутенијума – Ru(II) и иридијума – Ir(III), Ru(bpy)₃PF₆, Ru(bpy)₃Cl₂, Ir(ppy)₂(dtbbpy)PF₆, или Ir(ppy)₃, (bpy = 2,2'-бипиридин, ppy = 2-бипиридин, dtbbpy = 4,4'-ди-терц-бутил-2,2'-бипиридин);
- порфирини/органичне боје: Бенгалска Розе, Еозин Y, Метилен плаво, тетрафенилпорфирин;
- неорганички полупроводници: титанијум-диоксид TiO₂, цинк-оксид ZnO, кадмијум(II)-сулфид CdS [37,38]. Они делују као хетерогени катализатори, не растварају се али је њихова ефикасност ограничена апсорпционим својствима катализатора, расејањем светлости, површинским дефектима и брзином дифузије парова електрон-шупљина према површини материјала [39];
- полиоксометалати: представљају фотокатализаторе опште формуле [M_xX_yO_z]^{d-}, где је М – метални катјон (молибден Мо, волфрам W, ванадијум V, ниобијум Nb, и тантал Та), X је хетероатом, метал или нематал, и O је кисеоник. Најпознатији међу њима су хетерополиоксометалати Кегиновог типа [M₁₂XO₄₀]^{d-}, Дабсоновог типа [M₁₈X₂O₆₂]^{d-} (M = Мо, W; X = Si, P итд.) као и јон декатунгстата [W₁₀O₃₂]⁴⁻ [40]. Једна од предности примене ових фотокатализатора је велики број потенцијално активних места на њиховој површини [41].

Приликом избора фотокатализатора треба водити рачуна да он испуњава следеће критеријуме:

- Потребно је да фотокатализатор апсорбује зрачење у широком опсегу таласних дужина које друге врсте присутне у реакционој смеши не могу да апсорбују. Тиме се спречава неконтролисано стварање органичних радикала који могу довести до нежељених споредних реакција. Ово је неопходно и из разлога што фотокаталитичке реакције користе појачану реактивност фотокатализатора у његовом побуђеном стању;
- Квантни принос формирања хемијски реактивног побуђеног стања треба да буде што већи (близу јединице) што при стандардним условима омогућава високо ефикасну конверзију светлости у хемијску енергију. Принос једињења у побуђеном стању треба да буде што већи како би се повећала ефикасност и смањила потребна количина фотокатализатора. Принос зависи од моларне апсорптивности и од тога колико молекула достигне побуђено триплетно стање након апсорпције светлости;
- Побуђено стање мора да траје довољно дуго тако да фотокатализатор може да прође кроз жељену реакцију са супстратом, а затим се враћа у основно стање;
- Реакција између побуђеног стања фотокатализатора и супстрата треба да буде термодинамички пожељна. Ако каталитички циклус укључује пренос електрона, редокс-потенцијали фотокатализатора у побуђеном и основном стању морају обезбедити егзотермну (или у најгорем случају слабо ендотермну) реакцију;
- Фотокатализатор треба да буде хемијски стабилан и да не деградира током катализе преноса електрона. Треба да покаже реверзибилно електрохемијско понашање тако да може правилно да учествује у каталитичком циклусу;

- Синтетичка доступност и прилагодљивост су пресудни како би се реактивност фотокатализатора у побуђеном стању прилагодила реакцији од интереса.

Поред наведених фактора приликом избора фотокатализатора такође треба узети у обзир и њихову рН осетљивост, растворљивост, максимум апсорпције и да ли су њихови редокс потенцијали погодни за реакцију [42].

Полипиридински комплекси Ru(II) и Ir(III) су најчешће коришћени и најефикаснији фотокатализатори који се примењују у хемијској синтези (слика 2). Веома су пожељни за развој нових каталитичких реакција. Ови комплекси су се првенствено користили у соларним ћелијама [43], диодама које емитују светлост (енг. *Light-Emitting Diode, LED*) [44] и као иницијатори у полимеризацији слободних радикала [45]. Ова једињења снажно апсорбују видљиву светлост што омогућава њихово селективно побуђивање. Животни век ових металних комплекса у побуђеном стању је у временском опсегу од микросекунде, што фаворизује примену у фотореакцијама. Њихова побуђена стања се формирају са ~100% ефикасности [46], а време живота им се креће од 300 ns до 6 μ s, што је довољно да учествују у бимолекулским реакцијама што је један од разлога зашто се фаворизује њихова примена у фоторедокс реакцијама [47,48]. Већина фоторедокс реакција описаних у литератури користи ове комплексе због њихових релативно високих редокс потенцијала у побуђеном стању у поређењу са осталим прелазним металима. Ова једињења су генерално стабилна у погледу разградње (фотохемијске и термичке) и обично показују реверзибилно редокс понашање.

У литератури је детаљно описана синтеза полипиридинских комплекса прелазних метала [49,50], као и ефекат који различити лиганди имају на својства основног и побуђеног стања [51]. Сва наведена својства чине ова једињења пожељним приликом избора фотокатализатора.

Истраживачи настављају свој рад на развоју нових и унапређењу постојећих материјала у области фоторедокс катализе. Њихов циљ је да се повећа ефикасност и примена фотокатализатора у различитим процесима.

2.2.1. Фотофизички процеси у фоторедокс катализи

Фотокаталитички процес се може поделити на три фазе: апсорпцију светлости од стране фотокатализатора, пренос електрона са метала на лиганд (енг. *Metal-to Ligand Charge Transfer, MLCT*) и процес гашења побуђеног фотокатализатора [52].

У првој фази фотокатализатор, као што је $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, апсорбује фотон одговарајуће таласне дужине. Његов максимум апсорпције је у подручју видљиве светлости (око $\lambda_{\text{max}} = 452 \text{ nm}$) па је из тог разлога плава LED сијалица најефикаснији извор за побуђивање $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ [53,54]. Најзначајнији ефекат фотоексцитације је тај што је побуђено стање фотокатализатора јаче оксидационо и редукционо средство него његово основно стање.

Електрон се преноси са орбитале металног центра комплекса у празну орбиталу бипиридинског лиганда. Из тог разлога се овај електронски прелаз назива пренос електрона са метала на лиганд. Услед овог преноса електрона (*MLCT*), Ru(II) се оксидује до Ru(III), док се лиганд редукује [17,20]. Ово је уједно и друга фаза фотокаталитичког процеса.

Трећа фаза је процес гашења побуђеног фотокатализатора. У побуђеном стању долази до преноса једног електрона (енг. *Single-Electron Transfer, SET*) на органски молекул или са органског молекула, при чему долази до формирања органских радикалских врста, радикал анјона у првом случају, а радикал катјона у другом случају. Трећи процес обухвата пренос енергије на органски молекул. Који ће од ова три процеса бити доминантан одређено је

термодинамичким и кинетичким факторима који су повезани са посматраном реакцијом [21,55].

Ове три фазе заједно омогућавају фотокаталитички процес применом видљиве светлости. Разумевање ових фаза је кључно за дизајн нових фотокаталитичких процеса, ефикасних фотокатализатора и оптимизацију његових перформанси.

У процесу преноса једног електрона $^*[Ru(bpy)_3]^{2+}$ се може понашати или као оксидационо средство ($^*Ru(II)$ у $Ru(I)$), или као редукционо средство ($^*Ru(II)$ у $Ru(III)$), у зависности од редокс потенцијала осталих присутних хемијских врста.

Покретачка сила која одређује да ли се пренос једног електрона може десити назива се редокс снага. За сваки катализатор способност да се подвргне редукцији или оксидацији може се проценити мерењем електрохемијског полупотенцијала одговарајућих редокс реакција. То се обично ради цикличном волтаметријом. Уколико је познат полупотенцијал супстрата, вредности потенцијала могу бити корисне у предвиђању да ли ће полупотенцијал побуђеног стања одређеног фотокатализатора бити у стању да редукује или оксидује супстрат и тако га активира.

2.2.1.1. Оксидациони циклус гашења побуђеног стања фотокатализатора

У оксидационом циклусу гашења побуђеног стања фотокатализатора, $^*[Ru(bpy)_3]^{2+}$ се оксидује до $[Ru(bpy)_3]^{3+}$ (електродни потенцијал ове реакције је $E_{1/2}(Ru^{II^*}/Ru^{III}) = -0,81 V$ мерен стандардном каломелском електродом у ацетонитрилу), електрон се донира акцепторској врсти. Термин оксидациони циклус се односи на чињеницу да је фотокатализатор оксидован.

Да би се вратио у конфигурацију основног стања, оксидовани катализатор може да прође узастопни пренос електрона (*SET*), који се назива редуктивна рекомбинација, у којем се електрон који недостаје узима од донорске врсте. Овај други догађај преноса једног електрона „затвара“ фотокаталитички циклус дајући конфигурацију основног стања која је спремна за поновно побуђивање [21].

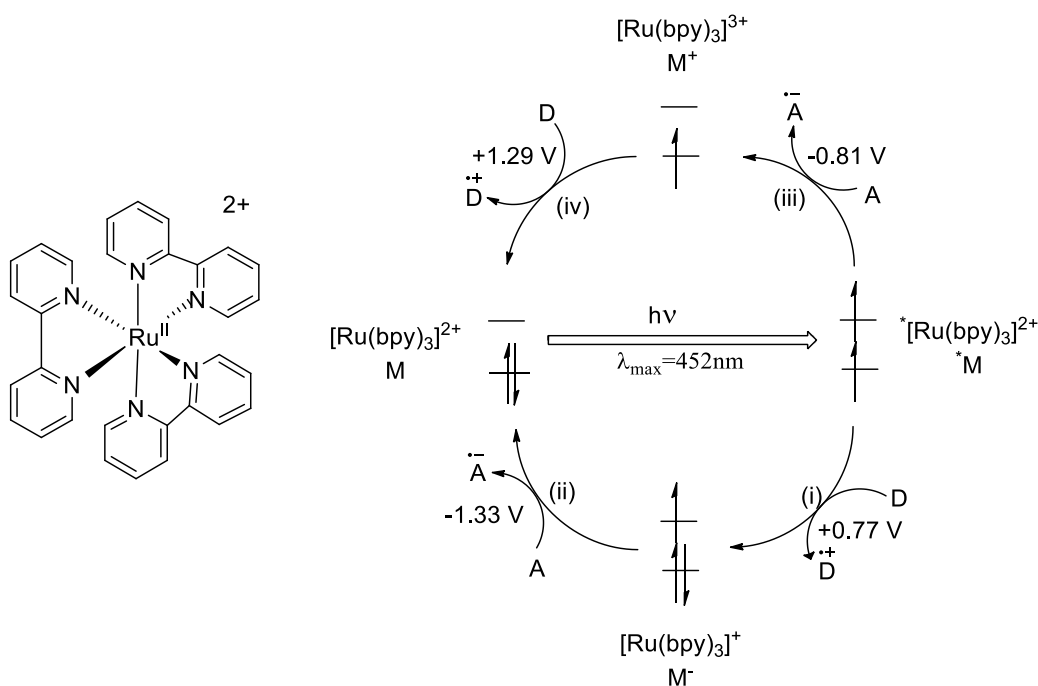


Схема 1. Фотокаталитички циклус $[Ru(bpy)_3]^{2+}$, А представља акцептор електрона, D је донор електрона док се ознака M односи на метал у фотокатализатору.

Фотокаталитички циклус за најчешће коришћени фоторедокс катализатор $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, заједно са редокс потенцијалима у различитим тачкама циклуса, приказан је у схеми 1.

2.2.1.2. Редукциони циклус гашења побуђеног стања фотокатализатора

Када гашење побуђеног стања фотокатализатора доводи до тога да фотокатализатор прихвата електрон од донорске врсте, одговарајући каталитички циклус се дефинише као редукциони циклус гашења. У редукционом циклусу гашења фотопобуђеног фотокатализатора долази до његове редукције до $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^+$ (вредност електродног потенцијала ове реакције у односу на стандардну каломелску електроду је $E_{1/2}(\text{Ru}^{\text{II}*}/\text{Ru}^{\text{I}}) = +0,77 \text{ V}$ у ацетонитрилу).

Редуковани катализатор се враћа у основно стање повратно донира електрон акцепторској врсти узастопним преносом електрона што се назива оксидативна рекомбинација [21].

2.2.1.3. Процес преноса енергије

Процес преноса енергије се разликује од претходно разматраних начина гашења путем преноса електрона по томе што се овај облик гашења не дешава редокс путем, фотокатализатор се враћа директно у основно стање док акцептор прелази у побуђено стање тј. сензибилизован је. Дефинише се као фотофизички процес у коме се побуђено стање донорске врсте D^* деактивира и враћа у основно стање уз пренос енергије на молекул акцептора који се на тај начин побуђује [56]. Овај процес се другачије назива сензибилизација и на овај начин се могу побудити и молекули који не апсорбују упадно зрачење. Фотокатализатори у том смислу представљају донорску врсту која је побуђена директном апсорпцијом видљиве светлости.

Како би процес трансфера енергије био ефикасан, неопходно је да енергија побуђеног стања акцептора A^* буде нижа од енергије побуђеног стања донора D^* . Други услов који мора бити испуњен јесте да се сензибилизација акцептора A деси у току времена живота побуђеног стања донора D^* .

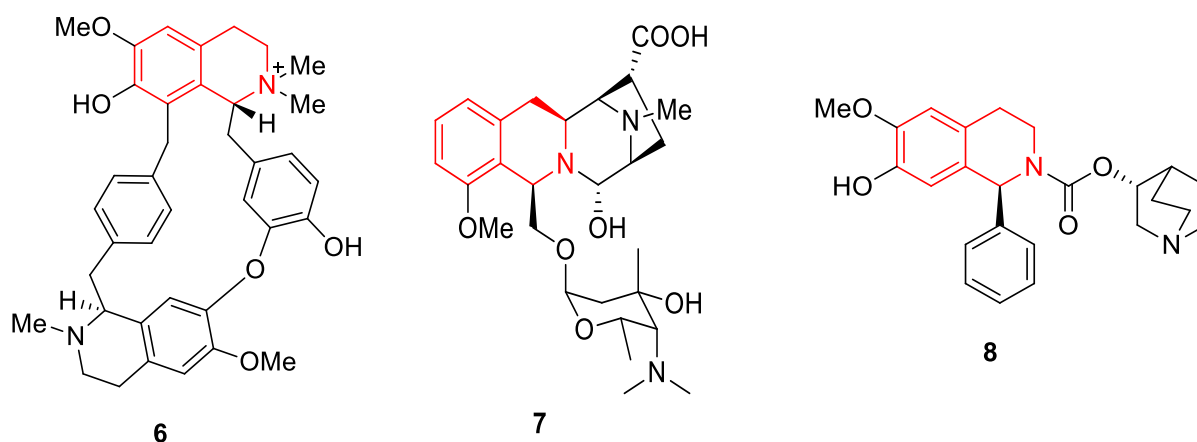
Због кратког времена живота синглетног побуђеног стања, већина процеса преноса енергије се одвија из триплетног побуђеног стања донора [57,58]. Како скоро сви стабилни органски молекули имају спински упарене електроне, акцептори су најчешће у синглетном основном стању. Обзиром да је већина фотокатализатора у триплетном побуђеном стању, а органски акцептори у синглетном основном стању, пренос енергије представља механизам за настајање триплетног побуђеног стања органских молекула апсорпцијом мале количине енергије у облику видљиве светлости [59,60]. Овај процес се назива триплет–триплет пренос енергије.

Овај процес преноса енергије може се јавити кроз различите механизме као што су Форстеров механизам [61,62] (резонантни пренос енергије) или Декстеров механизам [62,63] (директан трансфер електрона). Основни значај процеса преноса енергије је што побуђена триплетна стања акцептора показују различите обрасце реактивности која нису уобичајено доступна за већину органских молекула.

2.3. Тетрахидроизохинолини као привилегована класа биолошки активних једињења, биолошка активност и синтезе

2.3.1. Биолошка активност

Скелет 1,2,3,4–тетрахидроизохинолина (енг. *1,2,3,4–Tetrahydroisoquinoline*, *THIQ*) присутан је у бројним природним и синтетички добијеним једињењима, од којих многа показују биолошку активност, слика 3 [64,65]. Међу њима се посебно истичу *THIQ* супституисани у положају *C-1* који имају важну улогу у медицинској хемији и фармакологији [66–68]. Молекули из ове класе обично садрже бензил– (бензилизохинолински алкалоиди) или фенил–(фенилизохинолински алкалоиди) групе у положају *C-1* и показују изузетан биолошки спектар активности. У природи се *THIQ* појављују као метаболити биљака, међутим у последњих неколико деценија, због њихове евидентне биолошке активности, уложени су значајни напори у развоју различитих приступа за њихову синтезу [69].



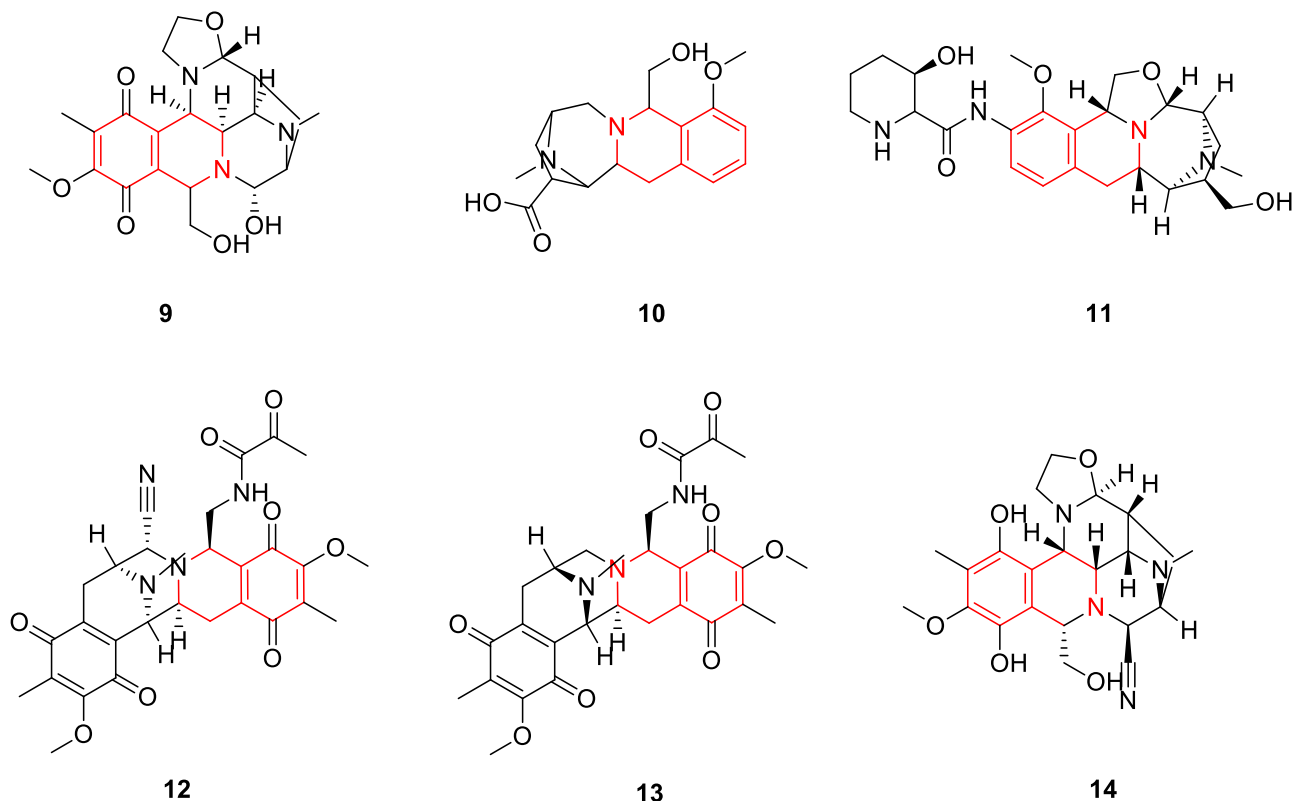
Слика 3. Биолошки важни *THIQ*: 6. Тубокурарин; 7. Лемономицин; 8. Солифенацин.

Скелет *THIQ* се налази у саставу бројних лекова чији је спектар деловања широк: делују антиинфламаторно, антибактеријски, антитуморски, антиконвулзивно, антивирусно, антикоагулантно и др. [65,70]. Тренутно се више десетина природних или полусинтетичких производа *THIQ* примењује у терапији различитих болести [71]. Синтетисани су за различите терапијске сврхе али је највећи успех запажен у области откривања лекова за рак и болести централног нервног система [65].

Литературни подаци указују да би поједини деривати *THIQ* могли да имају кључну улогу у различитим физиолошким процесима у мозгу, указујући на њихову потенцијалну улогу у терапији поремећаја централног нервног система [64,72]. Највише су испитивани *THIQ* супституисани хидрокси– и метокси– групом на ароматичном прстену као и *THIQ* једињења са метил групом на позицији *C-1*. Литературни подаци указују на неуропротективни потенцијал *THIQ* једињења са метил групом на позицији *C-1*, што значи да једињења са овом врстом врстом модификације могу представљати будуће лекове смањене цитотоксичности што је и један од примарних циљева у развоју лекова.

Потенцијал ове класе једињења за лечење Паркинсонове болести први је приметио Исерн, који је увидео да је једињење 1–метил–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин показује значајну активност у превенцији ове болести пружајући на тај начин могућност овој класи једињења да се покаже у терапији Паркинсонове и Алцхајмерове болести [72].

Породица антитуморских антибиотика чини малу али растућу и све важнију групу хемотерапеутских агенаса. Међу њима су препозната и нека једињења из групе тетра hidroизохинолина обзиром да испољавају и антитуморску и антимикуробну активност, слика 4. Ови природни производи су класификовани у више фамилија: сафрамицин, нафтиридиномицин/биокалوميцин и кинокарцин/тетразомин. Неки од лекова који се користе у клиничкој пракси приказани су на слици 4 [65].



Слика 4. Тетраhydroизохинолини као антитуморски антибиотици: **9.** Нафтиридиномицин; **10.** Кинокарцин; **11.** Тетразомин; **12.** Сафрамицин А ; **13.** Сафрамицин Б; **14.** Цијаноциклин.

Из горе наведених разлога скелет *THIQ* привлачи велику пажњу што је довело до развоја нових синтетичких приступа и синтезе нових једињења са значајном биолошком активношћу. У различитим студијама утврђено је постојање снажне везе између структуре и биолошких активности *THIQ* [73]. Начин супституције, функционалне групе и различите скелетне структуре *THIQ* испољавају различите активности у односу на бактерије, вирусе, маларију, лажшманијазу, депресију, Паркинсонову и Алцхајмерову болест. Једињења која у себи садрже скелет *THIQ* такође могу бити перспективна и у терапији других инфективних болести као што су туберкулоза, ХИВ инфекција и др.

Развој нових синтетичких приступа и синтеза једињења базираних на скелету *THIQ* има значајан утицај на фармацеутску индустрију и медицинска истраживања. Ови напори отварају нове могућности за разумевање и третирање различитих болести, побољшавајући терапијске опције.

2.3.2. Синтеза тетраhydroизохинолина

2.3.2.1. Функционализација C–H везе терцијарних амина поступком укрштеног дехидрогенативног купловања

Укрштено дехидрогенативно купловање (енг. *Cross–Dehydrogenative Coupling, CDC*) је хемијска реакција у којој се два различита органска молекула повезују активирањем C–H везе и формирањем нове C–C или C–хетероатом везе. Ове реакције се обично изводе у присуству катализатора који је способен да активира C–H везу. Проучавање и развој CDC метода је веома важно са становишта хемије, са циљем да се развију ефикасне и одрживе методе синтезе.

Каталитичка функционализација инертне C–H везе поступком укрштеног дехидрогенативног купловања је одржив начин за формирање нових хемијских веза заобилазећи припрему куплујућих прекурсора. Процес је економичан како у броју корака неопходних за синтезу тако и у времену, јер префункционализација супстрата није од суштинског значаја. Развој нових методологија које су атомски ефикасне веома су важне са становишта зелене хемије па из тог разлога овај вид реакција последњих година привлачи велико интересовање за синтезу органских једињења.

Кључну улогу у развоју CDC методологије и њеној популаризацији допринели су између осталих Мурахашаи и Ли [74–76].

Успешност CDC методологије зависи од специфичних услова реакције, избора катализатора и супстрата. Посебно важна област је функционализација C–H везе у близини терцијарног атома азота [77], а све до 2010. године нису постојала истраживања која су се бавила овом проблематиком применом видљиве светлости [78]. Ова метода је предмет интензивног развоја и истраживања и непрекидно се унапређује како би се омогућила ефикасна и селективна функционализација како тетраhydroизохинолина тако и других молекула.

До данас је развијено неколико стратегија и бројне варијанте у CDC методологији које омогућавају избор одговарајућег приступа за добијање нових C–I функционализованих THIQ једињења. У CDC функционализацији THIQ супстрата примењен је низ хомогених и хетерогених фоторедокс фотокатализатора који апсорбују видљиву светлост: метални комплекси који садрже рутенијум [79], иридијум [78] паладијум [80], платину [81], кобалт [82] или бакар [83,84], органске боје [85,86] и хетерогени фотокатализатори попут титанијум–диоксида [87], бакар(I)–оксида Cu_2O [88], кадмијум–сулфида [89] или умрежени полимери [90,91].

За ефикасну оксидативну функционализацију α -C–H везе терцијарних амина као фотокатализатори се најчешће користе полипиридински комплекси Ru(II) и Ir(III).

Фотокатализатор (енг. *Photocatalyst, PC*) након изложености видљивој светлости прелази у побуђено стање које бива редуктивно угашено трансфером једног електрона са терцијарног амина. Након иницијалне једноелектронске оксидације терцијарног амина настаје катјонски радикал **I**, који је централна врста од које на даље може да дође до три различита процеса при чему настају различите реактивне врсте (схема 2). Ово је централни интермедијер у овом процесу, од овог корака на даље могућа су три реакциона пута. При процесу апстраховања електрона са амина, катализатор прелази у ниже оксидационо стање. Катализатор се реоксидује до основног стања помоћу кисеоника из спољашње средине чиме се затвара каталитички циклус. При томе настаје ањонски радикал кисеоника $[\text{O}_2]^{\bullet-}$ који је високо реактивна врста која може да апстрахује атом водоника из катјонског радикала **I** (схема 2, пут **A**) при чему настаје иминијум јон **II**. Овај јон је веома електрофилна врста и

може да реагује са различитим нуклеофилима при чему се генерише жељена функционална веза $C-Nu$.

Други реакциони пут је да катјонски радикал интермедијер **I**, у присуству базе подлегне процесу депротоновања при чему настаје α -аминорадикал **III** (схема 2, корак **B**). Овај високо нуклеофилни α -амино радикал може реаговати са великим бројем електрон дефицитарних врста попут алкена, ароматичних једињења и других незасићених једињења при чему настају функционализовани амини. Даља једноелектронска оксидација α -амино радикала даје иминијум јон **II**.

Поред реакција апстраховања водоника и депротоновања интермедијарни радикал катјон **I** подлеже и реакцији 1,2- преноса водоника (схема 2, пут **C**) при чему настаје интермедијер **IV** који након депротоновања и једноелектронске оксидације такође даје иминијум јон **II**.

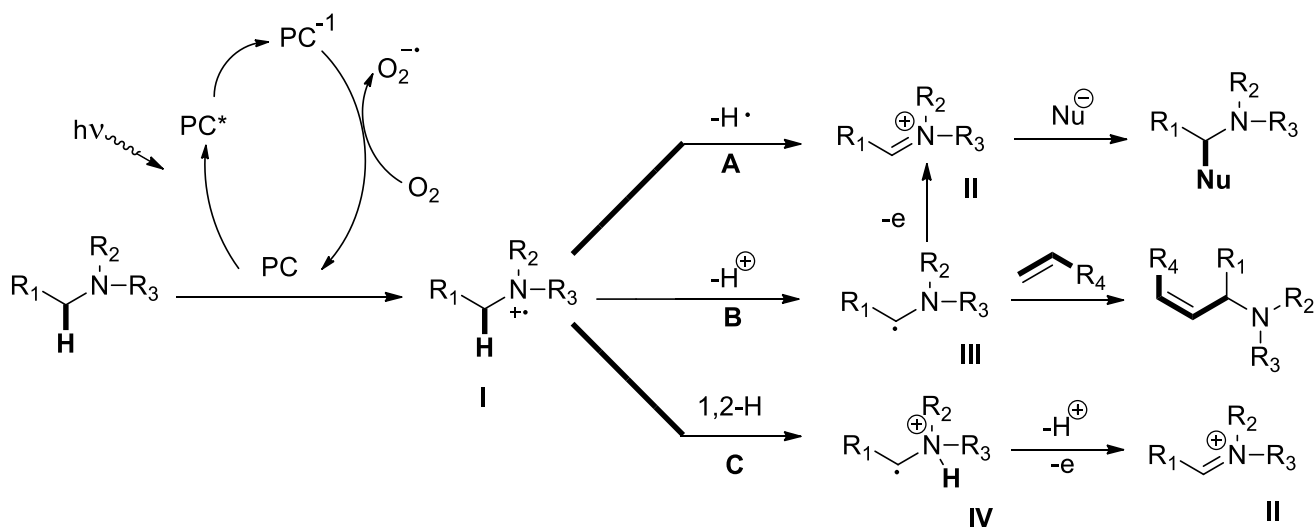


Схема 2. Могући реакциони путеви функционализације $C-H$ везе терцијарних амина фотокатализом видљивом светлошћу (PC – фотокатализатор, O_2 – кисеоник).

Испитивања у којима су описане фотохемијске оксидације терцијарних амина и фотофизичка својства полибипиридинског комплекса $Ru(II)$ започела су 70-их година 20-ог века [92–94]. Нешто касније Ли и његови сарадници су први искористили фоторедокс катализу за функционализацију терцијарних амина до одговарајућих иминијум-јона [95–97].

Развој методологије фоторедокс функционализације терцијарних амина започео је Стивенсон, реакцијом укрштеног дехидрогенативног купловања, развојем методе за фотокаталитичку аза-Хенријеву реакцију нитрометана са $THIQ$ у присуству кисеоника као терминалног оксиданса и $Ir(ppy)_2(dtbbpy)PF_6$ као фотокатализатора (схема 3) [78].

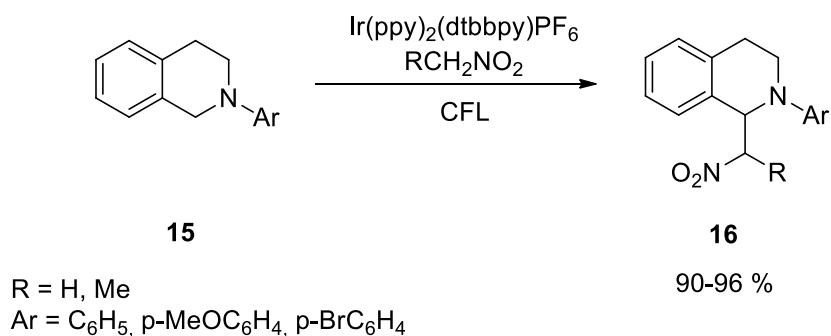


Схема 3. Директна функционализација *THIQ*.

Након иницијалне публикације велики број истраживачких група се укључио у ову област истраживања за развој реакција укрштеног дехидрогенативног купловања применом видљиве светлости [79,81,85,87]. Њихове студије су показале да иминијум јони генерисани из *THIQ* могу да реагују са широким спектром нуклеофила, (схема 4) [98,99]. У ту сврху су стратешки развијени и коришћени различити метални, као и органски хетерогени катализатори.

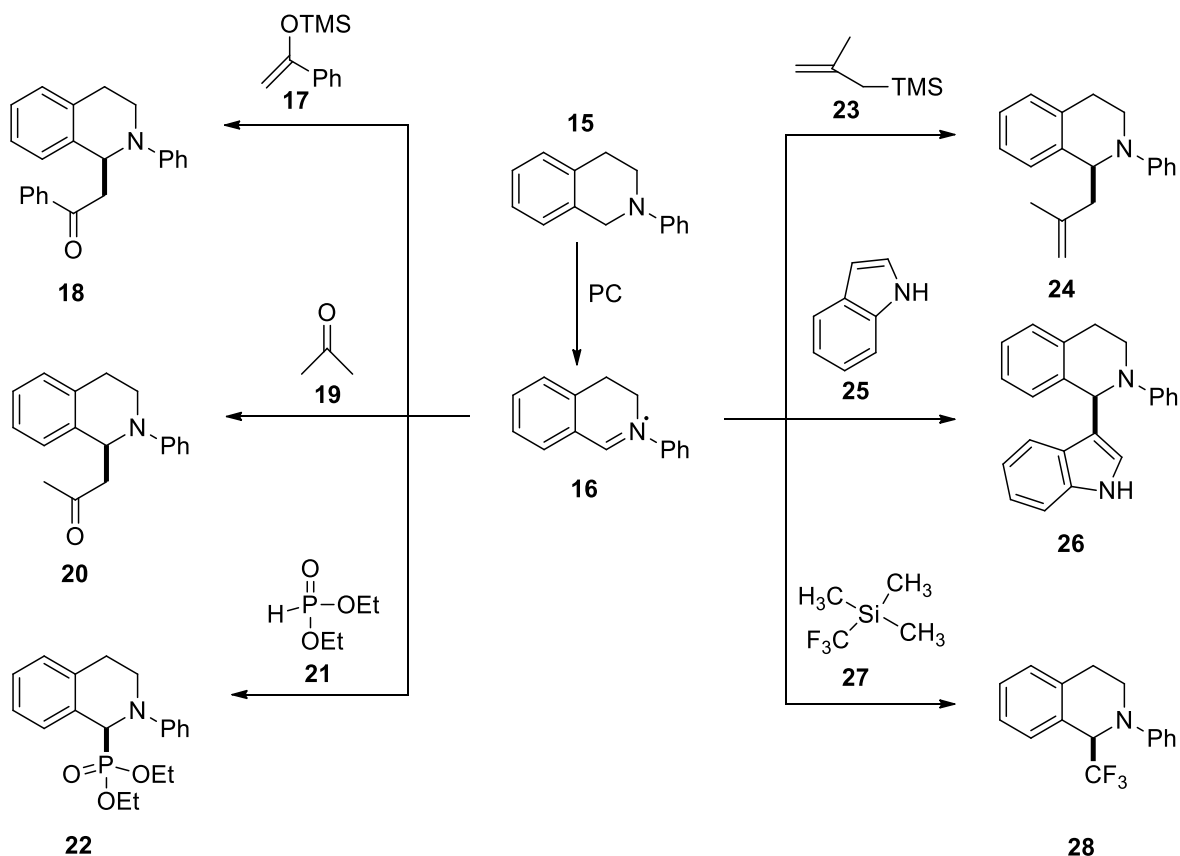


Схема 4. Фотокаталитичко укрштено дехидрогенативно купловање *THIQ*.

2.3.2.1.1. Манихова реакција у функционализацији тетрахидроизохинолина

Једна од најзначајнијих реакција функционализације тетрахидроизохинолина је Манихова реакција (схема 5), тј. реакција адиције енамина енолизабилних алдехида и кетона на иминијум јон. У реакцији функционализације *THIQ* са ацикличним алифатичним кетонима, применом фотокатализатора и органокатализатора настају β -амино кетони [100].

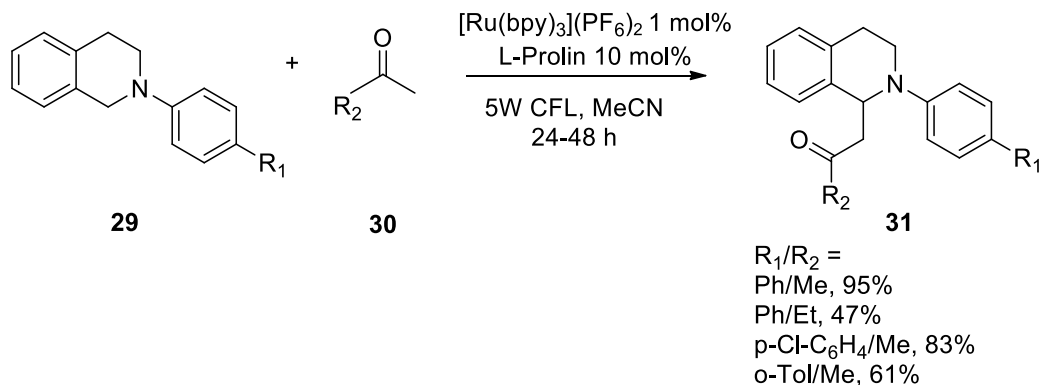
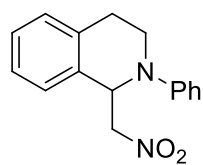
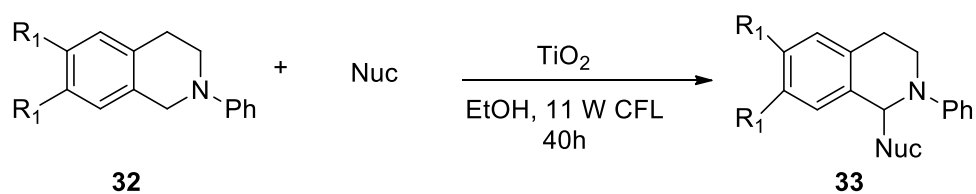


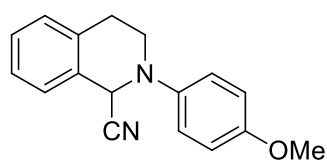
Схема 5. Манихова реакција адиције кетона дериватима *THIQ* [100].

За ефикасно превођење кетона у одговарајуће високореактивне нуклеофилне енаmine аутори су употребили *L*-пролин као органокатализатор. Поред пролина испитано је неколико различитих органокатализатора, међутим *L*-пролин се показао као најефикаснији. За оксидацију *THIQ* у иминијум-јоне испитан је Ru(bpy)₃(PF₆)₂ као фотокатализатор. Показало се да је брзо стварање иминијум јона контрапродуктивно, с обзиром на спорије стварање енамина, из разлога што је адиција на енамин ограничавајући корак у реакцији, што доводи до нежељене деградације иминијум јона. Проучаван је и утицај извора светлости на предложене реакције тј. компактне флуоресцентне сијалице (енг. *Compact Fluorescent Lamp, CFL*) од 5 W и 11 W, плаве LED диоде и УЉ лампа. Применом компактне флуоресцентне сијалице од 5 W долази до знатног побољшања приноса реакције. Ова запажања сугеришу да постоји могућност да избор извора светлости утиче на реактивност нуклеофила. Под оптимизованим реакционим условима испитана је реактивност *THIQ* у реакцијама са неколико различитих кетона укључујући ацетон, бутанон, 1,1-диметокси-2-пропанон и у свим случајевима је уочено формирање производа *CDC* купловањем са добрим до одличним приносима.

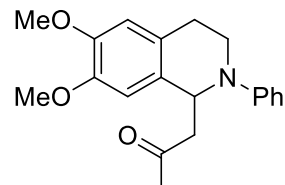
Групе Вуа [101] и Тана [102] су испитивале ову реакцију у присуству органских боја, конкретно Еозина У и Бенгалског Розе који су се користили као фоторедокс катализатори. Поред наведених металних комплекса и органских боја, утврђено је да су и хетерогени материјали ефикасни фотокатализатори. Групе Блекерта [103,104], Конига [105], Зханга [106] и Руепинга [87,107] истраживали су хетерогену фоторедокс катализу са депротонаним мезопорозним графитним карбон-нитридом (mpg-C₃N₄), кадмијум-сулфидом (схема 7), титанијум-диоксидом (схема 6), и цинк-оксидом.



85%

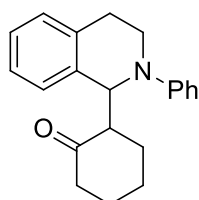
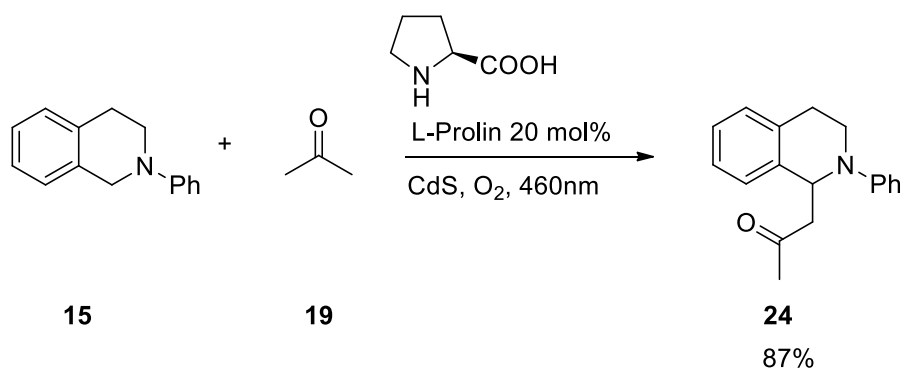


99%

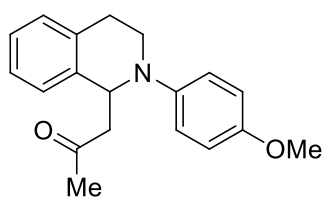


88%

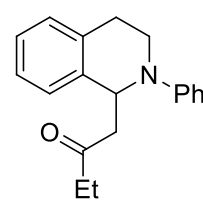
Схема 6. Манихова реакција CDC купловања *THIQ* применом металног оксида TiO_2 [107].



79%



89%



76%

Схема 7. Манихова реакција CDC купловања *THIQ* применом кадмијум–сулфида [105,106].

2.3.2.1.2. Фоторедокс Штрекерева реакција у функционализацији тетрахидроизохинолина

Штрекерева реакција је веома важна реакција за добијање α -аминонитрила [108]. Нуклеофилном адицијом цијанидног јона на иминијум-јон добијају се α -аминонитрили, класа једињења са антибактеријским, антивирусним и антифунгалним својствима (схема 8) [109].

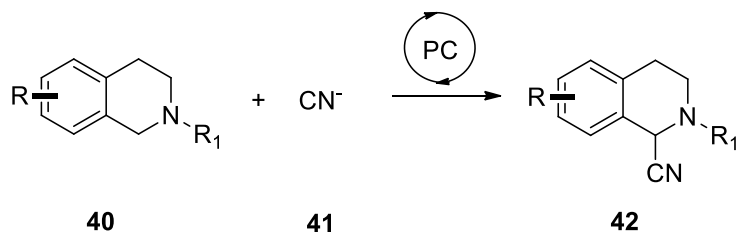


Схема 8. Штрекерева реакција – α -цијановање *THIQ*.

Као извор CN^- јона најчешће се користе триметилсилил-цијанид (Me_3SiCN , TMSCN), малонодинитрил (CNCH_2CN), тетрабутиламонијум-цијанид ($n\text{-Bu}_4\text{N}^+\text{CN}^-$) као и неке цијанидне соли.

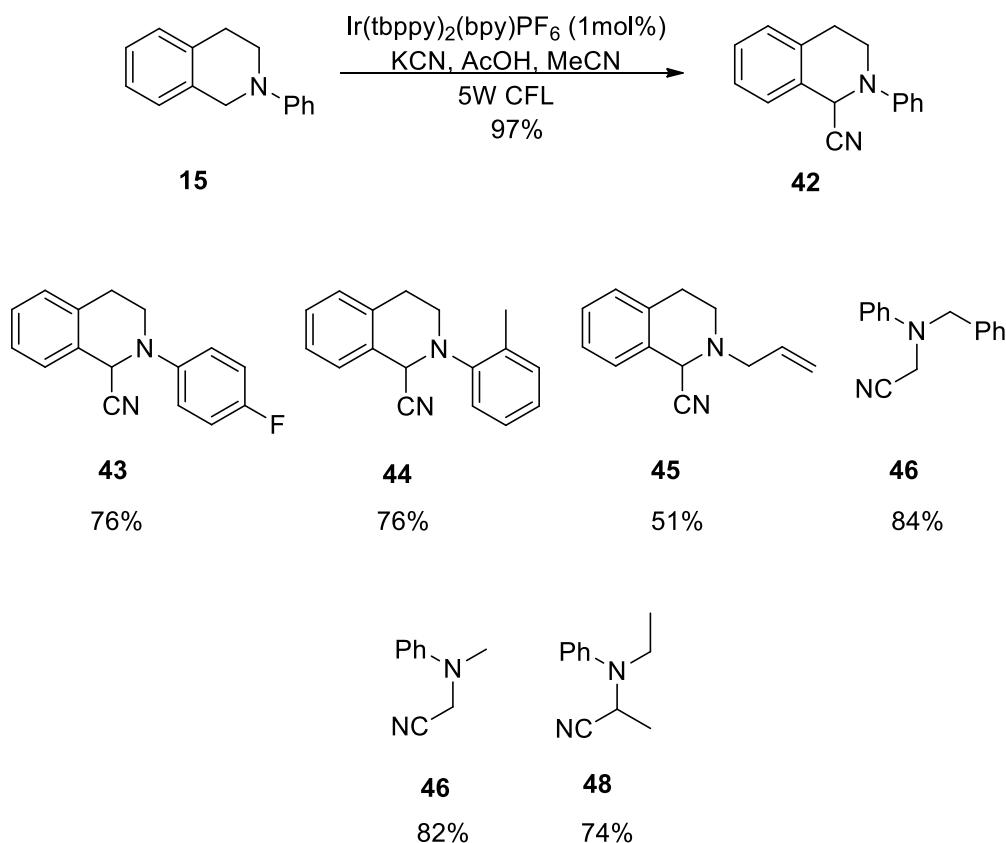


Схема 9. Штрекерева реакција *CDC* купловања *THIQ* [110].

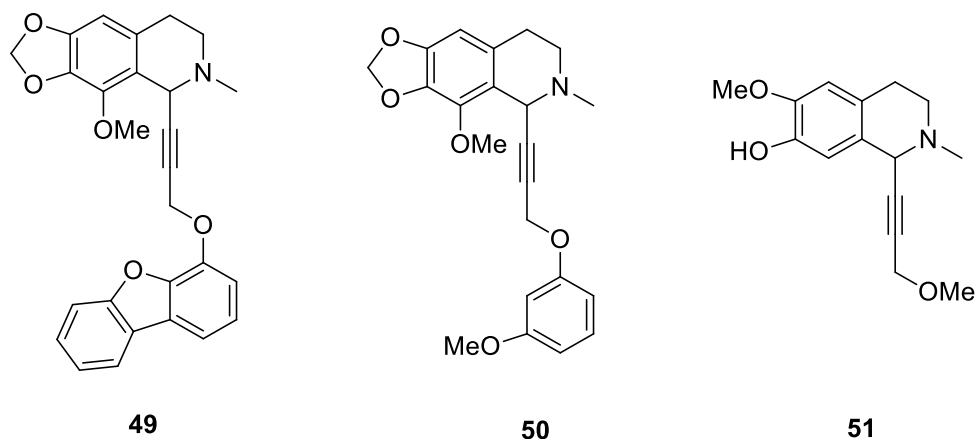
Руецинг је такође успешно применио ову реакцију на различито супституисане *THIQ* са приносима од 81 – 97% [110]. Цијановање је постигнуто коришћењем комплекса $\text{Ir}(\text{tbppy})_2(\text{bpy})\text{PF}_6$ (tbppy : 2-(4-терц-бутил-фенил)-пиридин) као фотокатализатора у ацетонитрилу. Као извор цијанида користили су калијум-цијанид који у присуству сирћетне киселине ослобађа HCN , схема 9. Поред тога приказао је и хетерогену реакцију фотокаталитичког цијановања користећи титанијум-диоксид као фотокатализатор [87,107].

Тан [111] и Кониг [85] су независно развили фотокаталитичку Штрекерову реакцију која је катализована органским бојама (Бенгал Розе и Еозин *Y*). Примена Бенгалског Розе као катализатора захтева употребу графен оксида као кокатализатора у циљу повећања брзине и приноса реакције, једини недостатак је дуже време трајања реакције [111]. У другој студији Руепинг потврђује потенцијал фоторедокс катализатора Бенгалског Розе у поређењу са Еозин *Y* у микрофлуидном реактору, где је принос реакције 87% након 5 h а без примене другог катализатора или адитива [112].

2.3.2.1.3. Алкиниловање у функционализацији тетрахидроизохинолина

Алкиниловање *THIQ* укрштеног дехидрогенативног купловања [113] је процес који захтева активацију терминалног алкина као нуклеофила прелазним металом бабра [114–116], сребра [117,118] или злата [119]. Реакција алкиниловања се често користи у органској хемији за синтезу различитих биоактивних алкалоида [120]. Последњих година је развијено неколико фоторедокс метода за алкиниловање *THIQ* применом видљиве светлости [78,79,121].

Неки од биоактивних алкалоида који су добијени алкиниловањем *THIQ* представљени су на слици 5. Представљено једињење **49** је потенцијални агенс код неуролошких и неуропсихијатријских поремећаја и показује афинитет за D3 допамински рецептор [122], док једињење **50** показује антимиотичко дејство [123], а једињење **51** делује као потентни инхибитор за лечење вирусних инфекција [124].



Слика 5. Биоактивни алкалоиди добијени алкиниловањем *THIQ*.

Двоструки каталитички систем који се састоји од фотокатализатора $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dtbbpy})(\text{PF}_6)_2$ и бакарног комплекса $(\text{MeCN})_4\text{CuPF}_6$ као ко-катализатора који учествује у формирању нуклеофилног бакар ацетилднног интермедијера је омогућио реакцију *THIQ* са великим бројем терминалних алкина и добијање производа у приносима од 53% до 88%, схема 10 [121].

2.3.3. Функционализација С–Н везе терцијарних амина формирањем α -аминорадикала

До настанка α -аминорадикала долази процесом преноса једног електрона између фотокатализатора и амина (схема 2, пут Б) [127–129]. Оксидација терцијарних амина преносом једног електрона представља ефикасан начин за формирање радикал катјона који у поларним растварачима лако подлежу депротоновању при чему настају α -аминорадикали као реактивни интермедијери. Приликом примене α -аминорадикала у хемијским трансформацијама од суштинског значаја је прецизна контрола преноса једног електрона јер се даља оксидација α -аминорадикала одвија лакше него оксидација почетног амина. У зависности од реакционих услова настали α -аминорадикали могу или да реагују као нуклеофили или да буду подвргнути даљој једноелектронској оксидацији због свог смањеног јонизационог потенцијала и да формирају одговарајуће иминијум катјоне служећи тако као електрофили.

Уз помоћ $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ као фотокатализатора могу се генерисати не само иминијум јони већ и α -аминорадикали (схема 11) [128]. Рајзер и Нишибајаши су независно испитивали адиције различитих α -аминорадикала на електрон дефицитарне алкене, при чему оксидација амина до α -аминорадикала и редукција алкил-радикала добијеног у реакцији адиције предствља кључне кораке реакције купловања при чему су реакциони производи добијени у приносима од 33 – 83% [129]. Кисеоник мора бити уклоњен из реакције како би се спречила реоксидација $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^+$, а тиме и дво-електронска оксидација интермедијерног катјонског радикала I, схема 2. После ових најранијих примера, данас су многе групе започеле испитивање реакције адиције α -аминорадикала применом различитих фотокатализатора [130–133].

Упоредна анализа реактивности фотокатализатора $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ и $\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{dtbbpy})\text{PF}_6$ при истим експерименталним условима сугерише да присуство електрон-донорске групе на арил прстену олакшава пренос са терцијарног амина на побуђени фотокатализатор, и у том случају $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ показује боље резултате.

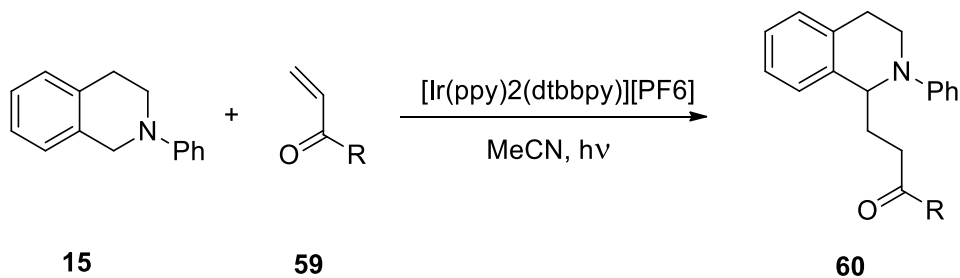


Схема 11. Реакција *THIQ* са α,β -незасићеним карбонилним једињењима.

2.4. Фотохемијски микрофлуидни реактори у синтези биолошки активних једињења

Класичне фотохемијске реакције не захтевају специјалну опрему и комплексне услове, већ се најчешће изводе у реакционом суду, а као извор светлости се користе *LED* или компактне флуоресцентне сијалице. Међутим, извођење фотохемијских реакција у таквом фотореактору има низ недостатака као што су: примена у индустријске сврхе, контрола загревања (уколико је потребна топлота за реакцију) и контрола хлађења реакционе смеше употребом воде или ваздуха. Поред тога потребне су велике количине реагенса због ограниченог искоришћења светлости. Уколико би се реакциони суд повећао дошло би до повећања времена трајања реакције као и до стварања нежељених продуката реакција што значајно компликује процес пречишћавања реакционе смеше. Микрофлуидни уређаји омогућавају да се превазиђу проблеми који се јављају у конвенционалном фотохемијском реактору (стакленом балону) а при томе омогућавају ефикасније искоришћење светлосне енергије тј. хомогену расподелу светлости у реакционом систему.

Концепт цевастих фотореактора и њихова примена за синтезу у хемији разматран је 1960. године [134]. Још тада се сматрало да би могли бити примењени за извођење фотохемијских реакција. Међутим, примена микрофлуидне технологије у фотохемијским процесима почела је да се истражује тек почетком 2000. године [135,136]. Ови реактори се дефинишу као минијатурни системи који се састоје од мреже канала чији је унутрашњи пречник од 100 до 1000 μm а који су произведени применом микротехнологије и микроинжињерства [137]. Микрофлуидни реактори олакшавају извођење фотохемијских реакција јер поседују низ предности у односу на традиционалне реакционе судове [138–140].

Предности као што су:

- одличан пренос топлоте и масе;
- безбедно извођење експеримената;
- прилагодљивост захтевима реакције које се изводе;
- веће искоришћење светлосних фотона;
- велики однос површине и запремине;
- равномерно осветљавање реакционе смеше;
- смањено време реакције;
- прецизна контрола времена реакције;
- прецизна контрола температуре;
- прецизна контрола притиска;
- прецизна контрола мешања;

привукле су пажњу хемичарима јер омогућавају извођење реакција под условима који се не могу лако постићи у конвенционалним фотохемијским реакторима [141]. Ове кључне карактеристике резултују повећаном селективношћу, конверзијом и приносом и тиме чине микрофлуидне реакторе од великог интереса за индустријске и зелене процесе.

Микрофлуидни уређаји су у последњој деценији добили велику пажњу у различитим научним областима као што су биологија, хемија, физика итд [142]. Захваљујући значајном напретку у развоју микрофлуидних уређаја све је веће интересовање за примену микрофлуидних реактора са континуалним протоком како у науци тако и у индустрији. Такође, велики труд је уложен како би се микрофлуидна хемија имплементирала у фармацеутској индустрији [143–145].

2.4.1. Предности примене микрофлуидних реактора за извођење фотохемијских реакција

У даљем тексту детаљно ће бити образложене неке од предности примене микрофлуидних реактора за извођење фотохемијских реакција у односу на конвенционалне фотореакторе.

- **Побољшано осветљавање целокупне реакционе смеше**

Фотохемијске реакције се иницирају апсорпцијом фотона из видљивог и/или УЛ дела спектра електромагнетног зрачења. Из тог разлога неопходна је хомогена расподела енергије унутар фотореактора како би се постигао висок квантни принос и висока селективност. Према Ламбер–Беровом закону (једначина 1) расподела зрачења у конвенционалном реактору ће бити мање униформна што је смањење енергије фотона услед њихове апсорпције веће тј. што је дужина пута већа. Пропустљивост светлости се експоненцијално смањује са удаљеношћу од извора светлости.

Горе поменута ограничења конвенционалних фотореактора могу делимично да се превазиђу повећањем количине фотона, смањењем концентрације реактаната или смањењем дужине реакционог пута.

Количина доступних фотона се може повећати повећањем енергије зрачења. Међутим, услед претераног озрачивања реакционе смеше такође може доћи и до формирања нежељених производа што даље отежава процес пречишћавања. Фотопобуђене врсте које не реагују ослобађају своју енергију у облику топлоте, што даље захтева хлађење система.

Смањење концентрације реактаната такође није пожељно јер долази до смањења продуктивности.

Како би расподела зрачења била равномерна у циљу максималне ефикасности фотохемијског процеса, могуће је смањити димензије реактора тј. користити микрофлуидне реакторе [146].

Због равномерног осветљавања реакционе смеше у микрофлуидним реакторима постиже се и смањење времена реакције у фотохемијским реакцијама. Ово смањење времена реакције уједно и минимизира потенцијално стварање нежељених производа тј. повећава се продуктивност фотохемијског процеса. Предност микрофлуидних реактора у односу на конвенционалне реакторе може се једноставно објаснити преко Ламбер–Беровог закона:

$$A = \log_{10} T = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I_1} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (1)$$

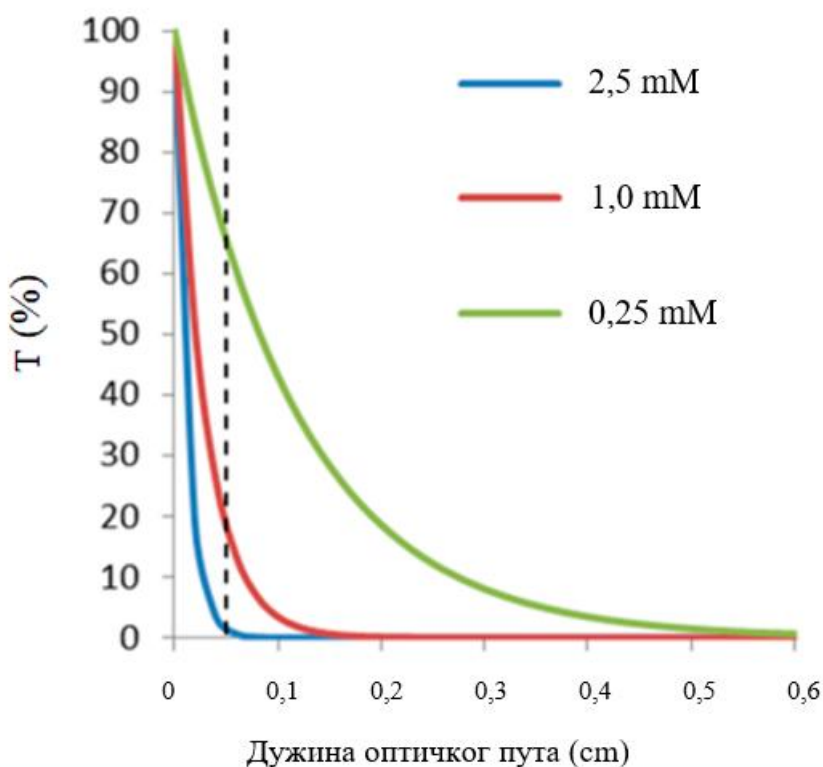
где су:

- T – трансмитанца;
- A – апсорбанција;
- ε – моларни апсорпциони коефицијент ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$);
- c – концентрација ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$);
- l – дужина оптичког пута (cm);
- I_0 – интензитет упадне светлости;
- I_1 – интензитет пропуштене светлости.

Ова једначина показује везу између апсорбанције и моларног апсорпционог коефицијента молекулске врсте која апсорбује светлост, њене концентрације и дужине пута

дуж ког се светлост простира. Са јако апсорбујућим врстама, као што су фотокатализатори, интензитет светла се брзо смањује према центру фотореактора. Фоторедокс катализатори имају веома висок моларни апсорпциони коефицијент, конкретно моларна апсорптивност $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ на 452 nm је $\epsilon = 14,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [17]. Решавањем Ламбер–Беровог закона за класичну фоторедокс реакцију где концентрација $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ износи $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (1 mol% $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ при концентрацији супстрата од $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) долази се до тога да се 99% упадне светлости апсорбује унутар 1,4 mm а 99,9% не продире у балон даље од 2,1 mm. Када се повећа концентрација катализатора на $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 99% упадне светлости се апсорбује унутар 0,3 mm.

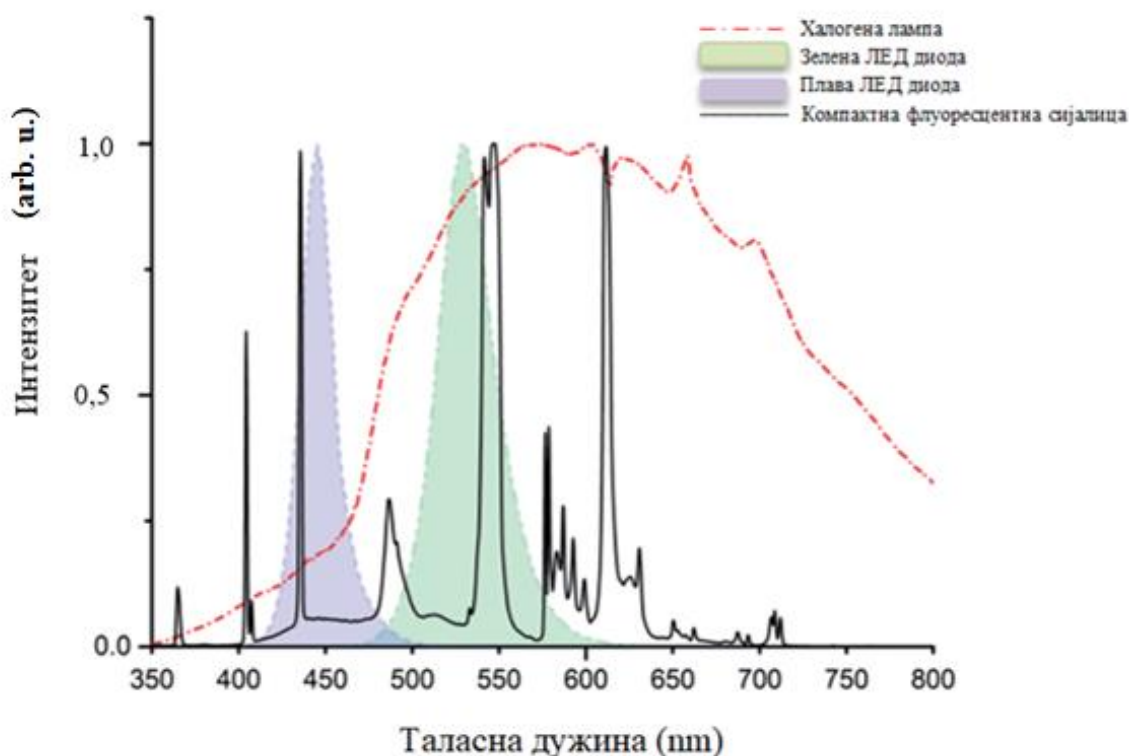
Пропустљивост зрачења у зависности од дужине оптичког пута за различите концентрације фотокатализатора $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ у метанолу приказана је на слици 6 [147]. Вертикална испрекидана линија представља реактор унутрашњег пречника од 0,5 mm. На графику се може видети да за концентрацију катализатора од 2,5 mM мање од 0,1% светлости се преноси преко дужине од 0,1 cm од упадне светлости и да се у бочици пречника 1 cm већина реакционе смеше не зрачи. Смањењем концентрације $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 10 пута постојало би око 1% упадне светлости која се преноси до центра реакционог суда. Како су у микрофлуидним реакторима канали малог попречног пресека скоро сваки молекул катализатора се може побудити упадном светлошћу. Ово показује да су мале димензије микрофлуидних реактора а тиме и висок однос површине и запремине кључни за равномерно осветљавање реакционе смеше.



Слика 6. Пропустљивост зрачења у зависности од растојања за различите концентрације фотокатализатора $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$, прилагођено уз дозволу из референце [147].

Који ће се извор светлости применити за фотохемијску реакцију првенствено зависи од компатибилности емисионог спектра извора светлости и апсорпционог спектра фотоактивних супстанција у реакцији. Важно је одабрати одговарајући извор светлости у складу са захтевима експеримента и специфичностима фотохемијске реакције која се

проучава. Такође у избору важну улогу имају и цена, енергетска ефикасност, животни век извора светлости као и да ли се уклапају димензије извора светлости и примењеног реактора. Емисиони спектри четири различита извора светлости из видљивог дела спектра приказани су на слици 7 [148].



Слика 7. Емисиони спектар четири различита извора светлости из видљивог дела спектра, прилагођено уз дозволу из референце [148].

Вештачки извори светлости који се најчешће примењују у фотохемијским реакцијама су: живина лампа средњег и ниског притиска, за реакције које се изводе у УЉ области; живина лампа високог притиска, која емитује зрачење у УЉ, видљивој и ИЦ области; ксенонска лампа, за извођење реакција у УЉ, видљивој и ИЦ области; црна флуоресцентна сијалица (365 nm) за реакције које се одвијају у УЉ области електромагнетног дела спектра; компактна флуоресцентна сијалица за реакције које се одвијају у видљивој области, слика 7; LED диоде различитих таласних дужина.

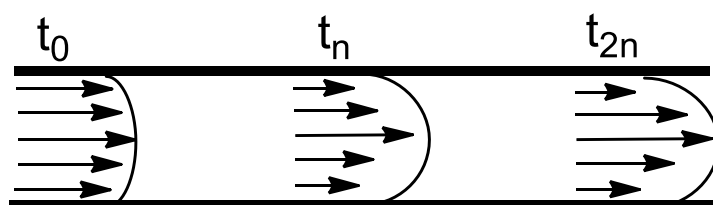
LED диоде су веома уског емисионог опсега у границама ± 20 nm и самим тим могу побуђивати катализатор на или близу његовог максимума апсорпције чиме не долази до губитка енергије услед стварање фотона које катализатор не може апсорбовати [149]. Уједно не долази до појаве нежељених реакција. Таласна дужина LED диода се може прилагодити у складу са потребама реакције. Економски су најприступачније, енергетски су најефикасније због њихове ниске снаге а њихова температура се може лако контролисати јефтиним системима за хлађење као што је вентилатор за ваздушно хлађење. Технолошки напредак и широка комерцијална доступност диода које емитују светлост које су у стању да обезбеде видљиву светлост високог интензитета у уском опсегу таласних дужина за све боје, учинили су их најјефтинијим и енергетски најефикаснијим извором светлости доступним за фотокатализу. Њихова предност је и мала димензија диода што омогућава лаку интеграцију извора светлости у микрофлуидни фотохемијски реактор [150,151].

- **Побољшана селективност реакције и повећана репродуцибилност**

Због малих димензија микрофлуидни реактори имају велики однос површине и запремине, што за последицу има врло ефикасан пренос масе и ефикасно одвођење топлоте. Специфична површина микрофлуидних реактора је између $5000 - 50000 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$, док су површине конвенционалних реактора углавном око $100 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$ а у ретким случајевима $1000 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$ [152]. Овај параметар утиче на време реакције, принос и селективност хемијских реакција. Ово је веома важно за извођење реакција које су изразито егзотермне како би се температура реакције унутар реактора одржала стабилном, али и за одвођење топлоте коју генеришу вештачки извори светлости како би се избегло стварање нежељених споредних производа топлотним путевима, као и стварање такозваних врућих тачака. Због ове карактеристике микрофлуидни реактори се могу сматрати изотермалним реакторима [23]. Поред тога, ефикасан пренос масе, топлоте и фотона значајно повећава селективност реакције. То значи да је могуће селективно формирање производа и једноставно понављање реакционих услова.

- **Брже мешање**

Две бездимензионе величине су релевантне за описивање феномена транспорта масе. То су Рејнолдсов број, $Re = \frac{\rho v d}{\mu}$ (ρ – густина флуида, v – средња брзина протока, d – дијаметар канала реактора, μ – динамичка вискозност) и Пеклетов број, $Pe = \frac{v d}{D}$ (v – средња брзина протока, d – дијаметар канала, D – дифузиона константа) [153]. Рејнолдсов број се користи за карактеризацију начина протока течности, и показује да ли је ток ламинаран или турбулентан, док Пеклетов број описује однос преноса масе услед мешања и дифузије. Због малих димензија микрофлуидних реактора, проток течности је ограничен на ламинарни ток $Re < 1$, што значи да сви елементи течности теку у паралелним слојевима, такозваним ламелама, при чему је проток униформан, док је Пеклетов број $Pe < 250$. Профил протока има параболичан облик са највећом брзином у средини канала и опадајућом брзином према вертикалним и хоризонталним зидовима канала (слика 8).



Слика 8. Ламинарни ток у микрофлуидном реактору.

Течност пролази кроз канале у паралелним слојевима и мешање је регулисано дифузијом кроз паралелне ламеле. Што је пречник реактора мањи тј. што је дужина пута дифузије краћа, брже ће се добити хомогена концентрација реактанта дуж канала и ефикасност мешања ће бити већа [154,155]. Мешање је веома важно како би се спречило стварање нуспроизвода који потичу од локалног градијента концентрације.

- **Повећана сигурност рада**

Још једна од предности микрофлуидних реактора у односу на конвенционалне реакторе јесте та да су потребне мале количине хемикалија што повећава сигурност извођења реакција у случајевима када се користе потенцијално опасне хемикалије или настају потенцијално опасни интермедијери. Ово омогућава извођење и проучавање потенцијално опасних реакција као што су егзотермне реакције, високо ендотермне реакције и/или

реакције у којима се користе запаљиве, експлозивне, токсичне или опасне хемикалије под релативно безбедним условима.

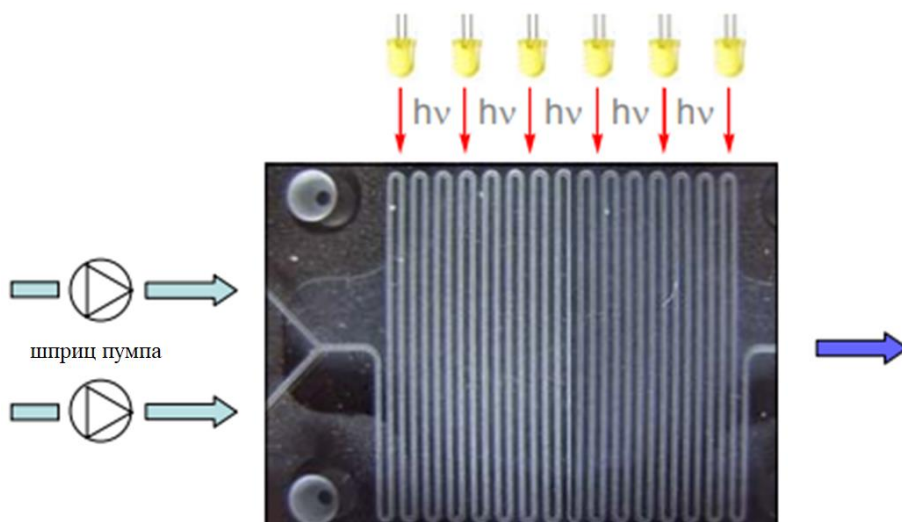
Са друге стране главни недостатак микрофлуидних реактора јесте чињеница да због малог попречног пресека канала може доћи до заустављања протока, тј. зачепљења канала, уколико су присутне нерастворне честице у чврстом агрегатном стању што ограничава извођење хетерогених реакција. Такође се може јавити проблем у расподели улазних материјала код микрофлуидних реактора са више улазних канала.

2.4.2. Технологија израде микрофлуидних реактора

Технологија микрофлуидних реактора има велики утицај на фотохемију омогућавајући прецизну контролу ретенционог времена, могућност да се цео реактор изложи видљивој светлости и могућност да се једноставније изврши оптимизација услова за фотохемијске реакције. Мала величина реактора поједностављује и убрзава процес оптимизације, јер се услови лако прилагођавају а потребне су мале количине реактаната.

У конвенционалним фотореакторима време реакције подразумева време боравка реактаната у балону. У микрофлуидним реакторима време реакције, које се назива и ретенционо време или време задржавања, подразумева време које реактанти проведу у реактору. Једна од главних предности микрофлуидних реактора је прецизна контрола ретенционог времена реакције, што се постиже усклађивањем брзине протока реакционе смеше и димензија реакционог простора. Микрофлуидни реактори су конструисани тако да се цео реактор може изложити светлости, што је битно за фотохемијске реакције. Бројне реакције су експериментално већ испитане у различитим микрофлуидним реакторима, а неки од тих резултата могу се наћи у прегледним радовима [20,138,156].

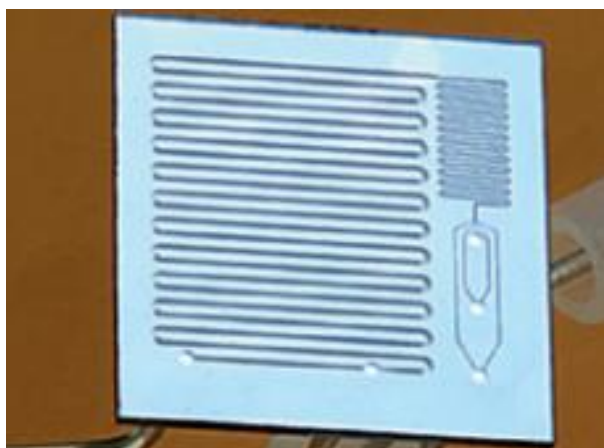
Концепт извођења фотохемијских реакција у микрофлуидном реактору приказан је на слици 9 [157]. Реагенси се у ове системе убацују по унапред одређеном редоследу помоћу пумпи (пумпа са шприцем, пумпа за течну хроматографију високих перформанси или перистатичким пумпама) [158]. Треба узети у обзир температуру реакције, притисак и вискозитет растварача, заједно са врстом механизма пумпања како би се осигурао поновљив и хомоген проток. Такође, приликом извођења фотохемијских реакција у микрофлуидним реакторима избегава се излагање реакционе смеше извору светлости пре и после проласка кроз реактор.



Слика 9. Концепт извођења фотохемијских реакција у микрофлуидном реактору, прилагођено уз дозволу из референце [157].

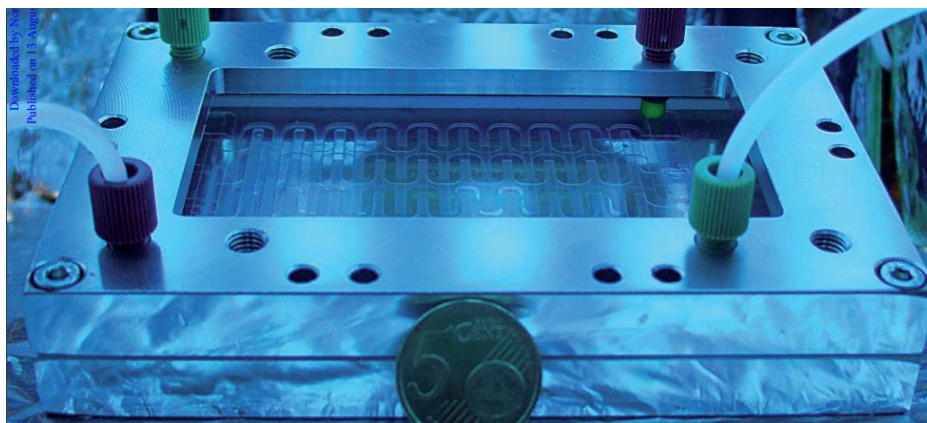
Микрофлуидни реактори се могу производити од различитих материјала као што су силицијум [159,160], стакло [161–163], нерђајући челик [164], керамика [165] или од полимера [166,167]. За производњу се користи материјал који према својим својствима највише одговара испитиваном процесу као и условима у којима се дати процес изводи. Уз то треба узети у обзир хемијску компатибилност као и економски аспект. Данас је познат велики број микрофлуидних реактора који су произведени тако да испуњавају специфичне захтеве различитих процеса синтезе за које су намењени. Главни параметар у дизајну нових фотохемијских микрофлуидних реактора је избор материјала за његову израду. За примену микрофлуидних реактора у фотохемији неопходно је да материјал буде идеално транспарентан за жељене таласне дужине. Поред наведеног треба да буде хемијски инертан, температурно и електрично стабилан.

Микрофлуидни реактори од силицијума се производе применом технике литографије и влажног нагризања флуороводоничном киселином. Пример микрофлуидног реактора израђеног од силицијума и стакла који је примењен за извођење реакција гликозилације приказан је на слици 10 [168]. Анодним везивањем силицијумске структуре за пирекс стакло настаје микрофлуидни реактор са транспарентним реакционим каналима који су употребљиви на високим температурама и притисцима [160].



Слика 10. Микрофлуидни уређај од стакла и силицијума, преузето уз дозволу из референце [168].

Микрофлуидни реактори од стакла се најчешће користе јер су транспарентни, што омогућава праћење тока реакције као и веће искоришћење светлости када су у питању фотохемијске реакције, хемијски су отпорни на органске и неорганске супстанције. Један од главних недостатака јесте њихова некомпатибилност са врућим концентрованим базама и флуороводоничном киселином због хемијског нагризања материјала. Такође се као недостатак може навести кртост јер се лако ломе и не подносе нагле промене температуре. Микрофлуидни реактор од стакла који је комерцијално доступан приказан је на слици 11 [161].

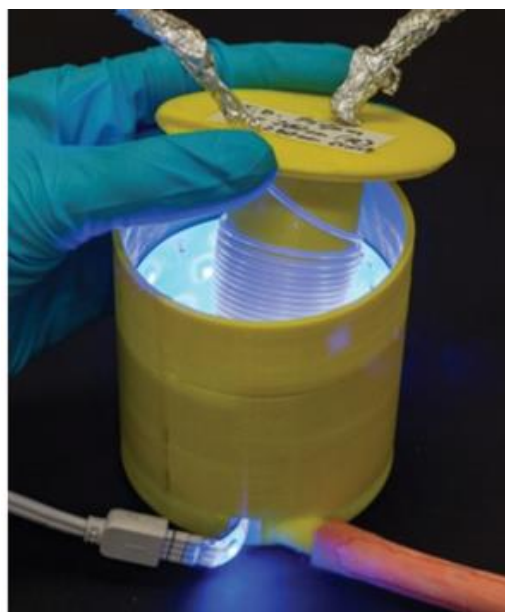


Слика 11. Микрофлуидни реактор од стакла, преузето уз дозволу из референце [161].

Микрофлуидни реактори од полимерних материјала представљају јефтинију алтернативу за извођење фотохемијских реакција у односу на оне од стакла, метала, керамике или силицијума и стакла. Поред цене, њихове предности су флексибилност, транспарентност и доступност. Недостатак им је ниска топлотна и електрична проводљивост. Перфлуорополимери су занимљиве алтернативе јер су јефтини, транспарентни и пружају велику хемијску отпорност. Типични полимерни микрофлуидни реактори су прозирне цеви од перфлуорисаних материјала, нпр. флуорисани етилен–пропилен (енг. *Fluorinated Ethylene Propylene*, *FEP*) и перфлуороалкоксиалкан (енг. *Perfluoroalkoxy Alkane*, *PFA*). Ови материјали имају високу флексибилност, не реагују са јаким киселим или алкалним растворима, а могућност зачепљења канала је мала. Поред тога, врло су транспарентни за УЉ и за видљиво зрачење: *PFA* омогућава трансмисију светлости око 91 – 96% за видљиву светлост (400 – 700 nm) и 77 – 91% за светлост из УЉ области (250 – 400 nm); *FEP* има слична својства за видљиву светлост и нешто бољу за УЉ светлост. Микрофлуидни реактори овог типа су углавном намотани око извора светлости или су окружени њиме како би проток фотона био што већи, слика 12 [169,170]. Променом дужине црева унутрашња запремина реактора се може прилагодити захтевима реакције.



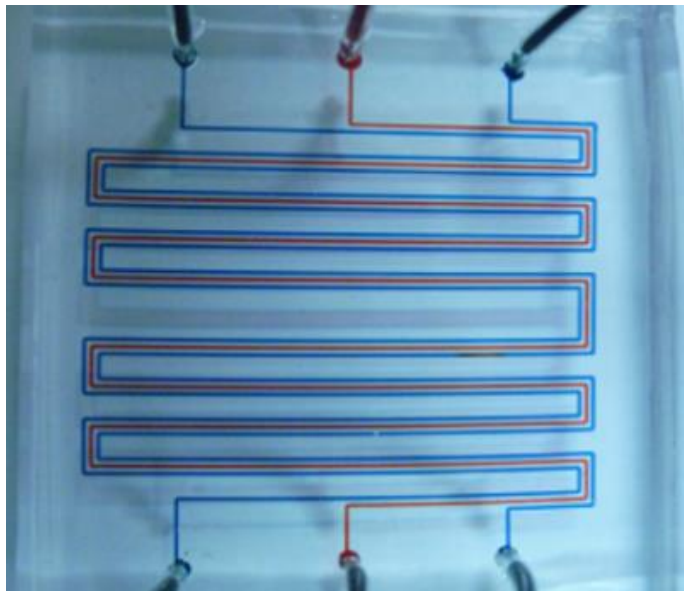
а)



б)

Слика 12. *FEP* микрофлуидни фотохемијски реактор а) намотан око извора светлости, преузето уз дозволу из референце [169]; б) када је извор светлости око реактора, преузето уз дозволу из референце [170].

Од полимерних материјала за производњу микрофлуидних реактора користе се и полидиметилсилоксан (енг. *Polydimethylsiloxane*, *PDMS*) који је хемијски инертан, нетоксичан, подноси температуре од -40 до 150 °C, слика 13 [171–173]. Трансмисија светлости у *PDMS*-у је 95% у области таласних дужина $300 - 1200$ nm [174]. Недостатак *PDMS*-а у зависности од примене може бити његова порозност за гасове и неке органске раствараче што донекле ограничава његову примену [167].



Слика 13. Микрофлуидни реактор од *PDMS*-а, преузето уз дозволу из референце [171].

2.4.3. *C–H* функционализација терцијарних амина у микрофлуидном реактору

Микрофотохемија комбинује предности технологије микрофлуидног реактора и органске фотохемије и представља нови концепт синтезе [161]. Комбинација фоторедокс катализе и микрофлуидних уређаја омогућила је да се реакције изведу за краће време са бољим реакционим приносима [175]. Примена микрофлуидних уређаја не само да омогућава коришћење мање количине фотокатализатора и извођење реакција за краће време, већ омогућава и висок степен контроле параметара реакције. Због високог апсорпционог капацитета фотокатализатора примена микрофлуидних реактора добила је још већи значај јер се лако прилагођава условима реакције. Експерименте које су раније оптимизовали у конвенционалном реактору, Џејмисон и Стивенсон су успешно извели и у микрофлуидном реактору. Овим приступом су успели да остваре неколико предности као што су смањење времена реакције и повећан реакциони принос при чему не настају нежељени споредни производи реакције [176].

Последњих година је све већа пажња посвећена развоју микрофлуидних реактора за извођење реакција *C–H* функционализације. Примена микрофлуидних реактора представља велики потенцијал у превазилажењу већ напоменутих ограничења која отежавају примену *C–H* функционализације [177].

До сада је објављен релативно мали број примера фоторедокс функционализације *C–H* везе *THIQ* у микрофлуидном реактору. Руепинг је испитивао фотохемијску аза–Хенри реакцију нитрометана и *THIQ* у микрофлуидном реактору. У овом случају као фотокатализатор коришћена је боја Бенгалска Розе (5 mol%), при чему је за кратко ретенционо време остварен висок принос у односу на исту реакцију која је испитана у конвенционалном реактору [112]. Стивенсон је применио микрофлуидни фотореактор за добијање иминијум–јона из *N*-фенил–*THIQ* (схема 12) [125].

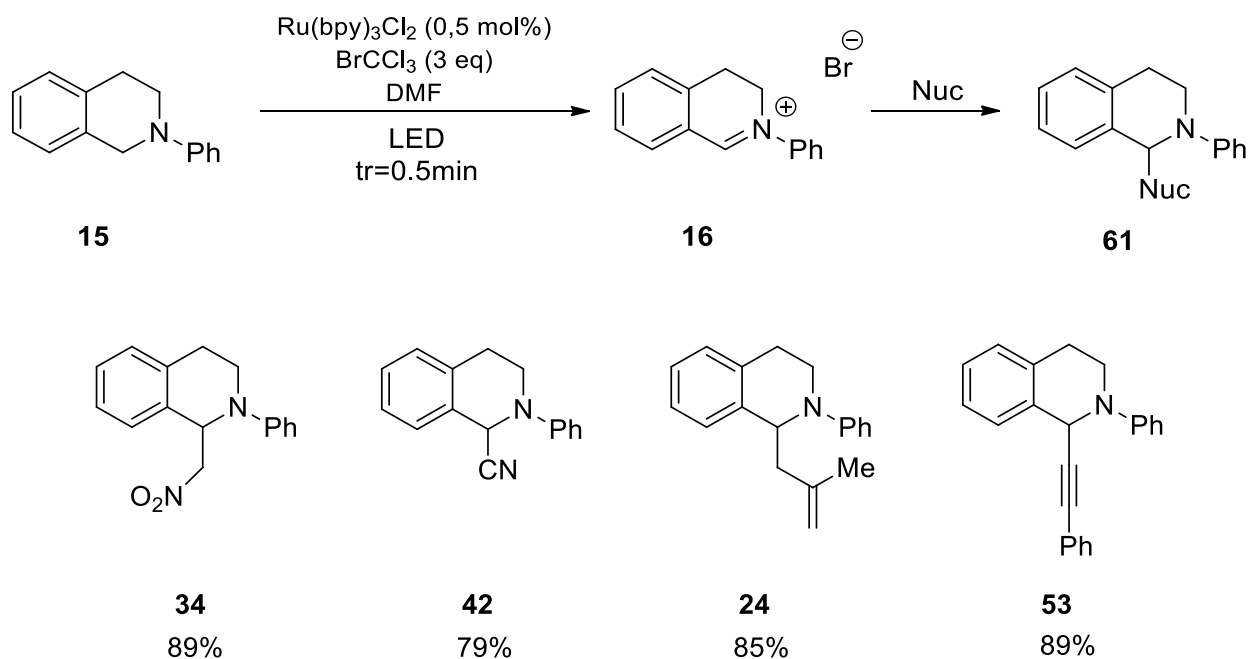


Схема 12. Оксидативно купловање *THIQ* у микрофлуидном реактору. Приказан је механизам настајања иминијум јона за 30 секунди у присуству $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ и BrCCl_3 као и производи добијени са различитим нуклеофилним врстама.

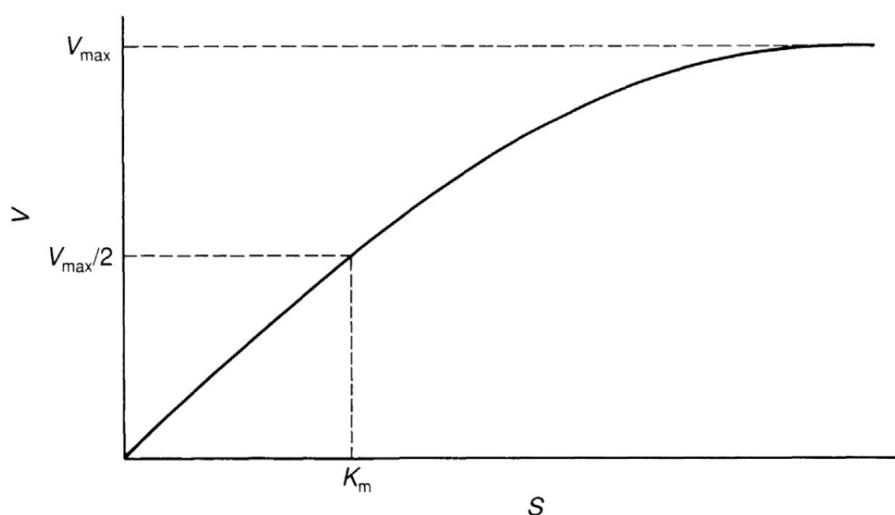
Као катализатор је коришћен $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (0,5 mol%) а као терминални оксиданс BrCCl_3 . Под овим реакционим условима оксидација је готова за 30 секунди, док је у конвенционалном реактору било неопходно 3 h. Иминијум–јон је сакупљен у балону у коме је био раствор жељеног нуклеофила. Овакав приступ је омогућио добијање функционализованих биолошки активних *THIQ* са одличним приносом и са изузетно кратким ретенционим временом.

2.5. Михаелис–Ментен ензимска кинетика

Ензими су биохемијски катализатори који убрзавају хемијске реакције тако што смањују енергетску баријеру која је потребна да би се реакција десила, а да се при томе не троше или мењају. У ензимски катализованим реакцијама супстрати су реактанти. Ензими имају специфичне активне центре одређене структуре који омогућавају везивање супстрата. Имају веома важну улогу у многим процесима у организму, укључујући синтезу протеина, варење хране, производњу енергије и многе друге биолошке функције.

Кинетика ензима проучава како различити фактори утичу на брзину реакција које ензими катализују. Омогућава разумевање како ензими функционишу и како се одвијају хемијске реакције у живим организмима. Испитивањем различитих параметара као што су концентрација супстрата и ензима, температура, рН и других фактора добијају се важне информације о активности ензима и механизму дејства. На овај начин може да се испита како се супстрат везује за ензим и како се производ формира током реакције. Кинетички параметри, као што су максимална брзина реакције и Михаелис–Ментен константа, омогућавају да се процени активност и концентрација ензима и супстрата.

Реакције између ензима и супстрата могу се објаснити коришћењем Михаелис–Ментен кинетике. Михаелис–Ментен једначина је кључни концепт у проучавању кинетике ензимских реакција и пружа основу за разумевање како ензими функционишу. Једначина се користи за описивање брзине ензимских реакција и како та брзина зависи од концентрације супстрата. Графички је приказана као правоугаона хипербола која се асимптотски приближава вредности максималне брине реакције v_{max} , слика 14 [178]. При ниским концентрацијама супстрата, почетна брзина ензимске реакције је директно пропорционална концентрацији супстрата и тада је ензимска реакција првог реда по супстрату. Када се повећа концентрација супстрата, брзина реакције више није пропорционална концентрацији супстрата тј. повећањем концентрације долази до смањења пораста брзине реакције и до закривљења криве. У овом опсегу концентрација се не може јасно одредити ред реакције. Након одређене концентрације супстрата, ензими се потпуно засите супстратом и реакција достиже максималну брзину. Тада, концентрација супстрата престаје да утиче на брзину реакције. Ово се описује као реакција нултог реда по супстрату.



Слика 14. Утицај концентрације супстрата на почетну брзину реакције, преузето уз дозволу из референце [179].

Михаелис–Ментен једначина представљена је у облику:

$$v_0 = \frac{v_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

где су:

- v_{max} – максимална брзина ензимски катализоване реакције тј. брзина реакције када је ензим потпуно засићен супстратом [178];
- v_0 – почетна брзина реакције;
- K_m – Михаелисова константа, квантитативно описује афинитет ензима према супстрату, склоност ка везивању. Нижа вредност K_m указује на већи афинитет ензима према супстрату. Представља концентрацију супстрата при којој је почетна брзина ензимски катализоване реакције износи половину максималне брзине при датој концентрацији ензима, $[S] = K_m$ одакле је $v_0 = \frac{v_{max}}{2}$ [178]. Ова константа има важну улогу у проучавању кинетике ензима, дизајнирању инхибитора ензима као и разумевању регулације ензимских реакција;
- S – концентрација супстрата.

Када је концентрација супстрата много већа од K_m , тада је $K_m + [S] \approx [S]$ па је почетна брзина реакције представљена формулом:

$$v_0 = \frac{v_{max}[S]}{K_m + [S]} \approx \frac{v_{max}[S]}{[S]} = v_{max}. \quad (3)$$

С друге стране, када је концентрација супстрата мања од K_m тада је $K_m + [S] \approx K_m$ па се добија једначина:

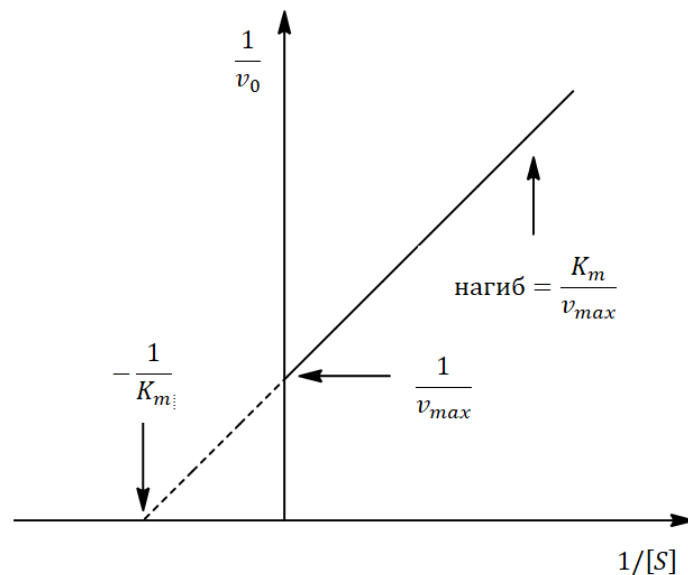
$$v_0 = \frac{v_{max}[S]}{K_m + [S]} \approx \frac{v_{max}[S]}{K_m}. \quad (4)$$

Почетна брзина реакције у овом случају зависи од односа концентрације супстрата и Михаелисове константе.

За прецизније одређивање кинетичких параметара примењује се Лајнвивер–Барк–ова једначина која представља линеарну интерпретацију Михаелис–Ментен једначине, а добијена је њеним изражавањем у реципрчном облику:

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}}. \quad (5)$$

Лајнвивер–Барк–ов дијаграм из којег се одређују кинетички параметри K_m и v_{max} приказан је на слици 15.



Слика 15. Лајнвивер–Барк–ов дијаграм из којег се одређују кинетички параметри K_m и v_{max} .

2.6. Инхибиција ензима

Свака супстанца која успорава или смањује брзину ензимски катализоване реакције може се назвати инхибитором. Инхибиција ензима се односи на процес смањења активности ензима услед присуства инхибитора. Инхибитори су молекули који се везују за ензим и спречавају или смањују његову способност да катализује хемијску реакцију. Они могу бити природни, као што су супстанце које природно постоје у живим организмима и могу спречити активност одређених ензима (полифеноли, витамини Ц и Е), или вештачки, попут лекова, који циљају специфичне ензиме како би модификовали њихову активност. Проучавање инхибиције ензима и интеракције са инхибиторима игра кључну улогу у фармакологији и развоју лекова. Разумевање механизма инхибиције ензима омогућава да се дизајнирају селективни инхибитори који могу циљати специфичне ензиме и регулисати одређене биохемијске процесе у организму.

Инхибиција ензима може бити реверзибилна и иреверзибилна.

Код реверзибилне инхибиције долази до везивања инхибитора за ензим нековалентним везама. Након кратког времена, настали реверзибилни комплекс ензим–инхибитор се разлаже на ензим и инхибитор, при чему ензим обнавља своју активност. Формирањем нековалентног комплекса са ензимом доводи до смањења количине ензима који је расположив како би учествовао у нормалном редоследу реакција. За испитивање кинетике ензима овај тип инхибитора је од великог значаја.

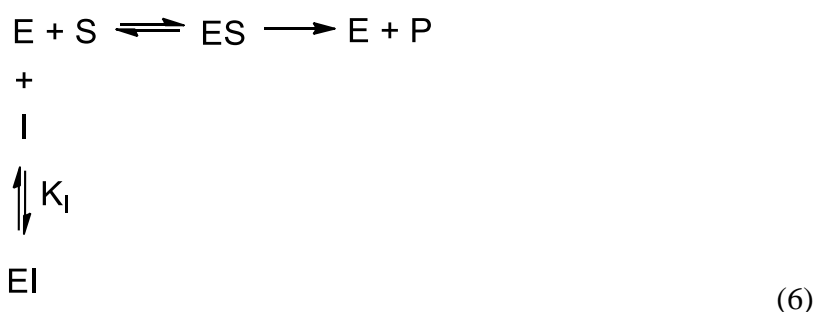
Константа инхибиције K_i показује везивну моћ инхибитора за ензим тј. афинитет инхибитора према ензиму, односно способност инхибитора да смањи активност ензима. Њена нумеричка вредност представља концентрацију инхибитора при којој је брзина реакције тачно половина максималне брзине у присуству инхибитора. Што је ова вредност мања то је већи афинитет везивања и потребне су мање количине инхибитора.

Реверзибилна инхибиција може бити компетитивна, некомпетитивна, акомпетитивна (антикомпетитивна) или мешовита [180]. Тип инхибиције се одређује на основу утицаја реверзибилних инхибитора на кинетичке параметре K_m и v_{max} .

2.6.1. Компетитивна инхибиција

Компетитивни инхибитори су супстанце које структурно подсећају на супстрат тзв. аналог супстрата, ензим га не разликује од супстрата и обоје могу да се везују за активно место на ензиму. Када се компетитивни инхибитори везују за активно место, они спречавају супстрат да се везује за то исто место на ензиму. Долази до конкуренције између супстрата и инхибитора око активног места јер не могу оба да се везу истовремено за ензим, при чему компетитивни инхибитор не ствара производ као супстрат већ неактивни комплекс ензим–инхибитор. Привидно смањење афинитета ензима према супстрату доводи до повећања K_m , док вредност v_{max} остаје иста.

Ензимски катализирана реакција у присуству компетитивног инхибитора може се представити следећом једначином:



Компетитивна инхибиција се може превазићи повећањем концентрације супстрата. Вероватноћа да ће супстрат бити везан за ензим тада постаје већа, јер се смањује утицај компетитивног инхибитора и омогућава да се достигне максимална брзина реакције као и у одсуству инхибитора.

Почетна брзина у присуству компетитивног инхибитора има облик:

$$v_0 = \frac{[S]v_{max}}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} = \frac{[S]v_{max}}{[S] + K_{m\text{ ap.}}} \tag{7}$$

док је Лајнвивер–Барк–ова једначина изражена у облику:

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{K_m}{[S]v_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) = \frac{1}{v_{max}} + \frac{K_{m\text{ ap.}}}{[S]v_{max}} \tag{8}$$

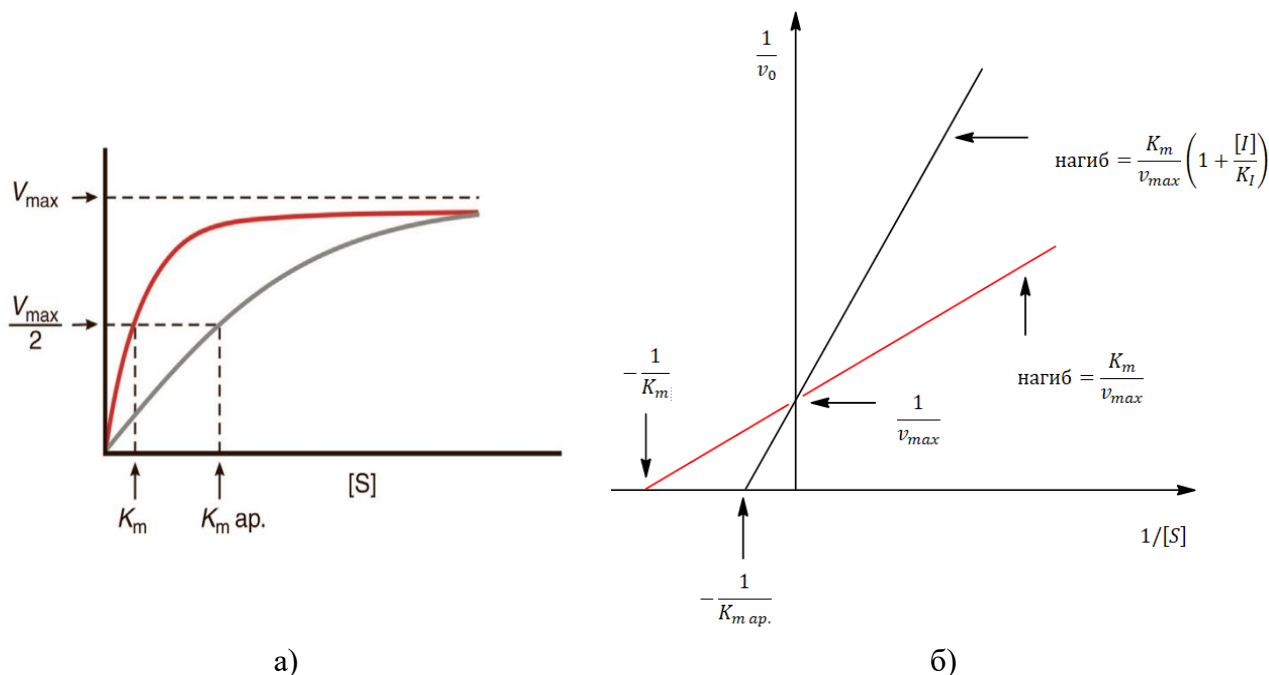
$$K_{m\text{ ap.}} = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) = K_m + K_m \frac{[I]}{K_I} \tag{9}$$

где су:

- v_{max} – максимална брзина у присуству инхибитора;
- $[I]$ – концентрација инхибитора;
- K_I – константа дисоцијације комплекса ензим–инхибитор;
- $K_{m\text{ ap.}}$ – привидна (енг. *apparent*) Михаелисова константа дисоцијације.

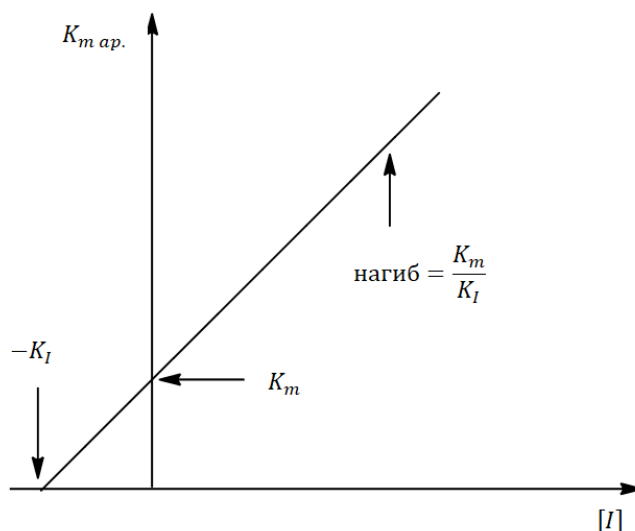
Из приложених једначина може се видети да је константа K_m увећана за фактор $\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$ док се максимална брзина у присуству инхибитора не мења.

Михаелис–Ментен зависност почетне брзине од концентрације супстрата у присуству конкуритивног инхибитора приказана је на слици 16.а. Приказан је и Лајнвивер–Барк–ов дијаграм из којег се одређују кинетички параметри, слика 16.б.



Слика 16. Утицај конкуритивног инхибитора на ензимску активност (црвена линија – без инхибитора; сива линија – са инхибитором): а) Михаелис–Ментен крива зависности почетне брзине у функцији од концентрације супстрата, преузето уз дозволу из референце [181]; б) Лајнвивер–Барк–ов дијаграм.

Инхибиторна константа K_I одеђује се применом једначине 9 и цртањем графика $K_{m\ ap.} = f([I])$, слика 17, што представља секундарни облик Лајнвивер–Барк–овог дијаграма.



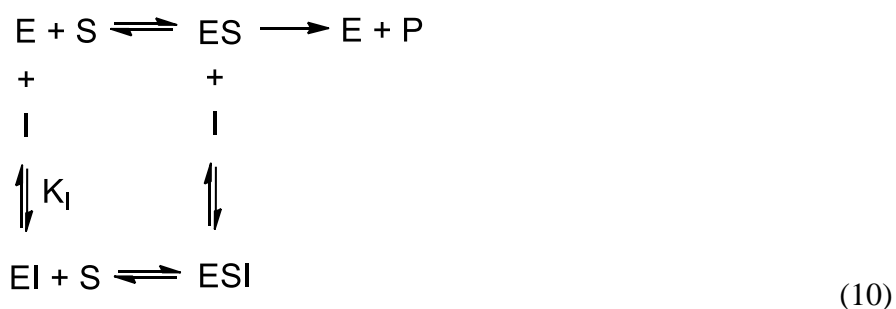
Слика 17. Секундарни облик Лајнвивер–Барк–ове криве за конкуритивну инхибицију.

2.6.2. Некомпетитивна инхибиција

Некомпетитивни инхибитори не утичу на способност везивања супстрата за ензим јер се везују за различита места на ензиму. Инхибитор се реверзибилно везује за периферно ањонско место у ензиму, а не за активно место у молекулу ензима. У овом типу инхибиције, структура инхибитора и супстрата се разликују, што омогућава везивање супстрата за активни центар ензима. Дакле, уместо конкуренције, супстрат и инхибитор делују на ензим на различите начине. Када се некомпетитивни инхибитор веже за ензим, то може променити конформацију активног места ензима, чиме се спречава везивање супстрата без обзира на концентрацију супстрата и смањује се активност ензима. Некомпетитивна инхибиција зависи само од концентрације инхибитора и не може се спречити повећањем концентрације супстрата. То значи да висока концентрација супстрата не може да поврати активност ензима који је инхибиран некомпетитивним инхибитором. Као резултат, укупни ефекат присуства некомпетитивног инхибитора је смањење концентрације ензима способног да метаболише супстрат.

Некомпетитивни инхибитори могу да се вежу са истом вероватноћом и за сам ензим или за комплекс ензим–супстрат. Из тог разлога код овог типа инхибиције вредност K_m се не мења. Због везивања инхибитора за ензим долази до привидног смањења концентрације слободног ензима што утиче на смањење v_{max} .

Ензимски катализована реакција у присуству некомпетитивног инхибитора може се представити следећом једначином:



Почетна брзина у присуству некомпетитивног инхибитора има облик:

$$v_0 = \frac{v_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \frac{[S]}{[S] + K_m} \tag{11}$$

док је Лајнвивер–Барк–ова једначина изражена у облику:

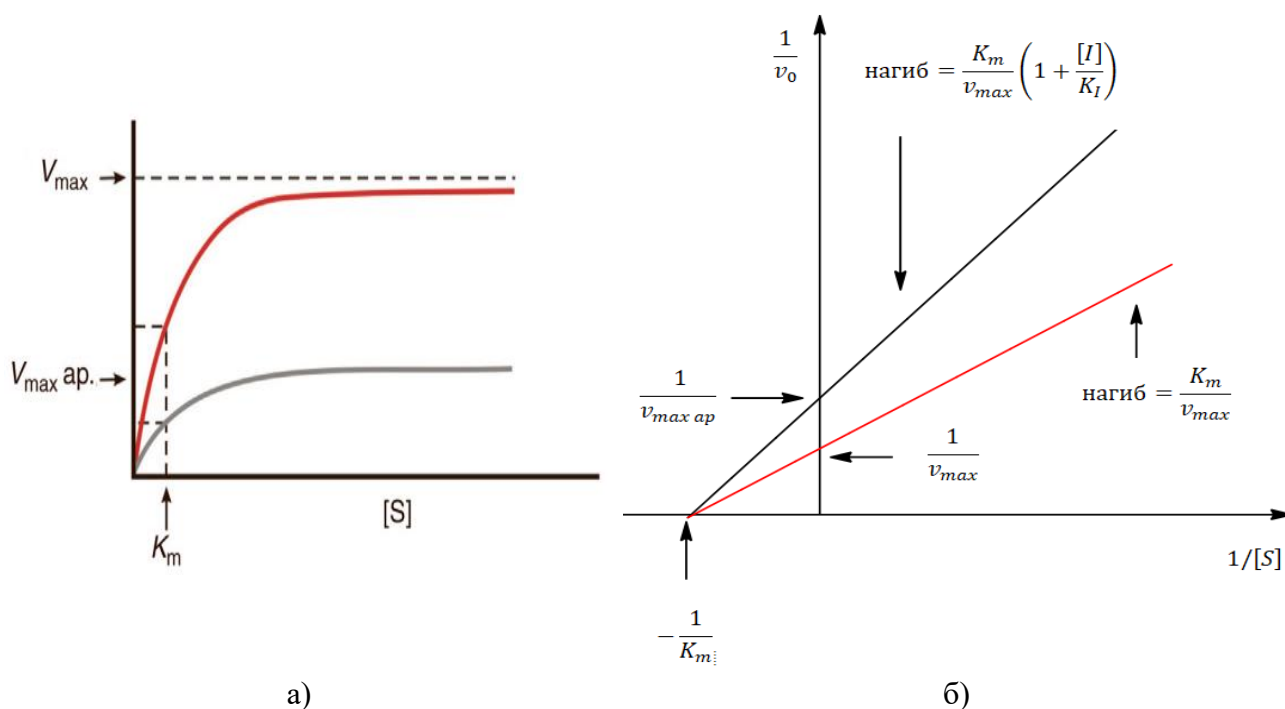
$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \tag{12}$$

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_{max \text{ ap.}}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max \text{ ap.}}} \tag{13}$$

$$v_{max \text{ ap.}} = \frac{v_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \tag{14}$$

Из приложених једначина се може видети да је максимална брзина реакције умањена за фактор $\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$ док се максимална брзина не мења. $v_{max\ ap.}$ представља привидну (енг. *apparent*) максималну брзину реакције.

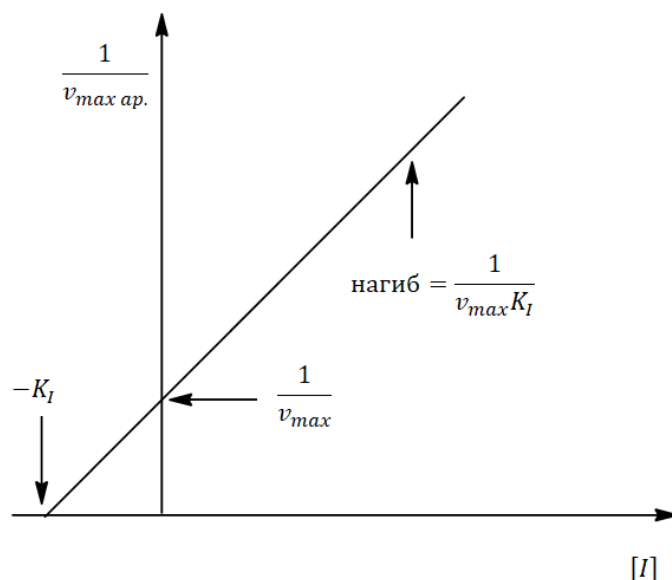
Зависност почетне брзине од концентрације супстрата у присуству некомпетитивног инхибитора као и Лајнвивер–Барк–ов дијаграм из којег се одређују кинетички параметри приказани су на слици 18.



Слика 18. Утицај некомпетитивног инхибитора на ензимску активност (црвена линија – без инхибитора; сива линија – са инхибитором): а) Михаелис–Ментен крива зависности почетне брзине у функцији од концентрације супстрата, преузето уз дозволу из референце [181]; б) Лајнвивер–Барк–ов дијаграм.

За одређивање K_I користи се секундарни облик Лајнвивер–Барк–ове једначине, која се добија као реципрочна вредност једначине за привидну максималну брзину реакције, и цртањем графика $\frac{1}{v_{max\ ap.}} = f([I])$, слика 19:

$$\frac{1}{v_{max\ ap.}} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{[I]}{v_{max}K_I}. \quad (15)$$

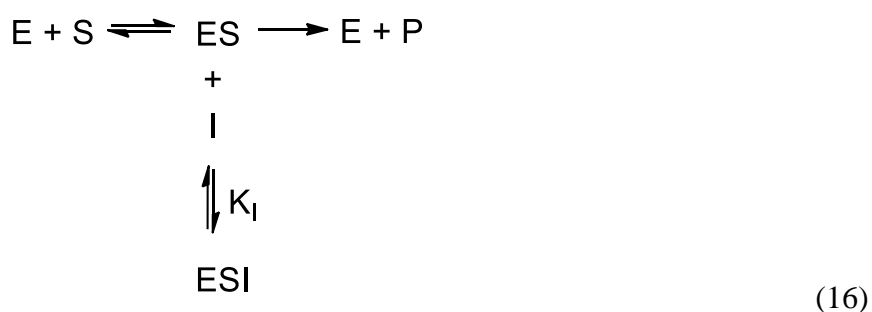


Слика 19. Секундарни облик Лајнвивер–Барк–ове за некомпетитивну инхибицију.

2.6.3. Акомпетитивна инхибиција

Код акомпетитивне инхибиције инхибитор се везује за комплекс ензим–супстрат а не и за слободан ензим. Овај тип инхибитора има специфичан утицај на ензим. Он изазива промене у структури активног места ензима, што га чини неспособним за катализовање реакције, без обзира на то колико супстрата се везало за њега. Ово значи да брзина реакције опада јер ензим више није у могућности да ефикасно катализује реакцију. Такође, и афинитет ензима према супстрату се смањује. Овај тип инхибиције не може бити надвладан повећањем концентрације супстрата јер нема компетиције између инхибитора и супстрата за активно место.

У присуству акомпетитивног инхибитора ензимски каталисана реакција се може представити следећом једначином:



Почетна брзина у присуству акомпетитивног инхибитора има облик као Михаелис–Ментен једначина с тим да су и v_{max} и K_m умањени за фактор $\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$:

$$v_0 = \frac{\frac{v_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} [S]}{[S] + \frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}} = \frac{v_{max ap.} [S]}{[S] + K_{m ap.}}
 \tag{17}$$

$$K_{m \text{ ap.}} = \frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \quad (18)$$

$$v_{max \text{ ap.}} = \frac{v_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \quad (19)$$

док је Лајнвивер–Барк–ова једначина изражена у облику:

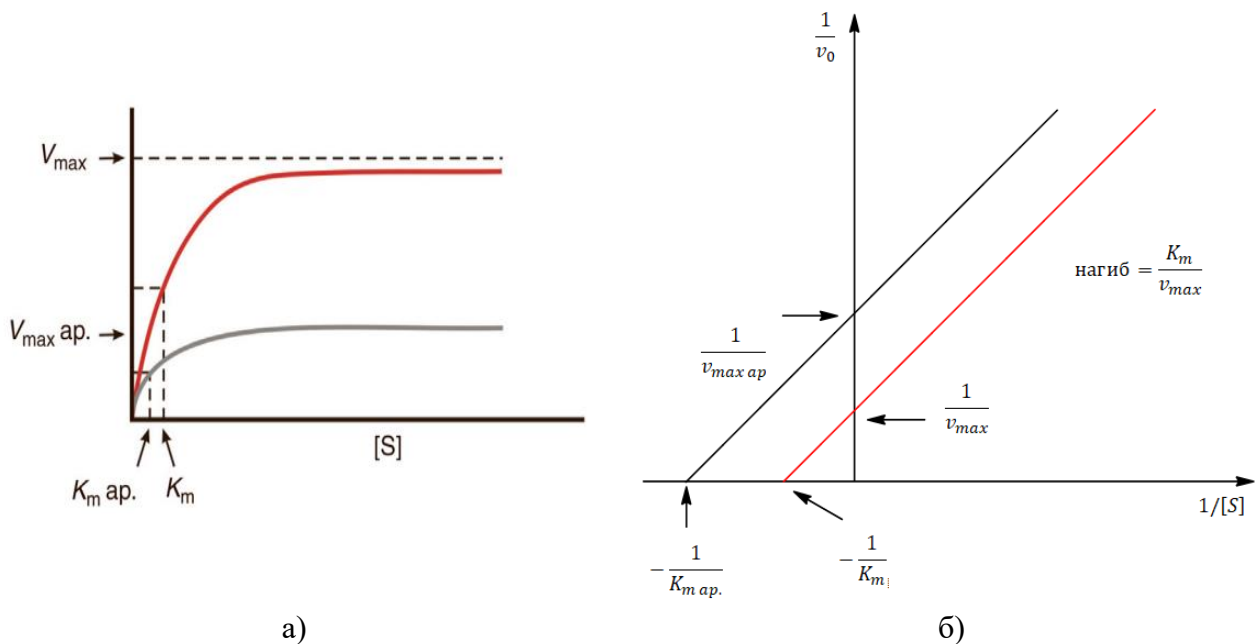
$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_{m \text{ ap.}}}{v_{max \text{ ap.}}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max \text{ ap.}}} \quad (20)$$

одакле је нагиб:

$$\frac{K_{m \text{ ap.}}}{v_{max \text{ ap.}}} = \frac{\frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}}{\frac{v_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}} = \frac{K_m}{v_{max}}. \quad (21)$$

Из дате једначине видимо да се нагиб Лајнвивер–Барк–ове криве не мења, иако се оба кинетичка параметра ($K_{m \text{ ap.}}$ и $v_{max \text{ ap.}}$) мењају.

На слици 20.а приказана је зависност почетне брзине реакције од концентрације супстрата у присуству акомпетитивног инхибитора. На слици 20.б представљен је Лајнвивер–Барк–ов дијаграм.



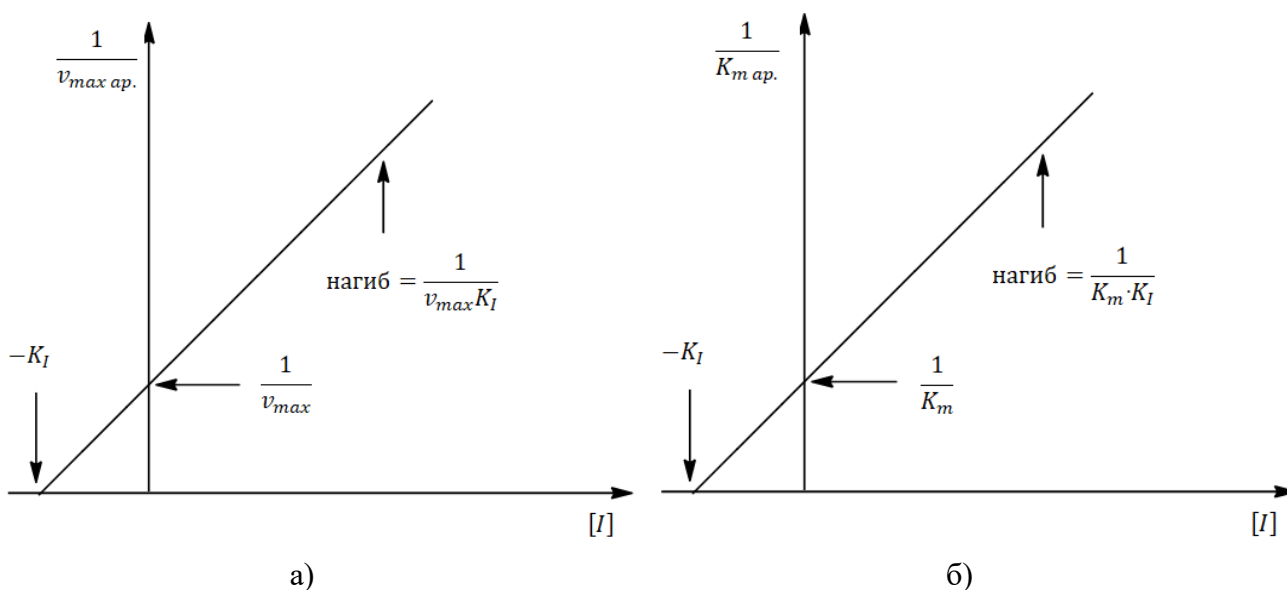
Слика 20. Утицај акомпетитивног инхибитора на ензимску активност (црвена линија – без инхибитора; сива линија – са инхибитором): а) Михаелис–Ментен крива зависности почетне брзине у функцији од концентрације супстрата, преузето уз дозволу из референце [181]; б) Лајнвивер–Барк–ов дијаграм.

Константа инхибиције K_I се може одредити цртањем секундарних дијаграма, слика 21. За акомпетитивну инхибицију то су зависности добијене из једначине 22 која представља

реципрочну вредност привидне максималне брзине, слика 21.а, и реципрочне вредности привидне Михаелисове константе, једначина 23, слика 21.б.

$$\frac{1}{v_{max\ ap.}} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{[I]}{v_{max}K_I} \quad (22)$$

$$\frac{1}{K_{m\ ap.}} = \frac{1}{K_m} + \frac{[I]}{K_m K_I} \quad (23)$$

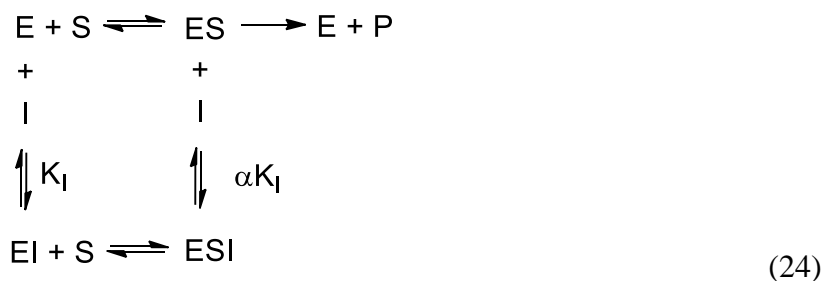


Слика 21. Секундарни облици Лајнвивер–Барк–ове криве за акомпетитивну инхибицију.

2.6.4. Мешовита инхибиција

Мешовита инхибиција настаје услед конформационих промена ензима што укључује парцијално компетитивно–некомпетитивно понашање или парцијално некомпетитивно–акомпетитивно понашање. Мешовити инхибитор утиче на оба параметра и на K_m и на v_{max} .

Мешовита инхибиција се може представити следећом једначином:



Почетна брзина у присуству мешовитог инхибитора има облик:

$$v_0 = \frac{\frac{v_{max}}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_I})} [S]}{[S] + K_m \frac{(1 + \frac{[I]}{K_I})}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_I})}} = \frac{v_{max ap.} [S]}{[S] + K_{m ap.}} \quad (25)$$

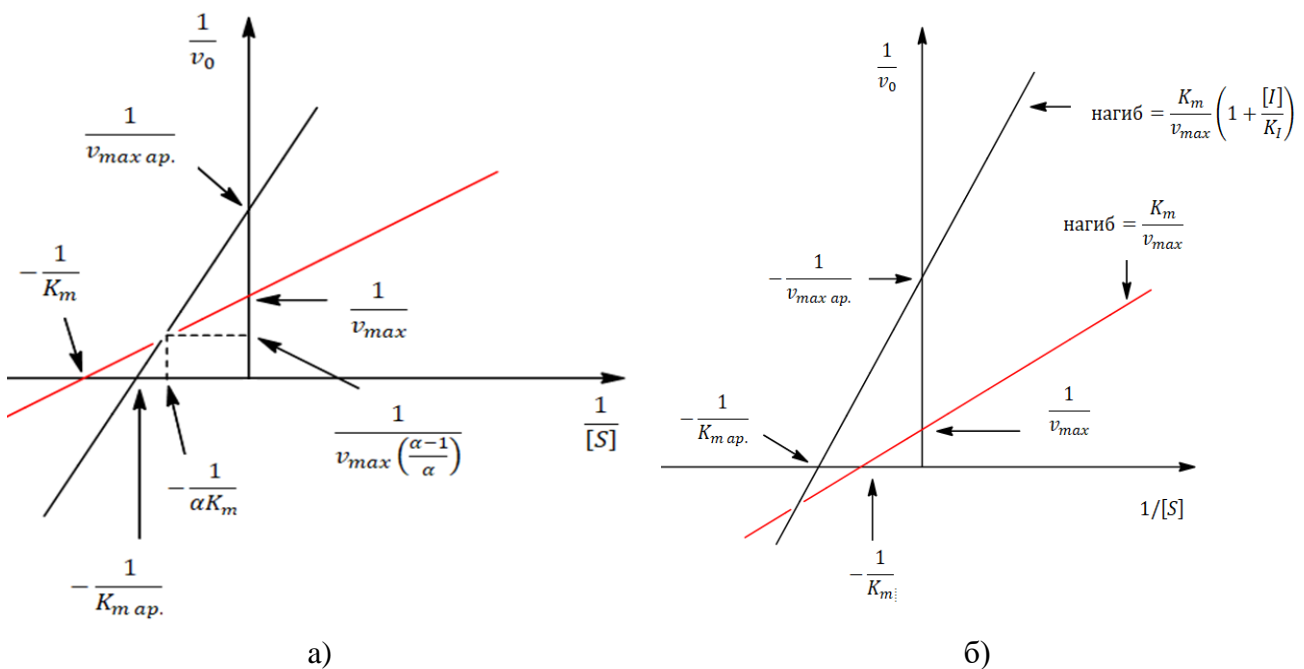
$$K_{m ap.} = K_m \frac{(1 + \frac{[I]}{K_I})}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_I})} \quad (26)$$

$$v_{max ap.} = \frac{v_{max}}{(1 + \frac{[I]}{\alpha K_I})} \quad (27)$$

док је Лајнвивер–Барк–ова једначина за мешовиту инхибицију изражена у облику:

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_{m ap.}}{v_{max ap.}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max ap.}}. \quad (28)$$

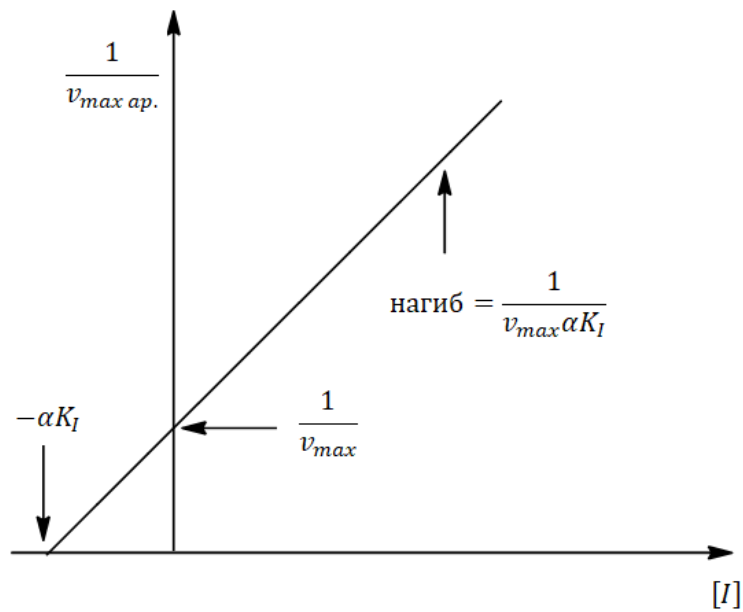
Лајнвивер–Барк–ов дијаграм у присуству мешовитог инхибитора приказан је на слици 22. Када се праве секу у другом квадранту Декартовог координатног система, тада се говори о парцијално компетитивно–некомпетитивној инхибицији, вредност α је већа од 1, јер праве леже између оних за компетитивну и некомпетитивну, слика 22.а. Уколико је пресек правих у трећем квадранту Декартовог координатног система тада се ради о парцијално некомпетитивно–акомпетитивној инхибицији, а вредност α је мања од 1, слика 22.б.



Слика 22. Лајнвивер–Барк–ов дијаграм у присуству мешовитог инхибитора (црвена линија – без инхибитора; сива линија – са инхибитором); а) компетитивно–некомпетитивна инхибиција $\alpha K_I > K_I$; б) некомпетитивно–акомпетитивна инхибиција $\alpha K_I < K_I$.

Константа инхибиције K_I се може одредити цртањем секундарног Лајнвивер–Барк–овог дијаграма, слика 23. За мешовиту инхибицију то је зависност добијена из једначине за реципрочну вредност привидне максималне брзине:

$$\frac{1}{v_{max\ ap.}} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{[I]}{v_{max}\alpha K_I} \quad (29)$$



Слика 23. Секундарни облик Лајнвивер–Барк–ове криве за мешовиту инхибицију.

2.7. Инхибиција ацетилхолинестеразе као третман Алцхајмерове болести

Алцхајмерова болест (АБ) је неизлечив неуродегенеративни здравствени поремећај који доводи до прогресивног губитка памћења и менталних способности. Први пут је дијагностификована од стране немачког психијатра др Алоис Алцхајмера 1906. године, по ком је и добила име [182]. Доктор Алцхајмер је приметио промене на мозгу код пацијената који пате од когнитивне дисфункције, губитка памћења, језичких потешкоћа и абнормалног понашања.

Познато је да је АБ главни узрок деменције и да смањује квалитет живота појединца ометајући његово физиолошко, психолошко и социјално функционисање [183]. Ово је веома комплексна болест која почиње да утиче на мозак много година пре него што је когнитивно оштећење уопште приметно. Рани симптоми који указују на ову болест су промене расположења и понашања, оштећене когнитивне способности и прогресивни дефицит памћења. У каснијим фазама се могу јавити халуцинације, грчеви мишића, немир, раздражљивост, инконтиненција и потешкоће са гутањем [184].

Различите хипотезе су изнете како би се објаснила патогенеза ове комплексне болести: холинергичка, упална, инсулинска, амилоидна, тау, васкуларна и хипотеза генске мутације [185]. Неуропатолошка обележја ове болести су формирање ванћелијског агрегата β амилоидног пептида ($A\beta$), такозваних сенилних плакова, и неурофибрилална клупка тј. агрегати хиперфосфорилваног тау протеина који су локализовани у неуронима.

Холинергичка хипотеза АБ указује да долази до селективног губитка холинергичких неурона што даље узрокује дефицит ацетилхолина (енг. *Acetylcholine*, *ACh*), неуротрансмитера периферног и централног нервног система, који има значајну улогу у когнитивним процесима, као што су памћење и учење [186]. Губитак холинергичких неурона се дешава услед смањене активности ензима холинацетилтрансферазе, одговорне за синтезу *ACh*. Неуротрансмисија која се одвија ацетилхолином назива се холинергичка трансмисија а нервна влакна која ослобађају *ACh* називају се холинергички неурони. Након ослобађања везикула из пресинаптичке ћелије у синаптичку пукотину из ових везикула се ослобађа неуротрансмитер *ACh* који бива хидролизован ензимом ацетилхолинестеразом (енг. *Acetylcholinesterase*, *AChE*) што доводи до прекида синаптичког преноса. У мозгу оболелих од АБ запажен је смањени ниво *ACh* те се као логичан терапијски приступ АБ наметнула инхибиција ацетилхолинестеразе. Главна функција ацетилхолинестеразе је да заустави пренос нервног импулса у холинергичким синапсама брзом хидролизом неуротрансмитера *ACh* до ацетата и холина [187]. Инхибитори холинестеразе успоравају инактивацију *ACh* након синаптичког ослобађања чиме се значајно повећава њихова концентрација а самим тим и неуротрансмисија.

Холинергичка хипотеза је добила на значају када је Самерс показао значајно побољшање код пацијената оболелих од АБ услед терапије инхибиторима холинестеразе [188]. Откако је потврђена холинергичка хипотеза, холинестеразе су постале важне терапијске мете у терапији АБ.

Учесталост овог глобалног, и по живот опасног, здравственог проблема је велика, нарочито код старије популације. Данас АБ погађа око 50 милиона појединаца широм света а процењује се да ће се овај број утростручити у року од 30 година [189]. Иако је АБ откривена пре више од једног века и даље је неизлечива али терапија одговарајућим лековима може успорити напредовање симптома болести и побољшати квалитет живота.

2.7.1. Ацетилхолин

Ацетилхолин је мали молекул који има једноставну хемијску структуру и представља естар холина и сирћетне киселине (схема 13).

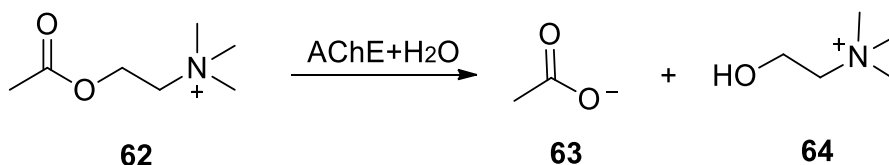


Схема 13. Ензимска хидролиза ацетилхолина са ацетилхолинестеразом.

Неуротрансмисија посредована ацетилхолином је фундаментална за функцију нервног система. Синтезише се у нервним завршецима из аминокиселине холина и ацетил коензима А. Холин се преузима из околине путем активног транспорта јер нервне ћелије не могу да га синтетишу. Ацетилхолинестераза је ензим који катализује хидролизу *ACh*. Одговоран је за регулацију концентрације *ACh* током преноса нервног сигнала. Под дејством овог ензима након хидролизе *ACh* долази до ослобађања холина које се преузима поново од стране пресинаптичког нерва и користи за поновну синтезу *ACh* [190]. У синаптичкој пукотини холинергичког неурона, ацетилхолин се разлаже у холин и сирћетну киселину ацетилхолинестеразом [191]

Нагла блокада *ACh* је смртоносна док је њен постепени губитак повезан са прогресивним погоршањем когнитивних, аутономних и неуромишићних функција као код АБ [192], вишеструке системске атрофије [193] и других стања [194].

2.7.2. Улога ацетилхолинестеразе и бутирилхолинестеразе

Холинестеразе представљају класу ензима који у оптималним условима хидролизују холинске естре брже од осталих естара. То су серинске хидролазе које припадају породици естераза и делују на естарске везе тј. различите врсте естара карбоксилних киселина. Важне су биолошке мете које су одговорне за регулацију холинергичког преноса, а њихови инхибитори се користе у терапији АБ [195,196].

У људском организму постоје две врсте холинестераза: *AChE* (ЕС. 3.1.1.7) и бутирилхолинестераза (енг. *Butyrylcholinesterase, BuChE*, ЕС. 3.1.1.8).

У мозгу здраве особе преовлађује активност *AChE* (око 80%) и сматра се да *BuChE* има мању улогу у регулисању нивоа *ACh* (око 20%). Међутим код оболелих од АБ активност *BuChE* је повећана на 40 – 90% док активност *AChE* остаје непромењена или опада (око 55 – 68%), што сугерише да деловање *BuChE* може указати на присуство умерене или тешке деменције [197]. Стога, како су оба ензима укључена у регулисање нивоа *ACh*, њихова инхибиција представља терапијску стратегију за ублажавање холинергичког дефицита.

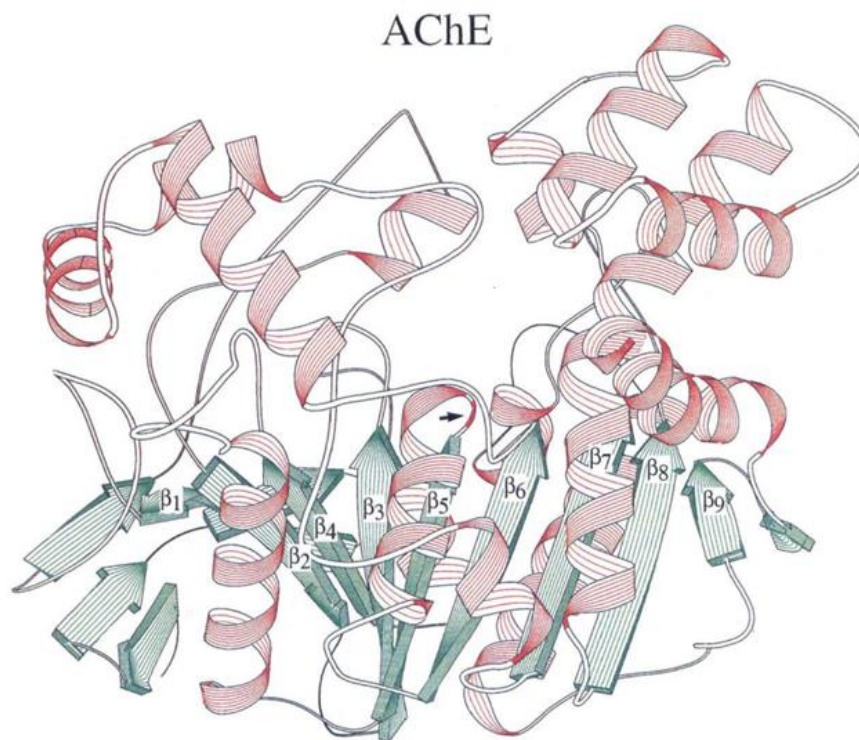
BuChE је неспецифична или псеудохолинестераза, која се налази у хуманој плазми и катализује, не само хидролизу *ACh*, већ и других естара који се уносе путем хране [198]. Производи је ћелије јетре сисара одакле се излучује у крв. Присутна је и у глатким мишићима, цревима, бубрезима, панкреасу, срцу и белој маси мозга. Код људи се синтетише у многим ткивима укључујући јетру, плућа, срце и мозак. У људском мозгу се налази у неуронима, глији, плаковима и заплетима АБ. Њена активност у мозгу расте са годинама а и повећана је код АБ [199]. *BuChE* је од фармаколошког и токсиколошког значаја, јер хидролизује лекове који садрже естре (ацетилсалицилна киселина [200], кокаин [201] и друге) и уклања инхибиторе холинестеразе укључујући моћне ортофосфорне нервне агенсе

пре него што достигну своје синаптичке циљеве [202]. Улога *BuChE* није у потпуности објашњена, али неке студије сугеришу да би могла да подстакне формирање амилоидног плака, па је стога постала предмет истраживања која се тичу њене инхибиције [203,204].

2.7.3. Структура холинестераза

Познавање тродимензионалне структуре холинестераза је од значаја за разумевање њихове изузетне каталитичке ефикасности, за рационалан дизајн лекова и за развој терапеутских приступа у случају тровања органофосфатима. Информације о месту везивања *ACh* у *AChE* могу помоћи у разумевању молекуларне основе за препознавање *ACh* од стране других протеина који везују *ACh*, као што су различити *ACh* рецептори [205].

Постоји неколико молекуларних облика овог ензима а прву кристалографску структуру *AChE* је описао Сусман који је успешно кристалисао ензим из електричног органа електричне раже, *TcAChE* (lat. *Torpedo californica*) [206]. Тродимензионална структура је добијена рендгено–структурном анализом овог изолованог ензима. Мономер *TcAChE* се састоји од 537 аминокиселина и садржи 12 β -плочица окружених са 14 α -хеликса (слика 24).



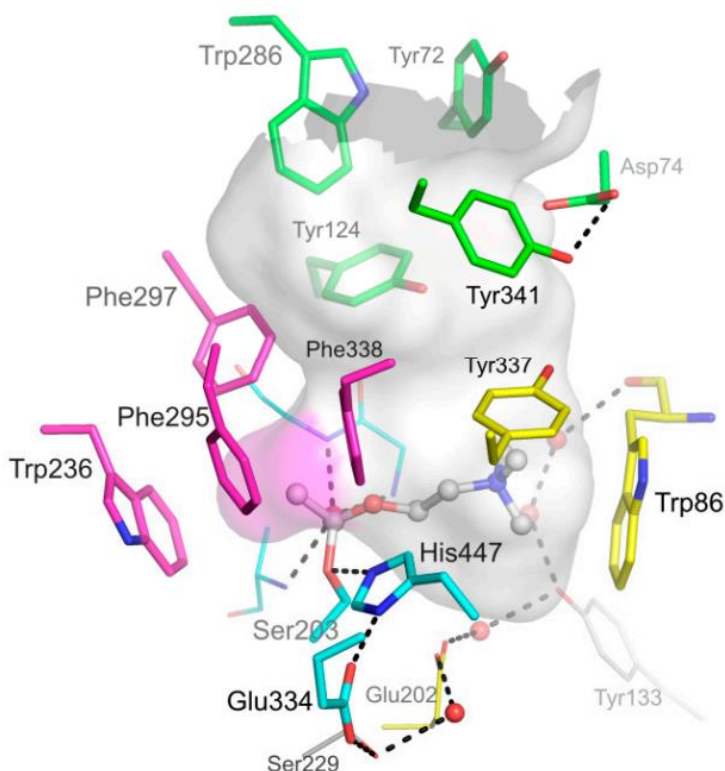
Слика 24. Тродимензионална структура мономера *AChE* изолованог из електричне јегуље. На слици су зеленом бојом представљене β -плочице, а црвеном бојом α -хеликси. Стрелица показује серинско активно место, преузето уз дозволу из референце [207].

Данас у протеинској бази података (енг. *Protein Data Bank, PDB*), постоје подаци о преко 100 структура из различитих организама [208].

Како су кристалне структуре *AChE* познате, каталитичко активно место је прилично добро описано, иако прецизна функција неких аминокиселинских остатака у активном месту остаје нејасна. Каталитичко активно место се налази на дну уског канала дубине 20 Å и ширине 5 Å, приближно у центру молекула (слика 25). Површина каталитички активног места је прекривена ароматичним аминокиселинским остацима што омогућава много различитих начина и места за везивање супстрата, агониста и инхибитора.

Унутар овог каталитички активног места могу се разликовати неколико места [209]:

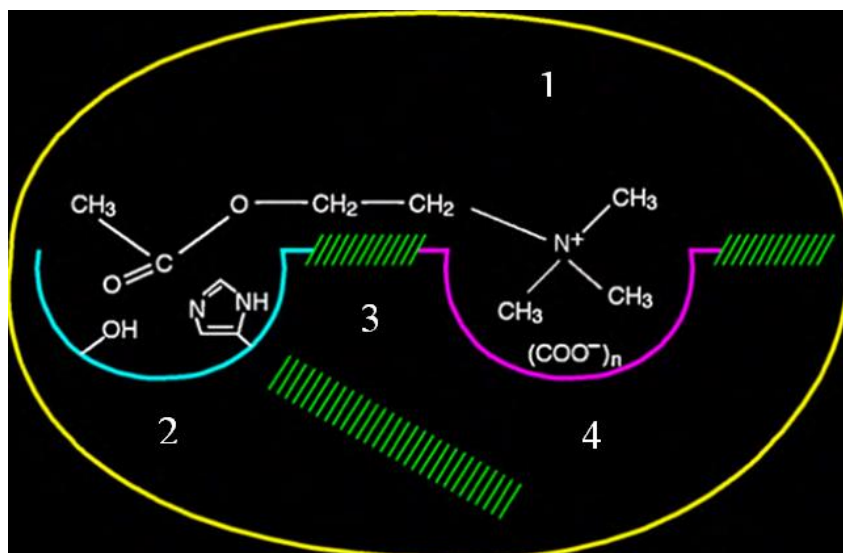
- естарско место, које се другачије назива и каталитичка тријада (енг. *Catalytic Anionic Subsite, CAS*) чине аминокиселине *Ser*₂₀₃, *His*₄₄₇, *Glu*₃₃₄ које су одговорне за хидролизу *ACh* ;
- оксианјонско удубљење чине аминокиселине *Gly*₁₂₁, *Gly*₁₂₂, *Ala*₂₀₄ које формирају водоничну везу са комплексом који настаје и на тај начин га стабилишу;
- α -анјонско место, место везивања холина из *ACh* (*Trp*₈₆, *Tyr*₁₃₃, *Glu*₂₀₂, *Gly*₄₄₈, *Ile*₄₅₁);
- ацилно везивно место које садржи аминокиселине *Trp*₂₃₆, *Phe*₂₉₅, *Phe*₂₉₇, *Phe*₃₃₈ има кључну улогу у одређивању специфичности ензима. Ограничава величину супстрата која може приступити каталитичкој тријади ензима;
- периферно анјонско место чине аминокиселине *Tyr*₇₂, *Asp*₇₄, *Tyr*₁₂₄, *Ser*₁₂₅, *Trp*₂₈₆, *Tyr*₃₃₇ и *Tyr*₃₄₁.



Слика 25. Активно место *AChE*, преузето уз дозволу из референце [210].

Регион близу обода канала каталитички активног места је периферно анјонско место (енг. *Peripheral Anionic Site, PAS*) где су у линији распоређени ароматични остаци који играју кључну улогу у везивању и оријентацији ароматичних или катјонских супстрата као и за везивање многих инхибитора на путу до естарског места. При ниским концентрацијама супстрата, периферно анјонско место покреће каталитички процес. Код виших концентрација супстрата инхибира каталитички процес тако што физички блокира пролазак супстрата ка естарском месту, или може доћи до електростатичког одбијања како би се спречио правилан улазак супстрата а може изазвати и конформационе промене у молекулу *AChE*.

Реакција хидролизе *ACh* се одвија у активном месту (слика 26). Везивање *ACh* унутар активног места проистиче из стабилизације карбонилне групе унутар оксианјонског удубљења и ацетил групе у ацилном месту [211] Ароматични остаци *Trp*₂₈₆, *Tyr*₁₂₄, *Tyr*₇₂ и *Tyr*₃₄₁ из периферног анјонског места помоћу π -катјонских интеракција оријентишу ацетилхолин и омогућавају му да склизне до *Trp*₈₆ и *Tyr*₃₃₇ где долази до везивања холинског дела на анјонском месту. Есенцијалне аминокиселине које чине каталитичку тријаду су укључене у трансфер ацетил групе са *ACh* на *Ser*₂₀₃, док је анјонско подместо одговорно за везивање квартернерне амонијум групе *ACh* тзв. холинског дела *ACh*.



Слика 26. Схематски приказ активног места *AChE* на основу биохемијских студија спроведених пре одређивања 3D структуре: 1 – периферно анјонско место; 2 – естарско подместо; 3 – ацилно везивно место; 4 – анјонско подместо. Шрафиране области представљају хидрофобне области везивања. У оквиру естарског места приказани су остаци хистидина и серина, имидазол и хидроксилни бочни ланац. Унутар анјонског подместа $(\text{COO}^-)_n$ представља 6 до 9 претпостављених негативних наелектрисања, прилагођено уз дозволу из референце [212].

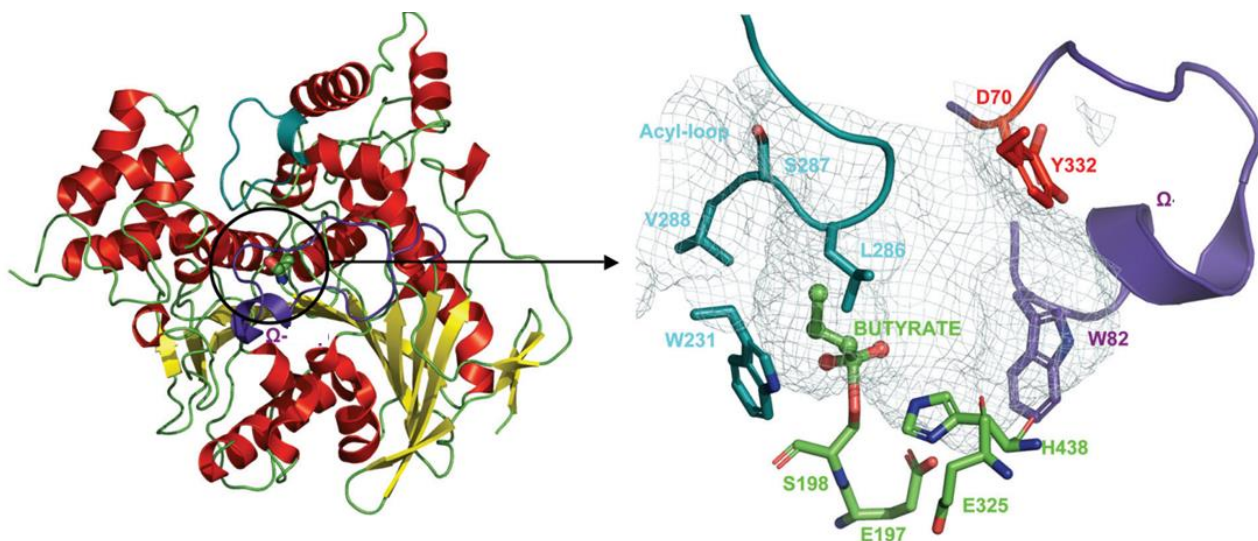
Структура *BuChE* је веома слична структури *AChE*, па су из тог разлога све структурне анализе *BuChE* рађене хомологим моделовањем на бази *AChE* електричне јегуље, све док није решена његова структура [213].

На активном месту *BuChE* разликујемо:

- ацилно везивно место које је изграђено од три аминокиселине *Ser*₁₉₈, *His*₄₃₈ и *Glu*₃₂₅, које чине каталитичку тријаду, и заједно омогућавају каталитичку реакцију хидролизе естарских веза у супстрату;
- периферно анјонско место које се састоји од *Asp*₇₀, *Tyr*₃₃₂;
- оксианјонско удубљење је слично као код *AChE* и састоји се од *N-H* дипола, изведених из аминокиселина главног ланца: *Glu*₁₁₆, *Glu*₁₁₇ и *Ala*₁₁₉;
- место везивања холина *Trp*₈₂ и *Tyr*₃₃₂.

Периферно анјонско је смештено на улаз у канал ензима, слика 27 [214]. Остаци аминокиселина *Asp*₇₀ и *Tyr*₃₃₂ су укључени у почетно везивање позитивно наелектрисаних супстрата као што су холински естри који садрже квартернерни азот. Ове две аминокиселине су повезане водоничном везом која контролише функционалну површину канала активног

места. Када је позитивно наелектрисан супстрат везан за ензим формирањем катјон– π комплекса са ароматичним прстеном *Tyr*₃₃₂, истовремено супстрат ступа у интеракцију са негативно наелектрисаним *Asp*₇₀, и овај процес покреће конформациону промену у мономеру. Затим се два флексибилна крака Ω петље приближавају један другом и супстрат клизи до остатка *Trp*₈₂ што је место везивања холина. Оксианјонско удубљење које се налази у близини места везивања холина садржи остатке *Glu*₁₁₆, *Glu*₁₁₇ и *Ala*₁₉₉ који помажу да се супстрат окрене из вертикалног у хоризонтални положај где супстрат може бити хидролизован *Ser*₁₉₈. Улога овог места јесте стабилизација прелазног стања водоничном везом. Ацилни део супстрата се везује за ацилно везивно место када се супстрат ротира хоризонтално.



Слика 27. Кристална структура *BuChE* и активно место изблиза, преузето уз дозволу из референце [214].

Код *BuChE*, активно место је веће у поређењу са *AChE*. Димензије активног места *BuChE* износи 500 Å док је код *AChE* 300 Å. Ова разлика у величини може имати утицај на специфичност и афинитет ензима према супстрату. Друга разлика се односи на структуру активног места. Код *AChE*, активно место се састоји од 14 ароматичних остатака. Насупрот томе, код *BuChE*, шест од тих ароматичних остатака замењено је мањим алифатичним остацима, чак и поларним остацима [215].

Поређење активног места *BuChE* и *AChE* показује разлике у величини ацил везивног места и различите аминокиселинске остатке које га чине. Облик ацилног џепа код *AChE* одређују два остатка, ароматичне аминокиселине *Phe*₂₈₈ и *Phe*₂₉₀, док су код *BuChE* алифатични остаци *Leu*₂₈₆ и *Val*₂₈₈ [213]. Замена два остатка фенилаланина у *BuChE* са мањим алифатичним аминокиселинама валином и леуцином, чини шупљину у ацил везивном месту већом и омогућава катализу већих супстанција које садрже ацил групу, као што је бутирилхолин (енг. *Butyrylcholine*, *BuCh*).

Код *AChE* фенил прстенови *Phe*₂₈₈ и *Phe*₂₉₀ спречавају приступ већих молекула активном каталитичком центру. Ово указује да ацилно везивно место доприноси специфичности ензима јер ограничава величину молекула која може приступити активном каталитичком центру, каталитичкој тријади. Ове разлике у структури активних места могу објаснити већину разлика у активностима два ензима.

2.7.4. Лекови за третман Алцхајмерове болести

Активност холинергичног система се повећава лековима који се називају холинергици. Дефекти холинергичке неуротрансмисије су значајни за прогресију АБ, тако да су инхибитори ацетилхолинестеразе као што су донепезил (слика 29), галантамин (слика 30.а) и ривастигмин (слика 31.б) проучавани као могући третмани симптома АБ [216]. Они представљају другу генерацију лекова који су сада лиценцирани за АБ. Не показују штетне ефекте на јетрену и кардиоваскуларну функцију као лекови прве генерације физостигмин и такрин [217,218]. То су најзначајнији инхибитори *AChE* који продужавају активност *ACh* на функционално значајним местима у централном нервном систему [219]. Још увек не постоје лекови који би значајно утицали на ток АБ као ни терапија која би се користила у превентивне сврхе. Наведени лекови само ублажавају постојеће симптоме одржавајући одређен ниво *ACh* па се намеће потреба за развојем нових лекова који би поред инхибиције *AChE* имали бар још једну терапеутску мету, нпр. *BuChE*.

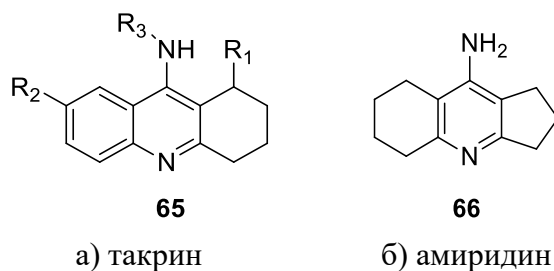
2.7.5. Инхибитори холинестераза

У последњих неколико година је откривено да холинестеразе имају утицај и на низ других процеса у организму, као што је агрегација β -амилоида [220,221]. Ова открића су довела до поновног интереса за холинестеразе као важне мете у терапији АБ, а бројне истраживачке групе су започеле истраживања у вези са дизајном и синтезом нових инхибитора [203,222]. Да би се дизајнирали нови инхибитори холинестеразе, коришћене су различите стратегије модификације структура које се понекад заснивају на измени само једне групе већ познатог једињења, а све у циљу добијања жељених својстава и боље активности.

Један од параметара који се показао као важан у дизајну нових терапеутских агенаса су димензије молекула. У литератури се може пронаћи да велики молекули могу да испоље смањену активност [223]. На основу механизма инхибиције и структуре, инхибитори ацетилхолинестеразе се могу поделити у неколико група: реверзибилни инхибитори, псеудоиреверзибилни инхибитори и иреверзибилни инхибитори [224].

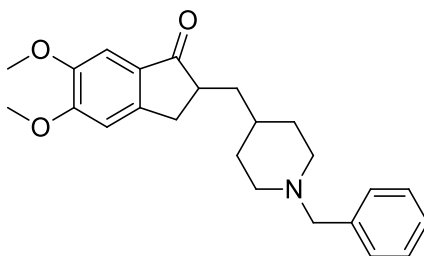
Реверзибилним инхибиторима припадају три класе једињења: аминокридини (слика 28), *N*-бензилпиперидини (слика 29) и неки алкалоиди као што је галантамин (слика 30) [216,224].

Реверзибилни инхибитори, као што су такрин ($IC_{50} = 167$ nM), слика 28.а, и донепезил ($IC_{50} = 5,7$ nM), слика 29, ступају у интеракцију са ензимом близу његовог каталитичког места, без стварања ковалентног комплекса [216,218,225]. Везују се за ензим слабир везама које се брзо формирају али лако раскидају. Ова врста инхибитора делује ефикасно, али у тренутку интеракције, и карактерише се брзином реакције. Инхибитор је везан за ензим у одређеном временском периоду у коме су они у интеракцији. Након тога, инхибитор и ензим дисосују и функција ензима се обнавља. Овај процес је реверзибилан што значи да ензим може поново да обавља своју улогу након дисоцијације.



Слика 28. Аминокридини као резерзибилни инхибитори *AChE*.

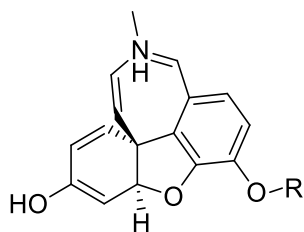
Донепезил припада другој генерацији инхибитора *AChE* и сматра се водећим леком за АБ. Он се реверзибилно везује за *AChE* и инхибира хидролизу *ACh*. Везује се на анјонско место ензима.



67

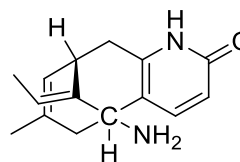
Слика 29. Донепезил, *N* – бензилпиперидин, као реверзибилни инхибитори *AChE*.

Галантамин ($IC_{50} = 800$ nM) је селективни терцијарни изохинолински алкалоид са двоструким механизмом деловања који делује као компететивни инхибитор *AChE*, слика 30.a [216].



68

а) галантамин



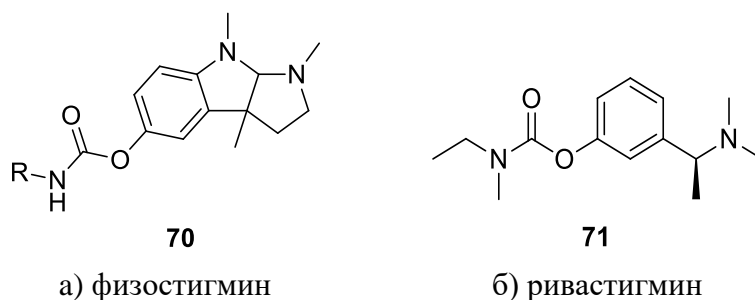
69

б) хиперизин А

Слика 30. Алкалоиди као реверзибилни инхибитори *AChE*.

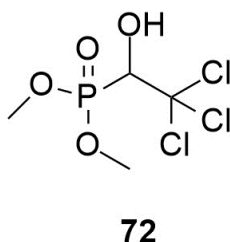
Псеудоиреверзибилни инхибитори везују се ковалентно за ензим. Ковалентна веза се полако раскида и молекул ензима поново постаје доступан. Овој класи инхибитора холинестераза припадају карбамати који формирају комплекс са серинским остатком каталитичке тријаде који се хидролизује мањом брзином од ацилног дела што доводи до интеракције са *ACh*.

Физостигмин је један од првих псеудоиреверзибилних инхибитора који је клинички проучаван у терапији за АБ, слика 31.a [217]. Упркос охрабрујућим резултатима његова потенцијална примена је одбачена након завршетка треће фазе клиничке студије где су се показали његови недостаци. На слици 31 су приказани потентни карбамати као псеудоиреверзибилни инхибитори *AChE* и *BuChE* [217,225–227]. Данас је доступан само лек ривастигмин ($IC_{50} = 4,150$ nM) који делује везивањем за анјонско и естарско место што доводи до спречавања хидролизе *ACh*, слика 31.б [224]. Ривастигмин спорије дисосује од *AChE*, његово инхибиционо дејство је до 10 h [228].



Слика 31. Карбамати као псевдоиреверзибилни инхибитори *AChE* и *BuChE*.

Иревезибилни инхибитори, ензимски отрови или инактиватори ензима, припадају класи органофосфата. Инхибитор се за ензим везује иреверзибилно формирајући чврсту и стабилну ковалентну везу при чему настаје стабилан ензим–инхибитор комплекс који не дисосује. Молекул инхибитора је трајно везан за ензим и мења његову конформацију. Како је реакција неповратна ензим је трајно инактивиран. То имлицира да се ензим више не може везати за свој супстрат. За разлику од реверзибилних инхибитора, овим инхибиторима је потребно неко време да реагују са ензимом јер се ковалентне везе спорије формирају. Из тог разлога показују временску зависност, при чему се степен инхибиције повећава са временом у којем је инхибитор у контакту са ензимом. Тело мора да синтетише нове ензиме за замену како би се наставила физиолошка функција. Један од представника ове класе инхибитора је метрифонат који је повучен из клиничке употребе због нежељених ефеката као што су слабост у мишићима и респираторна депресија (слика 32) [229].



Слика 32. Метрифонат, иреверзибилни инхибитор *AChE*.

2.7.6. Тетрахидроизохинолини као инхибитори холинестераза

У циљу проналажења потенцијалних лекова за третман Алцхајмерове болести, групе Сукумарапилаиа [209], Судхаприја [230], Гахамарија [231], Чена [232], Фанга [233] и Хофмана [234] су синтетисале серије једињења које у својој структури садрже скелет *THIQ* а који инхибирају холинергичке ензиме.

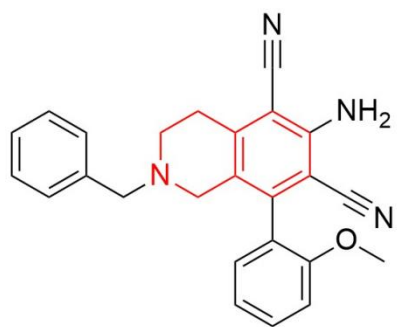
Сукумарапилаи и његов тим су синтетисали серију тетрахидроизохинолина са намером да развију агенсе за третман АБ. Биолошка евалуација је потврдила да су дизајнирана једињења имала инхибиторну активност према *AChE* и *BuChE*, са IC_{50} вредностима у микромоларном опсегу. Мешовити начин инхибиције показала су једињења **73** и **74**, слика 33. Уочене су хидрофобне интеракције и водоничне везе са остацима активног места ензима. Резултати су показали да не постоји јасна веза између инхибиторне активности и присуства електрон акцепторских група (нпр. хлор и флуор) или електрон донорских група (нпр. метокси и метил) [209].

Судхаприја је исто тако синтетисао серију *THIQ* једињења као потенцијалне инхибиторе *AChE*. Једињење број **75** приказано на слици 33 се показало као потентан инхибитор са IC_{50} вредношћу од 0,25 μM [230].

Гахамари је испитао инхибиторни потенцијал и утврдио да једињење **76**, слика 33, показује микромоларне вредности IC_{50} према *AChE* и *BuChE* [231]. Молекулским докингом је утврђено да ово једињење има сличан образац везивања као донепезил на активном месту *AChE*. Са *THIQ* прстеном показује π - π везивање са *Trp*₂₈₆ и хидрофобну интеракцију са *Tyr*₃₄₁. Азот из *THIQ* прстена се везује водоничном везом за *Tyr*₁₂₄ [235]. Дато једињење везује се за активно место *BuChE* претежно преко хидрофобних интеракција. *THIQ* део једињења је окружен хидрофобним цепом који формирају *Pro*₂₈₅, *Phe*₃₂₉ и *Tyr*₃₃₂.

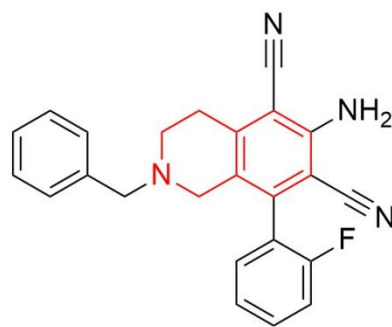
Чен и сарадници су дизајнирали нову серију *THIQ* при чему је једињење **77**, слика 33, показало снажну инхибиторну активност према *AChE* ($IC_{50} = 0,031 \mu\text{M}$) и *BuChE* ($IC_{50} = 0,51 \mu\text{M}$) [232].

Хофман је у свом раду приказао скуп веома потентних псеудоиреверзибилних инхибитора *BuChE* на бази карбамата који у својој структури садрже скелет *THIQ* [234]. Наномоларне вредности IC_{50} према *BuChE* и микромоларне вредности према *AChE* показало је једињење **78**, слика 33. Испитивали су како број метиленских група (n) утиче на инхибиторни потенцијал једињења **78** и утврдили да повећање броја метиленских група до шест у низу доводи до значајног повећања инхибиторне активности, али са даљим повећањем броја метиленских група она почиње да опада. Ови резултати сугеришу да су ови тетрахидроизохинолински деривати обећавајући као потенцијални лекови за третирање поремећаја попут Алцхајмерове болести.



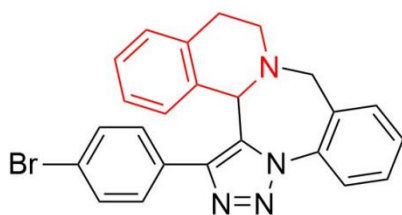
73

AChE IC₅₀=5,61 μM
BuChE IC₅₀=0,87 μM



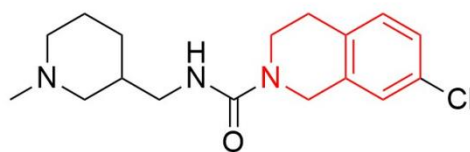
74

AChE IC₅₀=21,36 μM
BuChE IC₅₀=0,94 μM



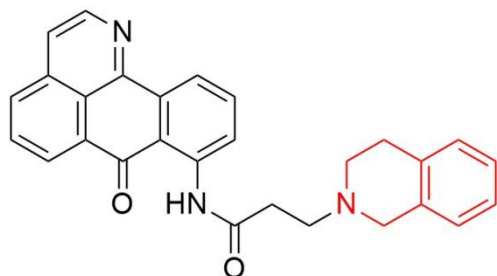
75

AChE IC₅₀=0,25 μM



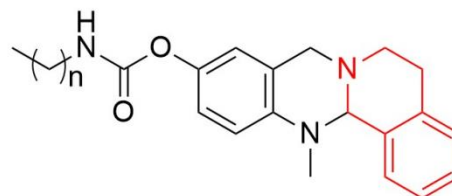
76

AChE IC₅₀=8,40 μM
BuChE IC₅₀=4,93 μM



77

AChE IC₅₀=0,031 μM
BuChE IC₅₀=0,51 μM



78

AChE IC₅₀=0,4 μM
BuChE IC₅₀=26,7 nM

Слика 33. *THIQ* једињења која показују инхибиторну активност према холинергичким ензимима.

Како су одређени *THIQ* деривати показали инхибиторну активност према холинестеразама, то даље истраживачима пружа могућност за даља истраживања и примену истих као потенцијалне лекове за третирање неуролошких проблема. Примена деривата *N*-арил-тетрахидроизохинолина као инхибитора холинестераза још увек је у фази истраживања и развоја.

2.8. Флуоресценција протеина и механизми гашења флуоресценције

Флуоресцентна спектроскопија је метода која се често користи за праћење конформационих промена у протеинима пратећи промену у интензитету флуоресценције која потиче од присутних *Trp* остатака. Молекули који могу да флуоресцирају називају се флуорофоре и обично садрже коњуговане π системе. Протеини су биомолекули који природно поседују своје флуорофлоре, што их чини погодним за проучавање флуоресцентном спектроскопијом без потребе за додавањем флуорофора попут органских боја. Аминокиселине триптофан (*Trp*), тирозин (*Tyr*) и фенилаланин (*Phe*) су унутрашње флуорофлоре протеина. Емисија протеина се обично добија ексцитацијом на 280 nm, при чему се побуђују тирозин и триптофан док фенилаланин не доприноси укупној флуоресценцији. Да би се селективно побудио триптофан користи се ексцитација у опсегу од 295 до 305 nm. Положај емисионог максимума који се добија на овај начин зависи само од поларности околине триптофана. Важна карактеристика унутрашње флуоресценције протеина је висока осетљивост индоловог прстена триптофана на промене поларности његовог локалног окружења. Код протеина у којима се триптофан налази у неполарној средини, емисиони максимум ће бити на нижим таласним дужинама у поређењу са протеинима у којима се триптофан налази у поларној средини. Ова карактеристика омогућава проучавање локалне поларности околине триптофана путем промене положаја емисионог максимума.

Смањење интензитета флуоресценције назива се гашењем флуоресценције. Интензитет флуоресценције се може смањити читавим спектром процеса. Постоје различити механизми гашења флуоресценције: динамичко, статичко и флуоресцентно резонантни пренос енергије [236,237]. Да би дошло до статичког или динамичког гашења флуорофора и гасиоц морају бити у контакту.

Динамичко гашење флуоресценције је појава која се јавља када флуорофора у побуђеном стању губи енергију кроз интеракцију тј. при судару са другим молекулима у раствору, које називамо гасиоцима флуоресценције. За овај механизам гашења је важно да у овом процесу нема трајних хемијских промена на молекулима јер се заснива на физичкој интеракцији између побуђеног стања флуорофоре и гасиоца флуоресценције. У овом случају гасиоц мора да дифундује до флуорофоре за време живота побуђеног стања. Након контакта флуорофора се враћа у основно стање без емисије фотона.

До смањења интензитета флуоресценције може доћи и због статичког гашења. Овај механизам настаје када се флуорофора веже за гасиоца флуоресценције, стварајући комплекс који није флуоресцентан. Након апсорпције фотона и формирања комплекса, флуорофора се враћа у основно стање без емисије фотона већ се енергија губи путем нефлуоресцентних процеса.

Ова два облика гашења могу бити присутна у истом систему у зависности од карактеристика флуорофора и гасиоца флуоресценције. Ове појаве су важне за разумевање и проучавање флуоресценције, нарочито при анализи интеракција између флуорофора и других молекула у истраживању структуре и функције биомолекула.

Ова два механизма гашења се могу разликовати по њиховој зависности од температуре и вискозности средине, као и по времену живота побуђеног стања флуорофлоре [238]. Утицај ових параметара може да пружи додатне информације о механизмима који утичу на интензитет флуоресценције флуорофлоре у различитим условима.

При вишим температурама долази до брже дифузије, што доводи до гашења флуоресценције услед судара са другим молекулима тј. динамичким гашењем. Такође на

вишим температурама долази до дисоцијације слабо везаних комплекса, што резултује смањењем статичког гашења.

Такође, вискозност средине може утицати на статичко и динамичко гашење. Повећана вискозност средине успорава дифузију молекула, што може смањити динамичко гашење. Са друге стране, статичко гашење може бити мање осетљиво на вискозност, јер се формирање комплекса и интеракције између флуорофоре и молекула одвијају углавном у краћим временским интервалима.

Време живота побуђеног стања флуорофлоре може бити различито у случајевима статичког и динамичког гашења. Динамичко гашење доводи до бржег опадања интензитета флуоресценције, јер се побуђено стање брзо деактивира сударима са гасиоцима флуоресценције. У случају статичког гашења, време живота побуђеног стања може бити дуже, јер се флуорофлора налази у комплексу са гасиоцима флуоресценције који не емитују фотоне.

Статичко и динамичко гашење се могу утврдити испитивањем апсорпционог спектра флуорофора. Динамичко гашење утиче само на побуђено стање флуорофора и не доводи до промена у апсорпционом спектру. Насупрот томе, код статичког гашења због формирања комплекса долази до промена у апсорпционом спектру флуорофора.

Штерн–Волмерова једначина је математички израз који описује однос између квантитативних података о флуоресценцији и концентрације супстанције која гаси флуоресценцију тј. у овом случају инхибитора. Ова релација је кључна за проучавање и квантификацију гашења флуоресценције молекула.

Штерн–Волмерова једначина се може изразити као [239]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [I] = 1 + K_D [I] \quad (30)$$

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [I] = 1 + K_{sv} [I] \quad (31)$$

где су:

- $\frac{F_0}{F}$ – однос интензитета флуоресценције триптофана у одсуству инхибитора и у присуству инхибитора;
- K_{sv} – Штерн–Волмерова константа када је гашење статичко;
- K_D – Штерн–Волмерова константа када је гашење динамичко;
- $[I]$ – концентрација инхибитора;
- k_q – константа брзине гашења;
- τ_0 – време живота побуђеног триптофана.

Ова једначина може пружити информације о брзини дифузије инхибитора до флуорофора и могућим механизмима гашења флуоресценције.

3. ЦИЉ

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације су базирана на развоју методологије фоторедокс функционализације различитих *N*-арил-тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима са циљем да се добију биолошки активни деривати са високом инхибиторном активношћу према холинергичким ензимима, ацетилхолинестерази и бутирилхолинестерази (*AChE* и *BuChE*).

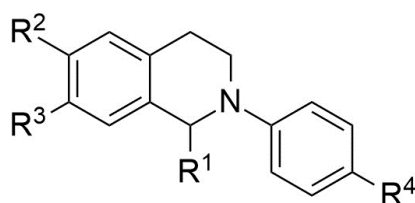
Како би наведени циљ био испуњен, истраживања су подељена у два дела.

Задатак првог дела истраживања је био да се испитају и оптимизују параметри фотохемијских реакција функционализације *THIQ* користећи два различита приступа, реакција укрштеног дехидрогенативног купловања и реакција α -амино радикала, у конвенционалном фотохемијском реактору, који подразумева коришћење стакленог балона као реакционог суда. За оптимизацију испитиваних реакција тестирани су различити растварачи, реактанти и фотокатализатори. Након оптимизације услова у конвенционалном фотохемијском реактору, испитивања су настављена у микрофлуидним реакторима, а све у циљу ефикасније синтезе жељених деривата.

Циљ истраживања укључује оптимизацију реакционих услова фоторедокс функционализације *THIQ* у микрофлуидним системима кроз паралелно испитивање три различита типа микрофлуидних реактора:

- а) полидиметилсилоксан (*PDMS*) микрофлуидни реактор,
- б) флуорисани етилен-пропиленски (*FEP*) капиларни микрофлуидни реактор и
- в) стакло-силицијумски микрофлуидни реактор.

Циљ другог дела истраживања је био испитивање интеракција добијених деривата *THIQ* са *AChE* и *BuChE* на молекулском нивоу. У ту сврху коришћене су различите физичкохемијске методе у комбинацији са теоријским прорачунима. На основу ензимских есеја процењена је инхибиторна моћ синтетисаних једињења док су кинетичким студијама одређени тип инхибиције и параметри везивања. Коришћењем флуоресцентне спектроскопије испитане су конформационе промене ензима изазване најпотентнијим дериватима *THIQ*. Стехиометријски однос везивања инхибитора за ензим, константа везивања и константа гашења флуоресценције ензима су такође испитани. *THIQ* синтетисани у оквиру ове докторске дисертације су подељени према врсти супституента у положају R^1 у осам група, слика 34. Ова једињења су тестирана како би се одредио њихов потенцијал инхибиције активности *AChE* и *BuChE*. Детаљан инхибициони профил је утврђен само за она једињења која су испољила степен инхибиције 100% при концентрацији од 1×10^{-5} М.



79

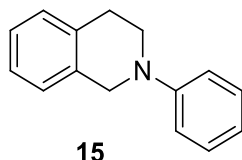
Слика 34. Структура синтетисаних *THIQ*

Поред тога, молекулске интеракције, механизми инхибиције и потенцијална места везивања инхибитора на испитиваним ензимима су одређени теоријским прорачунима.

4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

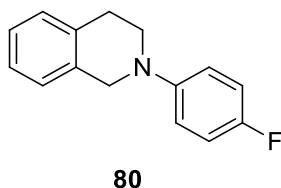
4.1. Синтеза *N*-арил деривата *THIQ* реакцијом аминаовања арил-јодида са тетрахидроизохинолином

2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин



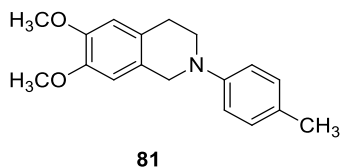
У трогрли балон под инертном атмосфером су додати: 2-пропанол (10 mL), етилен гликол (1,12 mL, 20 mmol), 1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (1,88 mL, 15 mmol) и јодбензен (1,12 mL, 10 mmol). Након тога је додат бакар(I)-јодид (200 mg, 1 mmol) и калијум фосфат (4,25 g, 20 mmol). Реакциона смеша је загревана 24 h на 90 °C у атмосфери азота. Након завршетка реакције реакциона смеша је екстрахована етил-ацетатом (3×20 mL). Сакупљене органске фазе су затим испране засићеним раствором натријум хлорида (20 mL) и сушене над магнезијум-сулфатом. Након цеђења и уклањања растварача ротационим вакуум упаривачем сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном хроматографијом на колони силика-гела, користећи петрол-етар и етил-ацетат као елуент (однос 7/1).

2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин



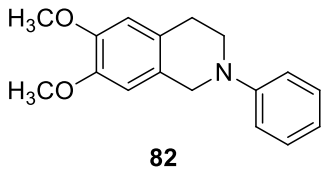
У трогрли балон под инертном атмосфером су додати: 2-пропанол (10 mL), етилен гликол (1,12 mL, 20 mmol), 1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (1,88 mL, 15 mmol) и 1-флуоро-4-јодбензен (3,3 g, 15 mmol). Након тога је додат бакар(I)-јодид (200 mg, 1 mmol) и калијум фосфат (4,25 g, 20 mmol). Реакциона смеша је загревана 24 h на 90 °C у атмосфери азота. Након завршетка реакције реакциона смеша је екстрахована етил-ацетатом (3×20 mL). Сакупљене органске фазе су затим испране засићеним раствором натријум хлорида (20 mL) и сушене над магнезијум-сулфатом. Након цеђења и уклањања растварача ротационим вакуум упаривачем сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном хроматографијом на колони силика-гела, користећи петрол-етар и етил-ацетат као елуент (однос 7/1).

6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин



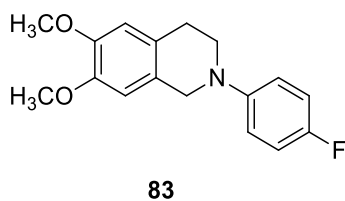
У трогрли балон под инертном атмосфером су додати: 2-пропанол (10 mL), етилен гликол (1,12 mL, 20 mmol), 1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (1,88 mL, 15 mmol) и 1-јодо-4-метилбензен (1,3 mL, 10 mmol). Након тога је додат бакар(I)-јодид (200 mg, 1 mmol) и калијум фосфат (4,25 g, 20 mmol). Реакциона смеша је загревана 24 h на 90 °C у атмосфери азота. Након завршетка реакције реакциона смеша је екстрахована етил-ацетатом (3×20 mL). Сакупљене органске фазе су затим испране засићеним раствором натријум хлорида (20 mL) и сушене над магнезијум-сулфатом. Након цеђења и уклањања растварача ротационим вакуум упаривачем сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном хроматографијом на колони силика-гела, користећи петрол-етар и етил-ацетат као елуент (однос 7/1).

6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин



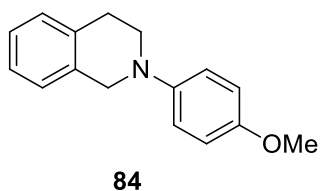
У трогрли балон под инертном атмосфером су додати: 2-пропанол (10 mL), етилен гликол (1,12 mL, 20 mmol), 6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (2,9 g, 15 mmol) и јодбензен (1,12 mL, 10 mmol). Након тога је додат бакар(I)-јодид (200 mg, 1 mmol) и калијум фосфат (4,25 g, 20 mmol). Реакциона смеша је загревана 24 h на 90 °C у атмосфери азота. Након завршетка реакције реакциона смеша је екстрахована етил-ацетатом (3×20 mL). Сакупљене органске фазе су затим испране засићеним раствором натријум хлорида (20 mL) и сушене над магнезијум-сулфатом. Након цеђења и уклањања растварача ротационим вакуум упаривачем сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном хроматографијом на колони силикагела, користећи петрол-етар и етил-ацетат као елуент (однос 7/1).

2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин



У трогрли балон под инертном атмосфером су додати: 2-пропанол (10 mL), етилен гликол (1,12 mL, 20 mmol), 6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (2,9 g, 15 mmol) и 1-флуоро-4-јодбензен (3,3 g, 15 mmol). Након тога је додат бакар(I)-јодид (200 mg, 1 mmol) и калијум фосфат (4,25 g, 20 mmol). Реакциона смеша је загревана 24 h на 90 °C у атмосфери азота. Након завршетка реакције реакциона смеша је екстрахована етил-ацетатом (3×20 mL). Сакупљене органске фазе су затим испране засићеним раствором натријум хлорида (20 mL) и сушене над магнезијум-сулфатом. Након цеђења и уклањања растварача ротационим вакуум упаривачем сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном хроматографијом на колони силика-гела, користећи петрол-етар и етил-ацетат као елуент (однос 7/1).

2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин



У трогрли балон под инертном атмосфером су додати: 2-пропанол (10 mL), етилен гликол (1,12 mL, 20 mmol), 1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (1,88 mL, 15 mmol) и 1-јодо-4-метоксибензен (3,15 g, 15 mmol). Након тога је додат бакар(I)-јодид (200 mg, 1 mmol) и калијум фосфат (4,25 g, 20 mmol). Реакциона смеша је загревана 24 h на 90 °C у атмосфери азота. Након завршетка реакције реакциона смеша је екстрахована етил-ацетатом (3×20 mL). Сакупљене органске фазе су затим испране засићеним раствором натријум хлорида (20 mL) и сушене над магнезијум-сулфатом. Након цеђења и уклањања растварача ротационим вакуум упаривачем сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном хроматографијом на колони силика-гела, користећи петрол-етар и етил-ацетат као елуент (однос 7/1).

Потврда структуре добијених реакционих производа је урађена ^1H спектроскопијом нуклеарно магнетне резонанције (енг. *Nuclear Magnetic Resonance*, НМР), Прилог 1.

4.2. Процедура за Манихову реакцију фоторедокс функционализације деривата *THIQ* у микрофлуидном реактору

Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балон су додати одговарајући дериват *THIQ* (0,25 mmol; 1 еквивалент), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,0025 mmol; 1 mol%), *L*-пролин (0,0025 mmol; 0,1 еквивалент) и кетон (5–10 еквивалента) у метанолу (1 mL) као растварачу. Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз реактор. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, док ретенционо време зависи од супстрата и износи 2 h или 6 h. По завршетку реакције растварач је уклоњен под сниженим притиском на ротационом вакуум упаривачу. Сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном танкослојном хроматографијом на силика–гелу, користећи петрол–етар и етил–ацетат као елуент (однос 7/1).

4.3. Процедура за Штрекерову реакцију фоторедокс функционализације деривата *THIQ* у микрофлуидном реактору

Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балон су додати одговарајући дериват *THIQ* (0,25 mmol; 1 еквивалент), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,0025 mmol; 1 mol%), триметилсилил–цијанид (TMSCN) (0,3 mmol, 1,2 еквивалента) у ацетонитрилу (1 mL) као растварачу. Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз реактор. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица од 8 W, док ретенционо време износи 2 h. По завршетку реакције растварач је уклоњен под сниженим притиском на ротационом вакуум упаривачу. Сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном танкослојном хроматографијом на силика–гелу, користећи петрол–етар и етил–ацетат као елуент (однос 7/1).

4.4. Процедура за реакцију алкиниловања *THIQ* у микрофлуидном реактору

Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. Кроз микрофлуидни реактор који је изложен светлости тече смеша ацетонитрила CH_3CN (1 mL), деривата *THIQ* (0,25 mmol; 1 еквивалента) и $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,0025 mmol; 1 mol%) са ретенционим временом од 2 h. Реакциона смеша из реактора одлази директно у балон у коме се налази смеша фенилацетилена (1,25 mmol, 5 еквивалента) и $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ (0,025 mmol, 0,1 еквивалента) у дихлорметану (1 mL). Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица од 8 W. По завршетку реакције растварач је уклоњен под сниженим притиском на ротационом вакуум упаривачу. Сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном танкослојном хроматографијом на силика–гелу, користећи петрол–етар и етил–ацетат као елуент (однос 7/1).

4.5. Процедура за реакцију фоторедокс функционализације деривата *THIQ* са α,β -незасићеним карбонилним једињењима у микрофлуидном реактору

Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балон су додати одговарајући дериват *THIQ* (0,25 mmol; 1 екв.), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,0025 mmol; 1

mol%) као фотокатализатор, трифлуоросирћетна киселина (енг. *Trifluoroacetic Acid, TFA*) (0,25 mmol, 1 екв.) и α,β -незасићено карбонилно једињење (1 mmol, 4 екв.) у ацетонитрилу (1 mL) као растварачу. Реакциона смеша је деаеризована 15 минута у струји азота. Реакциона смеша је затим пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе је пумпана кроз реактор таквом брзином да ретенционо време износи 1 h. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица од 8 W. По завршетку реакције вишак растварача је уклањен под сниженим притиском на ротационом вакуум упаривачу. Сирова реакциона смеша је пречишћена препаративном танкослојном хроматографијом на силика–гелу, користећи користећи петрол–етар и етил–ацетат као елуент (однос 7/1).

4.6. Физичкохемијске методе анализе

4.6.1. Танкослојна хроматографија и препаративна хроматографија на колони

Танкослојна хроматографија на силика–гелу (енг. *Thin Layer Chromatography, TLC*) је аналитичка техника која се примењује за раздвајање и идентификацију компонената смеше на основу њихове поларности. Ова сепарациона метода се широко примењује у различитим областима као што су хемија, фармација, биологија и у квалитативним и у квантитативним анализама. Представља подврсту течне хроматографије код које се углавном користе чврсте стационарне фазе, сорбенти, нанети на радну површину.

Све реакције синтезе које су урађене у овом раду праћене су танкослојном хроматографијом на папиру *TLC*.

За изоловање синтетисаних једињења примењена је препаративна танкослојна хроматографија на силика–гелу *Merck 60 F254*. Дебљина силика–гела је 0,25 mm. Као мобилна фаза коришћени су петрол етар и етил ацетат. Визуелизација је урађена УЉ лампом ($\lambda = 254 \text{ nm}$ и 366 nm) или бојењем раствором калијум–перманганата KMnO_4 (1 g KMnO_4 , 2 g натријум карбоната Na_2CO_3 , 100 mL воде).

За припрему плоча за танкослојну хроматографију адсорбенс је припремљен суспендовањем 60 g силика–гела у 135 mL воде и мешан око 5 минута како би се истиснуо ваздух. Стаклене плоче су пребрисане ацетоном а након тога је апликатором (дебљина слоја 2,5 mm) нанесена припремљена суспензија на стаклене плоче димензија 20 cm x 20 cm. Након наношења адсорбенса плоче су остављене да се осуше на собној температури а силика–гел затим активиран загревањем 1 h на 105 °C.

Препаративне хроматографске методе се користе за раздвајање компоненти смеше ради даље анализе те је у овој тези препаративна хроматографија на колони коришћена за пречишћавање свих синтетисаних једињења. Хроматографија на колони је урађена коришћењем силика–гела (*12–26, ICN Biomedicals*). Коришћене су колоне за вишекратну употребу а као елуенти петрол–етар и етил–ацетат.

4.6.2. НМР спектроскопија

Нуклеарно магнетна резонантна спектроскопија представља једну од најсавременијих, најпоузданијих и најосетљивијих техника за анализу молекулске структуре које у свом саставу имају одговарајућа језгра. Главни услов који нуклид треба да испуни да би могао да се анализира овом спектроскопском техником је да му је спин различит од 0, али се поред тога посматрају још и фактори попут природне заступљености и осетљивости нуклида, као и такозване доступности. У органској хемији најчешће се користе изотопи нуклида H, C, O и N. Сама техника се базира на побуђивању тих нуклида, смештених у хомогено магнетно поље, електромагнетним зрачењем из радиофреквентне области. Сваки нуклид даје сигнал (резонантни максимум) чија се идентификација врши на основу помераја у односу на

одговарајући стандард. Сигнал је карактеристика одређеног језгра али и окружења у ком се налази.

За потребе квалитативне анализе деривата *THIQ* добијених у микрофлуидном реактору коришћена је ^1H и ^{13}C НМР спектроскопија. Идентификација добијених деривата је потврђена на основу хемијског помераја (δ) у односу на тетраметил силиан, константи купловања и мултиплицитета сигнала у добијеним спектрима.

Мерења су урађена на уређају *Bruker Ultrashield Advance III* спектрометру (^1H на 500 MHz, ^{13}C на 125 MHz) и на *Varian* (^1H на 400 MHz, ^{13}C на 100 MHz) користећи CDCl_3 као растварач и тетраметилсилиан као интерни стандард.

Хемијски померај, δ , је изражен у *ppm* (енг. *parts per million*), а константе купловања, *J*, у херцима (Hz). Протонски спектри су представљени по следећем обрасцу $\delta \cdot \text{ppm}^{-1}$ (мултиплетност, константа купловања $J \cdot \text{Hz}^{-1}$, број протона). За сигнале у спектру су коришћене следеће скраћенице: *s* = синглет, *d* = дублет, *t* = триплет, *q* = квартет, *dd* = дублет–дублета, *ddd* = дублет–дублет–дублета, *dt* = дублет триплета, *m* = мултиплет.

4.6.3. Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом (ФТИЦ)

Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом (енг. *Fourier–transform infrared spectroscopy*, ФТИЦ) је аналитичка техника која се користи за идентификацију и анализу хемијских једињења на основу њиховог вибрационог спектра. Заснива се на интеракцији одговарајућих функционалних група унутар испитиваног једињења са упадним електромагнетним зрачењем из инфрацрвене области (таласне дужине 0,75 – 1000 μm). Након проласка упадног инфрацрвеног зрачења кроз узорак део се апсорбује а део пропусти. Апсорбција ИЦ зрачења је условљена фреквенцијом вибрације одговарајуће хемијске везе при чему је потребно да буде испуњен услов да при вибрацији те везе долази до промене диполног момента. Интензитет апсорбованог тј. пропуштеног зрачења у функцији од фреквенције или таласног броја представља инфрацрвени спектар датог једињења. При анализи ИЦ спектра посматра се позиција пикова, њихови интензитети и њихов изглед. Свако везивање за неки од атома вибрирајуће групе ће утицати на фреквенцију вибрације а самим тим ће доћи и до промене у спектру. Због тога ИЦ спектроскопија представља једну од неизоставних метода за квалитативну анализу једињења на молекулском нивоу, мада се овом техником може вршити и квантитативна анализа.

Присутво различитих функционалних група карактеристичних за добијене деривате, испитано је апсорпцијом ИЦ зрачења у опсегу таласних бројева од 400 – 4000 cm^{-1} . Спектри су снимани на *PerkinElmer FT–IR 1725X* спектрометру применом тоталне ометене рефлексије (енг. *Attenuated Total Reflection, ATR*). Овај савремени модул снимања користи кристал високог индекса рефракције (дијамант) чији је задатак да генерише талас зрачења који се мења услед интеракције са узорком. Интензитети пикова су дефинисани као веома јаки (*vs*), јаки (*s*), умерени (*m*) или слаби (*w*).

4.6.4. Масена спектрометрија

Масена спектрометрија представља моћну и поуздану аналитичку инструменталну технику која мери однос масе и наелектрисања (*m/e*) узорака на основу којих се добијају квалитативне и квантитативне информације о њима. Масени спектрометар садржи систем за уношење узорка, јонски извор, анализатор маса, детектор, систем за обраду и високовакуумски систем. Једињење се идентификује на основу свог масеног спектра који је за њега карактеристичан и специфичан. Јонизационе технике које се најчешће користе у масеној спектрометрији су: електронска јонизација, хемијска јонизација, јонизација

потпомогнута ласерском депозицијом из матрикса, бомбардовање брзим атомима/електронима, десорпција плазмом и пољем, електроспреј јонизација и хемијска јонизација на атмосферском притиску. У масене анализаторе спадају магнетни сектор и двоструко фокусирајући магнетни сектор, квадруполни анализатор, анализатор на бази времена прелета, рефлексioni анализатор на бази времена прелета, квадруполни јонски трап, орбитрап и разни други. Код орбитрапа електроде су постављене аксијално и симетрично тако да формирају комбиновани квадро–логаритамски електростатички потенцијал.

За идентификацију нових једињења синтетисаних у оквиру ове тезе коришћен је масени спектрометар *Orbitrap Exploris 240*, произвођача *Thermo Fisher Scientific*, који као јонски извор користи електроспреј јонизацију са грејањем (енг. *Heated Electrospray Ionization, HESI*). Унос узорака се врши преко система за течну хроматографију како би се извршило раздвајање узорака и контрола протока. Ова врста масених спектрометара садржи и квадруполни и масени анализатор који му уз још нека техничка решења омогућује високо резолуциону анализу маса. Масени детектор је уграђен у самом орбитрап анализатору и мери струјни сигнал изазаван протоком јона из узорка.

4.6.5. Ултраљубичаста/видљива спектрофотометрија (УЉ/вид)

Ултраљубичасто/видљива спектрокопија (енг. *Ultraviolet–Visible Spectroscopy, УЉ/вид*) је примењена за квалитативно одређивање одговарајућих хромофора, које су коришћене у оквиру ензимских тестова (Елманове методе) приликом одређивања активности ензима, мерењем апорбанције на 412 nm. На овај начин, индиректним путем је испитиван инхибициони потенцијал и кинетика инхибиције одабраних деривата *THIQ* на активност *AChE* и *BuChE*. Мерења су урађена на УЉ/вид спектрофотометру *Perkin Elmer Lambda 35* у кварцној стакленој кивети са светлосним путем 1 cm.

Метода се заснива на принципу да молекули апсорбују светлост при специфичним таласним дужинама у УЉ/вид опсегу. Када светлост пролази кроз узорак, одређене молекулске врсте апсорбују светлост на одређеним таласним дужинама што резултује смањењем интензитета полазне светлости. Мерењем апсорпције при различитим таласним дужинама може се добити УЉ/вид спектар који приказује промене у апсорпцији светлости у функцији таласне дужине. УЉ/вид спектрокопија је брза, једноставна и поуздана техника која омогућава квантитативну и квалитативну анализу супстанција. Има квантитативну примену у одређивању концентрација супстанција док квалитативна анализа подразумева идентификацију супстанција на основу карактеристичних таласних дужина.

4.6.6. Флуоресцентна спектроскопија

Флуоресцентна спектроскопија је коришћена за одређивање конформационих промена у ензимима до којих долази након интеракције са испитиваним једињењима. Како је триптофан флуорофора холинергичких ензима која се налази на местима на којима се очекује везивање инхибитора, долази до смањења флуоресценције тј. гашења као потврда ефикасности инхибитора. Овај експериментални поступак омогућава проучавање ефекта гашења флуоресценције у одређеном опсегу таласних дужина и пружа информације о променама у интензитету флуоресценције флуорофора под утицајем гасиоца флуоресценције.

Флуоресцентна мерења на најпотентнијим *THIQ* једињењима су урађена на спектрофлуориметру *Agilent Cary Eclipse Photon*. За мерења су коришћене кварцне кивете са са светлосним путем од 1 cm. Извршена су снимања спектра гашења флуоресценције на собној температури у опсегу таласних дужина од 325 до 450 nm. Током експеримента

флуорофора је била изложена светлосном извору који је генерисао светлост таласних дужина од 295 nm.

4.7. Ензимски тестови

Активност холинергичких ензима, *AChE* и *BuChE* као и кинетичка мерења су одређена по модификованој Елмановој методи користећи комерцијалне ензиме [240].

4.7.1. Одређивање активности *AChE* и *BuChE* Елмановом методом

Ензимска активност представља особину ензима да одређеном брзином катализује трансформацију супстрата у производ. Утицај одабраних деривата *THIQ* на активност *AChE* и *BuChE* праћен је спектрофотометријски применом Елманове методе.

Ова метода се заснива на индиректном одређивању концентрације тиохолина који настаје док се ацетилтиохолин хидролизује у присуству ензима *AChE* и *BuChE*. Настали тиохолин реагује са 5,5'-дитио-бис-2-нитробензојевом киселином (ДТБН) при чему настаје жуто обојени производ, јон тионитробензојеве киселине (ТНБ), који има карактеристичан апсорпциони максимум на 412 nm [240].

Основни раствори *AChE* припремљени су растварањем комерцијалног ензима добијеног из електричне јегуље у 20 mM ТРИС пуферу (pH 7,5), док је основни раствор *BuChE* добијен растварањем комерцијалног ензима добијеног из коњског серума у дејонизованој води. Овако припремљени раствори чувани су у замрзивачу на температури од -20 °C до употребе. Основни раствори синтетисаних деривата *THIQ*, концентрације 10 mM припремани су на дневном нивоу непосредно пре извођења експеримената, растварањем у диметилсулфоксиду (ДМСО) док су њихова одговарајућа разблажења, интервалу од 1×10^{-5} до 1×10^{-9} M, припремана у апсолутном етанолу.

Основни раствори ацетилтиохолин- *ASChI* и бутирилтиохолин-јодида *BChCI* припремљени су у дејонизованој води како би се добила концентрација супстрата 0,075 M.

Време преинкубације и инкубације у ензимском есеју су била по 6 минута. Ензимски есеји су урађени на температури од 37 °C.

Кинетичке криве инхибиције *AChE* и *BuChE* су одређене за концентрације супстрата у опсегу 0,01 – 1 mM. Мерења су урађена у одсуству (контрола) и у присуству изабраних најактивнијих једињења на концентрацијама блиским претходно одређеним IC_{50} вредностима за дато једињење. Време преинкубације је 6 минута док је време инкубације од 2,5 минута.

Вредности максималне брзине реакције v_{max} и Михаелис-Ментен константе K_m су одређене линеарним фитовањем експерименталних тачака на Лајнвивер-Барк-овом графику за одабране концентрације ензима [241]. Вредности почетних брзине реакције добијене су као $\Delta A_{412} \cdot \text{min}^{-1}$ што одговара разлици апсорбанција насталог производа после 2,5 минута ензимске реакције у одсуству и присуству инхибитора. Како је моларни екстинкциони коефицијент насталог јона тионитробензојеве киселине $13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ применом Ламбер-Беровог закона израчуната је концентрација добијеног производа [242]. На основу израчунате концентрације производа, времена инкубације, запремине припремљеног раствора и масе ензима, почетна брзина реакције је изражена у јединици $\frac{\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{mg}}$.

Константа инхибиције, K_I , одређена је линеарним фитовањем експерименталних тачака на секундарном Лајнвивер-Барк-овом дијаграму за одабране концентрације инхибитора. Јединица за константу инхибиције је μM [241].

4.8. Теоријски прорачуни

Теоријски прорачуни (молекулски докинг) представљају поступак тражења одговарајућег лиганда који енергетски и геометријски одговара месту протеина. Ова метода се показала као врло ефикасна за откривање нових лекова [243]. Метода се може користити за моделовање интеракција између малих молекула и протеина на атомском нивоу што омогућава да се окарактерише понашање малих молекула у месту везивања циљаног протеина познате структуре, као и да се разјасне основни биохемијски процеси.

Теоријски прорачуни су урађени како би се испитали потенцијални начини везивања добијених *THIQ* као и механизам инхибиције *BuChE* и *AChE*. Структуре испитиваних *THIQ* и структура ензима су добијене квантно–механичким израчунавањима применом функције *wb97xd*, користећи *Gaussian09* програм. Као модел структуре ензима *BuChE* коришћен је протеин из протеинске базе података (*PDB*) са ознаком *1P0P*, док је као модел структуре *AChE* коришћена кристална структура протеина са ознаком *1C2B* [244]. Припрема ензима и лиганда (*THIQ*) је урађена у програму *AutoDockTools*, док је докинг урађен помоћу софтвера *AutoDock Vina* [245]. Метода се изводи на целим молекулима како би се утврдило да ли лиганди имају већи афинитет везивања ка другим местима у односу на активна места. За визуелизацију интеракција *AChE* и *BuChE* са испитиваним *THIQ* коришћен је *BIOVIA Discovery Studio*. Помоћу *Gaussian09* је одређена расподела наелектрисања, поларна површина, запремина и активност молекула у липофилном или хидрофилном окружењу.

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

5.1. Дизајн и израда микрофлуидног реактора

У оквиру ове докторске дисертације дизајнирана су и примењена три типа микрофлуидних реактора у односу на материјал коришћен при изради:

- микрофлуидни реактор од полидиметилсилоксана (*PDMS*),
- микрофлуидни реактор од флуорованог етилен–пропилена (*FEP*) и
- стаклено–силицијумски микрофлуидни реактор .

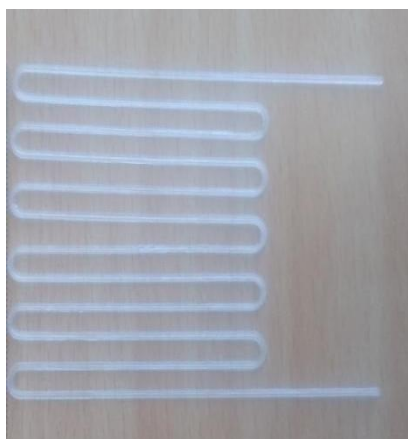
PDMS микрофлуидни реактор је израђен од еластомерног материјала, полидиметилсилоксана, методом изливања у унапред припремљене калупе. У наставку ће детаљно бити описан нов начин припреме који се не наводи у литератури. Ова иновативна техника омогућава једноставно и јефтино спајање две половине микрофлуидног реактора. Методе припреме које су до сада описане у литератури захтевају комплексније услове и специјализовану лабораторијску опрему [246–248].

За производњу *PDMS* микрофлуидног реактора коришћен је двокомпонентни *SYLGARD 124* силиконски комплет (*Dow Corning Corporation*) који се састоји од базе и умреживача.

Sylgard компоненте, база и умреживач у односу 10:1 су додати у пластичну чашу и мешани 10 минута са стакленим штапићем. Мешање се обавља у вакууму при чему се уклањају настали мехурићи ваздуха. Један део смеше који је чинио једну половину реактора је изливен у пластичну Петријеву посуду и остављен у сушници 20–30 минута на 60 °C (слика 35.б). Преко осушеног слоја *PDMS*-а смештени су 3D одштампани (*Wanhao Duplicator i3 Mini*) микроканални пречника 0,76 mm сачињени од транспарентног *ABS*-а (енг. *Acrylonitrile Butadiene Styrene*) (слика 35.а) [249].

Преостала количина *PDMS*-а је преливена преко микроканала и остављена на собној температури 48 h (слика 35.в). Финално, *PDMS* са уграђеним *ABS* филантом се уклонио из Петријеве шоље а затим је остављен у сушници 10 минута на 90 °C, како би се извршило потпуно умрежавање *PDMS*-а.

У следећој фази, извршено је формирање микроканала растварањем *ABS* филантом у ацетону преко ноћи и сушењем готовог микрофлуидног реактора на 90 °C у сушници. На овај начин су добијени микрофлуидни реактори унутрашње запремине од око 500 μL (слика 35.д) [250].



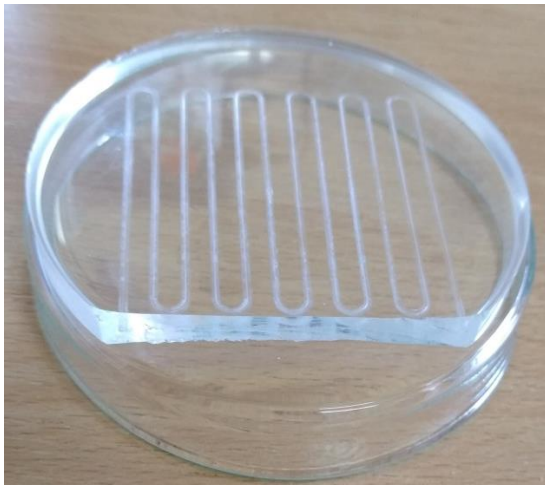
а)



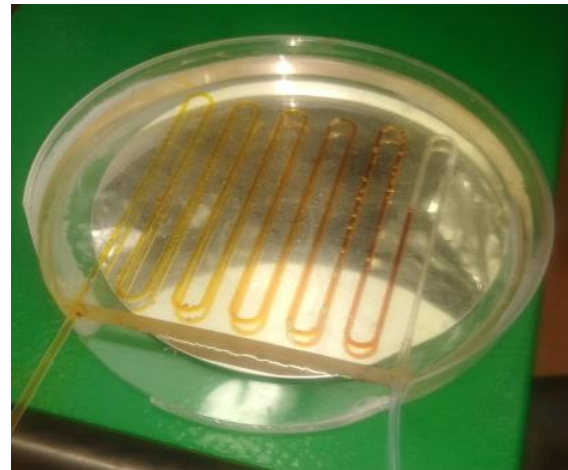
б)



в)



г)



д)

Слика 35. Процес израде *PDMS* микрофлуидног реактора: а) микроканални од *ABS*-а добијени *3D* штампом; б) печење *PDMS*-а у сушници; в) изливање *PDMS*-а преко *ABS*-а; г) обликовани *PDMS* микрофлуидни реактор; г) приказ *PDMS* микрофлуидног реактора у току експеримента, преузето уз дозволу из референце [250].

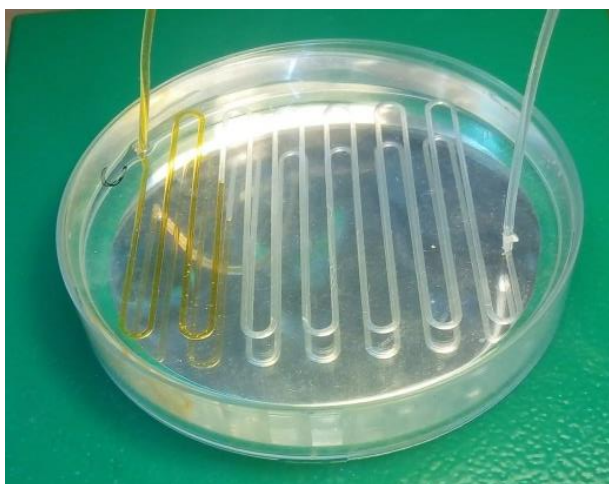
При изради *PDMS* микрофлуидног реактора избор материјала од кога се израђују канали је од великог значаја. Јако је важно да изабрани филамент буде лако растворљив у органским растварачима у којима сам *PDMS* не мења својства, попут транспарентности. Наиме, дешава се да долази до обојења *PDMS*-а уколико се користе филаменти у боји као што је приказано на слици 36. Обојење *PDMS*-а настаје због упијања филамента у његову структуру. Ово представља проблем за извођење фотохемијских реакција јер утиче на транспарентност микрофлуидног реактора. Како би избегли овај проблем и осигурали функционалност микрофлуидног реактора, за израду канала коришћен је транспарентан *ABS* филамент и ацетон као растварач.



Слика 36. Изглед микрофлуидни реактор када се користи *ABS* филамент који није транспарентан.

У првобитном дизајну, улаз и излаз су били постављени вертикално у односу на микроканале (слика 37.а). Међутим овај дизајн је имао проблем цурења садржаја због неадекватног споја између црева и површине микроканала. Због овог проблема, позиција улаза и излаза је морала бити промењена приликом дизајнирања микрофлуидног реактора. У новом дизајну, улаз и излаз су позиционирани у истој равни са микроканалима (слика 37.б). како би се осигурао правилан проток кроз реактор. Ова модификација у дизајну омогућава

бољи контакт, доноси знатно побољшање у функционалности и елиминише проблем са цурењем, чиме је омогућена ефикаснија и поузданија употреба.



а)



б)

Слика 37. а) Првобитни дизајн *PDMS* микрофлуидног реактора када су улаз и излаз позиционирани вертикално у односу на микроканалеле; б) Побољшани дизајн *PDMS* микрофлуидног реактора где су улаз и излаз постављени у истој равни са микроканалелима.

У циљу ефикасног искоришћења светлости а у складу са Ламбер–Беровим законом, око *PDMS* микрофлуидног реактора су постављене рефлективне површине (огледала). Ово има за циљ постизања што хомогеније расподеле зрачења дуж реактора (слика 37.б).

Тубуларни микрофлуидни фотохемијски реактор представља систем у коме се фотохемијске реакције изводе у полимерним цревима од транспарентних полимерних материјала, *FEP* или *PFA*. Микрофлуидни реактор на бази *FEP* црева, се састоји од црева дужине 100 cm са унутрашњим пречником од 0,76 cm ($V = 450 \mu\text{L}$) које је намотано око стаклене цеви. У једној експерименталној поставци ова цев се убацује у метални цилиндар и фиксира у његовом средишњем делу помоћу држача направљеног 3D штампом (слика 38). *LED* трака је постављена са унутрашње стране металног цилиндра, а поклопац реактора је огледало, које се користи за ефикасно искоришћење светлости. Са доње стране цилиндра постављен је вентилатор за одржавање константне собне температуре унутар реактора. Црево фотореактора је повезано са шприц пумпом преко конусног адаптера (*IDEX Health and Science, Part # P-797*).



Слика 38. Изглед експерименталне поставке *FEP* микрофлуидног реактора када се као извор светлости користи *LED* трака, преузето уз дозволу из референце [250].

У другој експерименталној поставци *FEP* микрофлуидни реактор је намотан око стаклене цеви а *LED* трака је постављена унутар стаклене цеви (слика 39).



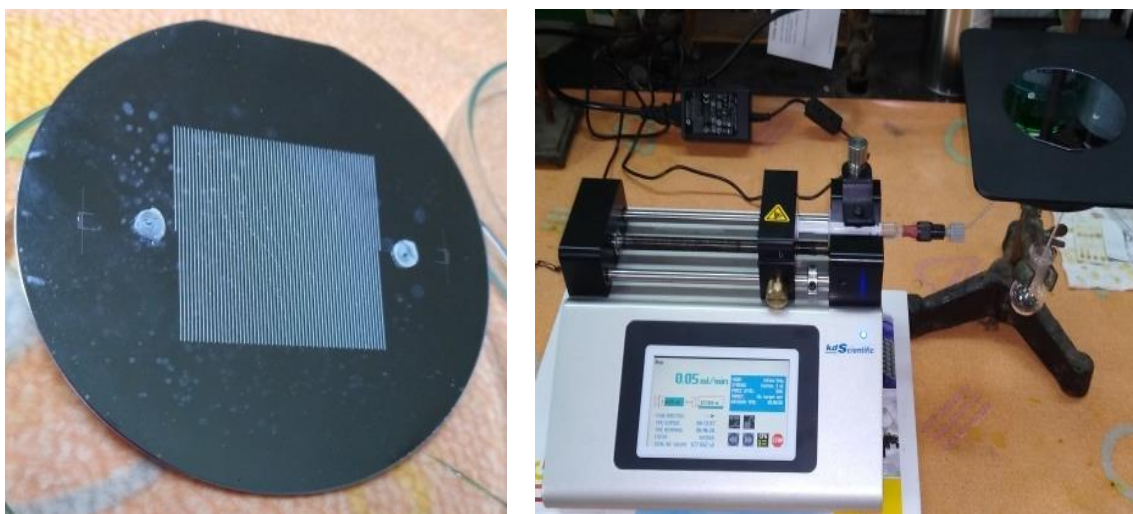
Слика 39. Фотореактор од *FEP* цева са *LED* траком као унутрашњим извором светлости.

У трећој експерименталној поставци, *FEP* микрофлуидни реактор који је намотан око стаклене цеви осветљен је компактним флуоресцентним сијалицама као спољашњи извор светлости, слика 40.



Слика 40. Фотореактор од *FEP* цева са CFL сијалицама као спољашњи извор светлости.

Микрофлуидни реактор од силицијума и стакла је направљен фотолитографским поступцима, влажним нагризањем стакла а затим анодним бондовањем стакла и силицијума (слика 41).



Слика 41. Изглед микрофлуидног реактора од стакла и силицијума, преузето уз дозволу из референце [250].

Дизајнирани микрофлуидни уређаји су примењени за испитивање Манихове реакције, Штрекерове реакције, реакције алкиниловања као и за реакције α -аминорадикала са α,β -незасићеним кетонима [250].

Као извор светлости у приказаним системима коришћене су компактне флуоресцентне сијалица од 8, 13, 15 и 26 W као и *LED* трака од 20 W.

За све типове реактора сумирани су технички параметри у табели 2 као што су: запремина реактора која је изложена зрачењу, површина реактора која је изложена зрачењу,

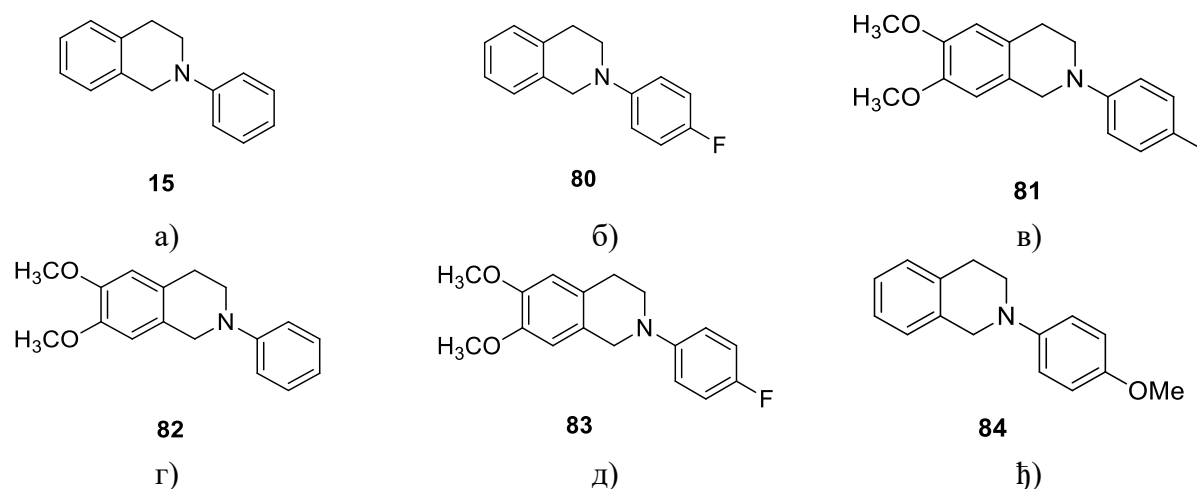
однос површине и запремине реактора, утрошена снага извора светлости по површини реактора. За *PDMS* и *FEP* микрофлуидне реакторе сви параметри су слични. Однос површине и запремине за оба типа микрофлуидних реактора износи око $5000 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$ што се уклапа у опсег микрофлуидних уређаја према литературним подацима [152].

Табела 2. Технички параметри за све типове реактора.

Параметар	Тип реактора			
	Балон	<i>FEP</i>	<i>PDMS</i>	Силицијум/стакло
Запремина изложена зрачењу [cm^3]	10	0,45	0,50	0,025
Површина реактора [cm^2]	22,44	24	25	20
Површина изложена зрачењу [cm^2]	22,44	24	25	20
Однос површине и запремине [$\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$]	224,4	5333	5000	8000
Снага извора светлости [W] (CFL)	2×8	2×8	2×8	2×8
Снага извора светлости/површина реактора [$\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$]	0,71	0,67	0,64	0,8
Снага извора светлости/површина изложена зрачењу [$\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$]	0,71	0,67	0,64	0,8
Снага извора светлости [W] (CFL)	8	8	8	8
Снага извора светлости/површина реактора [$\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$]	0,35	0,33	0,32	0,4
Снага извора светлости/површина изложена зрачењу [$\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$]	0,35	0,33	0,32	0,4
Снага извора светлости [W] (<i>LED</i>)	20	20	20	20
Снага извора светлости/површина реактора [$\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$]	0,89	0,83	0,80	1
Снага извора светлости/површина изложена зрачењу [$\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$]	0,89	0,83	0,80	1

5.2. Функционализација *THIQ* реакцијама фотокатализованог укрштеног дехидрогенативног купловања

За функционализацију *THIQ* коришћени су супстрати који су добијени реакцијом аминовања арил–јодида са 1,2,3,4–тетрахидроизохинолином и 6,7–диметокси–1,2,3,4–тетрахидроизохинолином као што је наведено у експерименталном делу (слика 38).



Слика 42. а) *N*-фенил–тетрахидроизохинолин б) 2-(4-флуорофенил)–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин в) 6,7–диметокси–2-(*p*-толил)–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин г) 6,7–диметокси–2–фенил–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин д) 2-(4-флуорофенил)–6,7–диметокси–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин њ) 2-(4-метоксифенил)–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин.

5.2.1. Фоторедокс функционализација тетраhydroизохинолина органокатализованом Маниховом реакцијом

У резултатима који ће бити изложени приказана је успешна комбинација органокатализе и фоторедокс катализе за извођење Манихове реакције у функционализацији тетраhydroизохинолина у микрофлуидним условима (схема 14) [250].

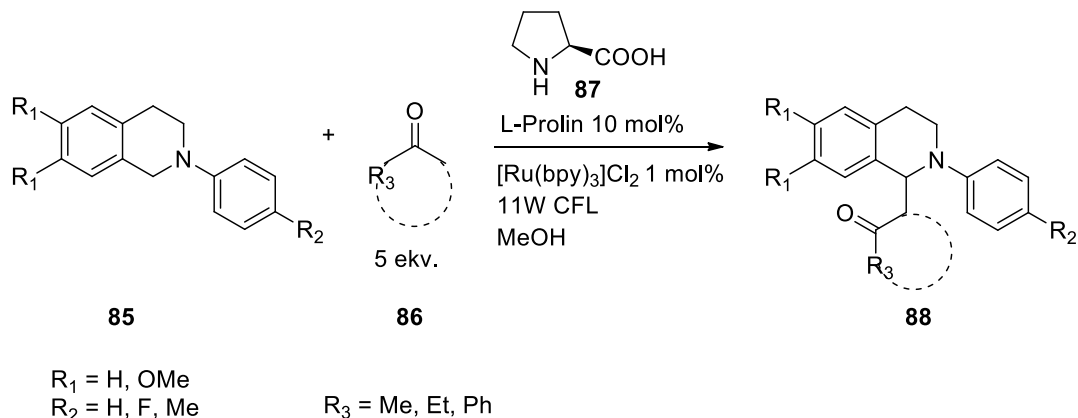


Схема 14. Манихова реакција.

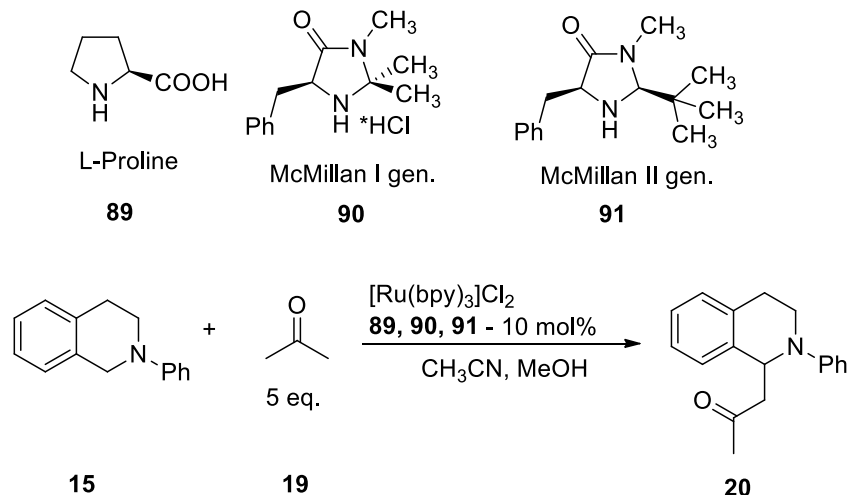
У сврху оптимизације реакционих услова у конвенционалном фотохемијском реактору (балону) као модел систем изабран је *N*-фенил-тетраhydroизохинолин а као нуклеофилна врста изабран је најједноставнији кетон, ацетон (табела 3). Приликом оптимизације реакционих услова испитани су различити растварачи (ацетонитрил и метанол), различити фотокатализатори ($[Ru(bpy)_3]Cl_2$; $[Ru(bpz)_3][PF_6]_2$; Еозин Y) као и различити органокатализатори (*L*-пролин; МекМилан I ген.; МекМилан II ген.).

Најпре је испитана реакција у присуству 1 mol% $[Ru(bpy)_3]Cl_2$ и 30 mol% *L*-пролина у ацетонитрилу, где је након 24 h остварен реакциони принос од 67% (табела 3, експеримент број 1). Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица од 15 W. При овим условима долази до појаве талоба због ограничене растворљивости реакционих врста у ацетонитрилу. При истим експерименталним условима испитана је реакција са компактном флуоресцентном сијалицом мање снаге од 8 W (табела 3, експеримент број 2) што је довело до благог повећања реакционог приноса на 71%. Смањењем концентрације *L*-пролина на 10 mol% принос је повећан на 73% (табела 3, експеримент број 3). Даље смањење концентрације *L*-пролина тј. његово изостављање резултирало је одсуством производа (табела 3, експеримент број 4). Из овога се може закључити да је присуство *L*-пролина неопходно за формирање производа али да концентрације преко 10 mol% не утичу на повећање приноса производа.

Због ограничене растворљивости реакционих врста у ацетонитрилу реакција је испитана у метанолу са 10 mol% *L*-пролина и 1 mol% $[Ru(bpy)_3]Cl_2$ у присуству светлосног извора од 8 W. У овим условима, фотокатализатор $[Ru(bpy)_3]Cl_2$ и органокатализатор *L*-пролин успешно учествују у реакцији и омогућавају постизање најбољег приноса производа од чак 85% (табела 3, експеримент број 5). Један од разлога за то је потпуна растворљивост свих реакционих врста у овом растварачу. Варирање органокатализатора, при претходно наведеним условима, није дало позитивне резултате. Наиме, утврђено је да је у присуству 10 mol% органокатализатора МекМилан I ген. принос производа свега 6% (табела 3, експеримент број 6) док је у присуству 10 mol% органокатализатора МекМилан II ген. принос производа 15% (табела 3, експеримент број 7).

Што се тиче утицаја фотокатализатора, када се као исти користи 1 mol% $[\text{Ru}(\text{bpz})_3][\text{PF}_6]_2$ у комбинацији са 10 mol% *L*-пролина у метанолау као растварачу, добијен је принос од 57% (табела 3, експеримент број 8). При идентичним условима, када је као коришћено 2 mol% Еозин *Y*, остварен је принос од 64% (табела 3, експеримент број 9).

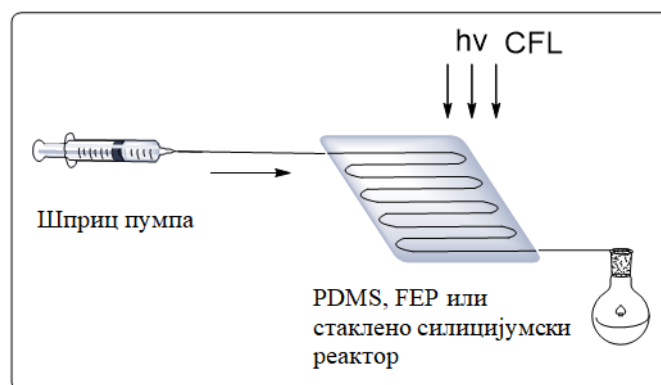
Табела 3. Оптимизација реакционих услова у конвенционалном фотохемијском реактору.



Бр.*	Растварач	Органокатализатор (x mol%)	Фотокатализатор (x mol%)	Извор светлости	t (h)	Принос (%)**	Талог
1	CH_3CN	<i>L</i> -пролин (30mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 15 W	24	67	ДА
2	CH_3CN	<i>L</i> -пролин (30mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	71	ДА
3	CH_3CN	<i>L</i> -пролин (10mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	73	ДА
4	CH_3CN	/	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	/	НЕ
5	MeOH	<i>L</i>-пролин (10mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	85	НЕ
6	MeOH	МекМилан I ген. (10mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	6	НЕ
7	MeOH	МекМилан II ген. (10mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	15	НЕ
8	MeOH	<i>L</i> -пролин (10mol%)	$[\text{Ru}(\text{bpz})_3][\text{PF}_6]_2$ (1 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	57	ДА
9	MeOH	<i>L</i> -пролин (10mol%)	Еозин <i>Y</i> (2 mol%)	<i>CFL</i> 8W	24	64	НЕ

* Реакциони услови: *N*-фенил-тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), Ru фотокатализатор (0,0025 mmol, 1 mol%) *L*-пролин (0,075 mmol, 0,3 екв.) и ацетон (10 екв.) додати су у растварач (1 mL). Реакциона смеша је осветљена компактном флуоресцентном сијалицом уз мешање одређени временски период; **принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом;

Након оптимизације реакционих услова у конвенционалном фотохемијском реактору оптимизовани услови су директно пренети у микрофлуидне реакторе уз оптимизацију ретенционог времена [250]. Тестиране су различите конфигурације микрофлуидних реактора са циљем постизања максималне ефикасности. У сврху извођења реакције у микрофлуидном реактору сви реактанти су најпре помешани у балону, у одсуству светлости, а затим пребачени у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштени кроз реактор (слика 43).



Слика 43. Схематски приказ експерименталне поставке са микрофлуидним реакторима, преузето уз дозволу из референце [250].

Под оптимизованим условима (табела 4, експеримент број 1) испитана је ефикасност реакције у сва три микрофлуидна реактора при различитим ретенционим временима.

У експериментима у којима је примењен *PDMS* микрофлуидни реактор и 2 mol% фотокатализатора $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$, постигнут је степен конверзије од 71% након 1 h (табела 4, експеримент број 2). Међутим, утврђено је да конверзија у иминијум–јон није била потпуна већ је у смеси било неизреагованог супстрата.

Како би се побољшала конверзија, ретенционо време је продужено на 2 h, што је довело до приноса од 91% (табела 4, експеримент број 3). Овај резултат представља значајан напредак у постигнутој конверзији.

Након овог изванредног резултата испитана је могућност коришћења 1 mol% катализатора при ретенционом времену од 2 h. Иако долази до незнатног смањења приноса, жељени производ се добија у приносу од 88% (табела 4, експеримент број 4). При овим условима је испитана ефикасност реакције у *FEP* микрофлуидном реактору и у стаклено–силицијумском реактору.

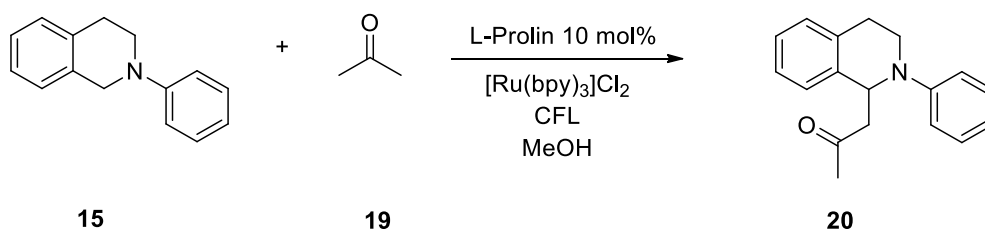
У оптимизацији реакционих услова у *FEP* микрофлуидним реакторима испитана су три различита извора светлости: компактне флуоресцентне сијалице од 8 W и 15 W и плава *LED* трака од 20 W. Независно од извора светлости конверзија у жељени производ је у сва три случаја била око 20% (табела 4, експерименти број 5–7).

У микрофлуидном реактору израђеном од стакла и силицијума степен конверзије износио је око 30% како при ретенционом времену од 30 минута (табела 4, експеримент број 8), тако и при 2 h (табела 4, експеримент број 9). Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица од 8 W.

Ови резултати показују да је *PDMS* микрофлуидни реактор оптималан избор за овај тип фотохемијских реакција, а истовремено показују значај оптимизације ретенционог времена и концентрације фотокатализатора за добијање оптималних резултата.

Како је за реоксидацију катализатора у основно стање, након редуктивног гашења побуђеног стања, неопходан кисеоник као терминална оксидујућа врста а *PDMS* је порозан за гасове то га чини погодним за овај тип реакције у односу на друга два типа реактора [251][252]. *PDMS* има танке зидове што омогућава хомогено продирање светлости, а све то омогућава ефикаснији корак формирања иминијум јона у поређењу са другим микрофлуидним реакторима који су коришћени.

Табела 4. Оптимизација експерименталних услова у Маниховој реакцији функционализације тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима.



Бр. [*]	Ru(bpy) ₃ Cl ₂	Тип реактора	t (h)	Извор светлости	Конверзија / Принос (%) ^{**}	STY (mmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹) ^{***}	Y _t (mg·min ⁻¹) ^{****}	PMI ^{*****}
1	1 mol%	Балон	24	CFL 8W	85 [*]	0,07	0,04	18
2	2 mol%	PDMS	1	CFL 8W	71	1,48	0,78	21
3	2 mol%	PDMS	2	CFL 8W	91	0,95	0,50	17
4	1 mol%	PDMS	2	CFL 8W	88	0,92	0,49	17
5	1 mol%	FEP	2	CFL 8W	19	0,20	0,11	79
6	1 mol%	FEP	2	CFL 15W	20	0,21	0,11	75
7	1 mol%	FEP	2	Плава LED трака (20 W)	20	0,21	0,11	75
8	1 mol%	Силицијум /стакло	2	CFL 8W	31	0,32	0,17	49
9	1 mol%	Силицијум /стакло	0,5	CFL 8W	30	1,25	0,66	50

* Реакциони услови: *N*-фенил-тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%) *L*-пролин (0,075 mmol, 0,3 екв.) и ацетон (10 екв.) додати су у растварач (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, док је ретенционо време 2 h; ** принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом; *** STY – запреминско временски принос; **** Y_t – масени принос производа у јединици времена; ***** PMI – масена искоришћеност реактаната;

Поред приноса производа, за поређење реакционих услова у конвенционалном фотореактору и у микрофлуидним реакторима користе се и параметри као што су запреминско временски принос (енг. *Space-Time Yield*, STY) и масени принос производа у јединици времена. Ово су индустријски параметри који такође дефинишу ефикасност реактора што омогућава њихово поређење [253].

Запреминско временски принос се дефинише као мера ефикасности реактора а квантификована је кроз количину производа која је добијена за одређено време у одређеној запремини реактора. Да би се израчунао запреминско временски принос количина добијеног производа се дели са запремином реактора и временом које је потребно да се тај производ добије (једначина 4). Овај параметар показује меру колико ефикасно систем конвертује реактанте у производ у оквиру одређене запремине и временског периода.

$$\text{Запреминско временски принос} = \frac{\text{количина производа}}{\text{запремина реактора} \cdot \text{ретенционо време}} \left[\frac{\text{mmol}}{\text{l} \cdot \text{min}} \right]$$

$$STY = \frac{n_{\text{производа}}}{V_r \cdot t_r} \quad (32)$$

Као што само име каже, масени принос производа у јединици времена представља масу производа која се добија у одређеном временском интервалу (једначина 5). Овај параметар је важан како би се у хемијским процесима проценила продуктивност реакције и оптимизовала производња, посебно ако се узме у обзир да је ретенционо време често критична величина у микрофлуидним реакторима. Висок масени принос указује на ефикасан

процес где се у кратком временском интервалу формира велика количина производа и може се користити за поређење различитих микрофлуидних реактора као и за поређење микрофлуидних и конвенционалних реактора.

$$\text{Принос} = \frac{\text{маса производа}}{\text{ретенционо време}} \left[\frac{mg}{min} \right]$$

$$Y_t = \frac{m_{\text{производа}}}{t_r} \quad (33)$$

Још један битан параметар који се заснива на маси а који је кључан из угла зелене хемије јесте масена искоришћеност реактаната у процесу синтезе (енг. *Process Mass Intensity, PMI*) [254]. Овај параметар се примењује за процену ефикасности реакције и оптимизацију процеса. Масена искоришћеност реактаната представља количник укупне масе свих реактаната и масе реакционог производа (једначина 6). Важна је из аспекта индустрије где се тежи постизању високог степена конверзије и максималног искоришћења реактаната ради смањења трошкова и повећања ефикасности процеса. Вредност овог параметра подстиче већу ефикасност у синтезама које су битне у фармацији, а његова идеална вредност је 1.

$$\text{Масена искоришћеност} = \frac{\text{укупна маса свих реактаната}}{\text{маса реакционог производа}}$$

$$PMI = \frac{\sum m_{\text{реактаната}}}{m_{\text{производа}}} \quad (34)$$

Узимајући у обзир све наведене параметре, из табеле 4 можемо видети да запреминско временски принос, као и масени принос у јединици времена, показују најбоље вредности приликом извођења експеримента у *PDMS*-у са ретенционим временом од 1 h (табела 4, експеримент број 2). Ови параметри су скоро 20 пута већи него у конвенционалном реактору (табела 4, експеримент број 1).

Веома слични резултати се добијају када се ретенционо време продужи на 2 h при истој концентрацији фотокатализатора (табела 4, експеримент број 3).

Вредности наведених параметара су незнатно ниже када се ретенционо време продужи на 2 h при чему се смањи концентрација фотокатализатора (табела 4, експеримент број 4). Запреминско–временски принос је скоро 14 пута већи него у конвенционалном реактору, док је масени принос у јединици времена 13 пута већи. Такође, потврђена је и најбоља масена искоришћеност реактаната, што је веома важно из угла зелене хемије. Наведене чињенице су у сагласности са претходним закључком да је извођење реакције при овим реакционим условима дало најбољи резултат (табела 4, експеримент број 4). Сви ови резултати показују значајно веће вредности у односу на литературне, где је вредност запреминско–временског приноса само три пута већа у односу на конвенционални фотореактор [255][256].

Енергетска ефикасност различитих извора светлости и реактора је још један параметар за процену индустријског потенцијала. Овај параметар се дефинише као однос процента приноса производа по утрошеној енергији ($\% \cdot W^{-1} \cdot h^{-1}$) и однос процента приноса производа по утрошеној енергији по површини реактора ($\% \cdot W^{-1} \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$) [257]. Добијени резултати енергетске ефикасности су сумирани у табели 5. Приказани резултати указују на то да *PDMS* микрофлуидни реактор показује највећу енергетску ефикасност у односу на друге типове реактора тј. да се у *PDMS* микрофлуидном реактору добија највећи процентни принос жељеног реакционог производа у односу на потрошену енергију. Ова карактеристика

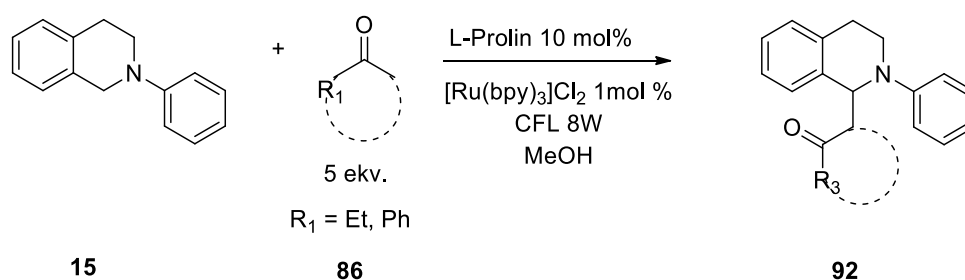
је од великог значаја за индустријску примену, јер омогућава ефикасну и економичну производњу са смањеним трошковима енергије.

Табела 5. Енергетска ефикасност извора светлости и примењених реактора за Манихову реакцију.

Тип реактора	Ретенционо време (min)	Извор светлости	Принос (%)	$\% \cdot W^{-1} \cdot h^{-1}$	$\% \cdot W^{-1} \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$
Балон	1440	CFL 8W	85	0,44	0,009
<i>PDMS</i>	120	CFL 8W	88	5,50	0,104
<i>FEP</i>	120	CFL 15W	20	0,67	0,012
Силицијум /стакло	120	CFL 8W	31	1,94	0,034

Након оптимизације реакционих услова и идентификације најпогоднијег микрофлуидног реактора за овај тип реакција, приступљено је испитивању реакције испитујући друге нуклеофиле (табела 6).

Табела 6. Експериментални услови и добијени резултати за Манихову реакцију; *N*-фенил-тетрахидроизохинолин је коришћен као супстрат док су метил-етил-кетон и ацетофенон коришћени као нуклеофиле.

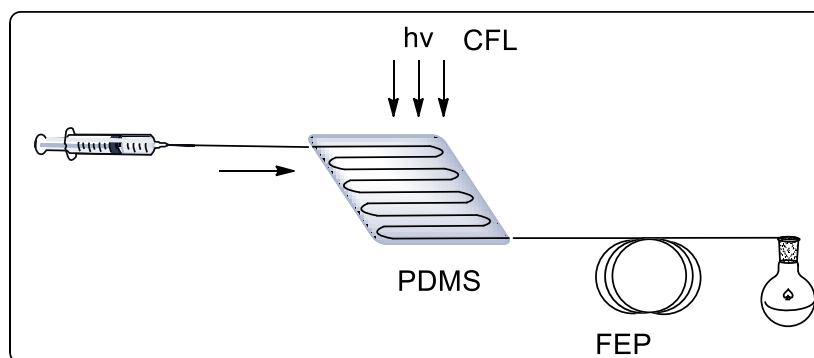


Бр. *	једињење	R_1	Тип реактора	Ретенционо време (h)	Конверзија / Принос (%) **	STY (mmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹) ***	Y_t (mg·min ⁻¹) ****	PMI *****
1	92a	Ph	<i>PDMS</i>	2	63	0,66	0,43	22
2	92a	Ph	<i>PDMS+ FEP</i>	2 +4	83	0,29	0,19	17
3	92b	Et	<i>PDMS+ FEP</i>	2 +4	89	0,31	0,17	17

* Реакциони услови: *N*-фенил-тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор $[Ru(bpy)_3]Cl_2$ (0,0025 mmol, 1 mol%) *L*-пролин (0,075 mmol, 0,3 екв.) и кетон (10 екв.) додати су у метанол (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, док ретенционо време 2 h или 6 h **принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом; *** STY – запреминско временски принос; **** Y_t – масени принос производа у јединици времена; ***** PMI – масена искоришћеност реактаната;

Први експеримент са ацетофеноном је урађен под истим експерименталним условима при чему је конверзија нижа у поређењу са ацетоном као нуклеофилом и износи 63% (табела 6, експеримент број 1). Како је у експериментима са ацетоном показано да је ретенционо време од 2 h довољно за оксидацију супстрата у иминијум-јон, долази се до закључка је корак формирања и адиције енамина на интермедијерни иминијум јон спорији и ограничавајући корак у случају ове врсте супстрата. Овај проблем превазиђен је тиме што је излаз *PDMS*-а повезан са *FEP* микрофлуидним реактором одговарајуће дужине. То обезбеђује додатна 4 h ретенционог времена при истом протоку (слика 44). На овај начин је омогућено да се у *PDMS*-у у прва 2 h одвија оксидација у иминијум-јон у присуству светлосног извора, а даља реакција адиције нуклеофила се одвијала у *FEP*-у у одсуству

светлосног извора. При овим условима остварена је задовољавајућа конверзија у реакциони производ од 83% (табела 6, експеримент број 2).



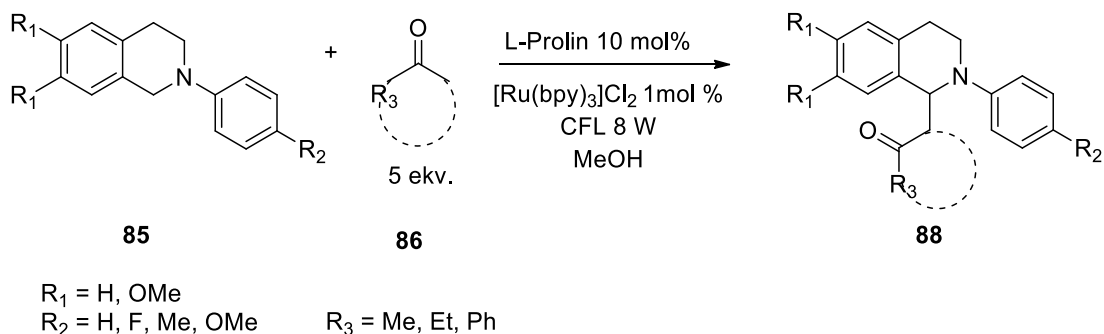
Слика 44. Схематски приказ експерименталне поставке *PDMS*-а и *FEP* микрофлуидног реактора, преузето уз дозволу из референце [250].

На исти начин је успешно изведен експеримент и са метил–етил кетоном као нуклеофилом (табела 6, експеримент број 3).

Након утврђивања експерименталних услова потребних за успешно извођење Манихове реакције са *N*-фенил–тетрахидроизохинолином у микрофлуидном реактору, даљи експерименти су настављени варирањем *THIQ* супстрата (слика 42). Добијени резултати су сумирани у табели 7. Структура свих добијених производа је потврђена НМР, ФТИЦ и масеном спектрометријом, Прилог 2.

Као што се из приказаних резултата може закључити, код свих испитаних *N*-арил–супституисаних *THIQ* уз коришћење различитих нуклеофила постигнута је задовољавајућа конверзија у жељени *C-1* функционализовани *THIQ* производ. Ови производи су потом пречишћени за даљу биолошку евалуацију. Такође се може приметити да је запреминско временски принос, масени принос у јединици времена као и масена искоришћеност реактаната у свим реакцијама истог или сличног реда величине. Ови резултати показују да се микрофлуидни реактори могу применити за ефикасну функционализацију биолошки важних *THIQ* једињења. Овакви резултати су од значаја у фармацеутској индустрији и другим областима где се функционализација органских молекула користи за развој нових лекова и биоактивних једињења.

Табела 7. Експериментални услови и добијени резултати за Манихову реакцију.



Бр.*	јединице	R ₁	R ₂	R ₃	Тип реактора	t (h)	Конверзија/ Принос (%)**	STY (mmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹)***	Y _t (mg·min ⁻¹)****	PMI *****
1	88a	H	F	Me	PDMS	2	95	0,99	0,56	27
2	88б	H	F	Et	PDMS+ FEP	2+4	85	0,30	0,18	29
3	88в	H	F	Ph	PDMS+ FEP	2+4	84	0,29	0,20	27
4	88г	OMe	H	Me	PDMS	2	95	0,99	0,64	23
5	(8д	OMe	H	Et	PDMS+ FEP	2+4	89	0,31	0,21	24
6	88ђ	OMe	H	Ph	PDMS+ FEP	2+4	73	0,25	0,20	28
7	88е	OMe	F	Me	PDMS	2	84	0,88	0,60	25
8	88ж	OMe	F	Et	PDMS+ FEP	2+4	86	0,30	0,21	24
9	88з	OMe	F	Ph	PDMS+ FEP	2+4	73	0,25	0,21	27
10	88и	OMe	Me	Me	PDMS	2	83	0,86	0,59	26
11	88ј	OMe	Me	Et	PDMS+ FEP	2+4	75	0,26	0,18	28
12	88к	OMe	Me	Ph	PDMS+ FEP	2+4	71	0,25	0,20	28
13	88л	H	OMe	Me	PDMS	2	88	0,92	0,54	28
14	88љ	H	OMe	Et	PDMS+ FEP	2+4	79	0,27	0,17	30
15	88м	H	OMe	Ph	PDMS+ FEP	2+4	70	0,24	0,17	31

* Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%), L-пролин (0,075 mmol, 0,3 екв.) и кетон (10 екв.) додати су у метанол (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, док је ретенционо време 2 h или 2h+4h **принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом; *** STY – запреминско временски принос; **** Y_t – масени принос производа у јединици времена; ***** PMI – масена искоришћеност реактаната;

Предложени каталитички циклус фоторедокс функционализације *THIQ* у присуству фотокатализатора и органокатализатора за реакцију Маниховог типа дат је у схеми 15. Катјонски аминорадикал **II** настаје преносом једног електрона са **I** на претходно фотопобуђени фотокатализатор *Ru(bpy)₃²⁺ при чему се добија снажно редуцирно средство Ru(bpy)₃⁺. Катализатор се затим оксидује до основног стања уз помоћ кисеоника из спољашње средине. Из насталог катјонског радикала долази до издвајања водоника како би се формирао иминијум–јон **III**. Добијени иминијум–јон улази у органокаталитички циклус и подлеже Маниховом типу адидије енамина **V** који је настао у реакцији између органокатализатора **IV** и кетона. Производ адидије **VI** хидролизује при чему настаје посматрани производ **VII** и ослобађа се органокатализатор који улази у нови каталитички циклус.

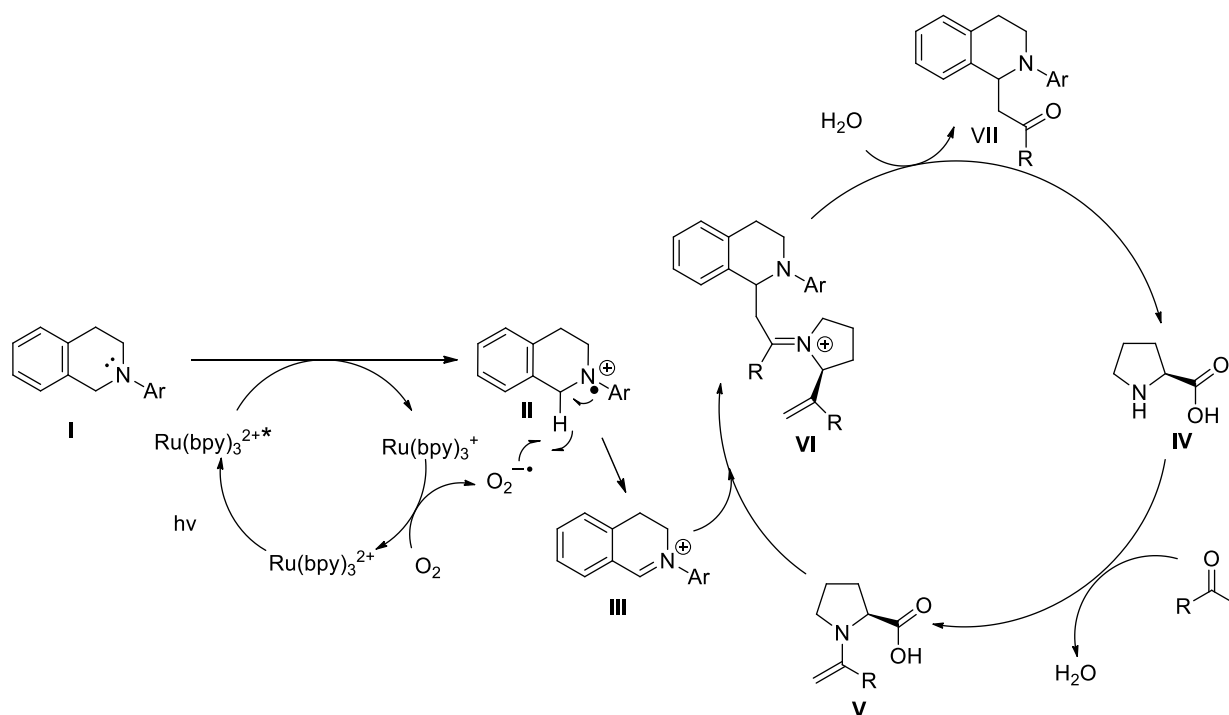


Схема 15. Предложен каталитички циклус Манихове реакције.

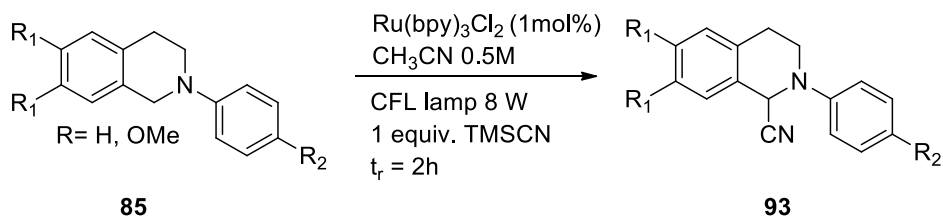
5.2.2. Синтеза α -аминонитрила Штрекером реакцијом

α -Аминонитрили су веома важна класа једињења која је присутна у великом броју природних производа као и у препаратима од фармацеутског значаја. Каталитичко оксидативно цијановање $C(sp^3)-H$ везе која је у α -положају према атому азота у структури терцијарних амина, представља једну од најједноставнијих метода за добијање α -аминонитрила.

Штрекерова реакција, адиција нитрилног јона на иминијум јон, је изведена у већ оптимизованим условима у *PDMS* микрофлуидном реактору. Као извор CN^- јона коришћен је триметилсилил-цијанид, *TMSCN*, у присуству 1 mol% $Ru(bpy)_3Cl_2$ као фотокатализатора. Додавање CN^- јона формираном иминијум јону је веома брз процес и ретенционо време од 2 h је довољно за комплетну реакцију [250]. Сви реакциони производи су добијени са одличним приносом и комплетном конверзијом полазног супстрата у производ. Ретенционо време у *PDMS* микрофлуидном реактору је краће него у конвенционалном фотохемијском реактору [111].

Примењени експериментални услови и добијени приноси жељених производа приказани су у табели 8. Као извор светлости примењена је компактна флуоресцентна сијалица од 8 W. Потврда структуре добијених реакционих производа урађена је НМР спектроскопијом, Прилог 3. Добијени реакциони производи су изоловани за биолошку евалуацију.

Табела 8. Експериментални услови и добијени резултати за Штрекерева реакцију.



$R_1 = \text{H, OMe}$
 $R_2 = \text{H, F, Me}$

Бр.*	Производ	Принос** (%)
1	<p style="text-align: center;">42</p>	95
2	<p style="text-align: center;">43</p>	89
3	<p style="text-align: center;">94</p>	84
4	<p style="text-align: center;">95</p>	95
5	<p style="text-align: center;">96</p>	91
6	<p style="text-align: center;">97</p>	85

* Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (0,0025 mmol, 1 mol%), триметилсил-цијанид (0,3 mmol, 1,2 екв.) додати су у ацетонитрил (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе и пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, ретенционо време је 2 h **принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом

5.2.3. Фоторедокс алкиниловање тетрахидроизохинолина, дуалним каталитичким системом у присуству видљиве светлости

У циљу оптимизације реакције алкиниловања *THIQ* деривата испитани су различити реакциони услови у конвенционалном реактору (табела 9). Испитано је неколико бакарних катализатора, међу њима најбољи резултат је дао $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ (10 mol%) са $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ и 5 еквивалената фенилацетилена раствореног у дихлорметану (табела 9, експеримент број 1). Реакција је изведена у конвенционалном фотохемијском реактору када је изолован производ у приносу од 58%. Као извор светлости примењена је *CFL* сијалица од 8 W.

При овим експерименталним условима испитана је ефикасност реакције у *PDMS* и *FEP* микрофлуидном реактору са ретенционим временом од 2 h. Применом *CFL* сијалица од 8 W и *PDMS* микрофлуидног реактора добијен је производ са приносом од 44% (табела 9, експеримент број 2). Променом извора светлости и применом *CFL* сијалице од 26 W добијен је принос од 20% (табела 9, експеримент број 3).

У *FEP* микрофлуидном реактору као извор светлости примењене су *LED* беле диоде, а производ је добијен са приносом од 22% (табела 9, експеримент број 4).

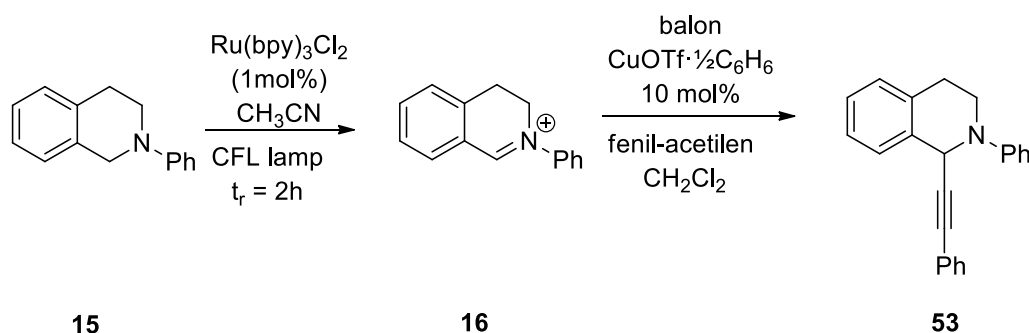
С обзиром да је реакциони принос у *FEP* микрофлуидном реактору био низак, даља оптимизација реакционих услова је настављена у *PDMS* микрофлуидном реактору. Како промена извора светлости није довела до побољшаног реакционог приноса даља оптимизација је извршена променом бакарног катализатора. Уместо $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ коришћен је $(\text{MeCN})_4\text{CuPF}_6$ са *CFL* сијалицом од 8 W и тада је реакциони производ изолован са приносом од 40% (табела 9, експеримент број 5).

Испитан је и фотокатализатор $[\text{Ru}(\text{bpz})_3](\text{PF}_6)_2$ са бакарним катализатором $(\text{MeCN})_4\text{CuPF}_6$ (табела 9, експеримент број 6) при чему ови експериментални услови нису довели до значајнијег побољшања реакционог приноса. Сви реакциони приноси добијени у микрофлуидним реакторима су нижи од оног који је добијен у конвенционалном фотохемијском реактору.

Претходно оптимизовани услови за извођење Манихове и Штрекерове реакције у *PDMS*–у нису се показали погодним за ову реакцију због слабе растворљивости $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ у органским растварачима. Добија се хетерогена смеша при чему један део нераствореног $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ остаје у каналима микрофлуидног реактора. Како би било спречено зачепљење канала, а у циљу добијања већег реакционог приноса, направљена је нова поставка експеримента.

Након детаљне оптимизације реакционих услова најбољи принос је добијен када се корак оксидације изводи у *PDMS* микрофлуидном реактору а корак алкиниловања у балону. Кроз *PDMS* је пропуштена смеша *N*-фенил–тетрахидроизохинолина, $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ и ацетонитрила са ретенционим временом од 2 h. Добијени иминијум–јони су директно преведени из *PDMS* микрофлуидног реактора у балон који је обавијен алуминијумском фолијом. У балону се налази смеша фенилацетилена и $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ растворена у дихлорметану. Смеша у балону се меша заједно са добијеним иминијум јонима још 18 h без осветљења. Степен конверзије који је добијен на овај начин је износи 99% (табела 9, експеримент број 7).

Табела 9. Оптимизација експерименталних услова за реакцију алкиниловања *N*-фенил-тетрахидроизохинолина применом различитих фотокатализатора и ко-катализатора.



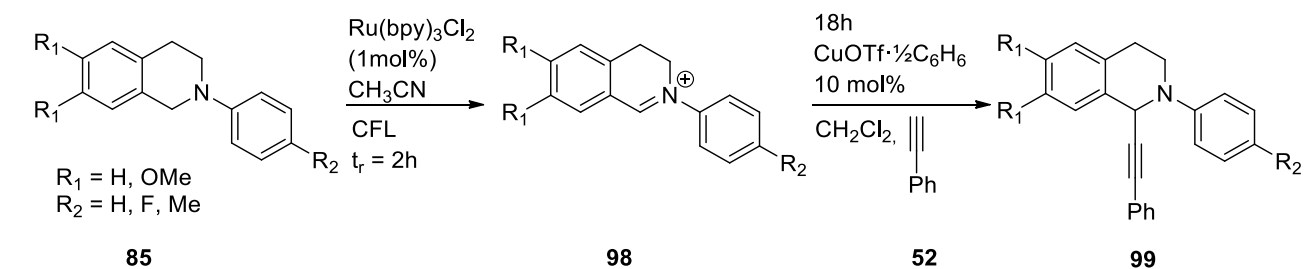
Бр. *	Фотокатализатор	Извор бакра	Тип реактора	t (h)	Извор светлости	Конверзија / Принос** (%)
1	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	CuOTf·½C ₆ H ₆	балон	24	CFL 8 W	58
2	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	CuOTf·½C ₆ H ₆	PDMS	2	CFL 8 W	44
3	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	CuOTf·½C ₆ H ₆	PDMS	2	CFL 26 W	20
4	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	CuOTf·½C ₆ H ₆	FEP	2	LED бела трака	22
5	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	(MeCN) ₄ CuPF ₆	PDMS	2	CFL 8 W	40
6	[Ru(bpz) ₃](PF ₆) ₂	(MeCN) ₄ CuPF ₆	PDMS	2	CFL 8 W	31
7	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	CuOTf·½C ₆ H ₆	PDMS	2+18	CFL 8 W	99

* Реакциони услови: *N*-фенил-тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.) и фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%), додати су у ацетонитрил (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе и пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Реакциона смеша из микрофлуидног реактора прелази у балон у којем се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (0,025 mmol, 0,1 екв.) и фенил-ацетилен (1,25 mmol, 5 екв.) у дихлорметану (1 mL). Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, ретенционо време је у микрофлуидном реактору је 2 h, док се смеша у балону мешала 18 h без осветљења. **принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом

Како је утврђено да овај експериментални приступ даје изванредне резултате, испитана је реакција алкиниловања различито супституисаних *N*-арил-THIQ са фенил-ацетиленом, табела 10.

У табели 10 су приказани резултати реакције за различито супституисане THIQ. Применом НМР, ФТИЦ и масене спектрометрије потврђена је структура добијених реакционих производа, Прилог 4. Сви добијени реакциони производи су пречишћени за биолошку евалуацију.

Табела 10. Експериментални услови и добијени резултати за реакцију алкиниловања *THIQ*.



Бр*	Производ	Принос** (%)
1.	 53	99
2.	 100	88
3.	 101	82
4.	 57	85
5.	 102	80
6.	 103	90

* Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.) и фотокатализатор $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (0,0025 mmol, 1 mol%), додати су у ацетонитрил (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе и пропуштена кроз *PDMS* микрофлуидни реактор. Реакциона смеша из *PDMS* микрофлуидног реактора прелази у балон у којем се налази смеша $\text{CuOTf} \cdot \frac{1}{2}\text{C}_6\text{H}_6$ (0,025 mmol, 0,1 екв.) и фенил-ацетилен (1,25 mmol, 5 екв.) у дихлорметану (1 mL). Као извор светлости коришћена је компактна флуоресцентна сијалица, ретенционо време је у микрофлуидном реактору је 2 h, док се смеша у балону мешала 18 h без осветљења. ** принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом

5.3. Функционализација С–Н везе терцијарних амина формирањем α -аминорадикала

Једноелектронском оксидацијом *N*-фенил-тетрахидроизохинолина долази до формирања катјонског радикала **II**, схема 16. Уколико се реакција изводи у присуству кисеоника или других оксидујућих врста долази до формирања иминијум јона **III**. Са друге стране у одсуству оксидујућих врста долази до депротоновања радикал катјонског интермедијера **II** када настаје α -аминорадикал **IV** који лако реагује са Мајкловим акцепторима или другим електрофилним врстама [133].

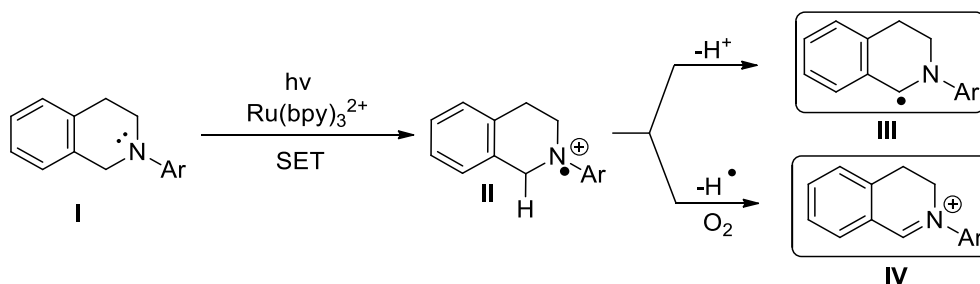


Схема 16. Фоторедокс функционализација *N*-фенил-тетрахидроизохинолина видљивом светлошћу до иминијум јона и α -аминорадикала путем преноса једног електрона.

У циљу оптимизације реакције адиције α -аминорадикала *THIQ* на електрон дефицитарна α,β -незасићена карбонилна једињења испитана је реакција у конвенционалном фотохемијском реактору у условима који су већ утврђени од стране Јуна [131].

Реакција адиције α -аминорадикала *N*-фенил-тетрахидроизохинолина на метил-винил кетон је изабрана као модел реакција. Ова реакција је најпре испитана у конвенционалном реактору у присуству 1% фотокатализатора $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ и 1 еквивалента *TFA* као адитива на температури од 50 °C (табела 11, експеримент број 1). Само киселине са вредношћу $\text{pK}_a \sim 1$ као што је *TFA* могу повећати принос ове реакције активирањем метил-винил кетона. Све остале киселине смањују принос или заустављају реакцију [131]. Улога *TFA* је да протонује електрон-дефицитарно α,β -незасићено карбонилно једињење и активира га како би се извршила адиција α -аминорадикала. Кисеоник мора бити уклоњен из реакције како би се блокирао пут за реоксидацију $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^+$ и формирање иминијум јона **III**, схема 16. Као извор светлости коришћена је *CFL* сијалица снаге 13 W а реакциони принос након 24 h је износио 80%.

Реакција је испитана у сва три микрофлуидна реактора, *PDMS*, *FEP* и силицијум/стакло, под истим експерименталним условима као у конвенционалном фотохемијском реактору само без загревања тј. на собној температури.

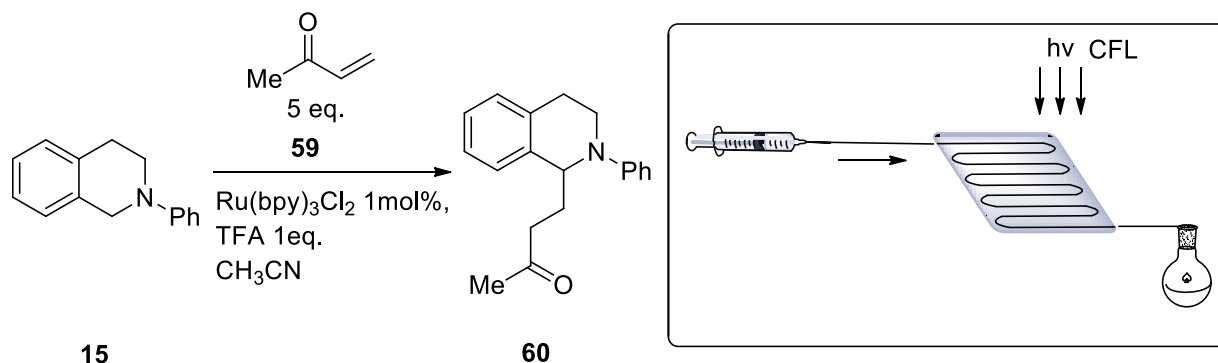
У микрофлуидном реактору од *PDMS*-а коришћено је ретенционо време од 0,5 h а реактор је осветљен са две *CFL* сијалице од 8 W [258]. Након тог времена реакциони принос је мањи од 10% при чему су у реакционој смеси заостали почетни супстрат и настали иминијум јони (табела 11, експеримент број 2). Узрок оваквог резултата је порозност *PDMS*-а за гасове што узрокује двоелектронску оксидацију *THIQ*, ово је била предност *PDMS*-а у реакцији функционализације иминијум јона док се овде показало као мана [251][252].

У експерименту са *FEP* микрофлуидним реактором, при истим условима постигнут је реакциони принос од 56% (табела 11, експеримент број 3). У циљу побољшања реакционог приноса ретенционо време је продужено на 1 h а реакциони производ је изолован са изванредним реакционим приносом жељеног производа од 84% (табела 11, експеримент број 4). Ово је уједно и најбољи добијени резултат. У истом микрофлуидном реактору, под истим

експерименталним условима, само без адитива *TFA* принос реакције је износио 51% (табела 11, експеримент број 6). Ни повећање ретенционог времена на 2 h није довело до повећања реакционог приноса (табела 11, експеримент број 8). Када је *FEP* црево осветљено са плавим *LED* диодама остварен је реакциони принос од 74% при ретенционом времену од 1 h (табела 11, експеримент број 7).

При истим експерименталним условима реакција је испитана у микрофлуидном реактору од силицијума и стакла при чему је остварен реакциони принос од 76% (табела 11, експеримент број 5).

Табела 11. Оптимизација експерименталних услова за реакцију адисије α -аминорадикала *N*-фенил-тетрахидроизохинолина на Мајклове акцепторе у микрофлуидном реактору.



Бр. *	Адитив	Тип реактора	T (°C)	t (h)	Извор светлости	Принос (%) **	STY (mmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹) ***	Y _t (mg·min ⁻¹) ****	PMI *****
1	<i>TFA</i>	балон	50	24	<i>CFL</i> 13W	80	0,07	0,04	31
2	<i>TFA</i>	<i>PDMS</i>	25	0,5	<i>CFL</i> 2 x 8W	<10	/	/	/
3	<i>TFA</i>	<i>FEP</i>	25	0,5	<i>CFL</i> 2 x 8W	56	2,33	1,30	44
4	<i>TFA</i>	<i>FEP</i>	25	1	<i>CFL</i> 2 x 8W	84	1,75	0,98	29
5	<i>TFA</i>	Силицијум /стакло	25	1	<i>CFL</i> 2 x 8W	76	1,58	0,88	32
6	/	<i>FEP</i>	25	1	<i>CFL</i> 2 x 8W Плава <i>LED</i>	51	1,06	0,59	48
7	<i>TFA</i>	<i>FEP</i>	25	1	трака (20 W)	74	1,54	0,86	33
8	<i>TFA</i>	<i>FEP</i>	25	2	<i>CFL</i> 2 x 8W	83	0,86	0,48	30

* Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%), метил винил кетон (4 екв.) и *TFA* (0,25 mmol, 1 екв.) додати су у ацетонитрил (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе и пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришћене су компактне флуоресцентне сијалице *CFL* и плаве *LED* диоде, ретенционо време је у микрофлуидном реактору је 1 h; ** Принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом; *** *STY* – запреминско временски принос; **** Y_t – масени принос производа у јединици времена; ***** *PMI* – масена искоришћеност реактаната;

На основу изложених експерименталних услова и резултата у табели 11, може се закључити да је запреминско–временски принос 33 пута већи у *FEP* микрофлуидном реактору при ретенционом времену од 30 минута (табела 11, експеримент број 3), и 25 пута већи у истом реактору са ретенционим временом од 60 минута (табела 11, експеримент број 4) у поређењу са резултатима добијеним у конвенционалном фотохемијском реактору (табела 11, експеримент број 1).

Слични резултати су добијени и у *FEP* микрофлуидном реактору који је осветљен плавим *LED* диодама (табела 11, експеримент број 7), као и у микрофлуидном реактору од

силицијума и стакла (табела 11, експеримент број 5) где је запреминско–временски принос 22 пута већи у односу на конвенционални фотохемијски реактор.

Што се тиче масеног приноса у јединици времена, најбољи резултат је такође добијен у *FEP* микрофлуидном реактору са ретенционим временом од 30 минута, где је принос добијеног производа 1,3 mg у минути. Овај резултат показује да је маса производа која се добије у једном минути 34 пута већа од масе која се добија у конвенционалном фотохемијском реактору. Међутим, када се размотри масена искоришћеност реактаната у процесу синтезе, ретенционо време од 1 h је најбољи избор, што је важно са становишта зелене хемије.

Добијене вредности енергетске ефикасности извора светлости и коришћених реактора приказане су у табели 12. Најбоље вредности су добијене за *FEP* микрофлуидни реактор са ретенционим временом од 30 минута када се користе две *CFL* сијалице од 8 W. Сличне вредности су добијене и за *FEP* микрофлуидни реактор са ретенционим временом од 60 минута уз примену истог извора светлости. Ови подаци указују да *FEP* микрофлуидни реактори показују највећу енергетску ефикасност за овај тип реакција. *FEP* микрофлуидни реактор се показао као посебно погодан за постизање високог процента приноса производа у складу са потрошњом енергије, што га чини перспективним за примену у индустријским процесима.

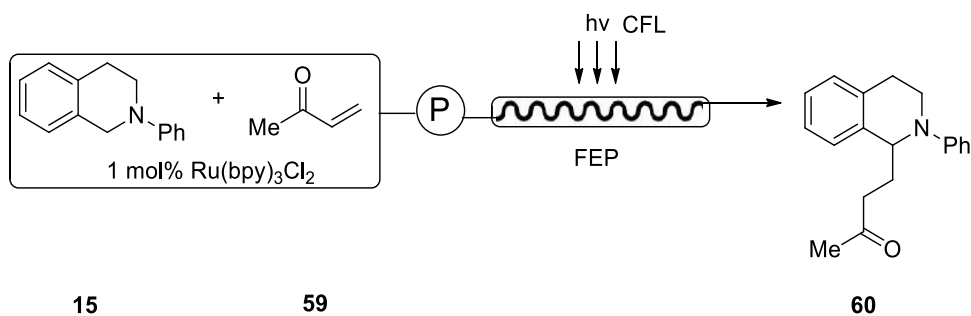
Табела 12. Енергетска ефикасност извора светлости и примењених реактора.

Тип реактора	Ретенционо време (min)	Извор светлости	Принос (%)	$\% \cdot W^{-1} \cdot h^{-1}$	$\% \cdot W^{-1} \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$
Балон	1440	13	80	0,2	0,003
Силицијум/стакло	60	<i>CFL</i> 2 x 8W	76	4,75	0,238
<i>FEP</i>	30	<i>CFL</i> 13W	56	7,0	0,147
<i>FEP</i>	60	<i>CFL</i> 2 x 8W	84	5,3	0,110
<i>FEP</i>	120	<i>CFL</i> 2 x 8W	83	2,6	0,054

Како би се директно упоредили услови реакције у *FEP* микрофлуидном реактору и конвенционалном реактору, реакција је изведена у оба реактора на собној температури са ретенционим временом од 1 h. Добијени резултати су приказани у табели 13, где се може видети да је у конвенционалном реактору конверзија у реакциони производ након 1 h мања од 5% (табела 13, експеримент број 1) док је у *FEP* микрофлуидном реактору конверзија у жељени производ 94% (табела 13, експеримент број 2). Овде се јасно може видети разлика у реактивности у ова два типа реактора.

Реакција је при истим реакционим условима урађена у *FEP* микрофлуидном реактору запремине 5ml, одмерен је један грам супстрата, количине 5 mmol. При овим условима добијамо изврстан резултат конверзије у жељени производ где се може уочити да се конверзија супстрата у производ одвија брзином од 1 mmol·h⁻¹ (табела 13, експеримент број 3). Поред одличног реакционог приноса вредности параметара као што су запреминско–временски принос, масени принос у јединици времена и масена искоришћеност реактаната се још више истичу на скали од једног грама супстрата. Ови резултати додатно потврђују велики потенцијал примене *FEP* микрофлуидног реактора за ефикасну функционализацију биолошки активних тетрахидроизохинолина формирањем α -аминорадикала и са аспекта индустријске производње и са аспекта зелене хемије.

Табела 13. Поређење резултата за реакцију адиције *N*-фенил-тетрахидроизохинолина метил винил кетону изведене у конвенционалном реактору и *FEP* микрофлуидном реактору након 1 h.

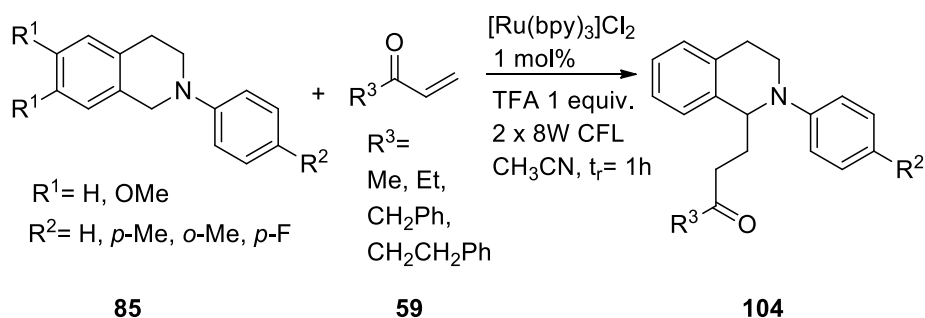


Бр.	Тип реактора	t (h)	Количина (mmol)	Брзина протока (mL·h ⁻¹)	Конверзија (Принос) (%) ****	STY (mmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹) *****	Y _t (mg·min ⁻¹) *****	PMI *****
1*	Балон	1	0.2	/	<5	/	/	/
2**	<i>FEP</i>	1	0.2	1	94(84)	1,75	0,98	29
3***	<i>FEP</i>	1	5	5	92(83)	34,58	19,32	20

* Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%), метил винил кетон (4 екв.) и *TFA* (0,25 mmol, 1 екв.) додати су у ацетонитрил (2 mL). Реакција је изведена у конвенционалном фотохемијском реактору на собној температури. ** Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%), метил винил кетон (4 екв.) и *TFA* (0,25 mmol, 1 екв.) додати су у ацетонитрил (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе и пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришћен су две компактне флуоресцентне сијалице од 8 W, ретенционо време 1 h. *** Реакција на великој скали: Тетрахидроизохинолин (1,05 g, 5 mmol) концентрације 0,2 M (25 ml растварача), запремина реактора 5ml; **** Принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом; ***** STY – запреминско временски принос; ***** Y_t – масени принос производа у јединици времена; ***** PMI – масена искоришћеност реактаната;

Даља испитивања синтеза нових деривата су настављена у *FEP* микрофлуидном реактору са различито супституисаним *THIQ* и различитим α,β -незасићеним кетонима као што су метил-винил кетон, етил-винил кетон, фенил-винил кетон и 5-фенилпент-1-ен-3-он. Као што се може видети из табеле 14, код свих испитаних *THIQ*, при коришћењу различитих електрофилних партнера, остварен је одличан принос у жељени *C-1* функционализовани *THIQ* производ, без споредних производа. Добијени реакциони производи су пречишћени за даљу биолошку евалуацију. Применом НМР, ФТИЦ и масене спектрометрије потврђена је структура добијених реакционих производа, Прилог 5.

Табела 14. Експериментални услови за реакцију адиције различито супституисаних *THIQ* са различитим α,β -незасићеним кетонима.



Бр.*	Једињење	R ¹	R ²	R ³	t (h)	Принос (%)**	STY (mmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹)***	Y _t (mg·min ⁻¹)****	PMI*****
1	60	H	H	Me	1	84	1,75	0,98	29
2	104а	H	H	Et	1	75	1,56	0,92	31
3	104б	H	H	Ph	1	77	1,60	1,10	26
4	104в	H	H	CH ₂ CH ₂ Ph	1	83	1,73	1,28	22
5	104г	H	F	Me	1	81	1,69	1,00	29
6	104д	H	F	Et	1	80	1,67	1,04	28
7	104ђ	H	F	CH ₂ CH ₂ Ph	1	66	1,38	1,07	27
8	104е	H	OMe	Me	1	60	1,25	0,77	37
9	104ж	H	OMe	Et	1	66	1,38	0,89	32
10	104з	H	OMe	Ph	1	62	1,29	0,96	30
11	104и	OMe	H	Me	1	81	1,69	1,15	25
12	104ј	OMe	H	Et	1	69	1,44	1,02	29
13	104к	OMe	H	Ph	1	83	1,73	1,39	21
14	104л	OMe	H	CH ₂ CH ₂ Ph	1	76	1,58	1,36	21
15	104љ	OMe	F	Me	1	84	1,75	1,25	23
16	104м	OMe	F	Et	1	79	1,65	1,22	24
17	104н	OMe	F	Ph	1	73	1,52	1,28	23
18	104њ	OMe	F	CH ₂ CH ₂ Ph	1	69	1,44	1,29	23
19	104о	OMe	Me	Me	1	94	1,96	1,38	21
20	104п	OMe	Me	Et	1	72	1,50	1,10	26
21	104р	OMe	Me	Ph	1	80	1,67	1,39	21
22	104с	OMe	Me	CH ₂ CH ₂ Ph	1	75	1,56	1,39	21

* Реакциони услови: Тетрахидроизохинолин (0,25 mmol, 1 екв.), фотокатализатор [Ru(bpy)₃]Cl₂ (0,0025 mmol, 1 mol%), и TFA (0,25 mmol, 1 екв.) додати су у ацетонитрил (2 mL), а затим се додаје α,β -незасићен кетон (1 mmol, 4 екв.). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе и пропуштена кроз микрофлуидни реактор. Као извор светлости коришће су две компактне флуоресцентне сијалице од 8 W. Ретенционо време у микрофлуидном реактору је 1 h. ** Принос реакционог производа је одређен танкослојном хроматографијом; *** STY – запреминско временски принос; **** Y_t – масени принос производа у јединици времена; ***** PMI – масена искоришћеност реактанта;

Предложени каталитички циклус фоторедокс функционализације *N*-фенил-тетрахидроизохинолина до α -аминорадикала у присуству фотокатализатора и TFA и адиције на електрон-дефицирна α,β -незасићена карбонилна једињења је већ описан у литератури, схема 17 [131]. Катјонски аминорадикал **II** се генерише оксидацијом **I** и преносом једног електрона са претходно фотопобуђеног фотокатализатора *Ru(bpy)₃²⁺ који се овим путем редукује до Ru(bpy)₃⁺. Катјонски радикал интермедијер **II** подлеже процесу депротоновања при чему настаје нуклеофилни α -аминорадикал **III**, који се адира на енон при чему настаје кеторадикал **IV**. Настали α -кеторадикал **IV** наставља ланчану радикалску реакцију апстраховањем водоника из **I** при чему се формира реактивна врста **III** која поново покреће ланчану реакцију. Улога TFA јесте у снижавању кинетичке баријере за адицију

нуклеофилног α -аминорадикала на енон тако да адиција не представља ограничавајући корак. Пропагација радикалског ланца је кључни корак који доминира у формирању производа а не каталитички циклус фотокатализатора.

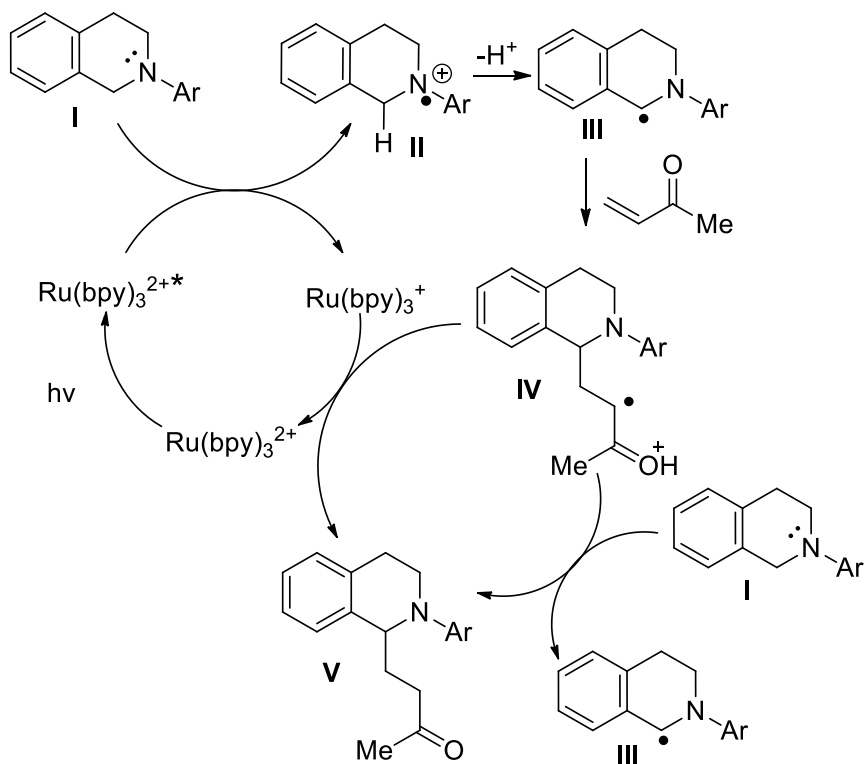


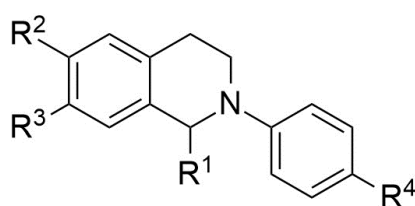
Схема 17. Предложен каталитички циклус адиције *N*-фенил-тетрахидроизохинолина метил винил кетону, преузето уз дозволу [258].

5.4. Испитивање утицаја тетрахидроизохинолина на активност *AChE* и *BuChE*

У оквиру ове докторске дисертације синтетисани су тетрахидроизохинолини са различитим супституентима у положају R^1 и различитим *N*-арил групама. Ови тетрахидроизохинолини су подељени у осам група на основу врсте супституента у положају R^1 (табела 15). Утицај синтетисаних једињења на активност *AChE* и *BuChE* је испитан са циљем процене њиховог потенцијала за примену у терапији АБ.

Скрининг тест урађен при концентрацији ТНІQ 1×10^{-5} М дао је увид у то које структуре ТНІQ могу бити даље разматране као потенцијални лекови.

Табела 15. Структура испитиваних тетраизохинолина и проценат инхибиције *AChE* и *BuChE* одређен Елмановом методом при концентрацији тетрахидроизохинолина 1×10^{-5} М. Активност ензима $0,0285 \text{ U} \cdot \text{ml}^{-1}$, време преинкубације 6 минута, време инкубације 6 минута на 37°C .



79

Група	Једињење	Структура				<i>AChE</i>	<i>BuChE</i>
		R^1	R^2	R^3	R^4	% инхибиције 1×10^{-5}	% инхибиције 1×10^{-5}
I	24	$\text{CH}_3\text{COCH}_2-$	H-	H-	H-	30	43
	88a	$\text{CH}_3\text{COCH}_2-$	H-	H-	F-	64	47
	88г	$\text{CH}_3\text{COCH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	H-	68	2
	88e	$\text{CH}_3\text{COCH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	F-	12	15
II	88д	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	H-	20	0
	88j	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	CH_3-	0	0
III	42	CN-	H-	H-	H-	12	23
	96	CN-	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	F-	20	20
	97	CN-	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	CH_3-	18	20
IV	53	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_2-$	H-	H-	H-	100	100
	57	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	H-	100	40
	105	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_2-$	HO-	H-	H-	32	30
V	92a	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2-$	H-	H-	H-	100	54
	88м	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2-$	H-	H-	$\text{CH}_3\text{O}-$	59	20
	88ђ	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	H-	100	37
	88з	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	F-	70	20
VI	104б	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2\text{CH}_2-$	H-	H-	H-	100	75
	104к	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2\text{CH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	H-	75	30
VII	104в	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2-$	H-	H-	H-	100	100
	104л	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	$\text{CH}_3\text{O}-$	H-	70	30
VIII		H-	H-	H-	H-	0	11

Из табеле 15 се може видети да једињења из групе I, II и III која у положају R^1 поседују супституенате $\text{CH}_3\text{COCH}_2-$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2-$ и CN- показују низак проценат

инхибиције према *AChE* и *BuChE*. Процент инхибиције за ова једињења износи 68% или мање без обзира на супституенте у другим положајима.

Једињење **53** из групе IV поседује фенил групу која је троструком везом раздвојена од скелета тетра hidroизохинолина. Ово једињење показује 100% инхибиторне активности према *AChE* и *BuChE*. Једињење **57**, група IV, које у положају R² и R³ има метокси супституенте, показује 100% инхибиторне активности према *AChE*, али само 37% према *BuChE*. Уклањање метокси група и увођење хидроксилне групе у положају R³ доводи до смањења инхибиције тј. једињење **105**, група IV, не инхибира *BuChE* и *AChE*. На основу ових резултата може се закључити да присуство метокси групе утиче на инхибицију *BuChE*, док присуство хидроксилне групе смањује инхибицију оба ензима.

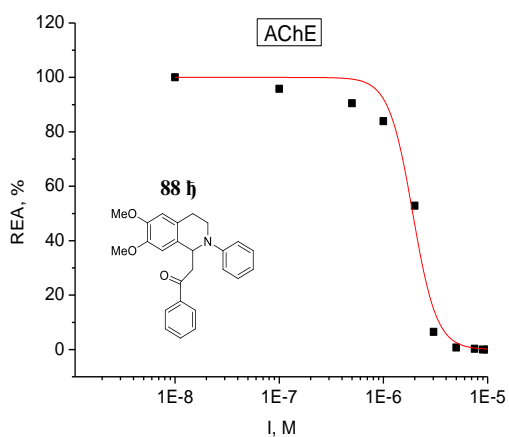
Једињења из групе V имају фенил групу која је везана за карбонилну а која је метиленском групом раздвојена од скелета тетра hidroизохинолина. Два једињења из ове групе показују 100% инхибиторне активности према *AChE*, **88ђ** и **92а**, било да су присутне или одсутне метокси групе у положајима R² и R³. Једињења **88м** и **88з** инхибирају *AChE* са 59% односно 70%, док за *BuChE* показују инхибиторну активност од 20% у оба случаја.

Једињења из групе VI имају једну метиленску групу више између карбонилне групе и скелета тетра hidroизохинолина у односу на једињења из групе V. Једињења из ове групе без супституената у положајима R² и R³ показују 100% инхибиције према *AChE* и 75% инхибиције према *BuChE*. Увођењем метокси супституената у положајима R² и R³ долази до смањења степена инхибиције на 75% према *AChE* и на 30% према *BuChE*.

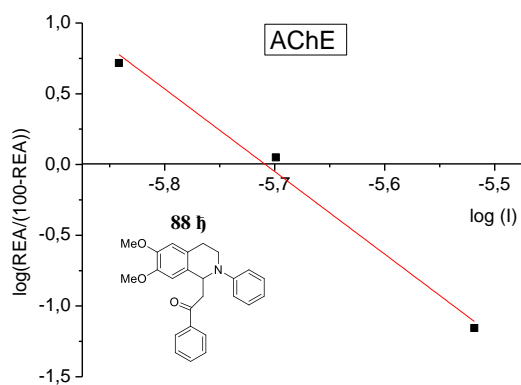
У групи VII, у положају R¹ су присутне две метиленске групе више између карбонилне групе и фенил групе. Једињење **104в** показује 100% инхибиторне активности према *AChE* и *BuChE* без супституената у положају R² и R³. Једињење **104л**, супституисано метокси групама у положају R² и R³ показује 70% инхибиторне активности према *AChE* и 30% према *BuChE*.

Резултати указују на то да присуство фенил групе у положају R¹ повољно утиче на степен инхибиције, док присуство супституената као што су електрон–акцепторска флуоро група или електрон–донорска метокси група у положају R⁴ доводи до смањења инхибиције. Такође повећање броја метиленских група у положају R¹ доводи до повећања инхибиције *BuChE*, у одсуству супституената у положајима R² и R³. Присуство метокси група у положају R² и R³ значајно утиче на инхибиторну активност према *BuChE*.

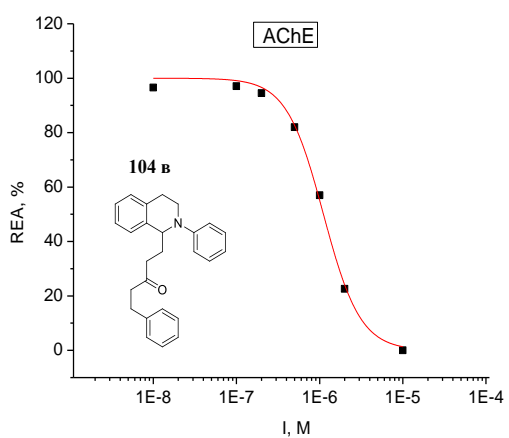
Детаљан инхибициони профил је урађен само за она једињења која показују 100% инхибиторне активности према *AChE* и *BuChE* при концентрацији тетра hidroизохинолина од 1×10^{-5} M. Као најпотентнији инхибитори показала су се једињења **105**, **57**, **92а**, **88ђ**, **104б** и **104в** (табела 15). Међу њима, једињења **88ђ** и **104б** су имала најниже IC_{50} вредности и одабрана су као водећа једињења. Добијени резултати су показали да сва изабрана једињења инхибирају активност холинергичких ензима на концентрацијски завистан начин. Експериментално добијене инхибиционе криве, активност ензима у зависности од концентрације инхибитора, као и Хилова анализа инхибиције за најпотентнија једињења **88ђ** и **104б**, приказане су на слици 45.



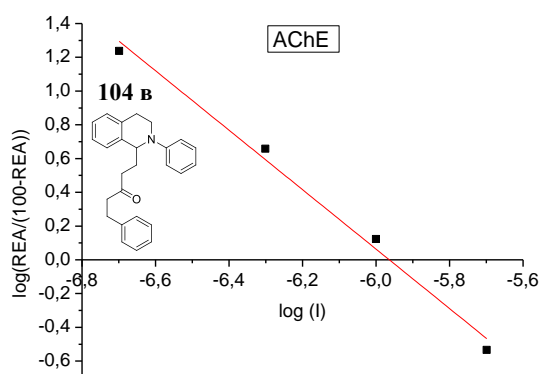
a)



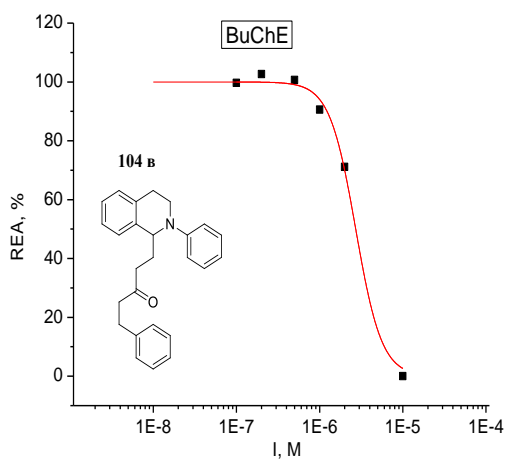
б)



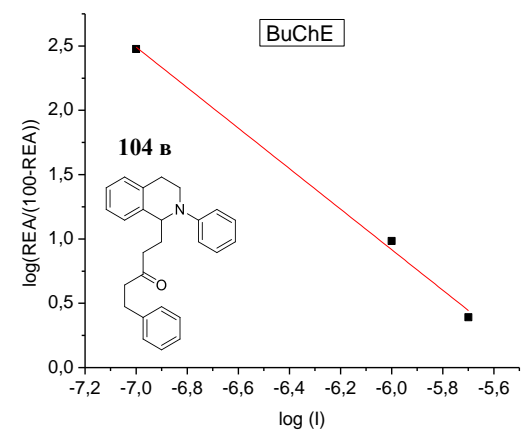
в)



г)



д)



ђ)

Слика 45. Инхибиционе криве и Хилова анализа за *AChE* и једињење **88h** (а, б); *AChE* и једињење **104в** (в, г); *BuChE* и једињење **104в** (д, ђ). Активност ензима $1\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$, концентрација *THIQ* једињења 1×10^{-5} M, преинкубационо време 15 минута, инкубација 5 минута на 37°C .

Степен инхибиције *AChE* и *BuChE* синтетисаних *THIQ* је одређен на основу следеће једначине:

$$\% \text{ инхибиције } AChE(BuChE) = \frac{A_K - A_A}{A_K} \cdot 100\% \quad (35)$$

док је релативна ензимска активност (енг. *Relative Enzyme Activity*, *REA*) израчуната коришћењем једначине:

$$REA = \frac{A_A}{A_K} \cdot 100 \quad (36)$$

где су:

- A_K – апсорбанција контроле (ензим без инхибитора) мерена на 412 nm;
- A_A – апсорбанција испитиваног раствора са инхибитором мерена на 412 nm.

Инхибициони потенцијал је представљен као зависност релативне ензимске активности од концентрације испитиваних *THIQ* једињења. Ова зависност је анализирана користећи сигмоидну функцију фитовања:

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + (x/x_0)^p} + A_2 \quad (37)$$

где су: x – концентрација инхибитора; x_0 – је IC_{50} вредност; y – вредност је једнака *REA*; A_1 и A_2 су константе ($A_1 \approx 100$, $A_2 \approx 0$); параметар p је једнак Хиловом коефицијенту.

Резултати фитовања показују како се релативна ензимска активност мења у зависности од концентрације инхибитора. Ова зависност је представљена сигмоидном кривом, што указује на постепено снижавање ензимске активности са повећањем концентрације инхибитора.

Концентрацијски опсег инхибитора који одговара линеарној регресији добијене сигмоидне криве је коришћен за Хиллову анализу према изразу:

$$\log\left(\frac{REA}{100-REA}\right) = -n \log[I] + n \log IC_{50} \quad (38)$$

где су:

- $[I]$ – концентрација инхибитора;
- IC_{50} – концентрација инхибитора која доводи до смањења активности ензима за 50% у односу на контролну вредност. Користи се као мера релативне инхибиторне потентности међу једињењима;
- n – Хилов коефицијент представља степен кооперативности реакције и пружа информације о осетљивост ензима на промену концентрације супстрата. На основу његове вредности могуће је одредити како везивање супстрата за активно место утиче на везивање осталих супстрата.

Вредност Хиловог коефицијента нам омогућава да разликујемо два случаја: негативну кооперативност и позитивну кооперативност. У случају негативне кооперативности, када је вредност Хиловог коефицијента мања од један, везивање лиганда за активно место смањује афинитет других активних места за везивање осталих супстрата. Овај тип кооперативности резултује смањеном осетљивошћу ензима на промену концентрације супстрата. Са друге

стране, када је вредност Хиловог коефицијента већа од један, онда је кооперативност позитивна. У овом случају, везивање лиганда за активно место повећава афинитет других активних места ензима за везивање осталих супстрата. Ензим показује осетљивост приликом промене концентрације супстрата јер долази до промене активности и при малим променама концентрације супстрата. Такође, вредност Хиловог коефицијента може бити и једнака јединици, што указује на инхибицију где везивање супстрата на једном активном месту ни на који начин не утиче на везивање осталих супстрата.

У табели 16. су приказане вредности параметара инхибиције за испитивана једињења, IC_{50} и n . Ови параметри су добијени применом сигмоидног фитовања на основу експерименталних података као и Хиловом анализом где се показало веома добро слагање. За сва испитивана једињења IC_{50} вредности се налазе у опсегу ниских микромоларних концентрација, што указује на јаку инхибиторну активност једињења. Једињења **88ђ** и **104в** су показала најмање IC_{50} вредности, што указује на њихову веома високу инхибиторну активност. Вредности Хиловог коефицијента у свим случајевима показује позитивну кооперативност.

Табела 16. Параметри инхибиције, IC_{50} и n , добијени сигмоидним фитовањем и Хиловом анализом.

Једињење	<i>AChE</i>		<i>AChE</i>		<i>BuChE</i>		<i>BuChE</i>	
	Сигмоидно фитовање		Хилова анализа		Сигмоидно фитовање		Хилова анализа	
	IC_{50} , μM	p	IC_{50} , μM	n	IC_{50} , μM	p	IC_{50} , μM	n
53	2,01±0,20	2,68±0,50	2,00	3,03	4,29±0,09	2,32±0,22	4,10	2,21
57	3,42±0,15	2,68±0,30	3,37	2,65	–	–	–	–
92a	4,29±0,09	5,56±0,47	4,26	6,04	8,26±1,05	1,37±0,28	8,10	1,70
88ђ	1,91±0,10	3,78±0,78	1,95	5,84	–	–	–	–
1046	2,42±0,09	3,34±0,35	2,21	3,42	6,28±0,36	1,80±0,25	6,17	1,89
104в	1,11±0,04	1,95±0,14	1,08	1,76	2,71±0,20	2,76±0,48	3,82	1,57

У табели 17 су приказане вредности за селективност испитаних једињења према *AChE* и *BuChE*. Селективност ензима према инхибиторима зависи од структуре ензима, активног места, конформације и окружења. У свим примерима селективност је већа за *AChE* него за *BuChE*.

Табела 17. Селективност за *AChE* и *BuChE*.

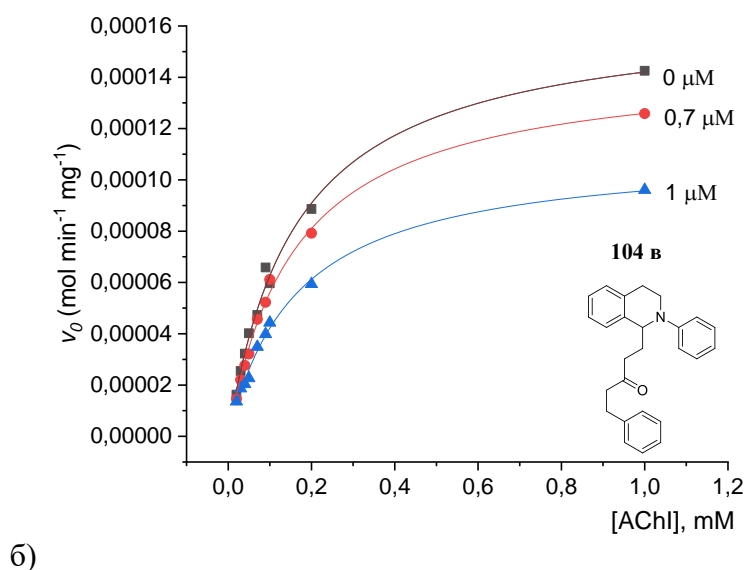
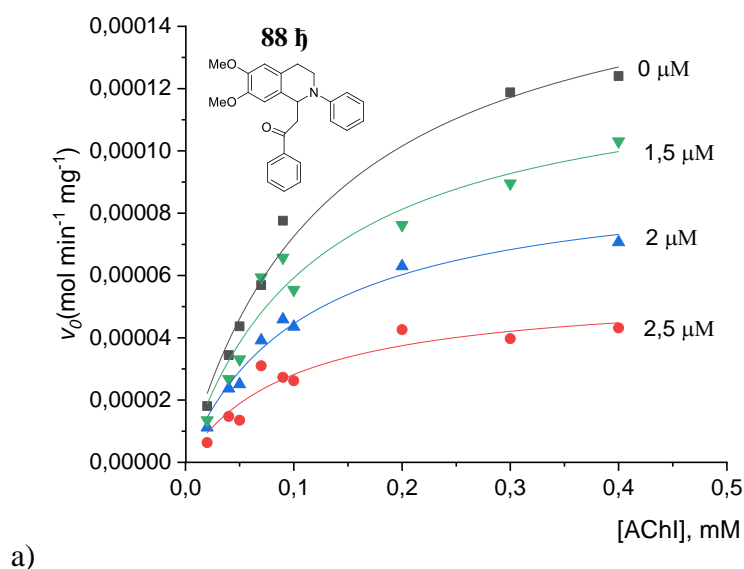
Једињење	Селективност за <i>AChE</i> :	Селективност за <i>BuChE</i> :
	$IC_{50}(BuChE)/IC_{50}(AChE)$	$IC_{50}(AChE)/IC_{50}(BuChE)$
53	2,13	0,46
92a	1,92	0,52
1046	2,59	0,39
104в	2,45	0,41

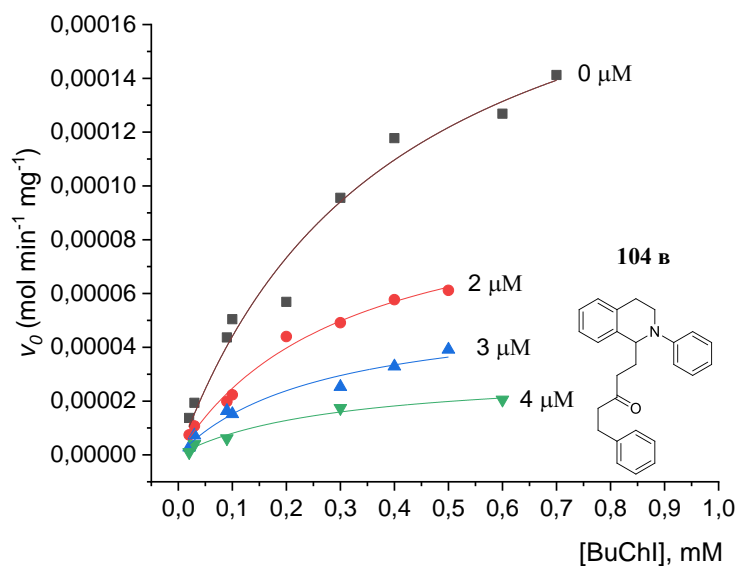
5.5. Ензимска кинетика и одређивање типа инхибиције

Фундаментална ензимска кинетика је од великог значаја за дизајн и интерпретацију *in vitro* експеримената метаболизма лекова. Она нам омогућава да разумемо и претпоставимо како ензими интерагују са лековима и другим супстанцијама, као и како те реакције утичу на брзину и степен метаболисања лекова у организму. Најчешћи тип кинетичке анализе који се примењује у ензимологији је Михаелис–Ментен кинетика [178]. Она описује однос између брзине реакције и концентрације супстрата, при чему укључује параметре као што су афинитет према супстрату и максимална брзина реакције.

Како је претходно приказано, на основу добијених вредности IC_{50} као најпотентнија инхибиторна једињења показала су се **88ђ** и **104в**. За ова једињења су урађена детаљна кинетичка испитивања чиме су одређени кинетички параметри v_{max} , K_m и K_I на основу којих је одређен механизам инхибиције *AChE* и *BuChE*.

Зависност почетне брзине реакције од концентрације ензима $v_0 = f([S])$ за испитивана једињења приказана је на слици 46.

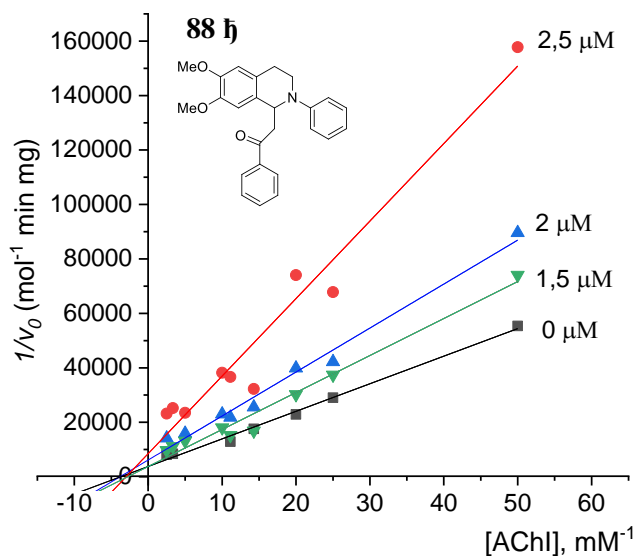




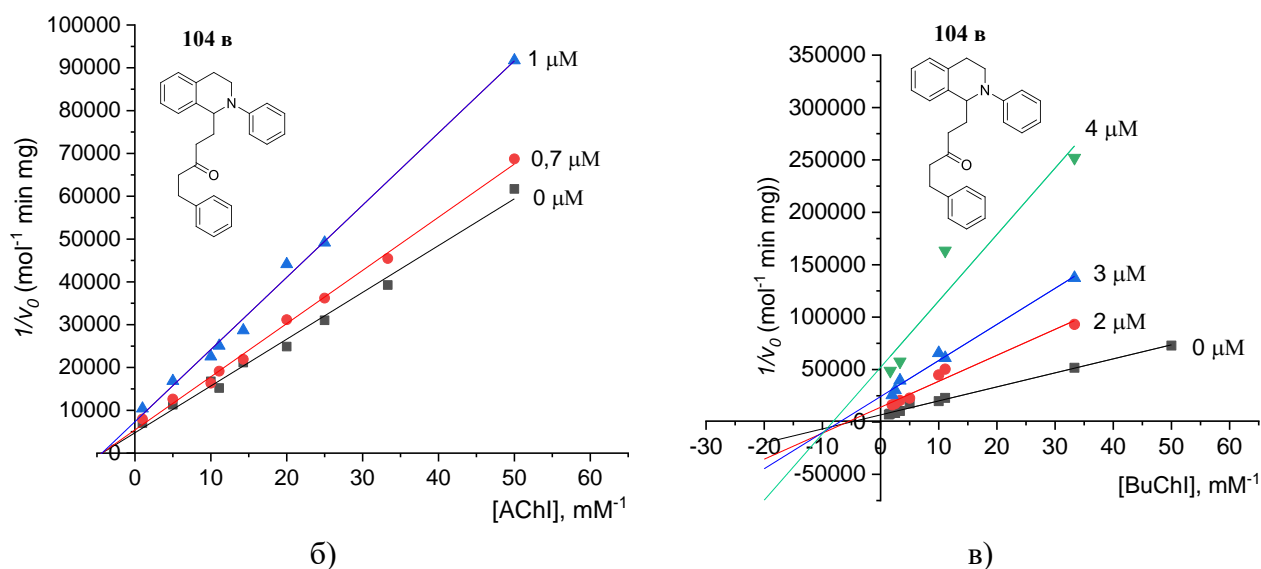
в)

Слика 46. Графички приказ Михаелис–Ментен једначине за одабране концентрације инхибитора и ензима: а) *AChE* и једињење **88ђ**; б) *AChE* и једињење **104в**; в) *BuChE* и једињење **104в**.

Нумеричке вредности кинетичких параметара максималне брзине (v_{max}) и Михаелис–Ментен константе (K_m) одређене су применом линеарног фитовања експерименталних тачака на Лајнвивер–Барк–овом графику, $1/v_0 = f(1/[S_0])$, применом једначине 5, слика 47 [259]. Коришћене су одабране концентрације инхибитора, $[I]$, и ензима, $[S_0]$, које су блиске вредности IC_{50} . Након анализе добијених кинетичких параметара одређен је тип инхибиције, а резултати су приказани у табели 18. Ова анализа нам пружа увид у механизам инхибиције и дефинише како се инхибитор везује за ензим, што је од великог значаја у биохемијским процесима.



а)



Слика 47. Лајнвивер–Барк–ов график, $1/v_0 = f(1/[S_0])$, за одабране концентрације инхибитора и ензима а) *AChE* и једињење **88ђ**; б) *AChE* и једињење **104в**; в) *BuChE* и једињење **104в**.

Табела 18. Вредности кинетичких параметара одређених коришћењем Лајнвивер–Барк–ове једначине.

Ензим	Инхибитор	IC_{50} , μM	$[I]$, μM	$v_{max\text{ ap.}}$ $\left(\frac{\text{mol}}{\text{min}\cdot\text{mg}}\right)\cdot 10^{-4}$	K_m , mM	K_I , μM	Тип инхибиције
<i>AChE</i>	88ђ		0	$2,65\pm 0,02$	$0,27\pm 0,01$		Некомпетитивна
			1,5	$2,65\pm 0,02$	$0,36\pm 0,01$	$1,78\pm 0,10$	
			2	$1,62\pm 0,01$	$0,27\pm 0,02$		
			2,5	$1,18\pm 0,01$	$0,33\pm 0,03$		
<i>AChE</i>	104в		0	$2,11\pm 0,02$	$0,23\pm 0,03$	$1,96\pm 0,01$	Некомпетитивна
			0,7	$1,85\pm 0,01$	$0,23\pm 0,02$		
			1	$1,36\pm 0,01$	$0,23\pm 0,03$		
Ензим	Инхибитор	IC_{50} , μM	$[I]$, μM	$v_{max\text{ ap.}}$ $\left(\frac{\text{mol}}{\text{min}\cdot\text{mg}}\right)\cdot 10^{-4}$	$K_{m\text{ ap.}}$ mM	αK_I , μM	Тип инхибиције
<i>BuChE</i>	104в		0	$1,49\pm 0,01$	$0,20\pm 0,02$	$0,08\pm 0,10$	Мешовита, компетитивна– акомпетитивна
			2	$0,71\pm 0,01$	$0,18\pm 0,02$		
			3	$0,41\pm 0,01$	$0,14\pm 0,01$		
			4	$0,19\pm 0,01$	$0,12\pm 0,01$		

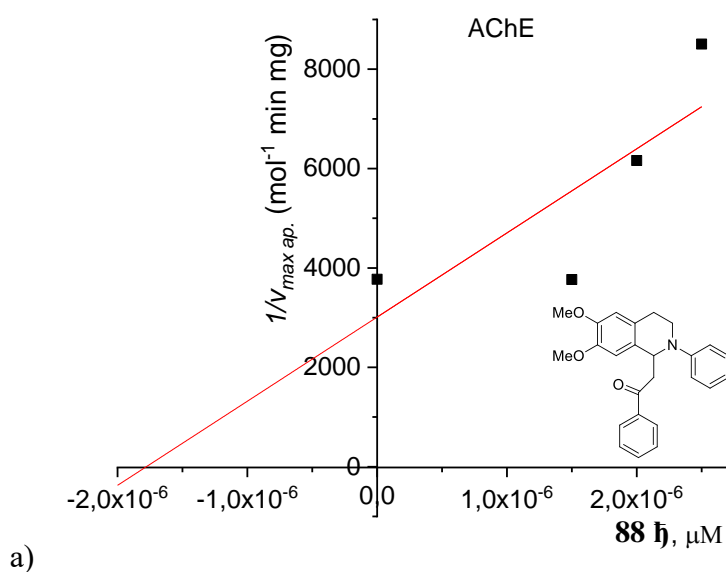
Анализом кинетичких параметара инхибиције *AChE* једињењем **88ђ** уочено је да са повећањем концентрације инхибитора долази до смањења вредности v_{max} у односу на реакцију без инхибитора, док се вредност K_m скоро не мења, јер инхибитор не утиче на везивање супстрата за ензим, нити супстрат утиче на везивање инхибитора за ензим. Изложени резултати наводе на закључак да једињење **88ђ** инхибира *AChE* некомпетитивним механизмом.

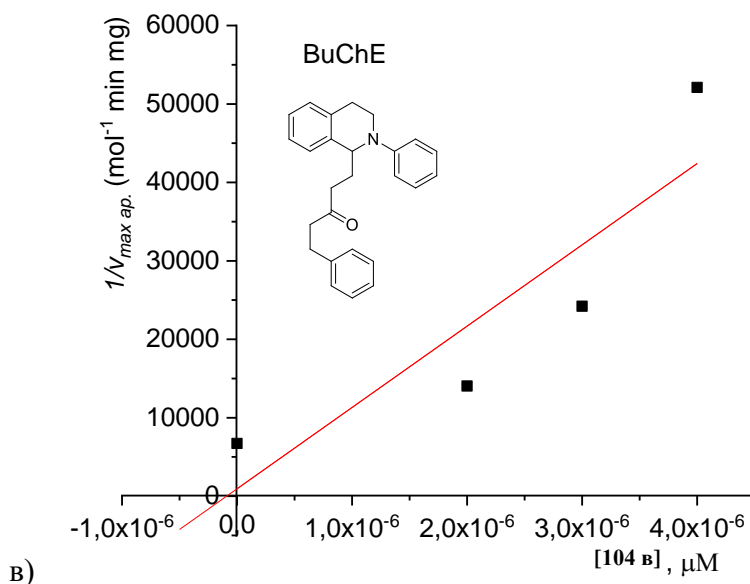
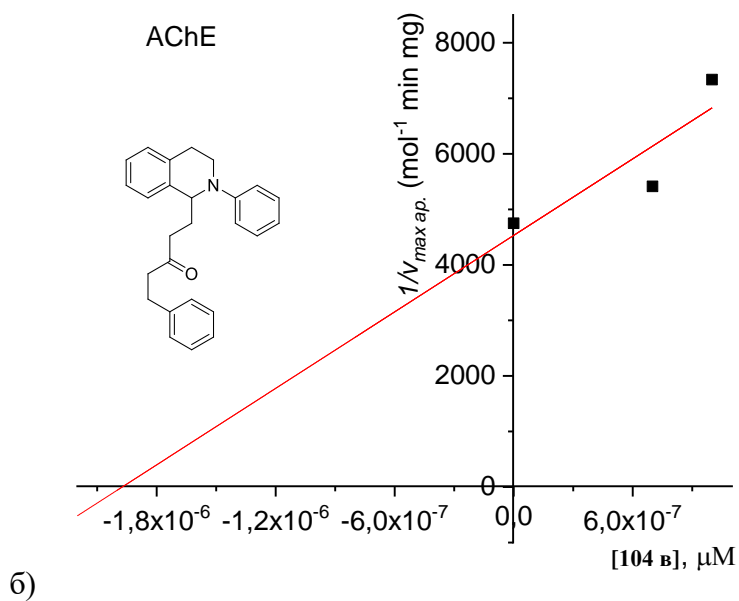
У случају инхибиције *AChE* једињењем **104в**, анализом кинетичких параметара долази се до закључка да је и у овом случају инхибиција некомпетитивна. Примећено је смањење вредности v_{max} са повећањем концентрације инхибитора, док се вредност K_m слабо мења па је претпостављено да је доминантан тип некомпетитивна инхибиција.

Овај тип инхибиције се обично сматра потенцијално пожељним у развоју лекова, јер може да доведе до селективне и снажне инхибиције циљаног ензима без великог утицаја на остале биолошке процесе.

На Лајнвивер–Барк–овом графику за једињење **88ђ**, слика 47.а, и за једињење **104в**, слика 47.б, све праве се секу у једној тачки на x -оси што потврђује некомпетитивни механизам инхибиције. Још једна потврда јесте вредност K_I која је приближна вредности IC_{50} [260].

Вредност константе инхибиције K_I одређује се из секундарног облик Лајнвивер–Барк–ове зависности, $1/v_{max\,ap.} = f([I])$, једначина 15 за некомпетитивну инхибицију и једначина 29 за мешовиту инхибицију, слика 48 [241]. Након линеарног фитовања тачака, извршена је екстраполација праве до пресека са апцисом. Пресек линеарног фитовања са апцисом представља вредност K_I . Добијене вредности K_I приказане су у табели 18. Овај метод омогућава прецизно одређивање константе инхибиције и разумевање начина везивања инхибитора и ензима.





Слика 48. Секундарни облик Лајнвивер–Барк–овог графика зависности $1/v_{\text{max ap.}} = f([I])$ за одабране концентрације инхибитора и ензима: а) *AChE* и једињење **88ђ**; б) *AChE* и једињење **104в**; в) *BuChE* и једињење **104в**.

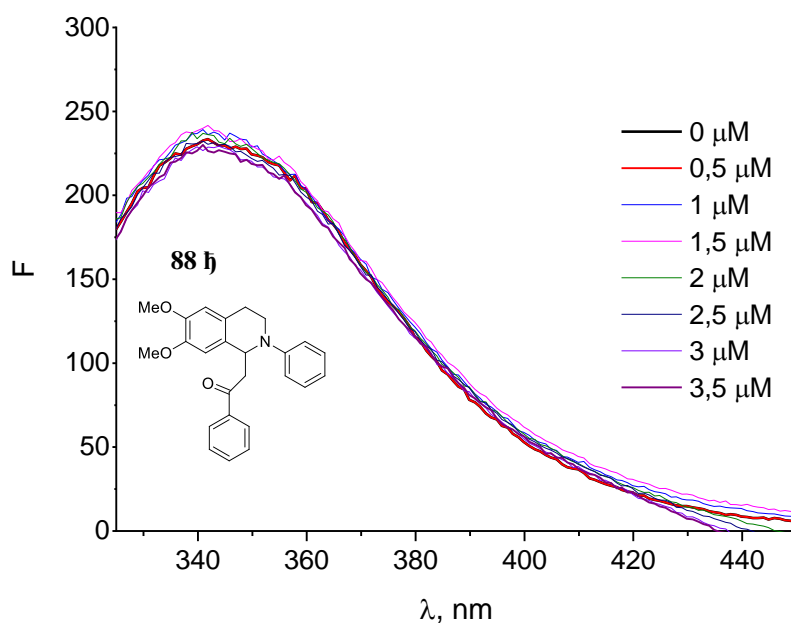
Анализом кинетичких параметара инхибиције *BuChE* једињењем **104в**, показано је да повећање концентрације инхибитора утиче на промену вредности оба кинетичка параметра, $v_{\text{max ap.}}$ и $K_m \text{ ap.}$, табела 18. Инхибиција *BuChE* са инхибитором **104в** указује на мешовиту компетитивно–акомпетитивну инхибицију када инхибитор показује већи афинитет везивања за комплекс ензим–супстрат. Он се везује на алостерно место ензима, што доводи до конформационе промене ензима и онемогућава хидролизу ацетилхолина тј. смањује се афинитет везивања за активно место.

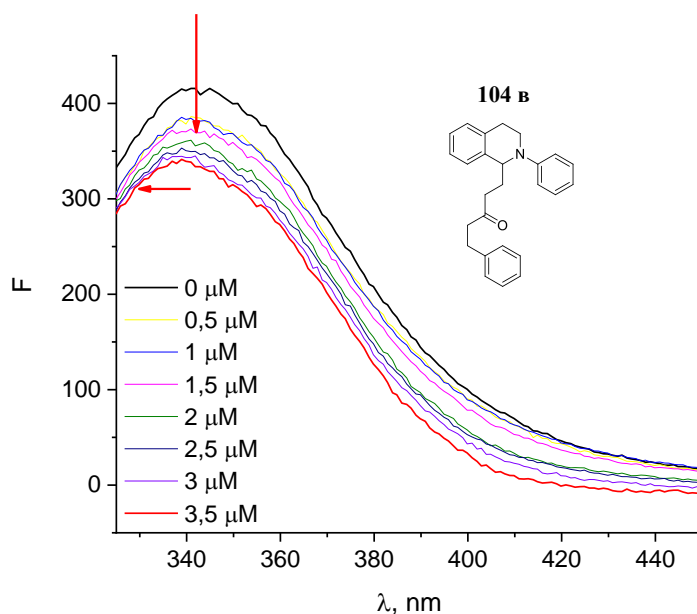
Из приложених резултата се види да исто једињење показује различите механизме инхибиције за холинергичке ензиме *AChE* и *BuChE*. Ово може бити последица различите структуре периферног ајонског места и каталитички активног места ензима.

5.6. Утицај везивања инхибитора *AChE* и *BuChE* на гашење флуоресценције триптофана – индуковане конформационе промене у ензиму

За појашњење механизма инхибиције холинергичких ензима најпотентнијим инхибиторима, и испитивање утицаја њиховог везивања на конформационе промене ензима, снимани су флуоресцентни спектри ензима при различитим концентрацијама инхибитора селективним побуђивањем *Trp* остатака у ензиму. Кинетичким мерењима утврђено је да једињења **88ђ** и **104в** инхибирају *AChE* некомпетитивно.

Из флуоресцентних спектра *AChE* добијених селективним побуђивањем *Trp* у одсуству и присуству инхибитора **88ђ** примећено је овај инхибитор након везивања не доводи до гашења флуоресценције остатака *Trp* из активног места, што доводи до закључка да се инхибиција *AChE* не одвија преко активног места тј. да се једињење **88ђ** не везује за активно место ензима, слика 49.а. С друге стране примећено је смањење интензитета флуоресценције *Trp* једињењем **104в**, слика 49.б. Ово смањење је пропорционално са повећањем концентрације инхибитора **104в** што указује на неку врсту интеракције инхибитора са остацима *Trp*.





б)

Слика 49. Флуоресцентни спектар $5 \text{ IU}\cdot\text{ml}^{-1}$ *AChE* у одсуству и присуству различитих концентрација инхибитора: а) **88ђ** и б) **104в**; Спектри гашења флуоресценције су снимљени на собној температури у опсегу таласних дужина од 325 до 450 nm након ексцитације на 295 nm. Време инкубације износи 6 минута на 25°C .

Уколико је дијаграм $\frac{F_0}{F} = f([I])$, једначина 3, линеаран за цео опсег концентрација, гашење флуоресценције се може преписати или чисто динамичком или чисто статичком механизму, слика 50.а [239].

Вредност Штерн–Волмерове константе гашења, $K_{SV} (\text{M}^{-1})$ или K_D , може се добити као нагиб криве зависности $\frac{F_0}{F} = f([I])$. Она указује на осетљивост флуорофлоре на гасиоца. Представља афинитет инхибитора према флуорофори ензима.

У случају када зависност $\frac{F_0}{F} = f([I])$ није линеарна, механизам гашења флуоресценције може се преписати присуству истовременог динамичког и статичког гашења. У том случају из константе вредности брзине биомолекулског гашења може се одредити почетни механизам гашења флуоресценције.

Узимајући да је вредност просечног живота побуђеног *Trp* 10^{-10} s [238], константа брзине гашења се може израчунати из једначине:

$$k_q = \frac{K_{SV}}{\tau_0} \quad (39)$$

или

$$k_q = \frac{K_D}{\tau_0} \quad (40)$$

Ако је вредност k_q много већа од $\sim 10^{10} \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ механизам гашења флуоресценције је статичан, док ниже вредности k_q указују на механизам динамичког гашења [239][261].

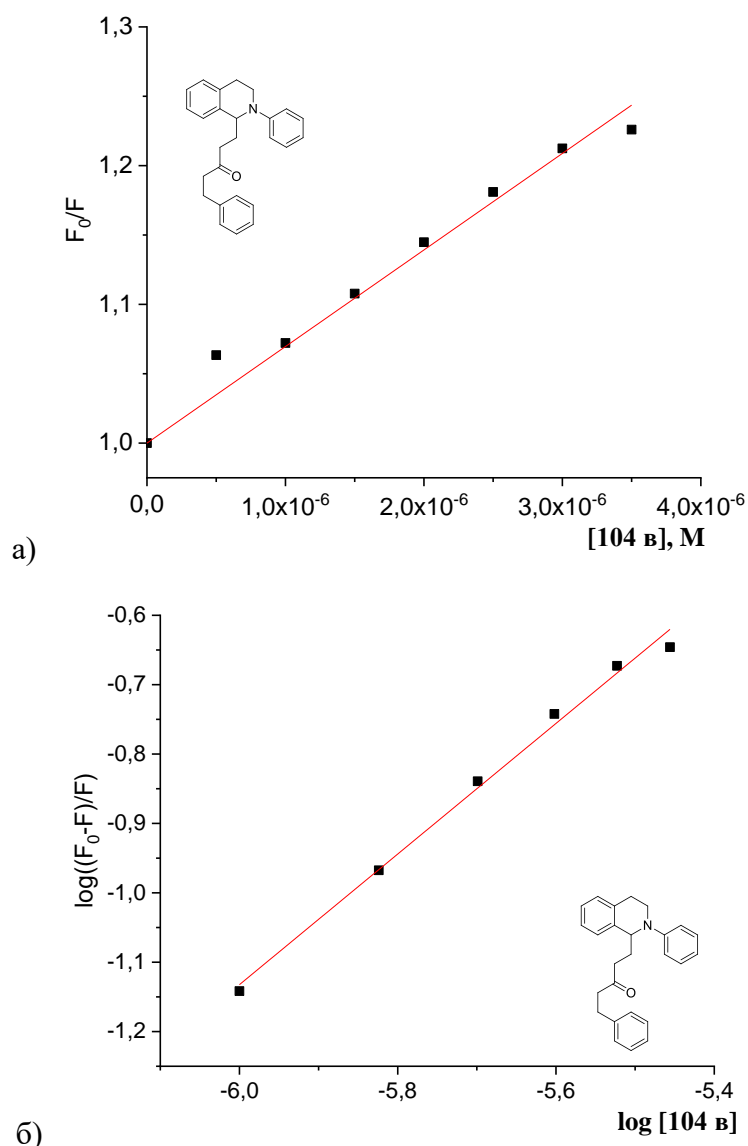
Гашење флуоресценције пружа информације о константи везивања, броју места везивања као и природи сила везивања према једначини 17 [262]:

$$\log \left[\frac{(F_0 - F)}{F} \right] = \log K_a + n \log [I] \quad (41)$$

где су:

- K_a – константа везивања инхибитора са ензимом [263];
- n – број везујућих места на ензиму [263].

Вредности K_a и n су добијене из графика зависности $\log \left[\frac{(F_0 - F)}{F} \right] = f(\log [I])$, слика 50.6 [263].

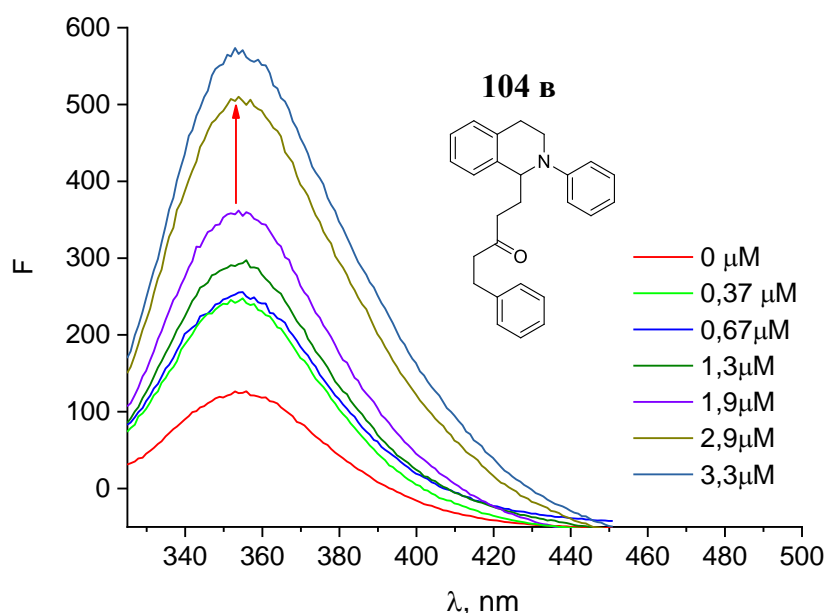


Слика 50. а) Штерн–Волмеров дијаграм гашења флуоресценције *Trp* изазвано повећањем концентрације једињења **104в**; б) Двоструки логаритамски дијаграм гашења флуоресценције са повећањем концентрације једињења **104в**. Активност *AChE* износи $5 \text{ UI}\cdot\text{ml}^{-1}$. Концентрације једињења **104в** износе од $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ до $3 \times 10^{-6} \text{ M}$. Време инкубације је 6 минута на 25°C .

Једињење **104в** је изазвало гашење флуоресценције *Trp* са бимолекулским константама гашења већим од $10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, што је горња вредност за процес гашења који је контролисан дифузијом. Ово указује на неку врсту интеракције везивања тј. сугерише да је гашење флуоресценције статичко и да долази до формирања комплекса између *Trp* и једињења **104в**. Високе вредности K_a указују на снажну интеракцију између *Trp* и инхибитора. Вредност n указује да постоји једно везивно место на ензиму *AChE* доступно за везивање инхибитора [264].

Табела 19. Параметри гашења флуоресценције *Trp* у интеракцији **104в** и *AChE*.

Једињење	$K_{sv}, 10^4 \text{ M}^{-1}$	$k_q, 10^{14} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$K_a, 10^4 \text{ M}$	n	R^2
104в	$6,96 \pm 0,05$	$6,96 \pm 0,05$	$3,31 \pm 0,05$	$0,94 \pm 0,04$	0,99



Слика 51. Флуоресцентни спектар за $5 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$ *BuChE*, у одсуству инхибитора и присуству различитих концентрација инхибитора **104в**. Спектар гашења флуоресценције је снимљен на собној температури у опсегу таласних дужина од 325 до 450 nm након ексцитације на 295 nm. Време инкубације износи 6 минута на $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Утицај једињења **104в** на флуоресценцију *Trp* из *BuChE* је другачији. На слици 51 се може видети повећање интензитета флуоресценције *Trp* са повећањем концентрације једињења **104в**. То се може објаснити интеракцијом овог једињења са хидрофобним делом ензима. Једињење **104в** је високо луминисцентно у апротичном растварачу, али се његова флуоресценција динамички гаси водом и није примећена његова флуоресценција у испитиваним условима. Повећање флуоресценције је вероватно последица заштите азота на *N*-арил-*THIQ* делу структуре.

Уочене разлике у гашењу флуоресценције *Trp* у ензимима *AChE* и *BuChE* са једињењем **104в** могу се објаснити недостатком три кључна ароматична остатка у *BuChE* (*Tyr*₇₂, *Tyr*₃₄₁ и *Trp*₂₈₆) а која су присутна у периферном анијонском месту *AChE*. Управо одсуство ових остатака на периферном анијонском месту *BuChE* доприноси тренутном везивању **104в** за *PAS* а затим клизи низ каталитички канал како би ступило у интеракцију са местом везивања катјона. Овај начин везивања је у складу са инхибицијом мешовитог типа која је уочена у неким кинетичким студијама [265].

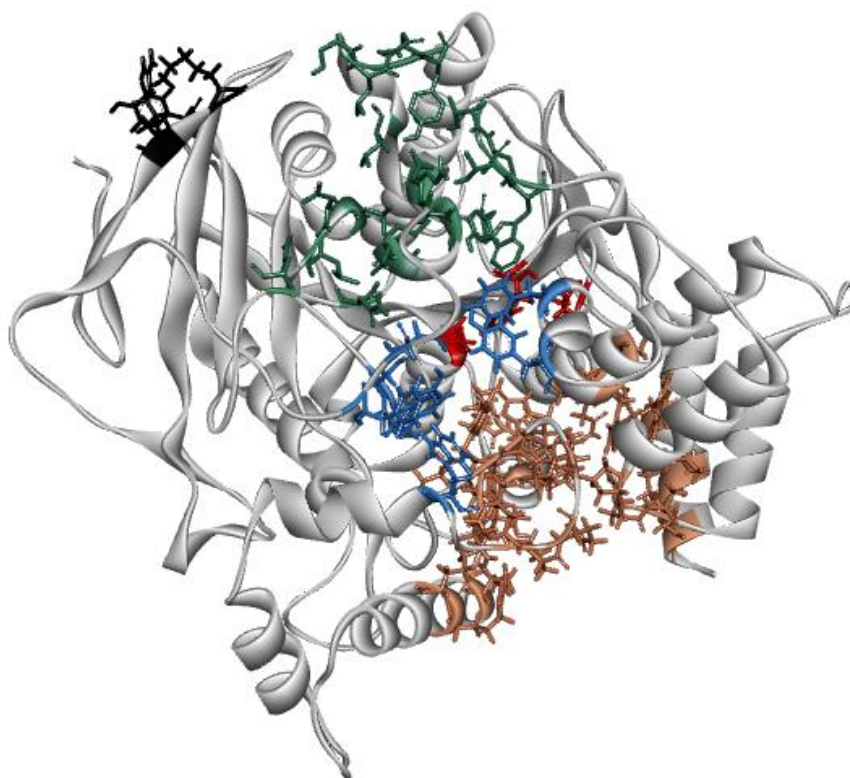
5.7. Теоријски прорачуни (молекулски докинг)

Како би се добио увид у механизам инхибиције *AChE* и *BuChE* на молекулском нивоу коришћена је метода теоријског проучавања интеракција ензима *AChE* (1C2B) са испитиваним једињењима **104в** и **88ђ** тзв. молекулски докинг.

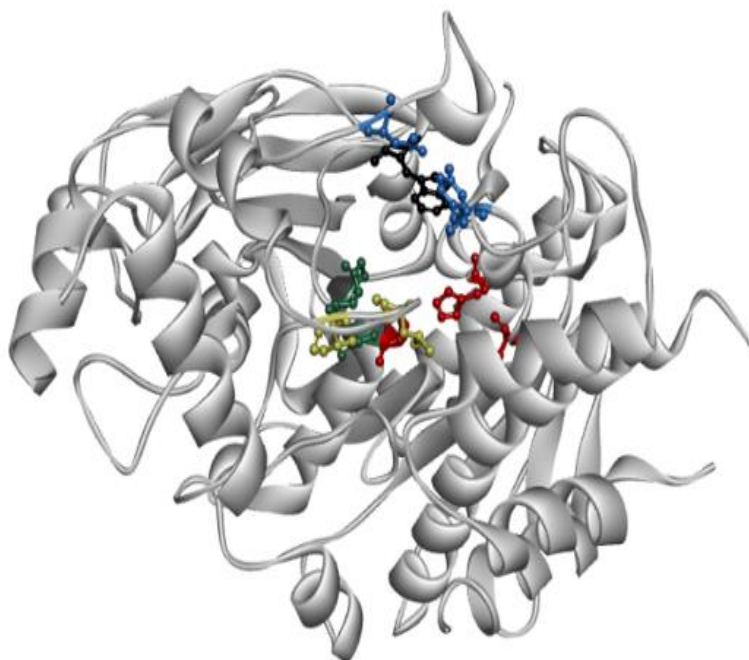
Структура *AChE* је приказана на слици 52 док је структура *BuChE* приказана на слици 53.

У приказаној структури *AChE* активно место се налази у узаном жљебу где су смештене три аминокиселине *Ser*₂₀₃, *His*₄₄₇ и *Glu*₃₃₄, које су део каталитичке тријаде. На врху жљеба се налазе три петље које отварају односно затварају прилаз активном месту.

На врху жљеба се налази и периферно анјонско место где су присутне следеће аминокиселине: *Tyr*₇₂, *Asp*₇₄, *Tyr*₁₂₄, *Ser*₁₂₅, *Trp*₂₈₆, *Tyr*₃₃₇, и *Tyr*₃₄₁.



Слика 52. Илустрација инхибиторних места на *AChE*, структура ензима је добијена из протеинске базе података са кодом 1C2B. Каталитички активно место – црвена боја, периферно анјонско место – плава боја, ацилно везивно место 2 – браон боја, алостерно место 3 – зелена боја, β -алостерно место – црна боја.

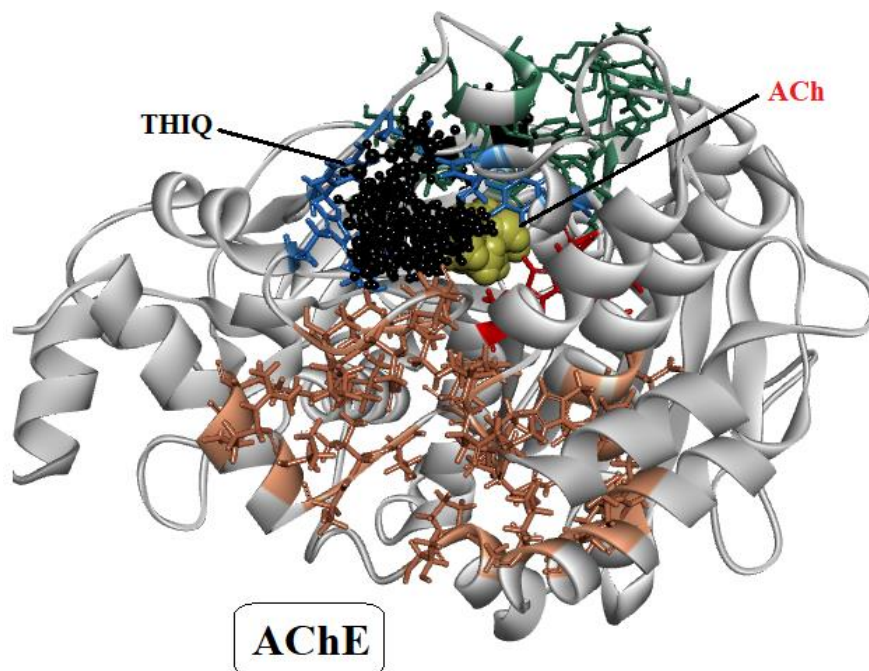


Слика 53. Илустрација инхибиторних места на *BuChE*, структура ензима која је добијена из протеинске базе података са кодом 1P0P. Каталитичка тријада (*Ser*₁₉₈, *His*₄₃₈ и *Glu*₃₂₅) – црвена боја; периферно анјонско место (*Asp*₇₀ и *Tyr*₃₃₂) – плава боја; оксианјонска рупа (*Gly*₁₁₆, *Gly*₁₁₇ и *Ala*₁₉₉) – зелена боја; место везивања холина (*Trp*₈₂ и *Tyr*₃₃₂) – црна боја; ацилно везивно место (*Leu*₂₈₆ и *Val*₂₈₈) – жута боја.

Да би се утврдило да ли разлике у инхибиторној активности једињења **104в** према *AChE* и *BuChE* потичу од различитих стереохемијских облика, теоријски су испитана оба енантиомера.

5.7.1. Инхибиција *AChE*

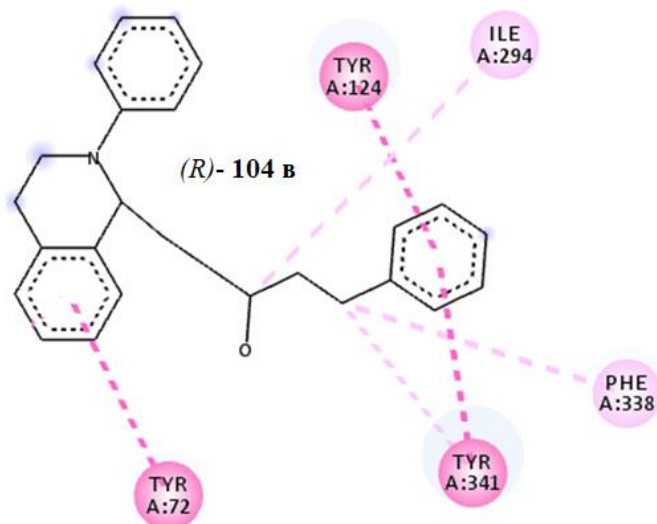
Резултати молекулског докинга показују да се испитивана једињења **88ђ** и **104в** везују за *AChE* између периферног анјонског места и алостерног места 2. Везивање је остварено π - π интеракцијама док је допринос водоничне везе знатно мањи.



Слика 54. Место везивања *THIQ* деривата (црне боје) за *AChE*; ацетилхолин (*ACh*, жуте боје).

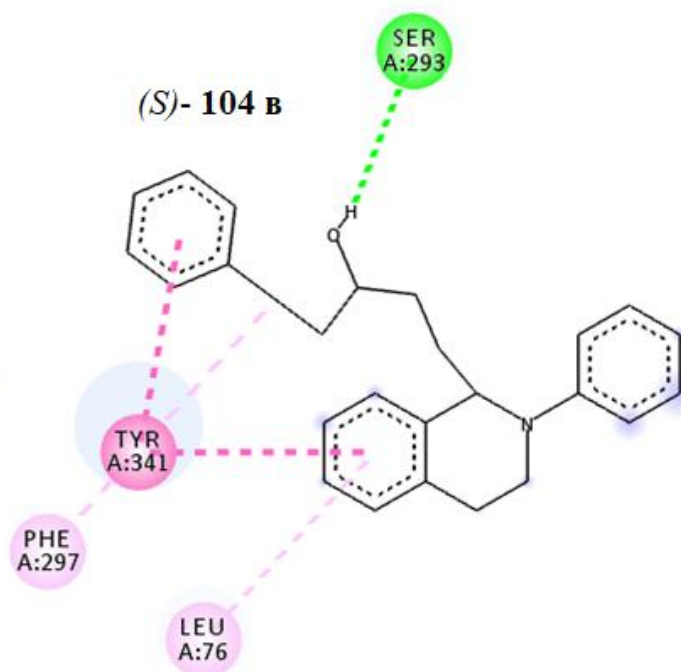
Испитивани тетраhydroизохинолини у окружењу аминокиселина *AChE* представљени су на сликама 55, 56, 57 и 58.

На слици 55 се може уочити да код (*R*)-енантиомера једињења **104в** постоје различите интеракције које утичу на активност *AChE*. Долази до инхибиције *AChE* преко π - π интеракције између *Tyr*₇₂ из периферног анјонског места и фенил прстена скелета *THIQ* једињења. Уочава се и π - π интеракција *Tyr*₁₂₄ и *Tyr*₃₄₁ из периферног анјонског места и фенил прстена супституента у положају R₁. Поред ових интеракција постоји и алкил-алкил интеракција између угљениковог атома на карбонилној групи и *Ile*₂₉₄ као и π -алкил интеракција између *Phe*₃₃₈ са ацилног везивног места и метиленске групе која блиска фенил групи.



Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција; алкил–алкил интеракција
Слика 55. Интеракција (*R*)-енантиомера једињења **104в** са аминокиселинама из *AChE*.

Код (*S*)-енантиомера једињења **104в**, слика 56, молекулски докинг предвиђа постојање различитих интеракција као што су π - π интеракција, присуство водоничне везе као и π -алкил интеракција које утичу на активност *AChE*. Уочава се π - π интеракција између *Tyr*₃₄₁ из периферног анијонског места и фенил групе из скелета *THIQ*. Ова интеракција такође постоји и са фенил групом супституента. Друга интеракција је π -алкил интеракција између *Phe*₂₉₇ из алостерног места 2 и метиленске групе. *Ser*₂₉₃ који се такође налази на алостерном месту 2, образује водоничну везе са карбонилном групом. Такође *Leu*₇₆ је у интеракцији са фенил групом скелета *THIQ* преко π -алкил интеракције.



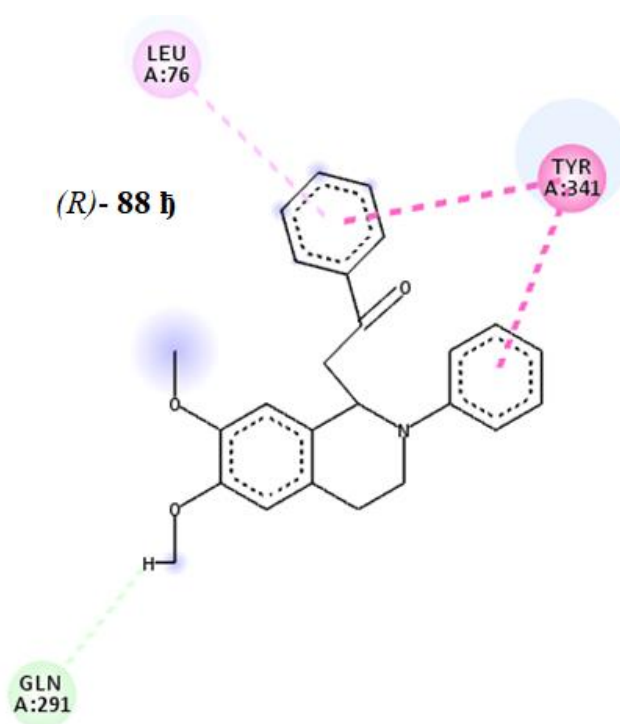
Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција
Слика 56. Интеракција (*S*)-енантиомера једињења **104в** са аминокиселинама из *AChE*.

Теоријско предвиђање интеракција показује да се једињење **104в** везује на периферном анијонском месту и алостерном месту 2 ензима *AChE*, где су присутни остаци *Trp*. Резултати добијени флуоресценцијом потврђују формирање комплекса између овог једињења и *Trp*, што резултује гашењем флуоресценције *Trp*. Кинетичким испитивањем је

утврђено да ово једињење инхибира *AChE* некомпетитивно чиме изазива конформациону промену активног места. Претпоставка је да молекул **104в** интерагује са *Trp* који је присутан у периферном ањонском месту *AChE* након што се деси конформациона промена активног места и да то доводи до гашења флуоресценције.

На приказаним сликама 57 и 58 уочено је да постоје различите интеракције код (*R*)-енантиомера једињења **88h** и (*S*)-енантиомера једињења **88h** које утичу на активност *AChE*.

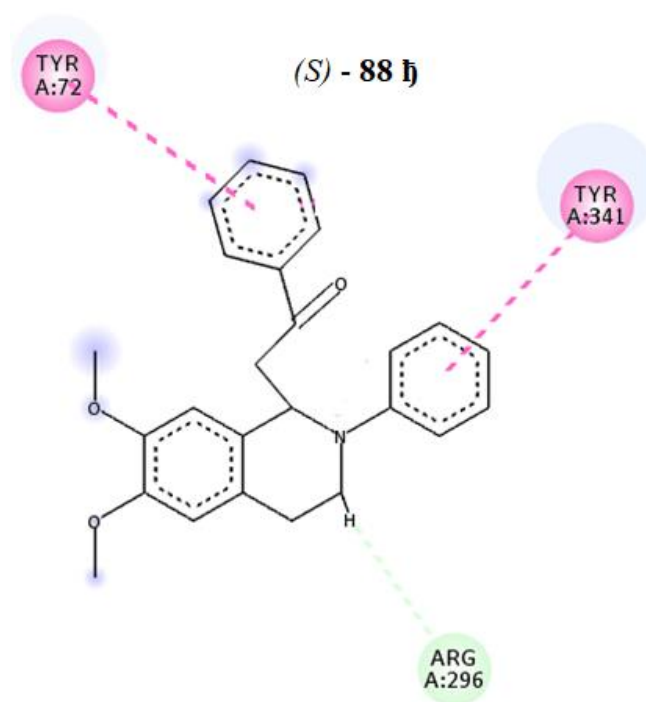
Код (*R*)-енантиомера **88h**, слика 57, уочена је слаба водонична веза између *Gln*₂₉₁ из алостерног места 2 и метокси групе. Такође уочена је π - π интеракција између *Tyr*₃₄₁ из периферног ањонског места са фенил групом из скелета *THIQ*, како и са фенил групом супституента. *Leu*₇₆ је у интеракцији са фенил групом супституента преко π -алкил интеракције.



Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција

Слика 57. Интеракција (*R*)-енантиомера једињења **88h** са аминокиселинама из *AChE*.

Код (*S*)-енантиомера **88h**, слика 58, уочена π - π интеракција између *Tyr*₇₂ из периферног ањонског места и фенил групе супституената, као π - π интеракција између *Tyr*₃₄₁ из периферног ањонског места и фенил прстена скелета *THIQ* једињења. Такође, уочена је слаба водонична веза између *Arg*₂₉₆ са алостерног места 2 и угљениковог атома који је поред атома азота на *THIQ* скелету.



Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција

Слика 58. Интеракција (*S*) –енантиомера једињења **88h** са аминокиселинама из *AChE*.

Резултати из молекулског докинга, који су представљени у табели 20, квантитативно приказују податке о везивању. За оба испитивана једињења, процењује се да су вредности енергије везивања у опсегу $-8,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ до $-9,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Интересантно је да је енергија везивања (*R*) енантиомера мало већа.

На основу добијених вредности енергија везивања, може се закључити да испитивани тетрахидроизохинолини имају значајно већи афинитет везивања у поређењу са ацетилхолин који је везан на активном месту за каталитичку тријаду са енергијом везивања $-4,2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$.

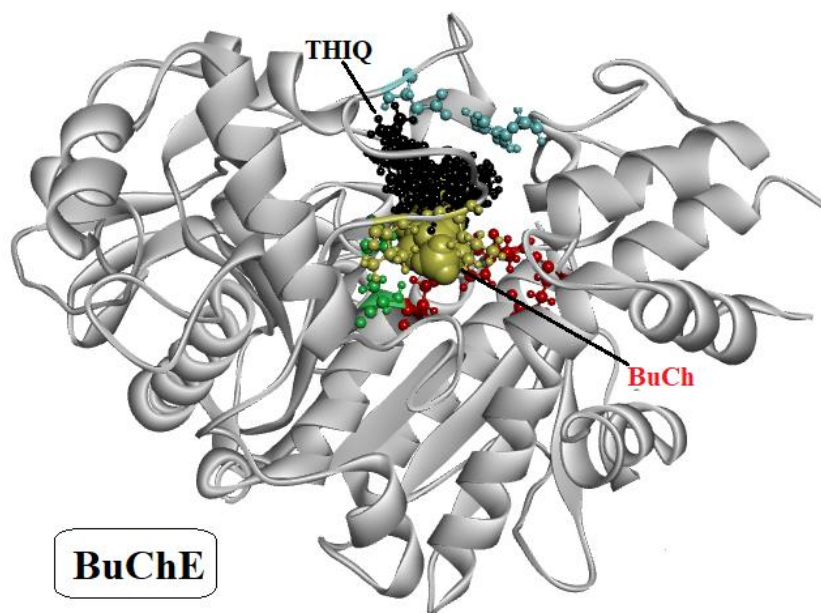
Табела 20. Конфигурација енантиомера, Енергија везивања (ΔE , $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) и број места везивања (No) испитиваних тетрахидроизохинолина **104в** и **88h** за *AChE*.

Једињење	<i>AChE</i>		
	Конфигурација	ΔE , $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No
104в	<i>R</i>	-9.9	1
	<i>S</i>	-9.2	1
88h	<i>R</i>	-9.2	1
	<i>S</i>	-8.9	1

На основу представљених резултата може се закључити да испитивана једињења инхибирају ензим *AChE* некомпетитивно. Овај тип инхибиције је у складу са експериментално добијеним резултатима.

5.7.2. Инхибиција *BuChE*

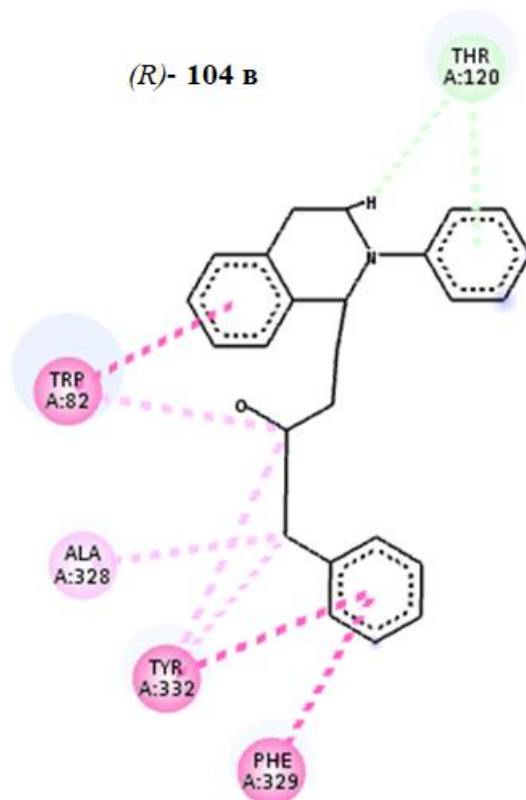
Анализом молекулског докинга за интеракцију између једињења **104в** и *BuChE* утврђено је да се дато једињење веже у жљебу активног места између каталитичке тријаде и периферног анјонског места као што је приказано на слици 59.



Слика 59. Место везивања тетрахидроизохинолина (црна боја) за *AChE* и *BuChE*, ацетилхолин (*ACh*, жута боја) и бутирилхолин (*BuCh*, жута боје).

На слици 60 и 61 приказано је са којим аминокиселинама из *BuChE* испитивани тетрахидроизохинолин **104в** успоставља интеракцију.

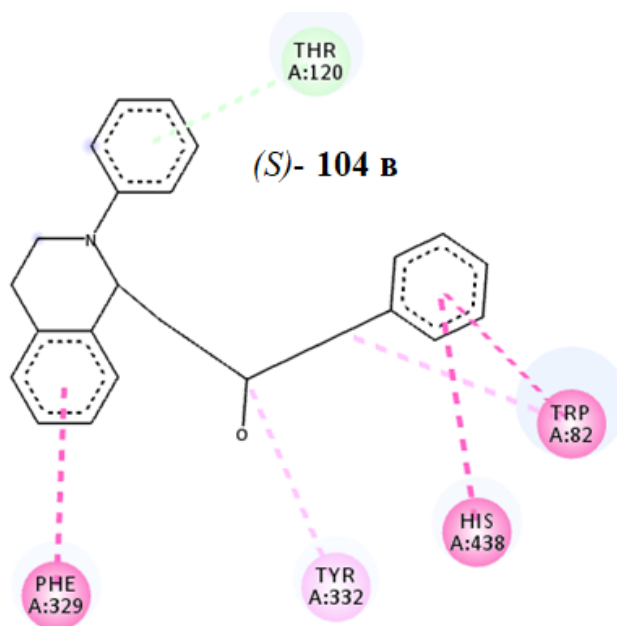
Код (*R*)-енантиомера **104в**, слика 60, примећена је слаба водонична веза између аминокиселине *Thr*₁₂₀ и фенил групе *THIQ*, као и са угљениковим атомом који се налази до атома азота у скелету *THIQ*. Такође, примећена је π - π интеракција између фенил групе супституента и аминокиселине *Tyr*₃₃₂ са периферног анјонског места, као и са аминокиселином *Phe*₃₂₉. Јавља се π - π интеракција између фенил прстена у скелету *THIQ* и аминокиселине *Trp*₈₂ на холинском месту везивања. Примећује се и π -алкил интеракција између аминокиселине *Ala*₃₂₈ и метиленске групе супституента.



Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција

Слика 60. Интеракција (*R*)-енантиомера једињења **104в** са аминокиселинама из *BuChE*.

Код (*S*)-енантиомера **104в** примећена је слаба водонична веза између аминокиселине *Thr*₁₂₀ и фенил групе *THIQ* слика 61. Такође, примећена је π - π интеракција између фенил групе супституента и аминокиселине *Trp*₈₂ на холинском месту везивања, као и са аминокиселином *His*₄₃₈ из каталитичке тријаде. Додатно се јавља π - π интеракција између фенил прстена у скелету *THIQ* и аминокиселине *Phe*₃₂₉. Примећује се и π -алкил интеракција аминокиселине *Tyr*₃₃₂ са периферног анјонског места и метиленске групе супституента.



Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција

Слика 61. Интеракција (*S*)-енантиомера једињења **104в** са аминокиселинама из *BuChE*.

У табели 21 су приказани квантитативно добијени подаци на основу којих се може закључити да дато једињење има инхибиторну способност са енергијом везивања од $-9,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, што је веће од енергије везивања бутирилхолина која износи $-5,4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Табела 21. Конфигурација енантиомера, Енергија везивања (ΔE , $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) и број места везивања (No) испитиваног тетрахидроизохинолина **104в** за *BuChE*.

Једињење	<i>BuChE</i>		
	енантиомер	ΔE	No
104в	<i>R</i>	-9.9	1
	<i>S</i>	-9.8	1

У циљу проналажења одговарајућег моделаза инхибицију *BuChE* са једињењем **104в**, молекулски докинг је урађен за неколико структура ензима *BuChE* које су преузете из протеинске базе података са кодовима: 1P0Q, 2WIG, 2XMC, 2XMD, 2XQG, 4TRK, 6EMI, 6EP4, 6ESY и 6F7Q.

Код свих ових ензима инхибитор се везује у близини активног места са енергијом везивања која је већа од енергије везивања бутирилхолина. Визуелном анализом кристалне структуре *BuChE* закључено је да је у свим структурама, осим *2XMC*, велики лиганд везан близу активног места. Величина и облик активног места је дефинисан величином везаног лиганда, као и типом интермолекуларних интеракција које лиганд успоставља са остацима аминокиселина.

Претпоставка је да би структура активног места била значајно другачија без везаног лиганда, па је из тог разлога изведена молекуларна динамичка симулација у циљу опуштања структуре ензима. Симулација је трајала 100 ns, након чега је добијена структура коришћена за нову студију молекулског докинга, слика 62. Због једноставности испитана је интеракција једињења са високом инхибиторном активношћу **104в** и једињења без инхибиторне активности. **88ђ**. Сва три лиганда (**104в**, **88ђ** и *BuCh*) су везана за активно место ензима. Енергије везивања **104в**, **88ђ** су веће од енергије везивања *BuCh*, табела 22, па стога треба очекивати акомпетитивну инхибицију ензима. Енантиомер (*S*)–**104в** је везан већом енергијом везе за активно место, $-8,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, него *BuCh* који је везан енергијом $-5.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Са друге стране енантиомер (*R*)–**104в** и оба енантиомера **88ђ** везани су изван активног места, на површини ензима.

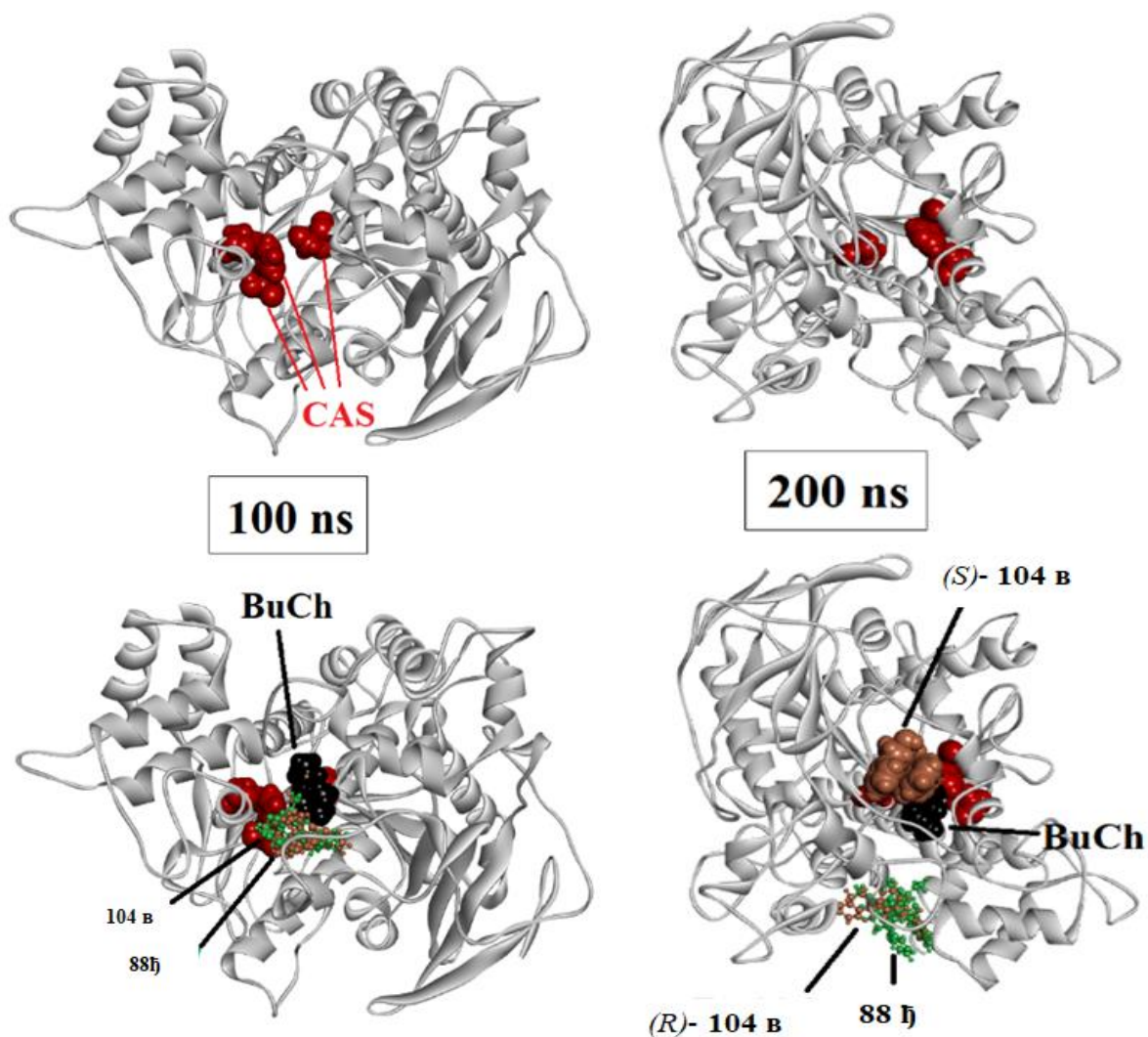
Исти тип инхибиције се очекује и након релаксације од 200 ns, слика 62. У овом случају *BuCh* је везан за активно место енергијом $-4,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ и његово везивање омета енантиомер (*S*)–**104в** који је везан за периферно место, па се овај енантиомер може сматрати некомпетитивним инхибитором. И поред велике вредности за енергију везивања **88ђ**, $-7,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ за (*R*)–енантиомер и $-7,5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ за (*S*)–енантиомер, не треба очекивати инхибицију ензима овим једињењем јер место везивања није чак ни алостерно место.

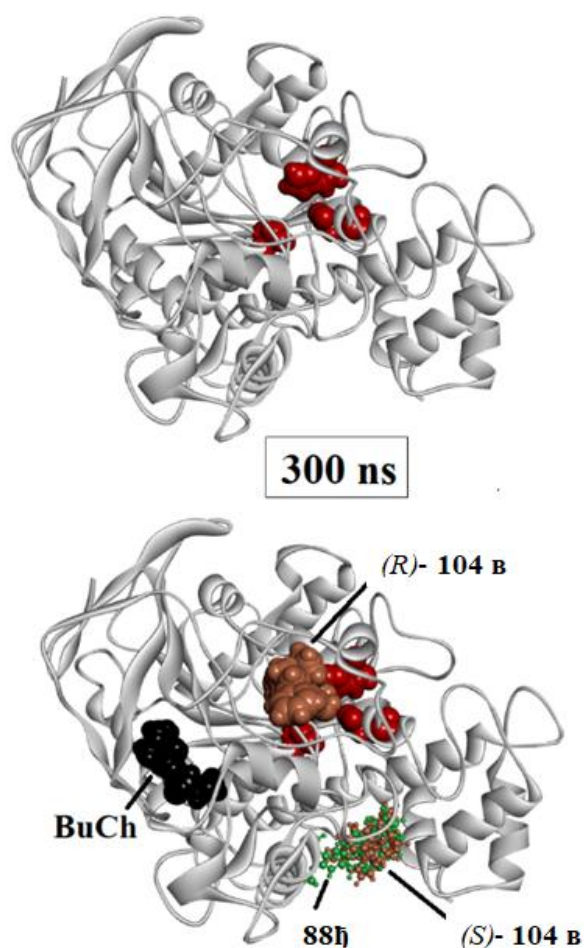
Докинг студија структуре *BuChE* након релаксације од 300 ns указује да је структура *BuChE* неактивна, слика 62. Сва три лиганда (**104в**, **88ђ** и *BuChE*) нису везана за активно место па из тог разлога није рађена даља релаксација ензима применом молекуларне динамике. Интересантно је да је у овом облику *BuChE* енантиомер (*R*)–**104в** везан у близини активног места, за периферно место.

На основу добијених резултата докинг студије може се закључити да једињење **104в** има улогу инхибитора за све четири проучаване структуре, кристалне структуре и структуре добијене релаксацијом после 100, 200 и 300 ns. У две форме, кристалној и након релаксације од 100 ns, инхибитор **104в** је акомпетитиван док је у преостале две структуре

некомпетитиван. Из тог разлога се очекује да инхибитор **104в** потпуно инхибира ензим мешовитим механизмом. Ово је у сагласности са експериментално добијеним резултатима. *BuChE* је везан за активно место у три облика *BuChE* што објашњава механизам инхибиције. Може се претпоставити да у експерименталним условима *BuChE* има форму блиску структури добијеној молекуларном динамичком симулацијом након 200 ns. У том случају *BuCh* је везан за активно место док је **88ђ** везан ван активног места на површини ензима.

Ово је могуће објашњење зашто једињење **88ђ** не инхибира *in vitro*. Везивање **88ђ** на површини ензима уочено је на структурама након 200 ns и 300 ns динамичке релаксације, и последица је редукције активног места. Ово отежава приступ овог једињења каталитички активном месту.

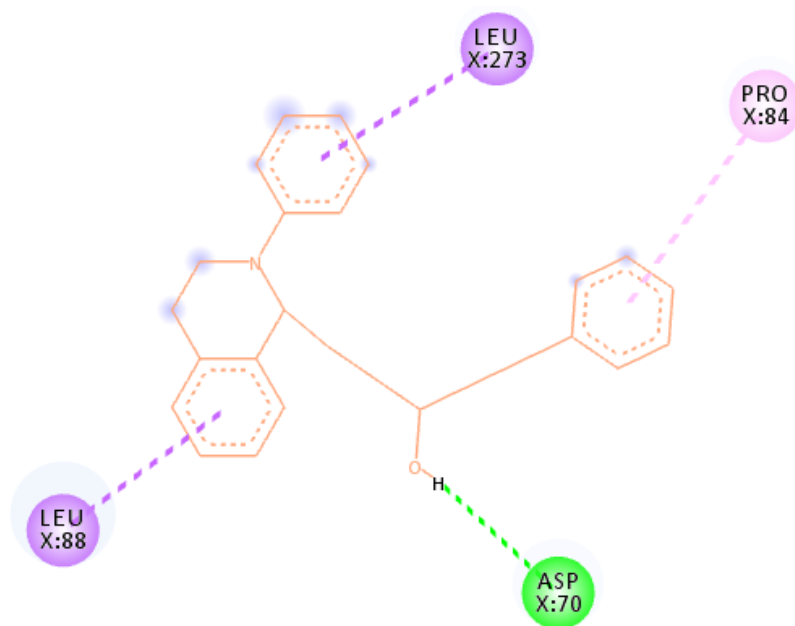




Слика 62. Место везивања **104в**, **88ђ** и **BuCh** за **BuChE**, за структуре које су добијене молекуларном динамичком симулацијом након 100, 200 и 300 ns. Каталитичка тријада **BuChE** (*Ser*₁₉₈, *Glu*₃₂₅ и *His*₄₃₈) представљена је црвеном бојом.

Табела 22. Конфигурација енантиомера, Енергија везивања (ΔE , kcal·mol⁻¹) и број места везивања испитиваних тетрахидроизохинолина и **BuCh** за **BuChE** (No), за структуре које су добијене молекуларном динамичком симулацијом након 100, 200 и 300 ns.

Једињење	<i>BuChE</i> – 100 ns			<i>BuChE</i> – 200 ns			<i>BuChE</i> – 300 ns		
	Конф.	ΔE	No	Конф.	ΔE	No	Конф.	ΔE	No
104 в	<i>R</i>	-10.6	1	<i>R</i>	-8.7	1	<i>R</i>	-7.3	1
	<i>S</i>	-8.9	1	<i>S</i>	-8.2	1	<i>S</i>	-7.8	1
88ђ	<i>R</i>	-9.7	1	<i>R</i>	-7.9	1	<i>R</i>	-7.4	1
	<i>S</i>	-10.1	1	<i>S</i>	-7.5	1	<i>S</i>	-8.1	1
BuCh	–	-5.1	1	–	-4.9	1	–	-5.0	1



Водонична веза; π - π – интеракција; π – алкил интеракција

Слика 63. Аминокиселине *BuChE* које интерагују са – (*R*)– енантиомером **104в**, структура *BuChE* је добијена молекулском динамичком симулацијом након 300 ns.

6. ЗАКЉУЧАК

N-арил–тетрахидроизохинолини су присутни у бројним природним и синтетички добијеним једињењима која показују биолошку активност. Међу њима се посебно истичу тетрахидроизохинолини супституисани у *C*–1 положају који имају важну улогу у медицинској хемији и фармакологији.

Да би се смањио број корака синтезе, као и нежељени реакциони производи који се јављају приликом префункционализације супстрата, у оквиру ове докторске тезе развијена је директна *C*–1 функционализација тетрахидроизохинолина поступком укрштеног дехидрогенативног купловања и реакције α -аминорадикала у микрофлуидним реакторима.

Испитана је примена више типова микрофлуидних реактора у реакцијама фоторедокс функционализација *N*-арил–тетрахидроизохинолина са видљивом светлошћу, катализованих полипиридилним комплексима рутенијума. Дизајнирана су три типа микрофлуидних реактора: од *PDMS*-а, транспарентни *FEP* капиларни микрофлуидни реактор и микрофлуидни реактор од силицијума и стакла.

Микрофлуидни реактори су примењени за испитивање Манихове реакције, Штрекерове реакције и реакције алкиниловања. Резултати овог дела истраживања су указали да је примена *PDMS* микрофлуидног реактора у директној функционализацији биолошки активних *N*-арил–тетрахидроизохинолина реакцијама укрштеног дехидрогенативног купловања супериорнија у односу на конвенционалне реакторе.

Микрофлуидни реактори су примењени и за реакције функционализације *THIQ* до α -аминорадикала и њихове адиције на електрон–дефициарна α,β -незасићена карбонилна једињења. Добијени резултати су показали највећи потенцијал примене *FEP* микрофлуидног реактора за ефикасну функционализацију биолошки активних тетрахидроизохинолина формирањем α -аминорадикала.

Добијени реакциони производи синтетисани су са циљем одређивања њиховог потенцијала инхибиције према *AChE* и *BuChE* као потенцијалних лекова за Алцхајмерову болест.

На основу добијених вредности IC_{50} као најпотентнија инхибиторна једињења показала су се:

- **88ђ** (2–(6,7–диметокси–2–фенил–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин–1–ил)–1–фенилетанон) и
- **104в** (1–Фенил–5–(2–фенил–1,2,3,4–тетрахидроизохинолин–1–ил)пентан–3–он).

Анализом кинетичких параметара инхибиције *AChE* за једињења **88ђ** и **104в** утврђено је да инхибирају *AChE* некомпетитивно, док једињење **104в** инхибира *BuChE* мешовитим компетитивно–акомпетитивним механизмом. Различити механизми инхибиције једињења **104в** за *AChE* и *BuChE* може бити последица различите структуре периферног анјонског места и каталитички активног места ензима.

Применом флуоресцентне спектроскопије и праћењем гашења флуоресценције триптофана за једињење **88ђ** утврђено је да остаци триптофана из активног места не учествују у инхибицији *AChE*. Насупрот томе, примењено је статичко гашење флуоресценције триптофана једињењем **104в** при чему долази до формирања комплекса између триптофана и једињења **104в**. Високе вредности константе везивања ензима *AChE* са инхибитором **104в** указују на јаку интеракцију између триптофана и инхибитора. Код *BuChE* запажено је повећање интензитета флуоресценције триптофана у присуству једињења **104в**. Ово повећање се може објаснити интеракцијом једињења **104в** са хидрофобним делом

ензима и највероватније је последица заштите азота на *N*-арил-*THIQ* делу структуре. Велика разлика у експериментима гашења флуоресценције триптофана једињењем **104в**, уочена између ензима *AChE* и *BuChE*, може се објаснити недостатком три кључна ароматична остатка у *BuChE* (*Tyr*₇₂, *Tyr*₃₄₁ и *Trp*₂₈₆) а који су присутни у периферном анјонском месту *AChE*.

Теоријски прорачуни (молекулски докинг) је потврдио да испитивана једињења **88ђ** и **104в** инхибирају ензим *AChE* некомпетитивно, и да инхибитор **104в** потпуно инхибира ензим *BuChE* мешовитим механизмом, што је у сагласности са експериментално добијеним резултатима.

7. ЛИТЕРАТУРА

- [1] S. E. Braslavsky, "Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 79, no. 3, pp. 293–465, Jan. 2007, doi: 10.1351/pac200779030293.
- [2] S. Sattar and R. J. Olsen, "Writing with Sunlight: Recreating a Historic Experiment," *Journal of Chemical Education*, vol. 95, no. 11, pp. 2006–2008, Nov. 2018, doi: 10.1021/acs.jchemed.8b00510.
- [3] H. D. Roth, "The Beginnings of Organic Photochemistry," *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 28, no. 9, pp. 1193–1207, Sep. 1989, doi: 10.1002/anie.198911931.
- [4] J. D. Coyle, *Introduction to organic photochemistry*. 1986.
- [5] D. O. C. and R. L. Drisko, *Elements of organic photochemistry*. Plenum Press, New York, 1976.
- [6] G. N. and G. B. Kauffman, "Prophet of Solar Energy: A Retrospective View of Giacomo Luigi Ciamician (1857–1922), the Founder of Green Chemistry, on the 150th Anniversary of His Birth," *The Chemical Educator*, vol. 12, no. 5, pp. 362–369, 2007.
- [7] E. Singer, "Pioneers in photochemistry – Alexander Schoenberg," *EPA Newsletter*, vol. 26, pp. 1–11, 1986.
- [8] K. Schaffner, "Günther Otto Schenck (1913–2003): A Pioneer of Radiation Chemistry," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 42, no. 26, pp. 2932–2933, Jul. 2003, doi: 10.1002/anie.200390509.
- [9] G. Ciamician, "The Photochemistry of the Future," *Science*, vol. 36, no. 926, pp. 385–394, Sep. 1912, doi: 10.1126/science.36.926.385.
- [10] G. S. Hammond and N. J. Turro, "Organic Photochemistry," *Science*, vol. 142, no. 3599, pp. 1541–1553, Dec. 1963, doi: 10.1126/science.142.3599.1541.
- [11] H. D. Roth, "Twentieth century developments in photochemistry. Brief historical sketches," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 73, no. 3, pp. 395–403, Jan. 2001, doi: 10.1351/pac200173030395.
- [12] V. Balzani, G. Bergamini, and P. Ceroni, "Light: A Very Peculiar Reactant and Product," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 54, no. 39, pp. 11320–11337, Sep. 2015, doi: 10.1002/anie.201502325.
- [13] N. Hoffmann, "Photochemical Reactions as Key Steps in Organic Synthesis," *Chemical Reviews*, vol. 108, no. 3, pp. 1052–1103, Mar. 2008, doi: 10.1021/cr0680336.
- [14] N. Hoffmann, "Photochemical reactions of aromatic compounds and the concept of the photon as a traceless reagent," *Photochemical & Photobiological Sciences*, vol. 11, no. 11, p. 1613, 2012, doi: 10.1039/c2pp25074h.
- [15] K. K. Rohatgi–Mukherjee, *Fundamentals of Photochemistry*. Wiley, New York, 1978.
- [16] "[https://chemistry.unibo.it/en/department/presentation/history-of-the-department.](https://chemistry.unibo.it/en/department/presentation/history-of-the-department)"
[https://chemistry.unibo.it/en/department/presentation/history-of-the-department.](https://chemistry.unibo.it/en/department/presentation/history-of-the-department)
- [17] K. Kalyanasundaram, "Photophysics, photochemistry and solar energy conversion with tris(bipyridyl)ruthenium(II) and its analogues," *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 46, pp. 159–244, Oct. 1982, doi: 10.1016/0010–8545(82)85003–0.
- [18] A. J. Esswein and D. G. Nocera, "Hydrogen Production by Molecular Photocatalysis," *Chemical Reviews*, vol. 107, no. 10, pp. 4022–4047, Oct. 2007, doi: 10.1021/cr050193e.
- [19] D. F. Ollis, E. Pelizzetti, and N. Serpone, "Photocatalyzed destruction of water contaminants," *Environmental Science & Technology*, vol. 25, no. 9, pp. 1522–1529, Sep. 1991, doi: 10.1021/es00021a001.
- [20] C. K. Prier, D. A. Rankic, and D. W. C. MacMillan, "Visible Light Photoredox Catalysis with Transition Metal Complexes: Applications in Organic Synthesis," *Chemical Reviews*, vol. 113, no. 7, pp. 5322–5363, Jul. 2013, doi: 10.1021/cr300503r.

- [21] J. W. Tucker and C. R. J. Stephenson, "Shining Light on Photoredox Catalysis: Theory and Synthetic Applications," *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 77, no. 4, pp. 1617–1622, Feb. 2012, doi: 10.1021/jo202538x.
- [22] T. P. Yoon, M. A. Ischay, and J. Du, "Visible light photocatalysis as a greener approach to photochemical synthesis," *Nature Chemistry*, vol. 2, no. 7, pp. 527–532, Jul. 2010, doi: 10.1038/nchem.687.
- [23] D. Cambié, C. Bottecchia, N. J. W. Straathof, V. Hessel, and T. Noël, "Applications of Continuous-Flow Photochemistry in Organic Synthesis, Material Science, and Water Treatment," *Chemical Reviews*, vol. 116, no. 17, pp. 10276–10341, Sep. 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00707.
- [24] T. J. Van Bergen, D. M. Hedstrand, W. H. Kruizinga, and R. M. Kellogg, "Chemistry of dihydropyridines. 9. Hydride transfer from 1,4-dihydropyridines to sp³-hybridized carbon in sulfonium salts and activated halides. Studies with NAD(P)H models," *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 44, no. 26, pp. 4953–4962, Dec. 1979, doi: 10.1021/jo00394a044.
- [25] K. Hironaka, S. Fukuzumi, and T. Tanaka, "Tris(bipyridyl)ruthenium(II)-photosensitized reaction of 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide with benzyl bromide," *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, no. 10, p. 1705, 1984, doi: 10.1039/p29840001705.
- [26] C. Pac, M. Ihama, M. Yasuda, Y. Miyauchi, and H. Sakurai, "Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(2+)-mediated photoreduction of olefins with 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide: a mechanistic probe for electron-transfer reactions of NAD(P)H-model compounds," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 103, no. 21, pp. 6495–6497, Oct. 1981, doi: 10.1021/ja00411a040.
- [27] K. Okada, K. Okamoto, N. Morita, K. Okubo, and M. Oda, "Photosensitized decarboxylative Michael addition through N-(acyloxy)phthalimides via an electron-transfer mechanism," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 113, no. 24, pp. 9401–9402, Nov. 1991, doi: 10.1021/ja00024a074.
- [28] D. A. Nicewicz and D. W. C. MacMillan, "Merging Photoredox Catalysis with Organocatalysis: The Direct Asymmetric Alkylation of Aldehydes," *Science*, vol. 322, no. 5898, pp. 77–80, Oct. 2008, doi: 10.1126/science.1161976.
- [29] J. M. R. Narayanam, J. W. Tucker, and C. R. J. Stephenson, "Electron-Transfer Photoredox Catalysis: Development of a Tin-Free Reductive Dehalogenation Reaction," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, no. 25, pp. 8756–8757, Jul. 2009, doi: 10.1021/ja9033582.
- [30] J. Du and T. P. Yoon, "Crossed Intermolecular [2+2] Cycloadditions of Acyclic Enones via Visible Light Photocatalysis," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, no. 41, pp. 14604–14605, Oct. 2009, doi: 10.1021/ja903732v.
- [31] D. A. Nagib and D. W. C. MacMillan, "Trifluoromethylation of arenes and heteroarenes by means of photoredox catalysis," *Nature*, vol. 480, no. 7376, pp. 224–228, Dec. 2011, doi: 10.1038/nature10647.
- [32] M. A. Ischay, M. E. Anzovino, J. Du, and T. P. Yoon, "Efficient Visible Light Photocatalysis of [2+2] Enone Cycloadditions," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 39, pp. 12886–12887, Oct. 2008, doi: 10.1021/ja805387f.
- [33] J. W. Beatty, J. J. Douglas, K. P. Cole, and C. R. J. Stephenson, "A scalable and operationally simple radical trifluoromethylation," *Nature Communications*, vol. 6, no. 1, p. 7919, Nov. 2015, doi: 10.1038/ncomms8919.
- [34] K. Zeitler, "Photoredox Catalysis with Visible Light," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 48, no. 52, pp. 9785–9789, Dec. 2009, doi: 10.1002/anie.200904056.
- [35] J. M. R. Narayanam and C. R. J. Stephenson, "Visible light photoredox catalysis: applications in organic synthesis," *Chem Soc Rev*, vol. 40, no. 1, pp. 102–113, 2011, doi: 10.1039/B913880N.

- [36] H. Roth, N. Romero, and D. Nicewicz, “Experimental and Calculated Electrochemical Potentials of Common Organic Molecules for Applications to Single–Electron Redox Chemistry,” *Synlett*, vol. 27, no. 05, pp. 714–723, Dec. 2015, doi: 10.1055/s–0035–1561297.
- [37] Q. Li *et al.*, “Highly Efficient Visible–Light–Driven Photocatalytic Hydrogen Production of CdS–Cluster–Decorated Graphene Nanosheets,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, no. 28, pp. 10878–10884, Jul. 2011, doi: 10.1021/ja2025454.
- [38] S. N. Habisreutinger, L. Schmidt–Mende, and J. K. Stolarczyk, “Photocatalytic Reduction of CO₂ on TiO₂ and Other Semiconductors,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 52, no. 29, pp. 7372–7408, Jul. 2013, doi: 10.1002/anie.201207199.
- [39] V. W. Lau *et al.*, “Rational design of carbon nitride photocatalysts by identification of cyanamide defects as catalytically relevant sites,” *Nature Communications*, vol. 7, no. 1, p. 12165, Nov. 2016, doi: 10.1038/ncomms12165.
- [40] C. Tanielian, “Decatungstate photocatalysis,” *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 178–180, pp. 1165–1181, Dec. 1998, doi: 10.1016/S0010–8545(98)00160–X.
- [41] J. Lan, Y. Wang, B. Huang, Z. Xiao, and P. Wu, “Application of polyoxometalates in photocatalytic degradation of organic pollutants,” *Nanoscale Advances*, vol. 3, no. 16, pp. 4646–4658, 2021, doi: 10.1039/D1NA00408E.
- [42] A. Joshi–Pangu *et al.*, “Acridinium–Based Photocatalysts: A Sustainable Option in Photoredox Catalysis,” *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 81, no. 16, pp. 7244–7249, Aug. 2016, doi: 10.1021/acs.joc.6b01240.
- [43] K. Kalyanasundaram, “Applications of functionalized transition metal complexes in photonic and optoelectronic devices,” *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 177, no. 1, pp. 347–414, Oct. 1998, doi: 10.1016/S0010–8545(98)00189–1.
- [44] M. S. Lowry and S. Bernhard, “Synthetically Tailored Excited States: Phosphorescent, Cyclometalated Iridium(III) Complexes and Their Applications,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 12, no. 31, pp. 7970–7977, Oct. 2006, doi: 10.1002/chem.200600618.
- [45] J. Lalevée *et al.*, “Metal and metal–free photocatalysts: mechanistic approach and application as photoinitiators of photopolymerization,” *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 10, pp. 863–876, Apr. 2014, doi: 10.3762/bjoc.10.83.
- [46] N. Sutin and C. Creutz, “Light induced electron transfer reactions of metal complexes,” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 52, no. 12, pp. 2717–2738, Jan. 1980, doi: 10.1351/pac198052122717.
- [47] A. Juris, V. Balzani, F. Barigelletti, S. Campagna, P. Belser, and A. von Zelewsky, “Ru(II) polypyridine complexes: photophysics, photochemistry, electrochemistry, and chemiluminescence,” *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 84, pp. 85–277, Mar. 1988, doi: 10.1016/0010–8545(88)80032–8.
- [48] L. Flamigni, A. Barbieri, C. Sabatini, B. Ventura, and F. Barigelletti, “Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds: Iridium,” in *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds II*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007, pp. 143–203.
- [49] A. S. Polo, M. K. Itokazu, and N. Y. Murakami Iha, “Metal complex sensitizers in dye–sensitized solar cells,” *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 248, no. 13–14, pp. 1343–1361, Jul. 2004, doi: 10.1016/j.ccr.2004.04.013.
- [50] I. P. Evans, A. Spencer, and G. Wilkinson, “Dichlorotetrakis(dimethyl sulphoxide)ruthenium(II) and its use as a source material for some new ruthenium(II) complexes,” *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, no. 2, pp. 204–209, 1973, doi: 10.1039/dt9730000204.
- [51] C. T. Lin, W. Boettcher, M. Chou, C. Creutz, and N. Sutin, “Mechanism of the quenching of the emission of substituted polypyridineruthenium(II) complexes by iron(III), chromium(III), and europium(III) ions,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 98, no. 21, pp. 6536–6544, Oct. 1976, doi: 10.1021/ja00437a020.

- [52] T. J. Meyer, "Chemical approaches to artificial photosynthesis," *Accounts of Chemical Research*, vol. 22, no. 5, pp. 163–170, May 1989, doi: 10.1021/ar00161a001.
- [53] P. Dongare, B. D. B. Myron, L. Wang, D. W. Thompson, and T. J. Meyer, "[Ru(bpy)₃]²⁺* revisited. Is it localized or delocalized? How does it decay?," *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 345, pp. 86–107, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.ccr.2017.03.009.
- [54] E. M. Kober and T. J. Meyer, "Concerning the absorption spectra of the ions M(bpy)₃²⁺ (M = Fe, Ru, Os; bpy = 2,2'-bipyridine)," *Inorganic Chemistry*, vol. 21, no. 11, pp. 3967–3977, Nov. 1982, doi: 10.1021/ic00141a021.
- [55] C. Creutz and N. Sutin, "Electron-transfer reactions of excited states. Reductive quenching of the tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) luminescence," *Inorganic Chemistry*, vol. 15, no. 2, pp. 496–499, Feb. 1976, doi: 10.1021/ic50156a062.
- [56] J. W. Verhoeven, "Glossary of terms used in photochemistry (IUPAC Recommendations 1996)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 68, no. 12, pp. 2223–2286, Jan. 1996, doi: 10.1351/pac199668122223.
- [57] N. J. Turro, "Triplet-triplet excitation transfer in fluid solution: Applications to organic photochemistry," *Journal of Chemical Education*, vol. 43, no. 1, p. 13, Jan. 1966, doi: 10.1021/ed043p13.
- [58] N. H. Damrauer, G. Cerullo, A. Yeh, T. R. Bousie, C. V. Shank, and J. K. McCusker, "Femtosecond Dynamics of Excited-State Evolution in [Ru(bpy)₃]²⁺," *Science*, vol. 275, no. 5296, pp. 54–57, Jan. 1997, doi: 10.1126/science.275.5296.54.
- [59] A. Terenin and V. Ermolaev, "Sensitized phosphorescence in organic solutions at low temperature. Energy transfer between triplet states," *Transactions of the Faraday Society*, vol. 52, p. 1042, 1956, doi: 10.1039/tf9565201042.
- [60] "Energy transfer from the triplet state," *Proceedings of the Royal Society of London Series A Mathematical and Physical Sciences*, vol. 264, no. 1316, pp. 1–18, Oct. 1961, doi: 10.1098/rspa.1961.0182.
- [61] T. Förster, "Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz," *Annalen der Physik*, vol. 437, no. 1–2, pp. 55–75, Jan. 1948, doi: 10.1002/andp.19484370105.
- [62] Nicholas J. Turro, *Molecular Photochemistry*. 1967.
- [63] D. L. Dexter, "A Theory of Sensitized Luminescence in Solids," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 21, no. 5, pp. 836–850, May 1953, doi: 10.1063/1.1699044.
- [64] I. P. Singh and P. Shah, "Tetrahydroisoquinolines in therapeutics: a patent review (2010–2015)," *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, vol. 27, no. 1, pp. 17–36, Jan. 2017, doi: 10.1080/13543776.2017.1236084.
- [65] J. D. Scott and R. M. Williams, "Chemistry and Biology of the Tetrahydroisoquinoline Antitumor Antibiotics," *Chemical Reviews*, vol. 102, no. 5, pp. 1669–1730, May 2002, doi: 10.1021/cr010212u.
- [66] A. W. Kahsai, J. Cui, H. Ü. Kaniskan, P. P. Garner, and G. Fenteany, "Analogues of Tetrahydroisoquinoline Natural Products That Inhibit Cell Migration and Target Galectin-3 Outside of Its Carbohydrate-binding Site," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 283, no. 36, pp. 24534–24545, Sep. 2008, doi: 10.1074/jbc.M800006200.
- [67] S. Eyunni, M. Gangapuram, and K. Redda, "In-Vitro Antiproliferative Activity of New Tetrahydroisoquinolines (THIQs) on Ishikawa Cells and their 3D Pharmacophore Models," *Letters in Drug Design & Discovery*, vol. 11, no. 4, pp. 428–436, 2014, doi: 10.2174/1570180811666131203002502.
- [68] M. R. Bennett *et al.*, "Structure and Biocatalytic Scope of Coclaurine N-Methyltransferase," *Angewandte Chemie*, vol. 130, no. 33, pp. 10760–10764, Aug. 2018, doi: 10.1002/ange.201805060.
- [69] W. Liu, S. Liu, R. Jin, H. Guo, and J. Zhao, "Novel strategies for catalytic asymmetric synthesis of C1-chiral 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and 3,4-dihydrotetrahydroisoquinolines," *Organic Chemistry Frontiers*, vol. 2, no. 3, pp. 288–299, 2015, doi: 10.1039/C4QO00294F.

- [70] W. A. Kukula–Koch and J. Widelski, “Alkaloids,” in *Pharmacognosy*, Elsevier, 2017, pp. 163–198.
- [71] L. Narcross, E. Fossati, L. Bourgeois, J. E. Dueber, and V. J. J. Martin, “Microbial Factories for the Production of Benzylisoquinoline Alkaloids,” *Trends in Biotechnology*, vol. 34, no. 3, pp. 228–241, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.tibtech.2015.12.005.
- [72] M. E. Zarranz De Ysern and L. A. Ordoñez, “Tetrahydroisoquinolines: A review,” *Progress in Neuro–Psychopharmacology*, vol. 5, no. 4, pp. 343–355, Jan. 1981, doi: 10.1016/0364–7722(81)90085–0.
- [73] Faheem, B. Karan Kumar, K. V. G. Chandra Sekhar, S. Chander, S. Kunjiappan, and S. Murugesan, “Medicinal chemistry perspectives of 1,2,3,4–tetrahydroisoquinoline analogs – biological activities and SAR studies,” *RSC Advances*, vol. 11, no. 20, pp. 12254–12287, 2021, doi: 10.1039/D1RA01480C.
- [74] S.–I. Murahashi, N. Komiya, H. Terai, and T. Nakae, “Aerobic Ruthenium–Catalyzed Oxidative Cyanation of Tertiary Amines with Sodium Cyanide,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, no. 50, pp. 15312–15313, Dec. 2003, doi: 10.1021/ja0390303.
- [75] C.–J. Li and B. M. Trost, “Green chemistry for chemical synthesis,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, no. 36, pp. 13197–13202, Sep. 2008, doi: 10.1073/pnas.0804348105.
- [76] C.–J. Li, “Cross–Dehydrogenative Coupling (CDC): Exploring C–C Bond Formations beyond Functional Group Transformations,” *Accounts of Chemical Research*, vol. 42, no. 2, pp. 335–344, Feb. 2009, doi: 10.1021/ar800164n.
- [77] K. R. Campos, “Direct sp³ C–H bond activation adjacent to nitrogen in heterocycles,” *Chem Soc Rev*, vol. 36, no. 7, pp. 1069–1084, 2007, doi: 10.1039/B607547A.
- [78] A. G. Condie, J. C. González–Gómez, and C. R. J. Stephenson, “Visible–Light Photoredox Catalysis: Aza–Henry Reactions via C–H Functionalization,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 132, no. 5, pp. 1464–1465, Feb. 2010, doi: 10.1021/ja909145y.
- [79] D. B. Freeman, L. Furst, A. G. Condie, and C. R. J. Stephenson, “Functionally Diverse Nucleophilic Trapping of Iminium Intermediates Generated Utilizing Visible Light,” *Organic Letters*, vol. 14, no. 1, pp. 94–97, Jan. 2012, doi: 10.1021/ol202883v.
- [80] W.–P. To, Y. Liu, T.–C. Lau, and C.–M. Che, “A Robust Palladium(II)–Porphyrin Complex as Catalyst for Visible Light Induced Oxidative C–H Functionalization,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 19, no. 18, pp. 5654–5664, Apr. 2013, doi: 10.1002/chem.201203774.
- [81] J.–J. Zhong *et al.*, “A Highly Efficient and Selective Aerobic Cross–Dehydrogenative–Coupling Reaction Photocatalyzed by a Platinum(II) Terpyridyl Complex,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 19, no. 20, pp. 6443–6450, May 2013, doi: 10.1002/chem.201204572.
- [82] X. Gao, P. Wang, L. Zeng, S. Tang, and A. Lei, “Cobalt(II)–Catalyzed Electrooxidative C–H Amination of Arenes with Alkylamines,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 140, no. 12, pp. 4195–4199, Mar. 2018, doi: 10.1021/jacs.7b13049.
- [83] Q.–H. Zheng, W. Meng, G.–J. Jiang, and Z.–X. Yu, “CuI–Catalyzed C1–Alkynylation of Tetrahydroisoquinolines (THIQs) by A 3 Reaction with Tunable Iminium Ions,” *Organic Letters*, vol. 15, no. 23, pp. 5928–5931, Dec. 2013, doi: 10.1021/ol402517e.
- [84] B. Wang *et al.*, “Long–Lived Excited States of Zwitterionic Copper(I) Complexes for Photoinduced Cross–Dehydrogenative Coupling Reactions,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 21, no. 3, pp. 1184–1190, Jan. 2015, doi: 10.1002/chem.201405356.
- [85] D. P. Hari and B. König, “Eosin Y Catalyzed Visible Light Oxidative C–C and C–P bond Formation,” *Organic Letters*, vol. 13, no. 15, pp. 3852–3855, Aug. 2011, doi: 10.1021/ol201376v.
- [86] M. N. Gandy, C. L. Raston, and K. A. Stubbs, “Photoredox catalysis under shear using thin film vortex microfluidics,” *Chemical Communications*, vol. 51, no. 55, pp. 11041–11044, 2015, doi: 10.1039/C5CC02153G.

- [87] M. Rueping *et al.*, “Light-Mediated Heterogeneous Cross Dehydrogenative Coupling Reactions: Metal Oxides as Efficient, Recyclable, Photoredox Catalysts in C–C Bond-Forming Reactions,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 18, no. 12, pp. 3478–3481, Mar. 2012, doi: 10.1002/chem.201103242.
- [88] J. Wang *et al.*, “Cu₂O mesoporous spheres with a high internal diffusion capacity and improved catalytic ability for the aza-Henry reaction driven by visible light,” *Chem Commun*, vol. 50, no. 91, pp. 14237–14240, 2014, doi: 10.1039/C4CC06869F.
- [89] T. Mitkina, C. Stanglmair, W. Setzer, M. Gruber, H. Kisch, and B. König, “Visible light mediated homo- and heterocoupling of benzyl alcohols and benzyl amines on polycrystalline cadmium sulfide,” *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 10, no. 17, p. 3556, 2012, doi: 10.1039/c2ob07053g.
- [90] Z. Xie, C. Wang, K. E. DeKrafft, and W. Lin, “Highly Stable and Porous Cross-Linked Polymers for Efficient Photocatalysis,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, no. 7, pp. 2056–2059, Feb. 2011, doi: 10.1021/ja109166b.
- [91] C. Wang, Z. Xie, K. E. DeKrafft, and W. Lin, “Light-Harvesting Cross-Linked Polymers for Efficient Heterogeneous Photocatalysis,” *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 4, no. 4, pp. 2288–2294, Apr. 2012, doi: 10.1021/am3003445.
- [92] P. J. DeLaive, B. P. Sullivan, T. J. Meyer, and D. G. Whitten, “Applications of light-induced electron-transfer reactions. Coupling of hydrogen generation with photoreduction of ruthenium(II) complexes by triethylamine,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 101, no. 14, pp. 4007–4008, Jul. 1979, doi: 10.1021/ja00508a070.
- [93] P. J. DeLaive, J. T. Lee, H. W. Sprintschnik, H. Abruna, T. J. Meyer, and D. G. Whitten, “Photoinduced redox reactions of hydrophobic ruthenium(II) complexes,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 99, no. 21, pp. 7094–7097, Oct. 1977, doi: 10.1021/ja00463a070.
- [94] P. J. DeLaive, T. K. Foreman, C. Giannotti, and D. G. Whitten, “Photoinduced electron transfer reactions of transition-metal complexes with amines. Mechanistic studies of alternate pathways to back electron transfer,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 102, no. 17, pp. 5627–5631, Aug. 1980, doi: 10.1021/ja00537a037.
- [95] Z. Li and C.-J. Li, “CuBr-Catalyzed Direct Indolation of Tetrahydroisoquinolines via Cross-Dehydrogenative Coupling between sp³ C–H and sp² C–H Bonds,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 127, no. 19, pp. 6968–6969, May 2005, doi: 10.1021/ja0516054.
- [96] Z. Li and C.-J. Li, “Highly Efficient Copper-Catalyzed Nitro-Mannich Type Reaction: Cross-Dehydrogenative-Coupling between sp³ C–H Bond and sp³ C–H Bond,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 127, no. 11, pp. 3672–3673, Mar. 2005, doi: 10.1021/ja050058j.
- [97] Z. Li and C.-J. Li, “Catalytic Allylic Alkylation via the Cross-Dehydrogenative-Coupling Reaction between Allylic sp³ C–H and Methylenic sp³ C–H Bonds,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128, no. 1, pp. 56–57, Jan. 2006, doi: 10.1021/ja056541b.
- [98] L. Shi and W. Xia, “Photoredox functionalization of C–H bonds adjacent to a nitrogen atom,” *Chemical Society Reviews*, vol. 41, no. 23, p. 7687, 2012, doi: 10.1039/c2cs35203f.
- [99] Y. Xi, H. Yi, and A. Lei, “Synthetic applications of photoredox catalysis with visible light,” *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 11, no. 15, p. 2387, 2013, doi: 10.1039/c3ob40137e.
- [100] M. Rueping, C. Vila, R. M. Koenigs, K. Poscharny, and D. C. Fabry, “Dual catalysis: combining photoredox and Lewis base catalysis for direct Mannich reactions,” *Chem Commun*, vol. 47, no. 8, pp. 2360–2362, 2011, doi: 10.1039/C0CC04539J.
- [101] Q. Liu, Y.-N. Li, H.-H. Zhang, B. Chen, C.-H. Tung, and L.-Z. Wu, “Reactivity and Mechanistic Insight into Visible-Light-Induced Aerobic Cross-Dehydrogenative Coupling Reaction by Organophotocatalysts,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 18, no. 2, pp. 620–627, Jan. 2012, doi: 10.1002/chem.201102299.

- [102] Y. Pan, C. W. Kee, L. Chen, and C.-H. Tan, "Dehydrogenative coupling reactions catalysed by Rose Bengal using visible light irradiation," *Green Chemistry*, vol. 13, no. 10, p. 2682, 2011, doi: 10.1039/c1gc15489c.
- [103] L. Möhlmann, M. Baar, J. Rieß, M. Antonietti, X. Wang, and S. Blechert, "Carbon Nitride-Catalyzed Photoredox C–C Bond Formation with N-Aryltetrahydroisoquinolines," *Advanced Synthesis & Catalysis*, vol. 354, no. 10, pp. 1909–1913, Jul. 2012, doi: 10.1002/adsc.201100894.
- [104] X. Wang, S. Blechert, and M. Antonietti, "Polymeric Graphitic Carbon Nitride for Heterogeneous Photocatalysis," *ACS Catalysis*, vol. 2, no. 8, pp. 1596–1606, Aug. 2012, doi: 10.1021/cs300240x.
- [105] M. Cherevatskaya *et al.*, "Visible-Light-Promoted Stereoselective Alkylation by Combining Heterogeneous Photocatalysis with Organocatalysis," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 51, no. 17, pp. 4062–4066, Apr. 2012, doi: 10.1002/anie.201108721.
- [106] Y. Zhang, N. Zhang, Z.-R. Tang, and Y.-J. Xu, "Transforming CdS into an efficient visible light photocatalyst for selective oxidation of saturated primary C–H bonds under ambient conditions," *Chemical Science*, vol. 3, no. 9, p. 2812, 2012, doi: 10.1039/c2sc20603j.
- [107] M. Rueping *et al.*, "Light-Mediated Heterogeneous Cross Dehydrogenative Coupling Reactions: Metal Oxides as Efficient, Recyclable, Photoredox Catalysts in C–C Bond-Forming Reactions," *Chemistry – A European Journal*, vol. 18, no. 12, pp. 3478–3481, Mar. 2012, doi: 10.1002/chem.201103242.
- [108] D. Enders and J. P. Shilvock, "Some recent applications of α -amino nitrile chemistry," *Chemical Society Reviews*, vol. 29, no. 5, pp. 359–373, 2000, doi: 10.1039/a908290e.
- [109] V. V. Kouznetsov and C. E. P. Galvis, "Strecker reaction and α -amino nitriles: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties," *Tetrahedron*, vol. 74, no. 8, pp. 773–810, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.tet.2018.01.005.
- [110] M. Rueping, S. Zhu, and R. M. Koenigs, "Visible-light photoredox catalyzed oxidative Strecker reaction," *Chemical Communications*, vol. 47, no. 47, p. 12709, 2011, doi: 10.1039/c1cc15643h.
- [111] Y. Pan *et al.*, "Graphene oxide and Rose Bengal: oxidative C–H functionalisation of tertiary amines using visible light," *Green Chemistry*, vol. 13, no. 12, p. 3341, 2011, doi: 10.1039/c1gc15865a.
- [112] M. Rueping, C. Vila, and T. Bootwicha, "Continuous Flow Organocatalytic C–H Functionalization and Cross-Dehydrogenative Coupling Reactions: Visible Light Organophotocatalysis for Multicomponent Reactions and C–C, C–P Bond Formations," *ACS Catalysis*, vol. 3, no. 7, pp. 1676–1680, Jul. 2013, doi: 10.1021/cs400350j.
- [113] G. H. Dang, D. T. Le, T. Truong, and N. T. S. Phan, "C1-alkynylation of tetrahydroisoquinoline by A³ reaction using metal-organic framework Cu₂(BPDC)₂(BPY) as an efficient heterogeneous catalyst," *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, vol. 400, pp. 162–169, May 2015, doi: 10.1016/j.molcata.2015.02.008.
- [114] Z. Li and C.-J. Li, "CuBr-Catalyzed Efficient Alkynylation of sp³ C–H Bonds Adjacent to a Nitrogen Atom," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, no. 38, pp. 11810–11811, Sep. 2004, doi: 10.1021/ja0460763.
- [115] Z. Li and C.-J. Li, "Catalytic Enantioselective Alkynylation of Prochiral sp³ C–H Bonds Adjacent to a Nitrogen Atom," *Organic Letters*, vol. 6, no. 26, pp. 4997–4999, Dec. 2004, doi: 10.1021/ol047814v.
- [116] C. Liu, H. Zhang, W. Shi, and A. Lei, "Bond Formations between Two Nucleophiles: Transition Metal Catalyzed Oxidative Cross-Coupling Reactions," *Chemical Reviews*, vol. 111, no. 3, pp. 1780–1824, Mar. 2011, doi: 10.1021/cr100379j.
- [117] M. C. Ortiz Villamizar, C. E. Puerto Galvis, and V. V. Kouznetsov, "The A³ Redox-Neutral C1-Alkynylation of Tetrahydroisoquinolines: A Comparative Study between Visible Light Photocatalysis and Transition-Metal Catalysis," *Synthesis*, vol. 53, no. 03, pp. 547–556, Feb. 2021, doi: 10.1055/s-0040-1707370.

- [118] G. Shao, Y. He, Y. Xu, J. Chen, H. Yu, and R. Cao, "Three-Component C1 Alkynylation of Tetrahydroisoquinolines Catalyzed by Silver Acetate," *European Journal of Organic Chemistry*, vol. 2015, no. 21, pp. 4615–4619, Jul. 2015, doi: 10.1002/ejoc.201500526.
- [119] J. Li, H. Wang, J. Sun, Y. Yang, and L. Liu, "Mild gold-catalyzed three-component dehydrogenative coupling of terminal alkynes to amines and indole-2-carboxaldehyde," *Org Biomol Chem*, vol. 12, no. 16, pp. 2523–2527, 2014, doi: 10.1039/C3OB42431F.
- [120] R. Guo *et al.*, "Photoinduced Copper-Catalyzed Asymmetric C(sp³)-H Alkynylation of Cyclic Amines by Intramolecular 1,5-Hydrogen Atom Transfer," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 61, no. 34, Aug. 2022, doi: 10.1002/anie.202208232.
- [121] M. Rueping, R. M. Koenigs, K. Poschary, D. C. Fabry, D. Leonori, and C. Vila, "Dual Catalysis: Combination of Photocatalytic Aerobic Oxidation and Metal Catalyzed Alkynylation Reactions—C–C Bond Formation Using Visible Light," *Chemistry – A European Journal*, vol. 18, no. 17, pp. 5170–5174, Apr. 2012, doi: 10.1002/chem.201200050.
- [122] E. Byvatov, B. C. Sasse, H. Stark, and G. Schneider, "From Virtual to Real Screening for D3 Dopamine Receptor Ligands," *ChemBioChem*, vol. 6, no. 6, pp. 997–999, Jun. 2005, doi: 10.1002/cbic.200400400.
- [123] T. J. Zimmermann, S. Roy, N. E. Martinez, S. Ziegler, C. Hedberg, and H. Waldmann, "Biology-Oriented Synthesis of a Tetrahydroisoquinoline-Based Compound Collection Targeting Microtubule Polymerization," *ChemBioChem*, vol. 14, no. 3, pp. 295–300, Feb. 2013, doi: 10.1002/cbic.201200711.
- [124] B. D. Sanders *et al.*, "Identification and characterization of novel sirtuin inhibitor scaffolds," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 17, no. 19, pp. 7031–7041, Oct. 2009, doi: 10.1016/j.bmc.2009.07.073.
- [125] J. W. Tucker, Y. Zhang, T. F. Jamison, and C. R. J. Stephenson, "Visible-Light Photoredox Catalysis in Flow," *Angewandte Chemie*, vol. 124, no. 17, pp. 4220–4223, Apr. 2012, doi: 10.1002/ange.201200961.
- [126] W. Fu, W. Guo, G. Zou, and C. Xu, "Selective trifluoromethylation and alkynylation of tetrahydroisoquinolines using visible light irradiation by Rose Bengal," *Journal of Fluorine Chemistry*, vol. 140, pp. 88–94, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.jfluchem.2012.05.009.
- [127] A. McNally, C. K. Prier, and D. W. C. MacMillan, "Discovery of an α -Amino C–H Arylation Reaction Using the Strategy of Accelerated Serendipity," *Science*, vol. 334, no. 6059, pp. 1114–1117, Nov. 2011, doi: 10.1126/science.1213920.
- [128] P. Kohls, D. Jadhav, G. Pandey, and O. Reiser, "Visible Light Photoredox Catalysis: Generation and Addition of N-Aryltetrahydroisoquinoline-Derived α -Amino Radicals to Michael Acceptors," *Organic Letters*, vol. 14, no. 3, pp. 672–675, Feb. 2012, doi: 10.1021/ol202857t.
- [129] Y. Miyake, K. Nakajima, and Y. Nishibayashi, "Visible-Light-Mediated Utilization of α -Aminoalkyl Radicals: Addition to Electron-Deficient Alkenes Using Photoredox Catalysts," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 134, no. 7, pp. 3338–3341, Feb. 2012, doi: 10.1021/ja211770y.
- [130] Y. Aramaki, N. Imaizumi, M. Hotta, J. Kumagai, and T. Ooi, "Exploiting single-electron transfer in Lewis pairs for catalytic bond-forming reactions," *Chemical Science*, vol. 11, no. 17, pp. 4305–4311, 2020, doi: 10.1039/D0SC01159B.
- [131] L. Ruiz Espelt, E. M. Wiensch, and T. P. Yoon, "Brønsted Acid Cocatalysts in Photocatalytic Radical Addition of α -Amino C–H Bonds across Michael Acceptors," *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 78, no. 8, pp. 4107–4114, Apr. 2013, doi: 10.1021/jo400428m.
- [132] X. Zhu, Y. Lin, J. San Martin, Y. Sun, D. Zhu, and Y. Yan, "Lead halide perovskites for photocatalytic organic synthesis," *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, p. 2843, Jun. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-10634-x.

- [133] K. Nakajima, Y. Miyake, and Y. Nishibayashi, “Synthetic Utilization of α -Aminoalkyl Radicals and Related Species in Visible Light Photoredox Catalysis,” *Accounts of Chemical Research*, vol. 49, no. 9, pp. 1946–1956, Sep. 2016, doi: 10.1021/acs.accounts.6b00251.
- [134] R. H. FEEHS, “Photochemical apparatus and process,” US3554887A, 1966.
- [135] H. Lu, M. A. Schmidt, and K. F. Jensen, “Photochemical reactions and on-line UV detection in microfabricated reactors,” *Lab on a Chip*, vol. 1, no. 1, p. 22, 2001, doi: 10.1039/b104037p.
- [136] K. Ueno, F. Kitagawa, and N. Kitamura, “Photocyanation of pyrene across an oil/water interface in a polymer microchannel chip,” *Lab on a Chip*, vol. 2, no. 4, p. 231, 2002, doi: 10.1039/b207991g.
- [137] W. Ehrfeld, V. Hessel, and H. Löwe, *Microreactors*. Wiley, 2000.
- [138] B. Ahmed-Omer, J. C. Brandt, and T. Wirth, “Advanced organic synthesis using microreactor technology,” *Org Biomol Chem*, vol. 5, no. 5, pp. 733–740, 2007, doi: 10.1039/B615072A.
- [139] B. P. Mason, K. E. Price, J. L. Steinbacher, A. R. Bogdan, and D. T. McQuade, “Greener Approaches to Organic Synthesis Using Microreactor Technology,” *Chemical Reviews*, vol. 107, no. 6, pp. 2300–2318, Jun. 2007, doi: 10.1021/cr050944c.
- [140] Y. Matsushita *et al.*, “Recent progress on photoreactions in microreactors,” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 79, no. 11, pp. 1959–1968, Jan. 2007, doi: 10.1351/pac200779111959.
- [141] S. Govaerts, A. Nyuchev, and T. Noel, “Pushing the boundaries of C–H bond functionalization chemistry using flow technology,” *Journal of Flow Chemistry*, vol. 10, no. 1, pp. 13–71, Mar. 2020, doi: 10.1007/s41981-020-00077-7.
- [142] P. L. Suryawanshi, S. P. Gumfekar, B. A. Bhanvase, S. H. Sonawane, and M. S. Pimplapure, “A review on microreactors: Reactor fabrication, design, and cutting-edge applications,” *Chemical Engineering Science*, vol. 189, pp. 431–448, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.ces.2018.03.026.
- [143] A. R. Bogdan, S. L. Poe, D. C. Kubis, S. J. Broadwater, and D. T. McQuade, “The Continuous-Flow Synthesis of Ibuprofen,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 48, no. 45, pp. 8547–8550, Oct. 2009, doi: 10.1002/anie.200903055.
- [144] B. Gutmann, D. Cantillo, and C. O. Kappe, “Continuous-Flow Technology—A Tool for the Safe Manufacturing of Active Pharmaceutical Ingredients,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 54, no. 23, pp. 6688–6728, Jun. 2015, doi: 10.1002/anie.201409318.
- [145] P. Poehlauer *et al.*, “Pharmaceutical Roundtable Study Demonstrates the Value of Continuous Manufacturing in the Design of Greener Processes,” *Organic Process Research & Development*, vol. 17, no. 12, pp. 1472–1478, Dec. 2013, doi: 10.1021/op400245s.
- [146] Y. Su, N. J. W. Straathof, V. Hessel, and T. Noël, “Photochemical Transformations Accelerated in Continuous-Flow Reactors: Basic Concepts and Applications,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 20, no. 34, pp. 10562–10589, Aug. 2014, doi: 10.1002/chem.201400283.
- [147] M. B. Plutschack, B. Pieber, K. Gilmore, and P. H. Seeberger, “The Hitchhiker’s Guide to Flow Chemistry,” *Chemical Reviews*, vol. 117, no. 18, pp. 11796–11893, Sep. 2017, doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00183.
- [148] B. König, “Photocatalysis in Organic Synthesis – Past, Present, and Future,” *European Journal of Organic Chemistry*, vol. 2017, no. 15, pp. 1979–1981, Apr. 2017, doi: 10.1002/ejoc.201700420.
- [149] M. Sender and D. Ziegenbalg, “Light Sources for Photochemical Processes – Estimation of Technological Potentials,” *Chemie Ingenieur Technik*, vol. 89, no. 9, pp. 1159–1173, Sep. 2017, doi: 10.1002/cite.201600191.
- [150] S. Silvestrini, T. Carofiglio, and M. Maggini, “Shape-selective growth of silver nanoparticles under continuous flow photochemical conditions,” *Chem Commun*, vol. 49, no. 1, pp. 84–86, 2013, doi: 10.1039/C2CC35652J.

- [151] D. H. Chen, X. Ye, and K. Li, "Oxidation of PCE with a UV LED Photocatalytic Reactor," *Chemical Engineering & Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 95–97, Jan. 2005, doi: 10.1002/ceat.200407012.
- [152] P. De Santis, L.–E. Meyer, and S. Kara, "The rise of continuous flow biocatalysis – fundamentals, very recent developments and future perspectives," *Reaction Chemistry & Engineering*, vol. 5, no. 12, pp. 2155–2184, 2020, doi: 10.1039/D0RE00335B.
- [153] V. Hessel, H. Löwe, and F. Schönfeld, "Micromixers—a review on passive and active mixing principles," *Chemical Engineering Science*, vol. 60, no. 8–9, pp. 2479–2501, Apr. 2005, doi: 10.1016/j.ces.2004.11.033.
- [154] K. P. L. Kuijpers, M. A. H. van Dijk, Q. G. Rumeur, V. Hessel, Y. Su, and T. Noël, "A sensitivity analysis of a numbered-up photomicroreactor system," *Reaction Chemistry & Engineering*, vol. 2, no. 2, pp. 109–115, 2017, doi: 10.1039/C7RE00024C.
- [155] L. D. Elliott *et al.*, "Batch versus Flow Photochemistry: A Revealing Comparison of Yield and Productivity," *Chemistry – A European Journal*, vol. 20, no. 46, pp. 15226–15232, Nov. 2014, doi: 10.1002/chem.201404347.
- [156] E. M. Schuster and P. Wipf, "Photochemical Flow Reactions," *Israel Journal of Chemistry*, vol. 54, no. 4, pp. 361–370, Apr. 2014, doi: 10.1002/ijch.201400045.
- [157] M. Oelgemöller and O. Shvydkiv, "Recent Advances in Microflow Photochemistry," *Molecules*, vol. 16, no. 9, pp. 7522–7550, Sep. 2011, doi: 10.3390/molecules16097522.
- [158] P. Watts and S. J. Haswell, "The application of micro reactors for organic synthesis," *Chemical Society Reviews*, vol. 34, no. 3, p. 235, 2005, doi: 10.1039/b313866f.
- [159] K. F. Jensen, "Microreaction engineering — is small better?," *Chemical Engineering Science*, vol. 56, no. 2, pp. 293–303, Jan. 2001, doi: 10.1016/S0009–2509(00)00230–X.
- [160] K. F. Jensen, "Silicon-Based Microchemical Systems: Characteristics and Applications," *MRS Bulletin*, vol. 31, no. 2, pp. 101–107, Feb. 2006, doi: 10.1557/mrs2006.23.
- [161] E. E. Coyle and M. Oelgemöller, "Micro-photochemistry: photochemistry in microstructured reactors. The new photochemistry of the future?," *Photochemical & Photobiological Sciences*, vol. 7, no. 11, pp. 1313–1322, Nov. 2008, doi: 10.1039/b808778d.
- [162] P. D. I. Fletcher *et al.*, "Micro reactors: principles and applications in organic synthesis," *Tetrahedron*, vol. 58, no. 24, pp. 4735–4757, Jun. 2002, doi: 10.1016/S0040–4020(02)00432–5.
- [163] Y. Kikutani, T. Horiuchi, K. Uchiyama, H. Hisamoto, M. Tokeshi, and T. Kitamori, "Glass microchip with three-dimensional microchannel network for 2×2 parallel synthesis," *Lab Chip*, vol. 2, no. 4, pp. 188–192, 2002, doi: 10.1039/B208382P.
- [164] K. Jähnisch, V. Hessel, H. Löwe, and M. Baerns, "Chemistry in Microstructured Reactors," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 43, no. 4, pp. 406–446, Jan. 2004, doi: 10.1002/anie.200300577.
- [165] R. Knitter, D. Gohring, P. Risthaus, and J. Haußelt, "Microfabrication of ceramic microreactors," *Microsystem Technologies*, vol. 7, no. 3, pp. 85–90, Oct. 2001, doi: 10.1007/s005420100107.
- [166] P. Anzenbacher and M. A. Palacios, "Polymer nanofibre junctions of attolitre volume serve as zeptomole-scale chemical reactors," *Nature Chemistry*, vol. 1, no. 1, pp. 80–86, Apr. 2009, doi: 10.1038/nchem.125.
- [167] J. N. Lee, C. Park, and G. M. Whitesides, "Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)–Based Microfluidic Devices," *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 23, pp. 6544–6554, Dec. 2003, doi: 10.1021/ac0346712.
- [168] D. M. Ratner, E. R. Murphy, M. Jhunjhunwala, D. A. Snyder, K. F. Jensen, and P. H. Seeberger, "Microreactor-based reaction optimization in organic chemistry—glycosylation as a challenge," *Chem Commun*, no. 5, pp. 578–580, 2005, doi: 10.1039/B414503H.
- [169] J. P. Knowles, L. D. Elliott, and K. I. Booker-Milburn, "Flow photochemistry: Old light through new windows," *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 8, pp. 2025–2052, Nov. 2012, doi: 10.3762/bjoc.8.229.

- [170] C. Bottecchia, X.-J. Wei, K. P. L. Kuijpers, V. Hessel, and T. Noël, “Visible Light-Induced Trifluoromethylation and Perfluoroalkylation of Cysteine Residues in Batch and Continuous Flow,” *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 81, no. 16, pp. 7301–7307, Aug. 2016, doi: 10.1021/acs.joc.6b01031.
- [171] R. A. Maurya, C. P. Park, and D.-P. Kim, “Triple-channel microreactor for biphasic gas-liquid reactions: Photosensitized oxygenations,” *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 7, pp. 1158–1163, Aug. 2011, doi: 10.3762/bjoc.7.134.
- [172] T. C. Cameron *et al.*, “PDMS Organ-On-Chip Design and Fabrication: Strategies for Improving Fluidic Integration and Chip Robustness of Rapidly Prototyped Microfluidic In Vitro Models,” *Micromachines*, vol. 13, no. 10, p. 1573, Sep. 2022, doi: 10.3390/mi13101573.
- [173] S. Torino, B. Corrado, M. Iodice, and G. Coppola, “PDMS-Based Microfluidic Devices for Cell Culture,” *Inventions*, vol. 3, no. 3, p. 65, Sep. 2018, doi: 10.3390/inventions3030065.
- [174] P. Zheng and T. J. McCarthy, “Rediscovering Silicones: Molecularly Smooth, Low Surface Energy, Unfilled, UV/Vis-Transparent, Extremely Cross-Linked, Thermally Stable, Hard, Elastic PDMS,” *Langmuir*, vol. 26, no. 24, pp. 18585–18590, Dec. 2010, doi: 10.1021/la104065e.
- [175] V. Hessel, D. Kralisch, N. Kockmann, T. Noël, and Q. Wang, “Novel Process Windows for Enabling, Accelerating, and Uplifting Flow Chemistry,” *ChemSusChem*, vol. 6, no. 5, pp. 746–789, May 2013, doi: 10.1002/cssc.201200766.
- [176] J. W. Tucker, Y. Zhang, T. F. Jamison, and C. R. J. Stephenson, “Visible-Light Photoredox Catalysis in Flow,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 51, no. 17, pp. 4144–4147, Apr. 2012, doi: 10.1002/anie.201200961.
- [177] S. Santoro, F. Ferlin, L. Ackermann, and L. Vaccaro, “C-H functionalization reactions under flow conditions,” *Chemical Society Reviews*, vol. 48, no. 10, pp. 2767–2782, 2019, doi: 10.1039/C8CS00211H.
- [178] K. A. Johnson and R. S. Goody, “The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis-Menten Paper,” *Biochemistry*, vol. 50, no. 39, pp. 8264–8269, Oct. 2011, doi: 10.1021/bi201284u.
- [179] A. J. G. Stanley M. Roberts, “Introduction to enzymes, receptors and the action of small molecule drugs,” in *Introduction to Drug Research and Development.*, 2013, pp. 1–55.
- [180] I. H. Segel, “Enzyme Kinetics,” in *Encyclopedia of Biological Chemistry*, Elsevier, 2013, pp. 216–220.
- [181] A. Blanco and G. Blanco, “Enzymes,” in *Medical Biochemistry*, Elsevier, 2017, pp. 153–175.
- [182] G. Cipriani, C. Dolciotti, L. Picchi, and U. Bonuccelli, “Alzheimer and his disease: a brief history,” *Neurological Sciences*, vol. 32, no. 2, pp. 275–279, Apr. 2011, doi: 10.1007/s10072-010-0454-7.
- [183] R. K. Singh, “Antagonism of cysteinyl leukotrienes and their receptors as a neuroinflammatory target in Alzheimer’s disease,” *Neurological Sciences*, vol. 41, no. 8, pp. 2081–2093, Aug. 2020, doi: 10.1007/s10072-020-04369-7.
- [184] A. Singhal, O. Bangar, and V. Naithani, “Medicinal plants with a potential to treat Alzheimer and associated symptoms,” *International journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, vol. 2, no. 2, p. 84, 2012, doi: 10.4103/2231-0738.95927.
- [185] P.-P. Liu, Y. Xie, X.-Y. Meng, and J.-S. Kang, “History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer’s disease,” *Signal Transduction and Targeted Therapy*, vol. 4, no. 1, p. 29, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41392-019-0063-8.
- [186] H. Hampel *et al.*, “The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease,” *Brain*, vol. 141, no. 7, pp. 1917–1933, Jul. 2018, doi: 10.1093/brain/awy132.
- [187] K.-B. AUGUSTINSSON and D. NACHMANSOHN, “Distinction between Acetylcholine-Esterase and Other Choline Ester-splitting Enzymes,” *Science*, vol. 110, no. 2847, pp. 98–99, Jul. 1949, doi: 10.1126/science.110.2847.98.

- [188] W. K. Summers, L. V. Majovski, G. M. Marsh, K. Tachiki, and A. Kling, "Oral Tetrahydroaminoacridine in Long-Term Treatment of Senile Dementia, Alzheimer Type," *New England Journal of Medicine*, vol. 315, no. 20, pp. 1241–1245, Nov. 1986, doi: 10.1056/NEJM198611133152001.
- [189] "No Title," *Alzheimer's Disease International, World Alzheimer Report 2019: Attitudes to Dementia Alzheimer's Disease International, London*, 2019.
- [190] M. Sarter and V. Parikh, "Choline transporters, cholinergic transmission and cognition," *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 6, no. 1, pp. 48–56, Jan. 2005, doi: 10.1038/nrn1588.
- [191] D. G. W. Takashi Kudo, Kenneth L., Davis Rafael Blesa Gonzalez, *Practical Pharmacology for Alzheimer's Disease*. 2016.
- [192] C. I. Wright, C. Geula, and M.–M. Mesulam, "Neuroglial cholinesterases in the normal brain and in Alzheimer's disease: Relationship to plaques, tangles, and patterns of selective vulnerability," *Annals of Neurology*, vol. 34, no. 3, pp. 373–384, Sep. 1993, doi: 10.1002/ana.410340312.
- [193] V. W. R J Polinsky , K V Holmes, R T Brown, "CSF acetylcholinesterase levels are reduced in multiple system atrophy with autonomic failure," *Neurology*, vol. 39, no. 1, pp. 40–44, 1989.
- [194] K. Ohno *et al.*, "The spectrum of mutations causing end-plate acetylcholinesterase deficiency," *Annals of Neurology*, vol. 47, no. 2, pp. 162–170, Feb. 2000, doi: 10.1002/1531-8249(200002)47:2<162::AID-ANA5>3.0.CO;2-Q.
- [195] K. Sharma, "Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review)," *Molecular Medicine Reports*, Jun. 2019, doi: 10.3892/mmr.2019.10374.
- [196] M. Pohanka, "Inhibitors of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Meet Immunity," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, no. 6, pp. 9809–9825, Jun. 2014, doi: 10.3390/ijms15069809.
- [197] N. H. Greig *et al.*, "A New Therapeutic Target in Alzheimer's Disease Treatment: Attention to Butyrylcholinesterase," *Current Medical Research and Opinion*, vol. 17, no. 3, pp. 159–165, Jan. 2001, doi: 10.1185/0300799039117057.
- [198] Q. Li *et al.*, "Discovery and Biological Evaluation of a Novel Highly Potent Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 63, no. 17, pp. 10030–10044, Sep. 2020, doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c01129.
- [199] E. K. PERRY, R. H. PERRY, G. BLESSED, and B. E. TOMLINSON, "CHANGES IN BRAIN CHOLINESTERASES IN SENILE DEMENTIA OF ALZHEIMER TYPE," *Neuropathology and Applied Neurobiology*, vol. 4, no. 4, pp. 273–277, Jul. 1978, doi: 10.1111/j.1365-2990.1978.tb00545.x.
- [200] G. Zhou *et al.*, "Aspirin Hydrolysis in Plasma Is a Variable Function of Butyrylcholinesterase and Platelet-activating Factor Acetylhydrolase 1b2 (PAFAH1b2)," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 288, no. 17, pp. 11940–11948, Apr. 2013, doi: 10.1074/jbc.M112.427674.
- [201] O. Lockridge, "Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses," *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 148, pp. 34–46, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.011.
- [202] L. Raveh, E. Grauer, J. Grunwald, E. Cohen, and Y. Ashani, "The Stoichiometry of Protection against Soman and VX Toxicity in Monkeys Pretreated with Human Butyrylcholinesterase," *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 145, no. 1, pp. 43–53, Jul. 1997, doi: 10.1006/taap.1997.8160.
- [203] A. Musial, M. Bajda, and B. Malawska, "Recent Developments in Cholinesterases Inhibitors for Alzheimers Disease Treatment," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 14, no. 25, pp. 2654–2679, Oct. 2007, doi: 10.2174/092986707782023217.

- [204] S. Darvesh, M. K. Cash, G. A. Reid, E. Martin, A. Mitnitski, and C. Geula, "Butyrylcholinesterase Is Associated With β -Amyloid Plaques in the Transgenic APP SWE/PSEN1dE9 Mouse Model of Alzheimer Disease," *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, vol. 71, no. 1, pp. 2–14, Jan. 2012, doi: 10.1097/NEN.0b013e31823cc7a6.
- [205] D. A. Dougherty and D. A. Stauffer, "Acetylcholine Binding by a Synthetic Receptor: Implications for Biological Recognition," *Science*, vol. 250, no. 4987, pp. 1558–1560, Dec. 1990, doi: 10.1126/science.2274786.
- [206] J. L. Sussman *et al.*, "Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: A Prototypic Acetylcholine-Binding Protein," *Science*, vol. 253, no. 5022, pp. 872–879, Aug. 1991, doi: 10.1126/science.1678899.
- [207] J. Massoulié, J. Sussman, S. Bon, and I. Silman, "Chapter 15: Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase," 1993, pp. 139–146.
- [208] "Protein Data Bank. Available online: <http://www.pdb.org>."
- [209] D. K. Sukumarapillai, K. Kooi–Yeong, Y. Kia, V. Murugaiyah, and S. K. Iyer, "Design, synthesis and cholinesterase inhibitory evaluation study of fluorescent N–benzylpiperidine–4–one derivatives," *Medicinal Chemistry Research*, vol. 25, no. 8, pp. 1705–1715, Aug. 2016, doi: 10.1007/s00044–016–1619–6.
- [210] T. Rosenberry *et al.*, "Comparison of the Binding of Reversible Inhibitors to Human Butyrylcholinesterase and Acetylcholinesterase: A Crystallographic, Kinetic and Calorimetric Study," *Molecules*, vol. 22, no. 12, p. 2098, Nov. 2017, doi: 10.3390/molecules22122098.
- [211] M. Harel, D. M. Quinn, H. K. Nair, I. Silman, and J. L. Sussman, "The X–ray Structure of a Transition State Analog Complex Reveals the Molecular Origins of the Catalytic Power and Substrate Specificity of Acetylcholinesterase," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 118, no. 10, pp. 2340–2346, Jan. 1996, doi: 10.1021/ja952232h.
- [212] H. Dvir, I. Silman, M. Harel, T. L. Rosenberry, and J. L. Sussman, "Acetylcholinesterase: From 3D structure to function," *Chemico–Biological Interactions*, vol. 187, no. 1–3, pp. 10–22, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.cbi.2010.01.042.
- [213] Y. Nicolet, O. Lockridge, P. Masson, J. C. Fontecilla–Camps, and F. Nachon, "Crystal Structure of Human Butyrylcholinesterase and of Its Complexes with Substrate and Products," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 278, no. 42, pp. 41141–41147, Oct. 2003, doi: 10.1074/jbc.M210241200.
- [214] P. Masson, E. Carletti, and F. Nachon, "Structure, Activities and Biomedical Applications of Human Butyrylcholinesterase," *Protein & Peptide Letters*, vol. 16, no. 10, pp. 1215–1224, Oct. 2009, doi: 10.2174/092986609789071207.
- [215] Y. Xu *et al.*, "Flexibility of Aromatic Residues in the Active–Site Gorge of Acetylcholinesterase: X–ray versus Molecular Dynamics," *Biophysical Journal*, vol. 95, no. 5, pp. 2500–2511, Sep. 2008, doi: 10.1529/biophysj.108.129601.
- [216] P. Anand and B. Singh, "A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 36, no. 4, pp. 375–399, Apr. 2013, doi: 10.1007/s12272–013–0036–3.
- [217] E. Borroni, G. Damsma, C. Giovacchini, V. Mutel, R. Jakob–Rötne, and M. Da Prada, "A novel acetylcholinesterase inhibitor, Ro 46–5934, which interacts with muscarinic M2 receptors," *Biochemical Society Transactions*, vol. 22, no. 3, pp. 755–758, Aug. 1994, doi: 10.1042/bst0220755.
- [218] A. Bubley, A. Erofeev, P. Gorelkin, E. Beloglazkina, A. Majouga, and O. Krasnovskaya, "Tacrine–Based Hybrids: Past, Present, and Future," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 2, p. 1717, Jan. 2023, doi: 10.3390/ijms24021717.
- [219] J. Patočka, K. Kuča, and D. Jun, "Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase – Important Enzymes of Human Body," *Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)*, vol. 47, no. 4, pp. 215–228, 2004, doi: 10.14712/18059694.2018.95.

- [220] J. F. Ballenger, "Progress in the history of Alzheimer's disease: The importance of context," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 9, no. s3, pp. 5–13, Jul. 2006, doi: 10.3233/JAD-2006-9S302.
- [221] S. D. Rountree, W. Chan, V. N. Pavlik, E. J. Darby, S. Siddiqui, and R. S. Doody, "Persistent treatment with cholinesterase inhibitors and/or memantine slows clinical progression of Alzheimer disease," *Alzheimer's Research & Therapy*, vol. 1, no. 2, p. 7, 2009, doi: 10.1186/alzrt7.
- [222] U. Holzgrabe, P. Kapková, V. Alptüzün, J. Scheiber, and E. Kugelmann, "Targeting acetylcholinesterase to treat neurodegeneration," *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 11, no. 2, pp. 161–179, Feb. 2007, doi: 10.1517/14728222.11.2.161.
- [223] P. Jin, J.-A. Kim, D.-Y. Choi, Y.-J. Lee, H. S. Jung, and J. T. Hong, "Anti-inflammatory and anti-amyloidogenic effects of a small molecule, 2,4-bis(p-hydroxyphenyl)-2-butenal in Tg2576 Alzheimer's disease mice model," *Journal of Neuroinflammation*, vol. 10, no. 1, p. 767, Dec. 2013, doi: 10.1186/1742-2094-10-2.
- [224] P. Camps and D. Munoz-Torrero, "Cholinergic Drugs in Pharmacotherapy of Alzheimers Disease," *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 2, no. 1, pp. 11–25, Feb. 2002, doi: 10.2174/1389557023406638.
- [225] M. F. Snape *et al.*, "A comparative study in rats of the in vitro and in vivo pharmacology of the acetylcholinesterase inhibitors tacrine, donepezil and NXX-066," *Neuropharmacology*, vol. 38, no. 1, pp. 181–193, Jan. 1999, doi: 10.1016/S0028-3908(98)00164-6.
- [226] K. M. K. and V. C. Luigia Trabace, Tommaso Cassano, Luca Steardo, Claudio Pietra, Gino Villetti, "Biochemical and Neurobehavioral Profile of CHF2819, a Novel, Orally Active Acetylcholinesterase Inhibitor for Alzheimer's Disease," *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 294, no. 1, pp. 187–194.
- [227] L. D. and H. M. V. Craig P. Smith, Gina M. Bores, Wayne Petko, Mary Li, David E. Selk, Douglas K. Rush, Fernando Camacho, James T. Winslow, Rod Fishkin, Dana M. Cunningham, Karen M. Brooks, Joachim Roehr, Harold B. Hartman, "Pharmacological Activity and Safety Profile of P10358, a Novel, Orally Active Acetylcholinesterase Inhibitor for Alzheimer's Disease," *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 280, no. 2, pp. 710–720.
- [228] M. W. Jann, "Rivastigmine, a New-Generation Cholinesterase Inhibitor for the Treatment of Alzheimer's Disease," *Pharmacotherapy*, vol. 20, no. 1, pp. 1–12, Jan. 2000, doi: 10.1592/phco.20.1.1.34664.
- [229] F. Amenta, L. Parnetti, V. Gallai, and A. Wallin, "Treatment of cognitive dysfunction associated with Alzheimer's disease with cholinergic precursors. Ineffective treatments or inappropriate approaches?," *Mechanisms of Ageing and Development*, vol. 122, no. 16, pp. 2025–2040, Nov. 2001, doi: 10.1016/S0047-6374(01)00310-4.
- [230] N. Sudhapriya, A. Manikandan, M. R. Kumar, and P. T. Perumal, "Cu-mediated synthesis of differentially substituted diazepines as AChE inhibitors; validation through molecular docking and Lipinski's filter to develop novel anti-neurodegenerative drugs," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 29, no. 11, pp. 1308–1312, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.bmcl.2019.04.002.
- [231] N. Ghamari, O. Zarei, D. Reiner, S. Dastmalchi, H. Stark, and M. Hamzeh-Mivehroud, "Histamine H₃ receptor ligands by hybrid virtual screening, docking, molecular dynamics simulations, and investigation of their biological effects," *Chemical Biology & Drug Design*, vol. 93, no. 5, pp. 832–843, May 2019, doi: 10.1111/cbdd.13471.
- [232] Y. Chen, C. Su, L. Wang, J. Qin, S. Wei, and H. Tang, "Hybrids of oxoisoaporphine-tetrahydroisoquinoline: novel multi-target inhibitors of inflammation and amyloid- β aggregation in Alzheimer's disease," *Molecular Diversity*, vol. 23, no. 3, pp. 709–722, Aug. 2019, doi: 10.1007/s11030-018-9905-5.

- [233] Y. Fang, H. Zhou, Q. Gu, and J. Xu, "Synthesis and evaluation of tetrahydroisoquinoline–benzimidazole hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 167, pp. 133–145, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.02.008.
- [234] M. Hoffmann *et al.*, "Highly Selective Butyrylcholinesterase Inhibitors with Tunable Duration of Action by Chemical Modification of Transferable Carbamate Units Exhibit Pronounced Neuroprotective Effect in an Alzheimer's Disease Mouse Model," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 62, no. 20, pp. 9116–9140, Oct. 2019, doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b01012.
- [235] N. Ghamari *et al.*, "In silico and in vitro studies of two non-imidazole multiple targeting agents at histamine H₃ receptors and cholinesterase enzymes," *Chemical Biology & Drug Design*, vol. 95, no. 2, pp. 279–290, Feb. 2020, doi: 10.1111/cbdd.13642.
- [236] B. Ghalandari *et al.*, "Probing of the Interaction Between β -Lactoglobulin and the Anticancer Drug Oxaliplatin," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 175, no. 2, pp. 974–987, Jan. 2015, doi: 10.1007/s12010-014-1341-0.
- [237] H. A. Zeinabad *et al.*, "Thermodynamic and conformational changes of protein toward interaction with nanoparticles: a spectroscopic overview," *RSC Advances*, vol. 6, no. 107, pp. 105903–105919, 2016, doi: 10.1039/C6RA16422F.
- [238] P. N. Naik, S. A. Chimatadar, and S. T. Nandibewoor, "Interaction between a potent corticosteroid drug – Dexamethasone with bovine serum albumin and human serum albumin: A fluorescence quenching and fourier transformation infrared spectroscopy study," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 100, no. 3, pp. 147–159, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2010.05.014.
- [239] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, Third. New York: Plenum Press, 2006.
- [240] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, and R. M. Featherstone, "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity," *Biochemical Pharmacology*, vol. 7, no. 2, pp. 88–95, Jul. 1961, doi: 10.1016/0006-2952(61)90145-9.
- [241] T. Palmer and P. L. Bonner, "Enzyme Inhibition," in *Enzymes*, Elsevier, 2011, pp. 126–152.
- [242] P. W. Riddles, R. L. Blakeley, and B. Zerner, "[8] Reassessment of Ellman's reagent," 1983, pp. 49–60.
- [243] Walter Filgueira de Azevedo Jr., *Docking Screens for Drug Discovery*. 2019.
- [244] F. C. Bernstein *et al.*, "The protein data bank: A computer-based archival file for macromolecular structures," *Journal of Molecular Biology*, vol. 112, no. 3, pp. 535–542, May 1977, doi: 10.1016/S0022-2836(77)80200-3.
- [245] O. Trott and A. J. Olson, "AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading," *Journal of Computational Chemistry*, p. NA–NA, 2009, doi: 10.1002/jcc.21334.
- [246] S. C. Kiran Raj M, "PDMS microfluidics: A mini review," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 137, no. 27, p. 48958, 2020, doi: 10.1002/app.48958.
- [247] J. F. and L. Yeo, "Fabrication of microfluidic devices using polydimethylsiloxane," *Biomicrofluidics*, vol. 4, p. 026502, doi: 10.1063/1.3259624.
- [248] S. K. and T. F. D. Amid Shakeri, "Conventional and emerging strategies for the fabrication and functionalization of PDMS-based microfluidic devices," *Lab Chip*, vol. 21, pp. 3053–3075, 2021, doi: 10.1039/D1LC00288K.
- [249] V. Saggiomo and A. H. Velders, "Simple 3D Printed Scaffold-Removal Method for the Fabrication of Intricate Microfluidic Devices," *Advanced Science*, vol. 2, no. 9, p. 1500125, Sep. 2015, doi: 10.1002/advs.201500125.
- [250] A. Filipović, Z. Džambaski, D. Vasiljević–Radović, and B. P. Bondžić, "Visible light promoted photoredox C(sp³)–H bond functionalization of tetrahydroisoquinolines in flow," *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 19, no. 12, pp. 2668–2675, 2021, doi: 10.1039/D0OB02582H.

- [251] T. C. Merkel, V. I. Bondar, K. Nagai, B. D. Freeman, and I. Pinnau, "Gas sorption, diffusion, and permeation in poly(dimethylsiloxane)," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, vol. 38, no. 3, pp. 415–434, Feb. 2000, doi: 10.1002/(SICI)1099-0488(20000201)38:3<415::AID-POLB8>3.0.CO;2-Z.
- [252] G. Firpo, E. Angeli, L. Repetto, and U. Valbusa, "Permeability thickness dependence of polydimethylsiloxane (PDMS) membranes," *Journal of Membrane Science*, vol. 481, pp. 1–8, May 2015, doi: 10.1016/j.memsci.2014.12.043.
- [253] C. A. Hone and C. O. Kappe, "Towards the Standardization of Flow Chemistry Protocols for Organic Reactions," *Chemistry–Methods*, vol. 1, no. 11, pp. 454–467, Nov. 2021, doi: 10.1002/cmtd.202100059.
- [254] C. Jimenez–Gonzalez, C. S. Ponder, Q. B. Broxterman, and J. B. Manley, "Using the Right Green Yardstick: Why Process Mass Intensity Is Used in the Pharmaceutical Industry To Drive More Sustainable Processes," *Organic Process Research & Development*, vol. 15, no. 4, pp. 912–917, Jul. 2011, doi: 10.1021/op200097d.
- [255] O. Shvydkiv *et al.*, "Microphotochemistry: a reactor comparison study using the photosensitized addition of isopropanol to furanones as a model reaction," *Photochemical & Photobiological Sciences*, vol. 10, no. 9, pp. 1399–1404, Sep. 2011, doi: 10.1039/c1pp05024a.
- [256] A. Yavorsky, O. Shvydkiv, K. Nolan, N. Hoffmann, and M. Oelgemöller, "Photosensitized addition of isopropanol to furanones in a continuous–flow dual capillary microreactor," *Tetrahedron Letters*, vol. 52, no. 2, pp. 278–280, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.tetlet.2010.11.018.
- [257] A. Sugimoto, T. Fukuyama, Y. Sumino, M. Takagi, and I. Ryu, "Microflow photo–radical reaction using a compact light source: application to the Barton reaction leading to a key intermediate for myriceric acid A," *Tetrahedron*, vol. 65, no. 8, pp. 1593–1598, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.tet.2008.12.063.
- [258] A. Filipović, Z. Džambaski, A. M. Bondžić, and B. P. Bondžić, "Visible–light promoted photoredox catalysis in flow: addition of biologically important α -amino radicals to michael acceptors," *Photochemical & Photobiological Sciences*, Jun. 2023, doi: 10.1007/s43630-023-00448-8.
- [259] H. Lineweaver and D. Burk, "The Determination of Enzyme Dissociation Constants," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 56, no. 3, pp. 658–666, Mar. 1934, doi: 10.1021/ja01318a036.
- [260] R. B. Brandt, J. E. Laux, and S. W. Yates, "Calculation of inhibitor K_i and inhibitor type from the concentration of inhibitor for 50% inhibition for Michaelis–Menten enzymes," *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, vol. 37, no. 3, pp. 344–349, Jun. 1987, doi: 10.1016/0885-4505(87)90046-6.
- [261] V. B. *Molecular fluorescence: principles and applications*, 4th ed. Weinheim: Wiley–VCH, 2007.
- [262] S. Tabassum, W. M. Al–Asbahy, M. Afzal, and F. Arjmand, "Synthesis, characterization and interaction studies of copper based drug with Human Serum Albumin (HSA): Spectroscopic and molecular docking investigations," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 114, pp. 132–139, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2012.05.021.
- [263] S. Rashtbari, G. Dehghan, R. Yekta, and A. Jouyban, "Investigation of the binding mechanism and inhibition of bovine liver catalase by quercetin: Multi–spectroscopic and computational study," *BioImpacts*, vol. 7, no. 3, pp. 147–153, Aug. 2017, doi: 10.15171/bi.2017.18.
- [264] N. Zaidi, S. Nusrat, F. K. Zaidi, and R. H. Khan, "pH–Dependent Differential Interacting Mechanisms of Sodium Dodecyl Sulfate with Bovine Serum Fetuin: A Biophysical Insight," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 118, no. 46, pp. 13025–13036, Nov. 2014, doi: 10.1021/jp501515g.

- [265] D. L. Ollis and P. D. Carr, “Hydrolase Fold: An Update,” *Protein & Peptide Letters*, vol. 16, no. 10, pp. 1137–1148, Oct. 2009, doi: 10.2174/092986609789071298.
- [266] A. S.-K. Tsang, A. S. K. Hashmi, P. Comba, M. Kerscher, B. Chan, and M. H. Todd, “N-Aryl Groups Are Ubiquitous in Cross-Dehydrogenative Couplings Because They Stabilize Reactive Intermediates,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 23, no. 39, pp. 9313–9318, Jul. 2017, doi: 10.1002/chem.201700430.
- [267] A. Sud, D. Sureshkumar, and M. Klusmann, “Oxidative coupling of amines and ketones by combined vanadium- and organocatalysis,” *Chemical Communications*, no. 22, p. 3169, 2009, doi: 10.1039/b901282f.
- [268] J. Zhang, B. Tiwari, C. Xing, X. Chen, and Y. R. Chi, “Enantioselective Oxidative Cross-Dehydrogenative Coupling of Tertiary Amines to Aldehydes,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 51, no. 15, pp. 3649–3652, Apr. 2012, doi: 10.1002/anie.201109054.
- [269] K. Sharma, A. Borah, K. Neog, and D. P. Gogoi, “CeO₂-Catalyzed C–H Functionalization of N-Aryltetrahydroisoquinolines: An Aerobic Cross-Dehydrogenative Coupling Reaction between Two sp³ C–H Bonds,” *ChemistrySelect*, vol. 1, no. 15, pp. 4620–4623, Sep. 2016, doi: 10.1002/slct.201601251.
- [270] H. E. Burks *et al.*, “Discovery of an Acrylic Acid Based Tetrahydroisoquinoline as an Orally Bioavailable Selective Estrogen Receptor Degradable for ERα+ Breast Cancer,” *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 60, no. 7, pp. 2790–2818, Apr. 2017, doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b01468.
- [271] A. S.-K. Tsang, K. Ingram, J. Keiser, D. B. Hibbert, and M. H. Todd, “Enhancing the usefulness of cross dehydrogenative coupling reactions with a removable protecting group,” *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 11, no. 30, p. 4921, 2013, doi: 10.1039/c3ob40503f.
- [272] G. Zhao, C. Yang, L. Guo, H. Sun, C. Chen, and W. Xia, “Visible light-induced oxidative coupling reaction: easy access to Mannich-type products,” *Chemical Communications*, vol. 48, no. 17, p. 2337, 2012, doi: 10.1039/c2cc17130a.
- [273] K. Alagiri, P. Devadig, and K. R. Prabhu, “CDC Reactions of N-Aryl Tetrahydroisoquinolines Using Catalytic Amounts of DDQ: C–H Activation under Aerobic Conditions,” *Chemistry – A European Journal*, vol. 18, no. 17, pp. 5160–5164, Apr. 2012, doi: 10.1002/chem.201200100.
- [274] Y. Shen, M. Li, S. Wang, T. Zhan, Z. Tan, and C.-C. Guo, “An efficient copper-catalyzed oxidative Mannich reaction between tertiary amines and methyl ketones,” *Chemical Communications*, no. 8, p. 953, 2009, doi: 10.1039/b819657e.
- [275] J.-B. Yu, G. Peng, Z.-J. Jiang, Z.-K. Hong, and W.-K. Su, “Mechanochemical Oxidative Mannich Reaction: Evaluation of Chemical and Mechanical Parameters for the Mild and Chemoselective Coupling of N-tert-butoxycarbonyltetrahydroquinolines and Ketones,” *European Journal of Organic Chemistry*, vol. 2016, no. 32, pp. 5340–5344, Nov. 2016, doi: 10.1002/ejoc.201600987.
- [276] T. Zhang *et al.*, “Bifunctional organic sponge photocatalyst for efficient cross-dehydrogenative coupling of tertiary amines to ketones,” *Chemical Communications*, vol. 53, no. 93, pp. 12536–12539, 2017, doi: 10.1039/C7CC06997A.
- [277] Z. Džambaski and B. P. Bondžić, “Dehydrogenative C(sp³)-H bond functionalization of tetrahydroisoquinolines mediated by organic oxidants under mild conditions,” *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 17, no. 26, pp. 6420–6425, 2019, doi: 10.1039/C9OB01090D.
- [278] S.-I. Murahashi, T. Nakae, H. Terai, and N. Komiyama, “Ruthenium-Catalyzed Oxidative Cyanation of Tertiary Amines with Molecular Oxygen or Hydrogen Peroxide and Sodium Cyanide: sp³ C–H Bond Activation and Carbon–Carbon Bond Formation,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 33, pp. 11005–11012, Aug. 2008, doi: 10.1021/ja8017362.

- [279] S. Dhanasekaran, A. Suneja, V. Bisai, and V. K. Singh, "Approach to Isoindolinones, Isoquinolinones, and THIQs via Lewis Acid-Catalyzed Domino Strecker-Lactamization/Alkylations," *Organic Letters*, vol. 18, no. 4, pp. 634–637, Feb. 2016, doi: 10.1021/acs.orglett.5b03331.
- [280] K. Alagiri and K. R. Prabhu, "C–H functionalization of tertiary amines by cross dehydrogenative coupling reactions: solvent-free synthesis of α -aminonitriles and β -nitroamines under aerobic condition," *Org Biomol Chem*, vol. 10, no. 4, pp. 835–842, 2012, doi: 10.1039/C1OB06466E.
- [281] X. Marset, J. M. Pérez, and D. J. Ramón, "Cross-dehydrogenative coupling reaction using copper oxide impregnated on magnetite in deep eutectic solvents," *Green Chemistry*, vol. 18, no. 3, pp. 826–833, 2016, doi: 10.1039/C5GC01745A.
- [282] W. Wu, H. Wang, J. Chen, X. Bao, C. Tan, and X. Ye, "Dicyanopyrazine-derived Chromophore as An Efficient Photocatalyst for α -amino C-H Bond Functionalization," *Asian Journal of Organic Chemistry*, vol. 10, no. 11, pp. 2876–2879, Nov. 2021, doi: 10.1002/ajoc.202100467.

8. ПРИЛОЗИ

❖ ПРИЛОГ 1

2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (15)

ИЦ (ATR): $\nu = 3061, 3025, 2920, 2816, 1599, 1501, 1459, 1387, 1338, 1212, 1154, 1033, 933, 751, 692 \text{ cm}^{-1}$;

^1H НМР (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,34 (t, 2H, *m*-PhH, $J = 8,0 \text{ Hz}$), 7,19–7,24 (m, 4H, ArH), 7,03 (d, 2H, *o*-PhH, $J = 8,0 \text{ Hz}$), 6,88 (t, 1H, *p*-PhH, $J = 7,2 \text{ Hz}$), 4,46 (s, 2H, C(1)H₂), 3,61 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,8 \text{ Hz}$), 3,03 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,8 \text{ Hz}$);

^{13}C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 150,5; 134,8; 134,4; 129,2; 128,5; 126,5; 126,3; 126,0; 118,6; 115,1; 50,7; 46,5; 29,1.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [266].

2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (80)

ИЦ(ATR): $\nu = 3051, 3025, 2923, 2818, 1510, 1460, 1388, 1231, 1159, 935, 819, 754 \text{ cm}^{-1}$;

^1H НМР (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,15–7,22 (m, 4H, ArH), 6,95–7,03 (m, 4H, ArH), 4,36 (s, 2H, C(1)H₂), 3,51 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,9 \text{ Hz}$), 3,01 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,9 \text{ Hz}$);

^{13}C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 156,7 (d, $J = 238,0 \text{ Hz}$), 147,3; 134,5; 134,2; 128,6; 126,5; 124,4; 126,0; 117,1 (d, $J = 7,4 \text{ Hz}$), 115,5 (d, $J = 22,0 \text{ Hz}$), 51,9; 47,7; 28,9.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [266].

6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (81)

ИЦ (ATR): $\nu = 2997 \text{ (m)}, 2933 \text{ (m)}, 2833 \text{ (m)}, 1600 \text{ (s)}, 1517 \text{ (vs)}, 1463 \text{ (m)}, 1384 \text{ (m)}, 1257 \text{ (s)}, 1217 \text{ (s)}, 1118 \text{ (m)}, 1030 \text{ (m)}, 987 \text{ (w)}, 856 \text{ (w)}, 756 \text{ (m)}, 694 \text{ (w)} \text{ cm}^{-1}$;

^1H НМР (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,30 (dd, 2H, C(3')H, $J = 7,5 \text{ Hz}, 8,5 \text{ Hz}$), 7,00 (d, 2H, C(2')H, $J = 8,0 \text{ Hz}$), 6,84 (t, 1H, C(4')H, $J = 7,2 \text{ Hz}$), 6,666 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,655 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 4,34 (s, 2H, C(1)H₂), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,56 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,8 \text{ Hz}$), 2,91 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,8 \text{ Hz}$);

^{13}C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 150,6; 147,6; 147,5; 129,1; 126,6; 126,2; 118,7; 115,3; 111,3; 109,4; 55,94; 55,89; 50,5; 46,7; 28,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [267].

6,7-диметокси-2-(p-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (82)

ИЦ (ATR): $\nu = 2998$ (m), 2930 (m), 2832 (m), 1614 (m), 1516 (vs), 1462 (m), 1383 (m), 1257 (m), 1228 (m), 1118 (m), 1029 (m), 980 (w), 937 (w), 814 (m), 758 (w) cm^{-1} ;

^1H НМР (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,11 (d, 2H, ArH, $J = 8,5$ Hz), 6,93 (d, 2H, ArH, $J = 8,5$ Hz), 6,654 (s, 1H, ArH), 6,646 (s, 1H, ArH), 4,29 (s, 2H, C(1)H₂), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,50 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,8$ Hz), 2,90 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,8$ Hz), 2,29 (s, 3H, CH₃);

^{13}C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 148,6; 147,5; 147,4; 129,6; 128,4; 126,5; 126,3; 116,0; 111,4; 109,3; 55,91; 55,86; 51,2; 47,4; 28,4; 20,3.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [268].

2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (83)

ИЦ (ATR): $\nu = 3050$ (w), 2996 (w), 2933 (m), 2832 (m), 1611 (m), 1505 (vs), 1461 (m), 1380 (m), 1209 (s), 1114 (s), 1026 (m), 979 (m), 936 (m), 810 (s), 759 (m) cm^{-1} ;

^1H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 6,92–7,00 (m, 4H, ArH), 6,641 (s, 1H, ArH), 6,635 (s, 1H, ArH), 4,25 (s, 2H, C(1)H₂), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,86 (s, 3H, OCH₃), 3,46 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,9$ Hz), 2,89 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,9$ Hz);

^{13}C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 156,7 (d, $J = 238,0$ Hz); 147,6; 147,5; 147,4 (d, $J = 1,6$ Hz); 126,3; 126,0; 117,3 (d, $J = 7,5$ Hz); 115,5 (d, $J = 22,0$ Hz); 111,4; 109,3; 55,92; 55,87; 51,6; 47,9; 28,4.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [269].

2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-6-ол (84)

ИЦ (ATR): $\nu = 3353$ (m), 3023 (m), 2924 (m), 2821 (m), 1599 (vs), 1504 (vs), 1461 (s), 1386 (s), 1282 (s), 1210 (s), 1152 (m), 1032 (w), 918 (m), 861 (w), 811 (w), 755 (m), 694 (m) cm^{-1} ;

^1H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,27 (t, 2H, ArH, $J = 7,6$ Hz), 6,96 (t, 3H, ArH, $J = 7,6$ Hz), 6,84 (t, 1H, ArH, $J = 7,0$ Hz), 6,61 (dd, 1H, ArH, $J = 2,4$ Hz, 8,4 Hz), 6,52 (s, 1H, ArH), 4,29 (s, 2H, C(1)H₂), 3,48 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,8$ Hz), 2,84 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,8$ Hz);

^{13}C НМР (CDCl₃, 100 MHz): δ 154,1; 150,4; 136,0; 129,2; 127,6; 126,2; 119,1; 115,6; 114,9; 113,5; 50,5; 46,8; 28,1.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [270].

2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (85)

ИЦ (ATR): $\nu = 2995$ (w), 2931 (w), 2831 (w), 1512 (vs), 1462 (m), 1386 (w), 1246 (s), 1187 (w), 1039 (m), 933 (w), 822 (w), 853 (w) cm^{-1} ;

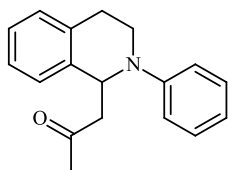
^1H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,11–7,19 (m, 4H, ArH), 6,96–7,00 (m, 2H, ArH), 6,84–6,88 (m, 2H, ArH), 4,29 (s, 2H, C(1)H₂), 3,77 (s, 3H, OCH₃), 3,44 (t, 2H, C(3)H₂, $J = 5,8$ Hz), 2,98 (t, 2H, C(4)H₂, $J = 5,8$ Hz);

^{13}C НМР (CDCl₃, 100 MHz): δ 153,4; 145,3; 134,6; 134,5; 128,7; 126,5; 126,2; 125,9; 118,0; 114,5; 55,6; 52,6; 48,4; 29,1.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [271].

❖ ПРИЛОГ 2

1-(2-Фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)пропан-2-он (24)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (52,3 mg, 0,25 mmol), ацетон (145,2 mg, 0,185 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ

шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (58 mg, 88%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силикагелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

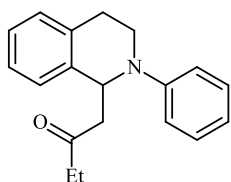
Rf = 0,53 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,24 (t, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 7,12–7,15 (m, 4H, ArH), 6,93 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 6,77 (t, 1H, *J* = 7,0 Hz), 5,39 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,64 (dt, 1H, *J* = 5,5 Hz, 13,0 Hz), 3,52 (ddd, 1H, *J* = 4,4 Hz, 8,9 Hz, 12,5 Hz), 3,02–3,07 (m, 2H), 2,81 (dd, 2H, *J* = 7,2; 16,2 Hz), 2,06 (s, 3H, CH₃);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 207,2; 148,8; 138,3; 134,4; 129,3; 128,6; 126,83; 126,78; 126,3; 118,2; 114,8; 54,8; 50,2; 42,0; 31,1; 27,2.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [100].

1-(2-Фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (92б)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (52,3 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ

шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (62 mg, 89%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силикагелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

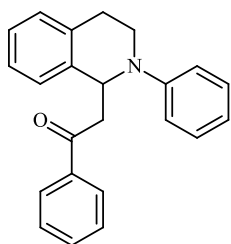
Rf = 0,62 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,26 (t, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 7,13–7,18 (m, 4H, ArH), 6,95 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 6,78 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 5,43 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,65 (dt, 1H, *J* = 5,2 Hz, 12,5 Hz), 3,54 (ddd, 1H, *J* = 4,5 Hz, 8,6 Hz, 12,9 Hz), 3,02–3,10 (m, 2H), 2,77–2,87 (m, 2H), 2,36 (dq, 1H, *J* = 7,3, 17,9 Hz), 2,26 (dq, 1H, *J* = 7,3; 17,9 Hz), 0,99 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 209,9; 148,8; 138,3; 134,4; 129,3; 128,6; 126,8; 126,7; 126,2; 118,1; 114,6; 55,1; 48,9; 41,9; 37,2; 27,2; 7,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [100].

1-Фенил-2-(2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)етанон (92a)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (52,3 mg, 0,25 mmol), ацетофенон (300,4 mg, 0,292 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (68 mg, 83%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

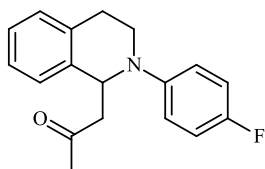
Rf = 0,61 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,87 (d, 2H, ArH, J = 7,5 Hz), 7,54 (t, 1H, ArH, J = 7,2 Hz), 7,42 (t, 2H, ArH, J = 7,8 Hz), 7,11–7,27 (m, 7H, ArH), 6,99 (d, 1H, ArH, J = 8,0 Hz), 6,77 (t, 1H, ArH, J = 7,2 Hz), 5,69 (dd, 1H, C(1)H, J = 5,5 Hz, 7,0 Hz), 3,63–3,71 (m, 2H) 3,60 (dd, 1H, J = 4,8 Hz, 16,8 Hz), 3,42 (dd, 1H, J = 7,2, 16,8 Hz), 3,10–3,16 (m, 1H), 2,95 (dt, 1H, J = 5,0 Hz, 16,0 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 198,6; 148,7; 138,5; 137,2; 134,5; 133,1; 129,3; 128,5; 128,1; 127,1; 126,8; 126,2; 117,9; 114,3; 55,0; 45,3; 42,1; 27,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [272].

1-(2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пропан-2-он (88a)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (69,3 mg, 0,25 mmol), ацетон (145,2 mg, 0,185 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (67 mg, 95%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

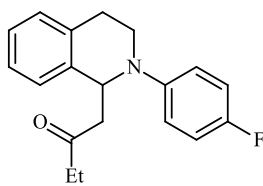
Rf = 0,45 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,13–7,20 (m, 4H, ArH), 6,89–6,97 (m, 4H, ArH), 5,31 (t, 1H, C(1)H, J = 6,2 Hz), 3,59 (dt, 1H, J = 4,9;12,5 Hz), 3,48–3,53 (m, 1H), 3,00–3,06 (m, 2H), 2,76–2,83 (m, 2H), 2,09 (s, 3H, CH₃);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 207,1; 156,4 (d; J = 237,6 Hz), 145,7; 138,0; 134,1; 128,8; 126,74; 126,72; 126,3; 117,1 (d, J = 7,6 Hz), 115,6 (d, J = 22,1 Hz), 55,5; 50,0; 42,6; 30,9; 26,7.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [100].

1-(2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (88б)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у

шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (63 mg, 85%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

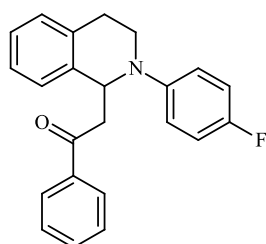
Rf = 0,52 (Петрол етар/Етил ацетат : 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,12–7,18 (m, 4H, ArH), 6,88–6,96 (m, 4H, ArH), 5,32 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,58 (dt, 1H, *J* = 5,0 Hz, 13,0 Hz), 3,48–3,53 (m, 1H), 2,99–3,07 (m, 2H), 2,74–2,81 (m, 2H), 2,36 (dq, 1H, *J* = 7,2; 17,7 Hz), 2,28 (dq, 1H, *J* = 7,2; 17,7 Hz), 0,99 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz);

¹³C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 209,8; 156,4 (d, *J* = 237,8 Hz), 145,7; 138,1; 134,2; 128,8; 126,8; 126,2; 116,9 (d, *J* = 7,2 Hz); 115,6 (d, *J* = 22,0 Hz); 55,8; 48,8; 42,5; 37,2; 26,8; 7,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [273].

2-(2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-1-фенилетанон (88в)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (69,3 mg, 0,25 mmol), ацетофенон (300,4 mg, 0,292 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона

смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (72 mg, 84%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

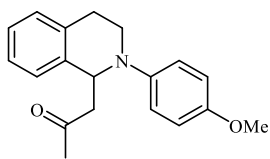
Rf = 0,57 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,85 (d, 2H, ArH, *J* = 7,5 Hz), 7,53 (t, 1H, ArH, *J* = 7,5 Hz), 7,41 (t, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 7,21 (d, 1H, ArH, *J* = 7,5 Hz), 7,12–7,17 (m, 3H, ArH), 6,92 (d, 4H, ArH, *J* = 6,5 Hz), 5,57 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,56–3,61 (m, 3H), 3,34 (dd, 1H, *J* = 6,5 Hz, 16,5 Hz), 3,06–3,12 (m, 1H), 2,87 (dt, 1H, *J* = 4,1 Hz, 16,0 Hz);

¹³C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 198,6; 156,3 (d, *J* = 237,0 Hz); 145,6; 138,3; 137,2; 134,2; 133,1; 128,7; 128,5; 128,1; 127,0; 126,8; 126,3; 116,6 (d, *J* = 7,2 Hz); 115,6 (d, *J* = 22,1 Hz); 55,8; 45,1; 42,6; 27,1.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [272].

1-(2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пропан-2-он (88љ)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (60 mg, 0,25 mmol), ацетон (145,2 mg, 0,185 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH/CH₃CN = 1/1 (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (65 mg, 88%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

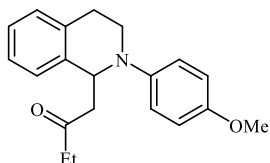
Rf = 0,65 (Петрол етар/Етил ацетат : 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,17 – 7,03 (m, 4H), 6,89 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 6,83–6,73 (m, 2H), 5,22 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,58 – 3,49 (m, 1H), 3,49 – 3,36 (m, 1H), 3,07 – 2,88 (m, 2H), 2,81 – 2,64 (m, 2H), 2,04 (s, 3H);

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): δ 207,3; 153,3; 143,6; 138,2; 134,3; 128,9; 126,8; 126,6; 126,1; 118,4; 114,6; 55,9; 55,6; 49,9; 42,9; 30,8; 26,7.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [100].

1-(2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)бутан-2-он (88л)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (60 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH/CH₃CN = 1/1 (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (61 mg, 79%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

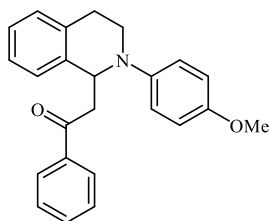
Rf = 0,62 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,18–7,08 (m, 4H), 6,91 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 6,81 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 5,27 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,60 – 3,51 (m, 1H), 3,51 – 3,39 (m, 1H), 3,07 – 2,92 (m, 2H), 2,74 (ddd, *J* = 15,8; 10,7; 5,2 Hz, 2H), 2,39 – 2,19 (m, 2H), 0,97 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H);

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): δ 210,0; 153,1; 143,6; 138,3; 134,3; 128,8; 126,8; 126,5; 126,1; 118,1; 114,6; 56,1; 55,6; 48,7; 42,6; 37,0; 26,8; 7,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [267].

2-(2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)-1-фенилетанон (88м)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (60 mg, 0,25 mmol), ацетофенон (300,4 mg, 0,292 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH/CH₃CN = 1/1 (2 mL).

Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (62,5 mg, 70%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

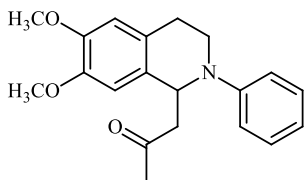
Rf = 0,66 (Петрол етар/Етил ацетат : 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,82 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H), 7,50 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,38 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,21 – 7,05 (m, 4H), 6,92 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 6,78 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 5,51 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,60–3,50 (m, 3H), 3,28 (dd, *J* = 16,3, 6,6 Hz, 1H), 3,13 – 3,01 (m, 1H), 2,82 (dt, *J* = 16,3; 4,1 Hz, 1H)č

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): δ 198,7; 152,9; 143,6; 138,5; 137,3; 134,3; 132,9; 128,8; 128,4; 128,1; 127,0; 126,6; 126,1; 117,8; 114,6; 56,2; 55,6; 44,9; 42,7; 27,2.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [274].

1-(6,7-Диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пропан-2-он (88г)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (67,3 mg, 0,25 mmol), ацетон (145,2 mg, 0,185 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL).

Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (77 mg, 95%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

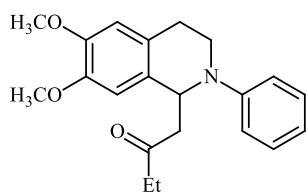
Rf = 0,30 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,24 (t, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,93 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,78 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 6,69 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,61 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,30 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,66 (dt, 1H, *J* = 5,0 Hz, 13,0 Hz), 3,49 (ddd, 1H, *J* = 4,5 Hz, 9,7 Hz, 12,8 Hz), 3,04 (dd, 1H, *J* = 5,5 Hz, 16,5 Hz), 2,97 (ddd, 1H, *J* = 5,8 Hz, 9,8 Hz, 15,8 Hz), 2,82 (dd, 1H, *J* = 6,8 Hz, 12,2 Hz), 2,70 (dt, 1H, *J* = 4,2 Hz, 16,0 Hz), 2,08 (s, 3H, COCH₃);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 207,6; 148,9; 147,7; 147,3; 130,1; 129,2; 126,2; 118,4; 115,1; 111,3; 109,7; 55,9; 55,8; 54,5; 50,1; 41,9; 31,1; 26,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [100].

1-(6,7-Диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)бутан-2-он (88д)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (67,3 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2

mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (75,5 mg, 89%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

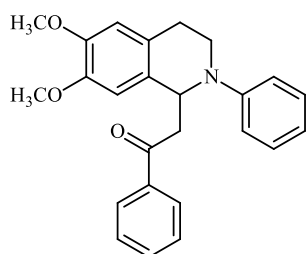
Rf = 0,29 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,24 (t, 2H, ArH, J = 8,2 Hz), 6,95 (d, 2H, ArH, J = 8,5 Hz), 6,78 (t, 1H, ArH, J = 7,0 Hz), 6,66 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,61 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,32 (t, 1H, C(1)H, J = 6,5 Hz), 3,85 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,66 (dt, 1H, J = 5,0 Hz, 13,0 Hz), 3,50 (ddd, 1H, J = 4,2 Hz, 9,2 Hz, 12,5 Hz), 3,02 (dd, 1H, J = 5,2 Hz, 15,8 Hz), 2,96–3,02 (m, 1H), 2,78 (dd, 1H, J = 7,0 Hz, 16,0 Hz), 2,72 (dt, 1H, J = 4,4 Hz, 16,0 Hz), 2,37 (dq, 1H, J = 7,4 Hz, 17,8 Hz), 2,28 (dq, 1H, J = 7,2 Hz, 17,8 Hz), 0,99 (t, 3H, COCH₂CH₃, J = 7,2 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 210,3; 148,9; 147,7; 147,3; 130,2; 129,3; 126,2; 118,2; 114,9; 111,3; 109,7; 55,9; 55,8; 54,9; 48,8; 41,8; 37,4; 26,6; 7,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [267].

2-(6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)-1-фенилетанон (88ђ)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (67,3 mg, 0,25 mmol), ацетофенон (300,4 mg, 0,292 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и L-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL).

Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (71 mg, 73%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

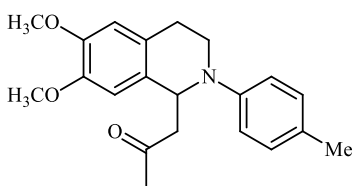
Rf = 0,29 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,85 (d, 2H, ArH, J = 7,5 Hz), 7,52 (t, 1H, ArH, J = 7,5 Hz), 7,41 (t, 2H, ArH, J = 7,8 Hz), 7,24 (t, 2H, ArH, J = 7,5 Hz), 6,98 (d, 2H, ArH, J = 8,5 Hz), 6,76 (t, 1H, ArH, J = 7,2 Hz), 6,70 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,63 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,36 (dd, 1H, C(1)H, J = 5,0 Hz, 7,0 Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,68 (dt, 1H, J = 5,2 Hz, 12,5 Hz), 3,32–3,61 (m, 2H), 3,39 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, 16,0 Hz), 3,03 (ddd, 1H, J = 5,8 Hz, 8,4 Hz, 15,6 Hz), 2,81 (dt, 1H, J = 4,4 Hz, 16,0 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 199,1; 148,9; 147,8; 147,3; 137,3; 133,1; 130,4; 129,3; 128,5; 128,1; 126,3; 118,1; 114,7; 111,3; 110,1; 55,9 (2C преклапање); 55,0; 45,1; 42,0; 27,0.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [275].

1-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)пропан-2-он (88и)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (70,8 mg, 0,25 mmol), ацетон (145,2 mg, 0,185 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH

(2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (70 mg, 83%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

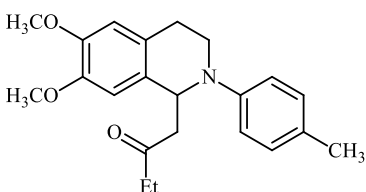
Rf = 0,38 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,05 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,86 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,68 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,59 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,24 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,842 (s, 3H, OCH₃), 3,838 (s, 3H, OCH₃), 3,64 (ddd, 1H, *J* = 4,0 Hz, 5,0 Hz, 12,9 Hz), 3,46 (ddd, 1H, *J* = 4,1 Hz, 10,1 Hz, 13,1 Hz), 3,02 (dd, 1H, *J* = 6,0 Hz, 16,0 Hz), 2,95 (ddd, 1H, *J* = 5,8 Hz, 10,2 Hz, 16,0 Hz), 2,79 (dd, 1H, *J* = 7,0 Hz, 16,0 Hz), 2,66 (brdt, 1H, *J* = 3,5 Hz, 16,0 Hz), 2,25 (s, 3H, ArCH₃), 2,08 (s, 3H, COCH₃);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 207,7; 147,7; 147,3; 147,0; 130,1; 129,8; 128,1; 126,2; 116,0; 111,4; 109,7; 55,9; 55,8; 54,9; 49,9; 42,1; 31,0; 26,3; 20,3.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [276].

1-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (88ј)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (70,8 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg,

0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (66 mg, 75%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

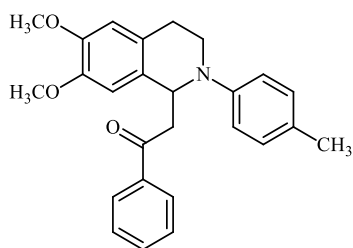
Rf = 0,52 (Петрол етар/Етил ацетат : 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,05 (d, 2H, ArH, *J* = 8,2 Hz), 6,86 (d, 2H, ArH, *J* = 8,2 Hz), 6,65 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,29 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,26 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,63 (dt, 1H, *J* = 4,8 Hz, 12,0 Hz), 3,46 (ddd, 1H, *J* = 4,2 Hz, 10,2 Hz, 12,5 Hz), 2,94–3,01 (m, 2H), 2,75 (dd, 1H, *J* = 7,0 Hz, 15,5 Hz), 2,67 (brdt, 1H, *J* = 3,5 Hz, 16,0 Hz), 2,36 (dq, 1H, *J* = 7,3 Hz, 17,9 Hz), 2,28 (dq, partially hidden by COCH₂CH₃ signal, 1H, *J* = 7,3 Hz, 17,9 Hz), 0,98 (t, 3H, COCH₂CH₃, *J* = 7,5 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 210,4; 147,7; 147,3; 147,0; 130,2; 129,8; 127,9; 126,2; 115,8; 111,3; 109,6; 55,9; 55,8; 55,3; 48,6; 41,9; 37,3; 26,5; 20,3; 7,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [277].

1-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)бутан-2-он (88к)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (70,8 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз

микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (71 mg, 71%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

Rf = 0,53 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

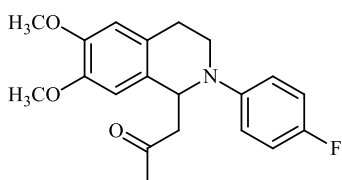
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,84 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,52 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,40 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,04 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,90 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,69 (s, 1H), 6,61 (s, 1H), 5,50 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,69 – 3,60 (m, 1H), 3,58 – 3,46 (m, 2H), 3,35 (dd, *J* = 16,1, 7,2 Hz, 1H), 3,02 (ddd, *J* = 15,6, 9,6, 5,7 Hz, 1H), 2,76 (dt, *J* = 16,0, 4,3 Hz, 1H), 2,23 (s, 3H);

¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz): δ 199,2; 147,7; 147,2; 146,9; 137,4; 133,0; 130,4; 129,8; 128,5; 128,1; 127,8; 126,2; 115,5; 111,3; 109,9; 55,8; 55,4; 44,8; 42,1; 26,9; 20,3;

ИЦ (ATR): ν = 2987 (m), 2834 (m), 1679 (s), 1612 (m), 1514 (vs), 1449 (m), 1273 (s), 1249 (s), 1116 (m), 1021 (m).

HRMS: *m/z* (ESI/TOF) израчунато за C₂₆H₂₇NO₃ (M⁺) 401,1991, нађено 401,1990.

1-(2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пропан-2-он (88е)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), ацетон (145,2 mg, 0,185 ml, 2,5 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз

микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (72 mg, 84%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

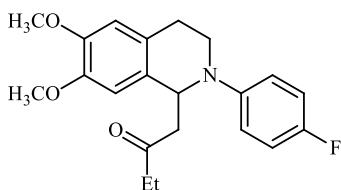
Rf = 0,36 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,86–6,94 (m, 4H, ArH), 6,66 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,59 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,18 (t, 1H, C(1)H, *J* = 6,2 Hz), 3,838 (s, 3H, OCH₃), 3,831 (s, 3H, OCH₃), 3,58 (ddd, 1H, *J* = 3,8 Hz, 5,2 Hz, 12,8 Hz), 3,46 (ddd, 1H, *J* = 4,2 Hz, 10,5 Hz, 16,0 Hz), 3,01 (dd, 1H, *J* = 6,2 Hz, 16,2 Hz), 2,92 (ddd, 1H, *J* = 5,8 Hz, 10,2 Hz, 16,0 Hz), 2,78 (dd, 1H, *J* = 6,5 Hz, 16,0 Hz), 2,64 (dt, 1H, *J* = 7,2 Hz, 16,0 Hz), 2,09 (s, 3H, COCH₃);

^{13}C НМР (CDCl_3 , 125,8 MHz): δ 207,5; 156,6 (d, $J = 238,0$ Hz); 147,8; 147,5; 145,9; 129,8; 126,0; 117,5 (d, $J = 7,4$ Hz); 115,6 (d, $J = 22,4$ Hz); 111,4; 109,6; 55,9; 55,8; 55,3; 50,0; 42,6; 31,0; 26,0.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [277].

1-(2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (88ж)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), метил етил кетон (180,3 mg, 0,224 ml, 2,5 mmol), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (77 mg, 86%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

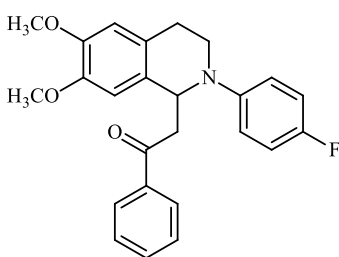
$R_f = 0,34$ (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

^1H НМР (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6,87–6,94 (m, 4H, ArH), 6,62 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,59 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,20 (t, 1H, C(1)H, $J = 6,5$ Hz), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 3,57 (ddd, 1H, $J = 3,9$ Hz, 5,4 Hz, 12,9 Hz), 3,43–3,49 (m, 1H), 2,99 (dd, 1H, $J = 6,5$ Hz, 16,0 Hz), 2,88–2,98 (m, 1H), 2,74 (dd, 1H, $J = 6,5$ Hz, 15,5 Hz), 2,66 (dt, 1H, $J = 3,8$ Hz, 16,0 Hz), 2,26–2,40 (m, 2H, COCH_2CH_3), 0,99 (t, 3H, COCH_2CH_3 , $J = 7,2$ Hz);

^{13}C НМР (CDCl_3 , 125,8 MHz): δ 210,2; 156,5 (d, $J = 238,1$ Hz); 147,8; 147,4; 145,8; 129,9; 126,0; 117,25 (d, $J = 7,4$ Hz); 115,6 (d, $J = 22,0$ Hz); 111,4; 109,5; 55,9; 55,8; 55,6; 48,7; 42,4; 37,3; 26,2; 7,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [277].

2-(2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-1-фенилетанон (88з)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), ацетофенон (300,4 mg, 0,292 ml, 2,5 mmol), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *L*-пролин (2,9 mg, 0,025 mmol) у MeOH (2 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (74 mg, 73%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

$R_f = 0,34$ (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

^1H НМР (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7,85 (d, 2H, ArH, $J = 7,5$ Hz), 7,53 (d, 1H, ArH, $J = 7,5$ Hz), 7,41 (t, 2H, ArH, $J = 7,5$ Hz), 6,92 (d, 4H, ArH, $J = 6,5$ Hz), 6,67 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,62 (s, 1H,

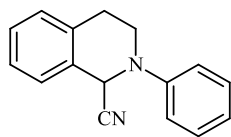
C(5)H or C(8)H), 5,44 (t, 1H, C(1)H, $J = 6,0$ Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,52–3,63 (m, 3H), 3,33 (dd, 1H, $J = 6,8$ Hz, 16,2 Hz), 3,00 (ddd, 1H, $J = 6,1$ Hz, 9,6 Hz, 15,9 Hz), 2,74 (brd, 1H, $J = 16,0$ Hz);

¹³C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 199,0; 156,4 (d, $J = 237,5$ Hz); 147,8; 147,4; 145,8; 137,3; 133,2; 130,1; 128,6; 128,1; 126,1; 117,1 (d, $J = 7,3$ Hz); 115,6 (d, $J = 22,1$ Hz); 111,4; 109,9; 55,9 (3C преклапање); 44,9; 42.6.3; 26.6;.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [277].

❖ ПРИЛОГ 3

2-Фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-карбонитрил (42)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (52,3 mg, 0,25 mmol), триметилсилил-цијанид (29,8 mg, 0,038 ml, 0,3 mmol) и Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у

CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (56 mg, 95%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је безбојна чврста супстанца.

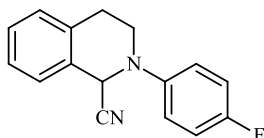
Rf = 0,44 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,36 (t, 2H, ArH, J = 8,0 Hz), 7,22–7,32 (m, 4H, ArH), 7,08 (d, 2H, ArH, J = 8,0 Hz), 7,02 (t, 1H, ArH, J = 7,2 Hz), 5,51 (s, 1H, C(1)H), 3,76 (dddd, 1H, J = 1,0 Hz, 3,0 Hz, 6,0 Hz, 12,5 Hz), 3,47 (ddd, 1H, J = 3,9 Hz, 10,9 Hz, 12,1 Hz), 3,14 (ddd, 1H, J = 5,9 Hz, 10,6 Hz, 16,4 Hz), 2,95 (dt, 1H, J = 3,4 Hz, 16,5 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 148,3; 134,5; 129,5 (2C преклапање); 129,3; 128,7; 127,0; 126,8; 121,8; 117,7; 117,5; 53,1; 44,1; 28,4.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [278].

2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-карбонитрил (43)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (69,3 mg, 0,25 mmol), триметилсилил-цијанид (29,8 mg, 0,038 ml, 0,3 mmol), и Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у

CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (56 mg, 89%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је безбојна чврста супстанца.

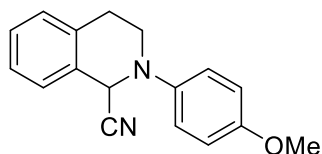
Rf = 0,38 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,21–7,31 (m, 4H, ArH), 7,02–7,08 (m, 4H, ArH), 5,38 (s, 1H, C(1)H), 3,61 (dddd, 1H, J = 1,0 Hz, 2,2 Hz, 6,2 Hz, 12,3 Hz), 3,44 (dt, 1H, J = 4,0 Hz, 11,8 Hz), 3,14 (ddd, 1H, J = 6,0 Hz, 10,8 Hz, 16,5 Hz), 2,93 (dt, 1H, J = 3,0 Hz, 16,0 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 158,6 (d, J = 242,2 Hz); 145,1; 134,2; 129,42; 129,36; 128,8; 127,0; 126,8; 120,4 (d, J = 7,9 Hz); 117,4; 116,2 (d, J = 22,4 Hz); 54,7; 44,7; 28,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [107].

2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-карбонитрил (94)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (60 mg, 0,25 mmol), триметилсилил-цијанид (29,8 mg, 0,038 ml, 0,3 mmol), и Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (55 mg, 84%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је безбојна чврста супстанца.

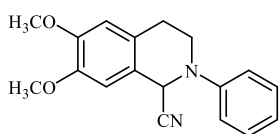
Rf = 0,45 (Петрол етар/Етил ацетат : 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,32 – 7,17 (m, 4H), 7,08 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 5,35 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,57 (dd, *J* = 12,2, 6,1 Hz, 1H), 3,43 (td, *J* = 11,7, 4,0 Hz, 1H), 3,15 (ddd, *J* = 17,1, 11,1, 6,3 Hz, 1H), 2,96 – 2,87 (m, 1H);

¹³C НМР (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 155,7; 142,6; 134,3; 129,7; 129,4; 128,6; 127,0; 126,7; 120,9; 117,6; 114,8; 55,5; 55,5; 44,9; 28,7.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [279].

2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-карбонитрил (95)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (67,3 mg, 0,25 mmol), триметилсилил-цијанид (29,8 mg, 0,038 ml, 0,3 mmol), и Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (73,5 mg, 100%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је безбојна чврста супстанца.

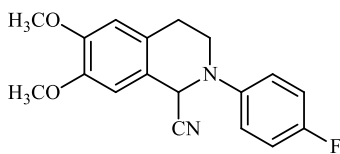
Rf = 0,45 (Петрол етар/Етил ацетат: 3/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7,39–7,34 (m, 2H), 7,11 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,07–7,02 (m, 1H), 6,70 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 5,46 (s, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 3,82–3,77 (m, 1H), 3,48 (ddd, *J* = 3,5, 11, 12 Hz, 1H), 3,11 (ddd, *J* = 6,0, 11, 16 Hz, 1H), 2,88 (ddd, *J* = 3, 3,8, 16,4 Hz, 1H), ;

¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ = 149,4; 148,3; 148,0; 129,4; 126,7; 122,1; 121,0; 117,9; 117,7; 111,5; 109,2; 56,2; 55,9; 53,3; 44,3; 28,2.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [280].

2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-карбонитрил (96)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), триметилсилил-цијанид (29,8 mg, 0,038 ml, 0,3 mmol), и Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (71 mg, 91%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је безбојна чврста супстанца.

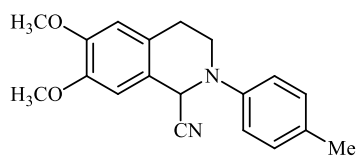
Rf = 0,44 (Петрол етар/Етил ацетат : 3/1);

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,05–7,06 (m, 4H, ArH), 6,72 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,68 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,33 (s, 1H, C(1)H), 3,882 (s, 3H, OCH₃), 3,876 (s, 3H, OCH₃), 3,61 (brdd, 1H, J = 5,5 Hz, 12,5 Hz), 3,41 (dt, 1H, J = 4,0 Hz, 11,8 Hz), 3,08 (ddd, 1H, J = 5,8 Hz, 10,8 Hz, 16,2 Hz), 2,83 (dt, 1H, J = 2,5 Hz, 15,0 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 158,6 (d, J = 242,2 Hz); 149,4; 148,1; 145,1 (d, J = 2,1 Hz); 126,5; 120,9; 120,5 (d, J = 8,1 Hz); 117,6; 116,1 (d, J = 22,4 Hz); 111,5; 109,3; 56,0; 55,9; 54,5; 44,8; 28,1.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [277].

6,7-Диметокси-2-(p-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-карбонитрил (97)



Реакциона смеша је припремљена у стакленом балону који је претходно обавијен алуминијумском фолијом како раствор не би дошао у контакт са светлошћу. У балону су помешани 6,7-диметокси-2-(p-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (70,8 mg, 0,25 mmol), триметилсилил-цијанид (29,8 mg, 0,038 ml, 0,3 mmol), и Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша је пребачена у шприц и уз помоћ шприц пумпе пропуштена кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 8 W током 2 h. Реакциони производ (65,5 mg, 85%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 3/1). Добијени производ је безбојна чврста супстанца.

Rf = 0,53 (Петрол етар/Етил ацетат : 3/1);

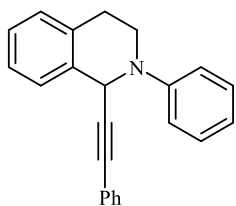
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,16 (d, 2H, ArH, J = 8,5 Hz), 6,99 (d, 2H, ArH, J = 8,5 Hz), 6,73 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 6,67 (s, 1H, C(5)H or C(8)H), 5,38 (s, 1H, C(1)H), 3,88 (s, 6H, 2OCH₃), 3,69 (brdd, 1H, J = 5,5 Hz, 12,5 Hz), 3,40 (td, 1H, J = 3,8 Hz, 10,9 Hz), 3,07 (ddd, 1H, J = 5,8 Hz, 11,0 Hz, 16,2 Hz), 2,82 (brdt, 1H, J = 2,2 Hz, 15,5 Hz), 2,31 (s, 3H, ArCH₃);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 149,3; 148,0; 146,3; 131,8; 130,0; 126,8; 121,2; 118,4; 117,8; 111,5; 109,3; 56,0; 55,9; 53,9; 44,4; 28,1; 20,5.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [277].

❖ ПРИЛОГ 4

2-фенил-1-(фенилетинил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (53)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 11W протиче смеша 2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (52,3 mg, 0,25 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 2 h. Смеша из микрофлуидног реактора одлази у балон у коме се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (12,6 mg, 0,025 mmol) и фенилацетилена (137 µl, 1,25 mmol) у 1 ml CH₂Cl₂. Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Реакциони производ (76,5 mg, 99%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

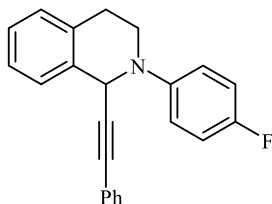
Rf = 0,85 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,31–7,21 (m, 5 H), 7,17–7,09 (m, 6 H), 7,04 (dd, J = 8,4, 1 Hz, 2H), 6,85 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 5,59 (s, 1 H), 3,66–3,58 (m, 2H), 3,08 (ddd, J = 16,0; 10,0; 6,0 Hz, 1 H), 2,90 (dt, J = 16,0; 4,0 Hz, 1 H);

¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ 149,4; 135,2; 134,2; 131,6; 128,9; 128,7; 127,9; 127,8; 127,3; 127,1; 126,1; 122,8; 119,5; 116,6; 88,6; 84,7; 52,3; 43,5; 29,0.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [115].

2-(4-флуорофенил)-1-(фенилетинил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (100)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 11W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 2 h. Смеша из микрофлуидног реактора одлази у балон у коме се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (12,6 mg, 0,025 mmol) и фенилацетилена (137 µl, 1,25 mmol) у 1 ml CH₂Cl₂. Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Реакциони производ (72mg, 88%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

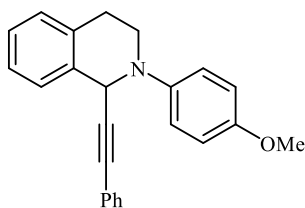
Rf = 0,80 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,42–7,35 (m, 1H), 7,33–7,22 (m, 8H), 7,12–7,05 (m, 2H), 7,05–6,98 (m, 2H), 5,55 (s, 1H), 3,65–3,60 (m, 2H), 3,22–3,14 (m, 1H), 2,96 (dt, J = 3,6, 16,3 Hz, 1H).

¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ 157,6 (d, J = 240 Hz); 146,5; 135,1; 134,2; 131,8 (2C); 129,0; 128,1 (3C); 127,6; 127,4; 126,3; 123,0; 119,5 (d, J = 8 Hz, 2C); 115,6 (d, J = 22 Hz, 2C); 88,2; 85,5; 53,7; 44,1; 29,0.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [281].

2-(4-метоксифенил)-1-(фенилетинил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (101)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 11W протиче смеша 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (60 mg, 0,25 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 2 h. Смеша из микрофлуидног реактора одлази у балон у коме се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (12,6 mg, 0,025 mmol) и фенилацетилена (137 µl, 1,25 mmol) у 1 ml CH₂Cl₂. Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Реакциони производ (69mg, 82%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силикагелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

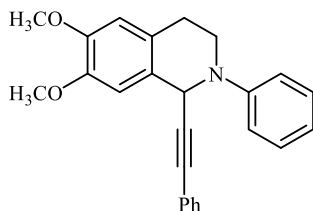
Rf = 0,70 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,38–7,35 (m, 1H), 7,31–7,27 (m, 2H), 7,26 – 7,17 (m, 6H), 7,15 – 7,08 (m, 2H), 6,94 – 6,87 (m, 2H), 5,52 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,70 – 3,60 (m, 1H), 3,56 (ddd, J = 8,9, 6,1, 1,9 Hz, 1H), 3,15 (ddd, J = 16,7, 10,7, 6,2 Hz, 1H), 2,98 – 2,89 (m, 1H);

¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ 154,2; 144,1; 135,4; 134,0; 131,7; 129,0; 128,0; 127,9; 127,5; 127,1; 126,1; 123,1; 120,2; 114,4; 88,5; 85,5; 55,6; 54,4; 44,2; 29,0.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [115].

6,7-диметокси-2-фенил-1-(фенилетинил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (57)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 11W протиче смеша 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (67,3 mg, 0,25 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 2 h. Смеша из микрофлуидног реактора одлази у балон у коме се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (12,6 mg, 0,025 mmol) и фенилацетилена (137 µl, 1,25 mmol) у 1 ml CH₂Cl₂. Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Реакциони производ (78,5 mg, 85%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силикагелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

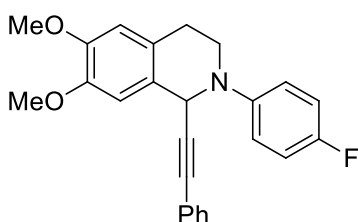
Rf = 0,15 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,39–7,33 (m, 4 H), 7,28–7,26 (m, 2 H), 7,17 (d, J = 8 Hz, 2 H), 6,96 (t, J = 7,0 Hz, 1 H), 6,93 (s, 1 H), 6,72 (s, 1 H), 5,63 (s, 1 H), 3,98 (s, 3 H), 3,92 (s, 3 H), 3,88–3,79 (m, 1 H), 3,68 (m, 1 H), 3,10 (ddd, J = 6,0, 10,9, 16,0 Hz, 1 H), 2,92 (dt, J = 3, 16 Hz, 1 H);

¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ 149,8; 148,4; 147,6; 131,9; 129,4; 128,4; 128,1; 127,3; 126,6; 123,2; 119,8; 116,9; 111,4; 110,3; 88,9; 84,9; 56,2; 55,9; 52,3; 43,5; 28,6.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [79].

2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1-(фенилетирил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (102)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 11W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (71,8 mg, 0,25 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 2 h. Смеша из микрофлуидног реактора одлази у

балон у коме се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (12,6 mg, 0,025 mmol) и фенилацетилена (137 µl, 1,25 mmol) у 1 ml CH₂Cl₂. Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Реакциони производ (78,5 mg, 80%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

Rf = 0,24 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

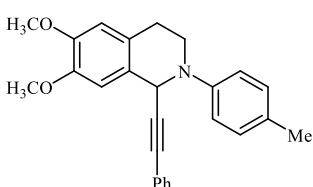
¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,31 – 7,17 (m, 5H), 7,11 – 7,05 (m, 2H), 7,05 – 6,98 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 5,46 (s, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,88 (s, 1H), 3,62 – 3,56 (m, 2H), 3,11 – 3,02 (m, 1H), 2,84 (dt, *J* = 15,9, 3,2 Hz, 1H).

¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ 158,7; 156,8; 148,6; 147,9; 146,7; 131,9; 128,4; 127,2; 126,3; 123,1; 119,8; 119,7; 115,8; 115,6; 111,6; 110,4; 88,5; 85,5; 56,3; 56,1; 53,7; 44,3; 28,7;

ИЦ (ATR): ν = 2933(w), 2833(w), 1611(w), 1509(vs), 1463(m), 1247(s), 1118(s), 1027(w), 816(w);

HRMS (ESI) *m/z* израчунато за C₂₅H₂₂FNO₂⁺ ([M⁺]) 387,1635, нађено 387,1631.

6,7-диметокси-1-(фенилетирил)-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (103)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен компактном флуоресцентном сијалицом од 11W протиче смеша 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин (70,8 mg, 0,25 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), у CH₃CN (1 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 2 h. Смеша из

микрофлуидног реактора одлази у балон у коме се налази смеша CuOTf·½C₆H₆ (12,6 mg, 0,025 mmol) и фенилацетилена (137 µl, 1,25 mmol) у 1 ml CH₂Cl₂. Смеша у балону се меша преко ноћи на собној температури без осветљења. Реакциони производ (86 mg, 90%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

Rf = 0,29 (Петрол етар/Етил ацетат: 7/1);

¹H НМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,33–7,26 (m, 2H), 7,25–7,18 (m, 3H), 7,15–7,08 (m, 2H), 7,06–7,01 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 5,51 (s, 1H), 3,88 (d, *J* = 11 Hz, 6H), 3,73 – 3,56 (m, 2H), 3,06 (ddd, *J* = 16,6, 10,5, 6,4 Hz, 1H), 2,85–2,78 (m, 1H), 2,29 (s, 3H);

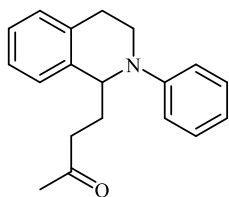
¹³C НМР (CDCl₃, 101 MHz): δ 148,2; 147,6; 147,5; 131,7; 129,6; 129,4; 128,0; 127,9; 127,3; 126,3; 123,1; 117,6; 111,4; 110,2; 88,7; 84,9; 56,1; 55,9; 52,7; 43,7; 28,4; 20,45;

ИЦ (ATR): $\nu = 3000$ (m), 2917 (m), 2832 (m), 1612 (m), 1516 (vs), 1463 (s), 1407 (s), 1260 (s), 1248 (s), 1213 (s), 1117 (s);

HRMS (ESI) m/z израчунато за $C_{26}H_{25}NO_2^+$ ($[M^+]$) 383,1885, нађено 383,1878.

❖ ПРИЛОГ 5

4-(2-Фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (60)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (52,3 mg, 0,25 mmol), метил-винил кетона (70 mg, 0,083 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (59 mg, 84%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

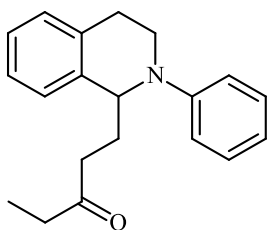
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,19–7,24 (m, 2H, ArH), 7,11–7,16 (m, 3H, ArH), 7,07–7,09 (m, 1H, ArH), 6,88 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,73 (t, 1H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 4,72 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,6 Hz, 9,2 Hz), 3,61 (dt, 1H, *J* = 5,2 Hz, 13,2 Hz), 3,54 (ddd, 1H, *J* = 4,3 Hz, 9,3 Hz, 11,7 Hz), 2,98 (ddd, 1H, *J* = 6,0 Hz, 9,6 Hz, 15,8 Hz), 2,74 (dt, 1H, *J* = 4,6 Hz, 16,4 Hz), 2,56 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,21 (ddt, 1H, *J* = 7,0 Hz, 9,2 Hz, 14,4 Hz), 2,08 (s, 3H), 2,00–2,09 (m, 1H);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 208,5; 149,8; 138,3; 134,9; 129,3; 128,7; 127,2; 126,5; 125,9; 117,7; 114,6; 57,9; 41,5; 40,3; 30,4; 30,2; 26,3;

ИЦ (ATR): ν = 3055 (m), 2919 (m), 2846 (m), 1710 (vs), 1598 (vs), 1500 (vs), 1470 (vs), 1369 (s), 1213 (m), 1164 (m), 1033 (m), 910 (w), 743 (vs), 694 (m) cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [130].

1-(2-Фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)пентан-3-он (104a)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (52,3 mg, 0,25 mmol), етил винил кетона (84 mg, 0,1 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (55 mg, 75%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

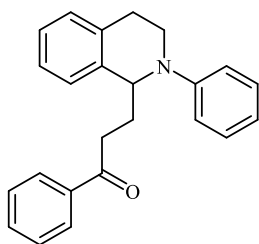
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,19–7,24 (m, 2H, ArH), 7,08–7,15 (m, 4H, ArH), 6,87 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,72 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 4,73 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,6 Hz, 9,2 Hz), 3,61 (dt, 1H, *J* = 5,2 Hz, 13,2 Hz), 3,54 (ddd, 1H, *J* = 4,5 Hz, 9,3 Hz, 13,5 Hz), 2,99 (ddd, 1H, *J* = 6,0 Hz, 9,6 Hz, 15,8 Hz), 2,74 (dt, 1H, *J* = 4,4 Hz, 16,0 Hz), 2,53 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,35 (q, 2H, *J* = 7,4 Hz), 2,23 (td, 1H, *J* = 6,4 Hz, 12,2 Hz), 2,05 (td, 1H, *J* = 6,9 Hz, 13,6 Hz), 1,02 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,3; 149,8; 138,4; 134,8; 129,3; 128,7; 127,2; 126,5; 125,9; 117,6; 114,5; 57,9; 41,4; 39,0; 36,1; 30,4; 26,3; 7,8;

ИЦ (ATR): ν = 3060 (w), 3021 (w), 2973 (m), 2936 (m), 1711 (vs), 1597 (vs), 1503 (vs), 1394 (m), 1325 (w), 1220 (m), 1114 (m), 1034 (w), 989 (w), 750 (s), 694 (m), cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [130].

1-Фенил-3-(2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пропан-1-он (104б)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолина (52,3 mg, 0,25 mmol), фенил винил кетона (132 mg, 0,132 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (66 mg, 77%) је пречишћен

танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

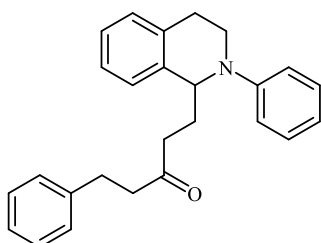
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,89 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 7,51 (t, 1H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,40 (t, 2H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,17 (dd, 5H, ArH, *J* = 6,8 Hz, 18,6 Hz), 7,08–7,13 (m, 1H, ArH), 6,88 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,70 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 4,83 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 6,0 Hz, 8,8 Hz), 3,61 (dd, 2H, *J* = 4,4 Hz, 8,8 Hz), 3,10 (td, 2H, *J* = 2,0 Hz, 6,8 Hz), 2,96–3,04 (m, 1H), 2,76 (dt, 1H, *J* = 4,5 Hz, 16,0 Hz), 2,40 (dt, 1H, *J* = 7,1 Hz, 14,9 Hz), 2,22 (dt, 1H, *J* = 6,9 Hz, 13,8 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,1; 149,8; 138,4; 137,0; 134,9; 132,9; 129,2; 128,7; 128,5; 128,0; 127,3; 126,5; 125,9; 117,7; 114,7; 58,2; 41,6; 35,4; 30,9; 26,4;

ИЦ (ATR): ν = 3059 (m), 3023 (m), 2930 (m), 1682 (vs), 1598 (vs), 1504 (vs), 1449 (m), 1394 (m), 1326 (w), 1271 (w), 1233 (m), 1000 (w) 751 (s), 692 (m) cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [282].

1-Фенил-5-(2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пентан-3-он (104в)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолина (52,3 mg, 0,25 mmol), 5-фенилпент-1ен-3-она (160 mg, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (77 mg, 83%) је пречишћен

танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

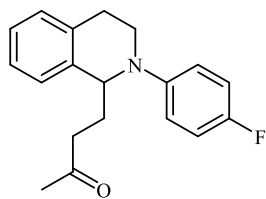
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,16–7,26 (m, 5H, ArH), 7,06–7,15 (m, 6H, ArH), 6,86 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,73 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 4,71 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,6 Hz, 9,2 Hz), 3,58 (dt, 1H, *J* = 5,2 Hz, 13,2 Hz), 3,51 (ddd, 1H, *J* = 4,3 Hz, 9,5 Hz, 13,5 Hz), 2,97 (ddd, 1H, *J* = 5,9 Hz, 9,7 Hz, 15,9 Hz), 2,84 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 2,72 (dt, 1H, *J* = 4,4 Hz, 16,4 Hz), 2,65 (dt, 1H, *J* = 4,8 Hz, 7,6 Hz), 2,50 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,24 (ddd, 1H, *J* = 6,6 Hz, 8,9 Hz, 21,3 Hz), 2,04 (dt, 1H, *J* = 7,6 Hz, 13,6 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 209,6; 149,8; 141,1; 138,3; 134,8; 129,3; 128,7; 128,4; 128,3; 127,2; 126,5; 126,0; 125,9; 117,7; 114,6; 57,9; 44,6; 41,4; 39,6; 30,4; 29,7; 26,3;

ИЦ (ATR): ν = 3060 (m), 3025 (m), 2927 (m), 1712 (vs), 1598 (vs), 1504 (vs), 1453 (m), 1395 (m), 1326 (w), 1219 (m), 1156 (w), 1032 (w) 750 (s), 698 (m) cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [131].

4-(2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (104г)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (56,8 mg, 0,25 mmol), метил-винил кетона (70 mg, 0,083 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (60 mg, 81%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

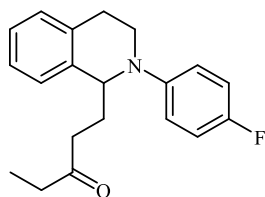
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,13–7,20 (m, 3H, ArH), 7,08 (brd, 1H, ArH, *J* = 7,1 Hz), 6,91 (t, 2H, ArH, *J* = 8,6 Hz), 6,82 (dd, 2H, ArH, *J* = 4,6 Hz, 9,0 Hz), 4,57 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,2 Hz, 9,2 Hz), 3,52 (dd, 2H, *J* = 4,4 Hz, 9,2 Hz), 2,92 (dt, 1H, *J* = 8,0 Hz, 15,6 Hz), 2,70 (dt, 1H, *J* = 4,2 Hz, 16,4 Hz), 2,55 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,12–2,25 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 1,98–2,09 (m, 1H);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 208,5; 156,1 (d, *J* = 237,4 Hz); 146,6; 138,0; 134,7; 128,8; 127,2; 126,5; 126,0; 116,8 (d, *J* = 7,0 Hz); 115,5 (d, *J* = 22,0 Hz); 58,5; 42,6; 40,3; 30,4; 30,2; 25,9;

ИЦ (ATR): ν = 3062 (w), 3019 (w), 2926 (m), 1713 (s), 1610 (w), 1509 (vs), 1395 (w), 1363 (w), 1231 (m), 1161 (m), 949 (w), 817 (m), 755 (m) cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₁₉H₂₁FNO [M+H]⁺ 298,1602, нађено 298,1595.

1-(2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)пентан-3-он (104д)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (56,8 mg, 0,25 mmol), етил-винил кетона (84 mg, 0,1 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (62 mg, 80%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

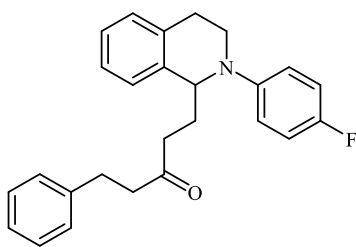
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,12–7,19 (m, 3H, ArH), 7,08 (d, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 6,90 (t, 2H, ArH, *J* = 8,8 Hz), 6,81 (dd, 2H, ArH, *J* = 4,4 Hz, 9,2 Hz), 4,57 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,6 Hz, 9,2 Hz), 3,52 (dd, 2H, *J* = 4,4 Hz, 9,2 Hz), 2,88–2,96 (m, 1H), 2,69 (dt, 1H, *J* = 4,1 Hz, 16,0 Hz), 2,52 (t, 2H, *J* = 6,6 Hz), 2,36 (q, 2H, *J* = 7,2 Hz), 2,21 (td, 1H, *J* = 6,8 Hz, 15,0 Hz), 2,05 (dt, 1H, *J* = 6,4 Hz, 20,4 Hz), 1,02 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,2; 156,1 (d, *J* = 235,9 Hz); 146,6 (d, *J* = 1,9 Hz); 138,1; 134,7; 128,8; 127,2; 126,5; 126,0; 116,8 (d, *J* = 7,4 Hz); 115,6 (d, *J* = 21,8 Hz); 58,5; 42,5; 39,0; 36,2; 30,5; 25,9; 7,8;

ИЦ (ATR): ν = 3061 (w), 3019 (w), 2973 (w), 2939 (m), 1711 (s), 1610 (w), 1509 (vs), 1376 (w), 1331 (w), 1231 (m), 1162 (w), 1115 (w), 993 (w), 817 (m), 762 (m), cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [282].

1-(2-(4-Флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-5-фенилпентан-3-он (104h)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (56,8 mg, 0,25 mmol), 5-фенилпент-1-ен-3-она (160 mg, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h.

Реакциони производ (64 mg, 66%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

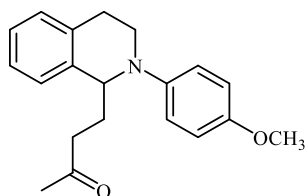
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,23–7,27 (m, 2H, ArH), 7,06–7,19 (m, 7H, ArH), 6,89 (d, 2H, ArH, *J* = 8,8 Hz), 6,78 (dd, 1H, ArH, *J* = 4,6 Hz, 9,0 Hz), 4,55 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,6 Hz, 9,2 Hz), 3,49 (dd, 1H, *J* = 4,6 Hz, 9,4 Hz), 2,89–2,49 (m, 1H), 2,85 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 2,64–2,71 (m, 3H), 2,49 (t, 2H, *J* = 6,6 Hz), 2,21 (dt, 1H, *J* = 6,4 Hz, 15,2 Hz), 2,01 (dt, 1H, *J* = 7,6 Hz, 13,4 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 209,6; 156,2 (d, *J* = 236,2 Hz); 146,6 (d, *J* = 2,1 Hz); 141,1; 138,1; 134,7; 128,8; 128,4; 128,3; 127,2; 126,5; 126,04; 125,99; 116,9 (d, *J* = 7,3 Hz); 115,6 (d, *J* = 21,9 Hz); 58,5, 44,6, 42,5, 39,6, 30,5, 29,7, 25,9;

ИЦ (ATR): ν = 3060 (w), 3026 (w), 2925 (m), 1710 (s), 1604 (w), 1508 (vs), 1453 (m), 1395 (w), 1332 (w), 1231 (s), 1162 (w), 818 (m) 750 (m), 700 (m) cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₆H₂₇FNO [M+H]⁺ 388,2071, нађено 388,2063.

4-(2-(4-Метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (104e)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (59,2 mg, 0,25 mmol), метил-винил кетона (70 mg, 0,083 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL).

Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (46 mg, 60%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

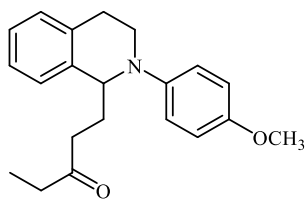
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,11–7,17 (m, 3H, ArH), 7,06 (d, 1H, ArH, *J* = 6,8 Hz), 6,84 (d, 2H, ArH, *J* = 9,0 Hz), 6,79 (d, 2H, ArH, *J* = 9,0 Hz), 4,51 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,8 Hz, 9,2 Hz), 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,49 (dd, 2H, *J* = 4,0 Hz, 8,0 Hz), 2,89 (dt, 1H, *J* = 8,0 Hz, 16,4 Hz), 2,64 (dt, 1H, *J* = 3,8 Hz, 16,4 Hz), 2,56 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,18 (dt, 1H, *J* = 6,7 Hz, 15,1 Hz), 2,09 (s, 3H, CH₃), 2,03 (dt, 1H, *J* = 7,3 Hz, 13,5 Hz);

ИЦ (ATR): ν = 2997 (w), 2933 (m), 2833 (w), 1713 (s), 1511 (vs), 1464 (w), 1364 (w), 1246 (s), 1037 (m), 951 (w), 824 (w), 752 (w) cm⁻¹;

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 208,7; 152,9; 144,6; 138,4; 134,9; 128,9; 127,2; 126,3; 125,9; 118,2; 114,6; 58,7; 55,6; 43,0; 40,5; 30,6; 30,3; 25,8.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [130].

1-(2-(4-Метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пентан-3-он (104ж)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолина (59,2 mg, 0,25 mmol), етил-винил кетона (84 mg, 0,1 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (53 mg, 66%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

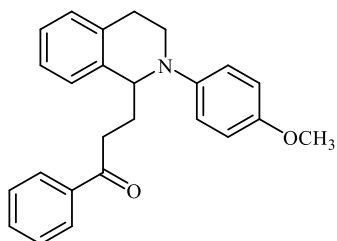
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,11–7,17 (m, 3H, ArH), 7,06 (d, 1H, ArH, *J* = 6,8 Hz), 6,83 (d, 2H, ArH, *J* = 9,2 Hz), 6,78 (d, 2H, ArH, *J* = 9,2 Hz), 4,51 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,8 Hz, 9,6 Hz), 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,49 (dd, 2H, *J* = 4,0 Hz, 7,6 Hz), 2,89 (dt, 1H, *J* = 8,0 Hz, 16,4 Hz), 2,63 (dt, 1H, *J* = 3,9 Hz, 16,4 Hz), 2,53 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,33–2,40 (m, 2H), 2,20 (td, 1H, *J* = 6,7 Hz, 15,2 Hz), 2,04 (dt, 1H, *J* = 6,9 Hz, 13,2 Hz), 1,01 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,4; 152,8; 144,6; 138,5; 134,9; 128,9; 127,2; 126,3; 125,9; 118,1; 114,6; 58,8; 55,6; 42,9; 39,2; 36,2; 30,7; 25,8; 7,8;

ИЦ (ATR): ν = 2936 (m), 2832 (w), 1711 (s), 1511 (vs), 1462 (w), 1375 (w), 1245 (s), 1114 (w), 1038 (m), 823 (w), 763 (w), cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [282].

3-(2-(4-Метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)-1-фенилпропан-1-он (104з)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydroизохинолина (59,2 mg, 0,25 mmol), фенил-винил кетона (132 mg, 0,132 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (58 mg, 62%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

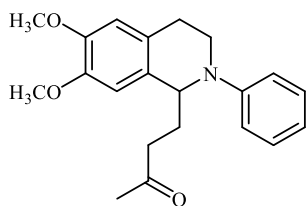
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,89 (d, 2H, ArH, *J* = 7,6 Hz), 7,52 (t, 1H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,41 (t, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 7,22 (d, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 7,16 (dd, 2H, ArH, *J* = 7,1 Hz, 14,4 Hz), 7,08 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz), 6,81 (d, 2H, ArH, *J* = 9,2 Hz), 6,74 (d, 2H, ArH, *J* = 8,8 Hz), 4,21 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,0 Hz, 9,4 Hz), 3,71 (s, 3H, OCH₃), 3,46–3,58 (m, 2H), 3,10 (dt, 2H, *J* = 3,6 Hz, 6,9 Hz), 2,91 (ddd, 1H, *J* = 5,8 Hz, 10,2 Hz, 16,2 Hz), 2,66 (dt, 1H, *J* = 4,0 Hz, 16,4 Hz), 2,35 (dt, 1H, *J* = 6,8 Hz, 15,2 Hz), 2,22 (dt, 1H, *J* = 7,0 Hz, 13,3 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,2; 152,9; 144,6; 138,5; 137,1; 134,9; 132,8; 128,9; 128,5; 128,0; 127,3; 126,3; 126,0; 118,4; 114,5; 58,9; 55,6; 43,2; 35,5; 31,2; 25,9;

ИЦ (ATR): ν = 3060 (w), 3031 (m), 2832 (w), 1682 (s), 1598 (w), 1511 (vs), 1449 (m), 1245 (s), 1039 (m), 820 (w), 749 (w), 691 (w) cm⁻¹;

HRMS: m/z (ESI/TOF) израчунато за C₂₅H₂₅NO₂ [M]⁺ 371,1880, нађено 371,1886.

4-(6,7-Диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)бутан-2-он (104и)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолина (67,3 mg, 0,25 mmol), метилвинил кетона (70 mg, 0,083 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (69 mg, 81%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

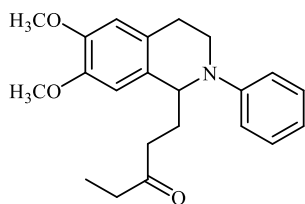
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,20 (dd, 2H, ArH, *J* = 7,3 Hz, 8,8 Hz), 6,87 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 6,73 (t, 1H, ArH, *J* = 7,3 Hz), 6,67 (s, 1H, ArH), 6,56 (s, 1H, ArH), 4,65 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,0 Hz, 9,5 Hz), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 8,82 (s, 3H, OCH₃), 3,64 (dt, 1H, *J* = 4,5 Hz, 13,0 Hz), 3,47–3,53 (m, 1H), 2,91 (ddd, 1H, *J* = 5,5 Hz, 10,5 Hz, 16,0 Hz), 2,56 (m, 3H), 2,13–2,21 (m, 1H), 2,09 (s, 3H, CH₃), 2,05–2,11 (m, 1H);

¹³C NMR (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 208,7; 150,0; 147,5; 147,1; 130,2; 129,2; 126,6; 117,9; 115,0; 111,4; 110,1; 57,5; 55,9; 55,8; 41,2; 40,3; 30,3; 30,2; 25,5;

ИЦ (ATR): ν = 2999 (w), 2935 (m), 2836 (w), 1713 (vs), 1598 (s), 1503 (vs), 1454 (w), 1356 (m), 1252 (s), 1159 (m), 1038 (m), 990 (w), 749 (m), 696 (w) cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [131].

1-(6,7-Диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолин-1-ил)пентан-3-он (104ј)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетраhydroизохинолине (67,3 mg, 0,25 mmol), етилвинил кетона (84 mg, 0,1 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (61 mg, 69%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

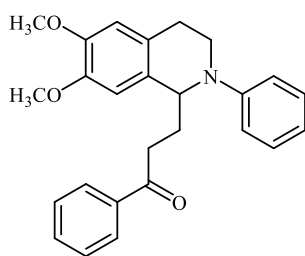
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,20 (t, 2H, ArH, *J* = 7,8 Hz), 6,86 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,73 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 6,67 (s, 1H, ArH), 6,56 (s, 1H, ArH), 4,65 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,0 Hz, 9,8 Hz), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,65 (dt, 1H, *J* = 4,4 Hz, 13,6 Hz), 3,47–3,54 (m, 1H), 2,91 (ddd, 1H, *J* = 5,4 Hz, 10,6 Hz, 16,0 Hz), 2,53–2,60 (m, 3H), 2,36 (q, 2H, *J* = 7,2 Hz), 2,15–2,23 (m, 1H), 2,09 (dt, 1H, *J* = 6,8 Hz, 13,4 Hz), 1,02 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,5; 150,0; 147,6; 147,2; 130,4; 129,2; 126,6; 117,9; 115,0; 111,5; 110,1; 57,6; 56,0; 55,8; 41,2; 39,0; 36,1; 30,4; 25,5; 7,8;

ИЦ (ATR): ν = 3068 (w), 2935 (m), 2834 (w), 1710 (s), 1598 (s), 1516 (vs), 1504 (vs), 1464 (m), 1390 (m), 1356 (w), 1250 (s), 1112 (s), 1031 (w) 989 (w), 859 (w), 751 (m), 694 (w) cm⁻¹.

Спектроскопски подаци су у складу са већ објављеним подацима [282].

3-(6,7-Диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-1-фенилпропан-1-он (104к)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолине (67,3 mg, 0,25 mmol), фенилвинил кетона (132 mg, 0,132 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (83 mg, 83%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама

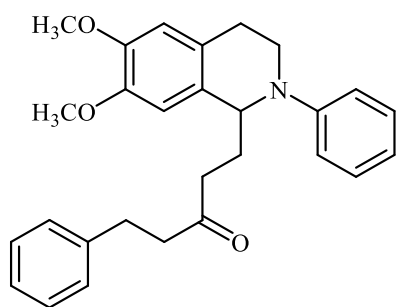
пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,91 (d, 2H, ArH, *J* = 7,6 Hz), 7,53 (t, 1H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,42 (t, 2H, ArH, *J* = 7,6 Hz), 7,17 (t, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,88 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,71 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 6,69 (s, 1H, ArH), 6,58 (s, 1H, ArH), 4,75 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,2 Hz, 9,2 Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,65 (dt, 1H, *J* = 4,8 Hz, 13,2 Hz), 3,57 (ddd, 1H, *J* = 4,1 Hz, 9,7 Hz, 13,7 Hz), 3,12 (td, 2H, *J* = 2,7 Hz, 6,7 Hz), 2,93 (ddd, 1H, *J* = 5,7 Hz, 9,9 Hz, 15,7 Hz), 2,63 (dt, 1H, *J* = 4,1 Hz, 16,0 Hz), 2,37 (dt, 1H, *J* = 6,0 Hz, 15,2 Hz), 2,25 (dt, 1H, *J* = 7,6 Hz, 13,5 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,3; 150,0; 147,6; 147,2; 137,0; 132,9; 130,3; 129,2; 128,5; 128,0; 126,7; 117,9; 115,0; 114,5; 110,2; 57,8; 55,94; 55,86; 41,6; 33,4; 30,8; 25,7;

ИЦ (ATR): ν = 3059 (w), 2934 (m), 2834 (w), 1682 (vs), 1598 (vs), 1516 (vs), 1504 (vs), 1449 (m), 1390 (m), 1357 (m), 1249 (vs), 1113 (s) 1031 (m), 991 (m), 911 (w), 859 (w), 750 (s), 693 (m) cm⁻¹; HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₆H₂₈NO₃ [M+H]⁺ 402,2064, нађено 402,2053.

1-(6,7-Диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-5-фенилпентан-3-он (104л)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-фенил-1,2,3,4-тетрахидроизохинолине (67,3 mg, 0,25 mmol), 5-фенилпент-1-ен-3-она (160 mg, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (82 mg, 76%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на

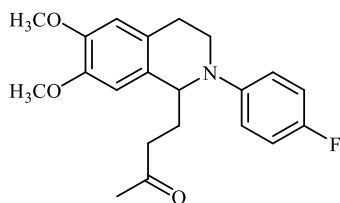
стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,15–7,26 (m, 5H, ArH), 7,10 (d, 2H, ArH, *J* = 7,0 Hz), 6,85 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,74 (t, 1H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 6,65 (s, 1H, ArH), 6,55 (s, 1H, ArH), 4,63 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,8 Hz, 9,8 Hz), 3,86 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,62 (ddd, 1H, *J* = 4,0 Hz, 5,0 Hz, 13,5 Hz) 3,44–5,50 (m, 1H), 2,90 (ddd, 1H, *J* = 5,6 Hz, 10,6 Hz, 16,1 Hz), 2,84 (t, 2H, *J* = 8,0 Hz), 2,63–2,67 (m, 2H), 2,51–2,59 (m, 3H), 2,15–2,22 (m, 1H), 2,04–2,12 (m, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 209,8; 150,0; 147,6; 147,2; 141,1; 130,3; 129,3; 128,4; 128,3; 126,6; 126,0; 118,0; 115,2; 111,5; 110,1; 57,6; 56,0; 55,8; 44,6; 41,2; 39,6; 30,4; 29,7; 25,5;

ИЦ (ATR): $\nu = 3026$ (w), 2999 (w), 2993 (m), 2834 (w), 1710 (s), 1597 (s), 1516 (vs), 1503 (vs), 1464 (m), 1408 (m), 1356 (m), 1250 (s), 1112 (s) 1031 (m), 989 (w), 860 (w), 751 (m), 699 (m) cm^{-1} ;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 430,2377, нађено 430,2368.

4-(2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)бутан-2-он (104љ)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолине (71,8 mg, 0,25 mmol), метил-винил кетона (70 mg, 0,083 ml, 1 mmol), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *TFA* (19 μL , 0,025 mmol) у CH_3CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (75 mg, 84%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

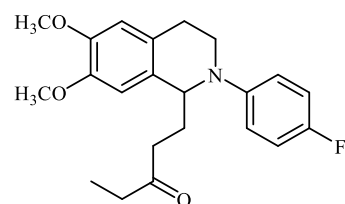
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,90 (t, 2H, ArH, $J = 8,8$ Hz), 6,81 (dd, 2H, ArH, $J = 4,4$ Hz, 9,2 Hz), 6,67 (s, 1H, ArH), 6,55 (s, 1H, ArH), 4,47 (dd, 1H, C(1)H, $J = 4,8$ Hz, 9,6 Hz), 3,88 (s, 3H, OCH_3), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 3,44–3,56 (m, 2H), 2,83 (ddd, 1H, $J = 6,3$ Hz, 9,9 Hz, 16,1 Hz), 2,57 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz), ~ 2,56 (dt, 1H, partially hidden by 2,57 triplet, $J = 3,6$ Hz), 2,10 (s, 3H), 2,03–2,19 (m, 2H);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ 208,7; 156,3 (d, $J = 236,5$ Hz); 147,6; 147,3; 146,85 (d, $J = 1,8$ Hz); 130,0; 126,5; 117,6 (d, $J = 7,4$ Hz); 115,5 (d, $J = 21,9$ Hz); 111,5; 110,0; 58,2; 56,0; 55,8; 42,6; 40,3; 30,5; 30,3; 25,1;

ИЦ (ATR): $\nu = 2997$ (w), 2936 (m), 2835 (w), 1711 (s), 1610 (w), 1509 (vs), 1466 (m), 1356 (m), 1250 (s), 1228 (s), 1112 (m), 1030 (w), 941 (w), 817 (m), cm^{-1} ;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{FNO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 358,1813, нађено 358,1805.

1-(2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)пентан-3-он (104м)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолине (71,8 mg, 0,25 mmol), етил-винил кетона (84 mg, 0,1 ml, 1 mmol), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *TFA* (19 μL , 0,025 mmol) у CH_3CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (73 mg, 79%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

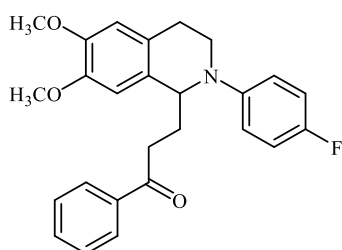
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,90 (t, 2H, ArH, $J = 8,6$ Hz), 6,80 (dd, 2H, ArH, $J = 4,4$ Hz, 8,8 Hz), 6,67 (s, 1H, ArH), 6,55 (s, 1H, ArH), 4,48 (dd, 1H, C(1)H, $J = 4,8$ Hz, 10,0 Hz), 3,88 (s, 3H, OCH_3), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 3,44–3,53 (m, 2H), 2,83 (ddd, 1H, $J = 6,5$ Hz, 9,9 Hz, 16,3 Hz), 2,51–2,59 (m, 3H), 2,37 (dq, 2H, $J = 2,4$ Hz, 7,3 Hz), 2,13–2,20 (m, 1H), 2,06 (dt, 1H, $J = 6,8$ Hz, 13,2 Hz), 1,02 (t, 3H, CH_3 , $J = 7,3$ Hz);

^{13}C NMP (CDCl_3 , 100 MHz): δ 211,5; 156,2 (d, $J = 236,3$ Hz); 147,6; 147,3; 146,85 (d, $J = 2,0$ Hz); 130,1; 126,5; 117,4 (d, $J = 7,4$ Hz); 115,5 (d, $J = 21,8$ Hz); 111,5; 110,0; 58,2; 56,0; 55,8; 42,5; 39,0; 26,2; 30,5; 25,1; 7,8;

ИЦ (ATR): $\nu = 3062$ (w), 2937 (m), 2835 (w), 1710 (s), 1610 (m), 1508 (vs), 1464 (m), 1355 (w), 1249 (s), 1229 (s), 1112 (s), 1028 (w) 905 (w), 821 (m), 770 (w) cm^{-1} ;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{FNO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 372,1970, нађено 372,1962.

3-(2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-1-фенилпропан-1-он (104н)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолине (71,8 mg, 0,25 mmol), фенил-винил кетона (132 mg, 0,132 ml, 1 mmol), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *TFA* (19 μL , 0,025 mmol) у CH_3CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (77 mg, 73%) је пречишћен

танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

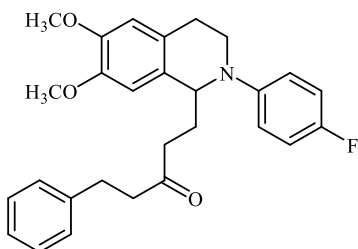
^1H NMP (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7,90 (d, 2H, ArH, $J = 8,2$ Hz), 7,53 (t, 1H, ArH, $J = 7,2$ Hz), 7,42 (t, 2H, ArH, $J = 7,8$ Hz), 6,85 (t, 2H, ArH, $J = 8,8$ Hz), 6,79 (dd, 2H, ArH, $J = 4,5$ Hz, 9,0 Hz), 6,69 (s, 1H, ArH), 6,57 (s, 1H, ArH), 4,58 (dd, 1H, C(1)H, $J = 5,0$ Hz, 9,0 Hz), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 3,47–3,57 (m, 2H), 3,04–3,16 (m, 2H), 2,84 (ddd, 1H, $J = 6,2$ Hz, 9,8 Hz, 16,0 Hz), 2,58 (dt, 1H, $J = 4,1$ Hz, 16,0 Hz), 2,35 (ddt, 1H, $J = 6,5$ Hz, 9,3 Hz, 13,4 Hz), 2,19–2,26 (m, 1H);

^{13}C NMP (CDCl_3 , 125,8 MHz): δ 200,3; 156,3 (d, $J = 237,6$ Hz); 147,7; 147,4; 146,85; 137,1; 132,9; 130,0; 128,5; 128,0; 126,6; 117,6 (d, $J = 7,3$ Hz); 115,5 (d, $J = 22,0$ Hz); 111,5; 110,1; 58,4; 55,9; 55,8; 42,8; 35,4; 31,0; 25,3;

ИЦ (ATR): $\nu = 3067$ (w), 2997 (w), 2934 (m), 2835 (w), 1681 (s), 1610 (w), 1510 (vs), 1449 (m), 1390 (w), 1355 (w), 1248 (s), 1231 (s), 1113 (m) 1028 (w), 1001 (w), 817 (w), 748 (w), 691 (w) cm^{-1} ;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{FNO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 420,1970, нађено 420,1960.

1-(2-(4-Флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолин-1-ил)-5-фенилпентан-3-он (104њ)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 2-(4-флуорофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрахидроизохинолина (71,8 mg, 0,25 mmol), 5-фенилпент-1-ен-3-она (160 mg, 1 mmol), $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и *TFA* (19 μL , 0,025 mmol) у CH_3CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (77 mg, 69%) је пречишћен

танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

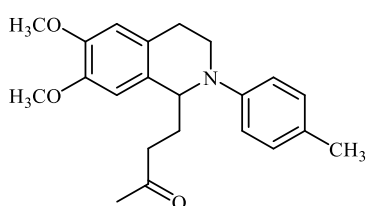
¹H NMP (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,25 (t, 2H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,17 (t, 1H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,11 (d, 2H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 6,88 (t, 2H, ArH, *J* = 8,6 Hz), 6,78 (dd, 1H, ArH, *J* = 4,4 Hz, 9,2 Hz), 6,65 (s, 1H, ArH), 6,54 (s, 1H, ArH), 4,45 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,8 Hz, 9,6 Hz), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,45–3,50 (m, 2H), 2,85 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 2,77–2,81 (m, 1H), 2,67 (dt, 2H, *J* = 3,6 Hz, 7,5 Hz), 2,50–2,54 (m, 3H), 2,13–2,20 (m, 1H), 2,01–2,10 (m, 1H);

¹³C NMP (CDCl₃, 100 MHz): δ 209,8; 156,3 (d, *J* = 236,5 Hz); 147,6; 147,3; 146,8 (d, *J* = 2,1 Hz); 141,0; 130,0; 128,4; 128,2; 126,5; 126,0; 117,6 (d, *J* = 7,4 Hz); 115,6 (d, *J* = 21,9 Hz); 111,5; 110,0; 58,2; 56,0; 55,8; 44,7; 42,5; 39,6; 30,5; 29,7; 25,0.

ИЦ (ATR): ν = 3026 (w), 2934 (m), 2834 (w), 1710 (s), 1609 (w), 1508 (vs), 1453 (m), 1355 (w), 1250 (s), 1230 (s), 1112 (s), 1030 (w), 819 (m), 751 (w), 701 (m) cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₈H₃₁FNO₃ [M+H]⁺ 448,2285, нађено 448,2273.

4-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолин-1-ил)бутан-2-он (104o)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолина (70,8 mg, 0,25 mmol), метил винил кетона (70 mg, 0,083 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз

микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (83 mg, 94%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

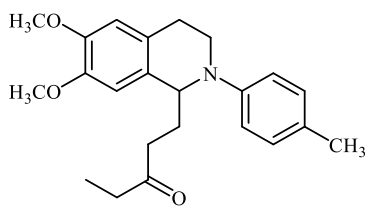
¹H NMP (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,00 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,78 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,65 (s, 1H, ArH), 6,52 (s, 1H, ArH), 4,53 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,8 Hz, 9,6 Hz), 3,86 (s, 3H, OCH₃), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,58 (ddd, 1H, *J* = 3,4 Hz, 5,0 Hz, 13,6 Hz), 3,42–3,49 (m, 1H), 2,85 (ddd, 1H, *J* = 5,5 Hz, 10,7 Hz, 16,1 Hz), 2,56 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz), 2,50 (dt, 1H, *J* = 3,7 Hz, 16,0 Hz), 2,21 (s, 3H, ArCH₃), 2,07 (s, 3H, COCH₃), 2,01–2,18 (m, 2H);

¹³C NMP (CDCl₃, 100 MHz): δ 208,8; 148,0; 147,5; 147,2; 130,4; 129,7; 127,6; 126,7; 116,0; 111,5; 110,1; 57,8; 56,0; 55,8; 41,7; 40,4; 30,5; 30,3; 25,2; 20,2;

ИЦ (ATR): ν = 2999 (w), 2934 (m), 2859 (w), 2834 (w), 1711 (s), 1612 (m), 1515 (vs), 1465 (m), 1389 (m), 1356 (m), 1249 (s), 1111 (m), 1029 (w), 1009 (w), 859 (w), 812 (w), cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₂H₂₈NO₃ [M+H]⁺ 354,2064, нађено 354,2054.

1-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолин-1-ил)пентан-3-он (104п)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолина (70,8 mg, 0,25 mmol), етил винил кетона (84 mg, 0,1 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор

уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (66 mg, 72%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

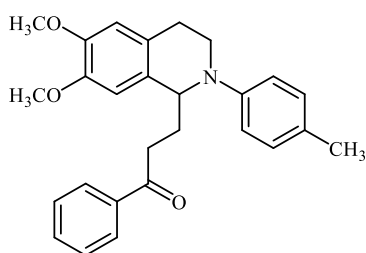
¹H NMP (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,01 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 6,78 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 6,68 (s, 1H, ArH), 6,54 (s, 1H, ArH), 4,55 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,8 Hz, 9,8 Hz), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,60 (ddd, 1H, *J* = 3,2 Hz, 5,2 Hz, 13,5 Hz), 3,44–3,50 (m, 1H), 2,87 (ddd, 1H, *J* = 5,4 Hz, 10,9 Hz, 16,1 Hz), 2,49–2,57 (m, 3H), 2,37 (dq, 2H, *J* = 4,6 Hz, 7,2 Hz), 2,20 (s, 3H, ArCH₃), 2,13–2,20 (m, 1H), 2,06–2,12 (m, 1H), 1,02 (t, 3H, CH₃, *J* = 7,2 Hz);

¹³C NMP (CDCl₃, 125,8 MHz): δ 211,6; 148,0; 147,5; 147,2; 130,4; 129,7; 127,6; 126,7; 115,9; 111,5; 110,1; 57,8; 56,0; 55,8; 41,6; 39,1; 36,2; 30,5; 25,2; 20,3; 7,8;

ИЦ (ATR): ν = 2936 (m), 2834 (w), 1710 (s), 1612 (m), 1514 (vs), 1463 (m), 1389 (w), 1355 (w), 1249 (s), 1111 (s), 1029 (w) 858 (w), 809 (w), 769 (w) cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₃H₃₀NO₃ [M+H]⁺ 368,2220, нађено 368,2209.

3-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолин-1-ил)-1-фенилпропан-1-он (104p)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолина (70,8 mg, 0,25 mmol), фенил винил кетона (132 mg, 0,132 ml, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1 h. Реакциони производ (83 mg, 80%) је пречишћен

танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол стар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

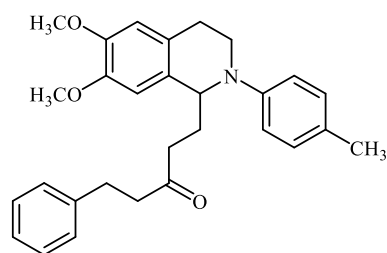
¹H NMP (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,91 (d, 2H, ArH, *J* = 7,2 Hz), 7,53 (t, 1H, ArH, *J* = 7,4 Hz), 7,41 (t, 2H, ArH, *J* = 7,6 Hz), 6,98 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,79 (d, 2H, ArH, *J* = 8,4 Hz), 6,71 (s, 1H, ArH), 6,56 (s, 1H, ArH), 4,66 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 5,2 Hz, 9,6 Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,61 (ddd, 1H, *J* = 3,8 Hz, 5,2 Hz, 13,4 Hz), 3,54 (ddd, 1H, *J* = 3,9 Hz, 10,1 Hz, 13,7 Hz), 3,12 (dd, 2H, *J* = 6,8 Hz, 10,8 Hz), 2,89 (ddd, 1H, *J* = 5,8 Hz, 10,2 Hz, 16,0 Hz), 2,56 (dt, 1H, *J* = 3,7 Hz, 16,0 Hz), 2,24–2,38 (m, 2H), 2,21 (s, 3H, CH₃);

¹³C NMP (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,4; 148,1; 147,5; 147,2; 137,1; 132,9; 130,4; 129,7; 128,5; 128,0; 127,6; 126,8; 116,0; 111,5; 110,2; 58,0; 56,0; 55,8; 42,0; 35,5; 30,9; 25,4; 20,3;

ИЦ (ATR): ν = 3060 (w), 3000 (w), 2933 (m), 2853 (w), 2834 (w), 1681 (s), 1612 (m), 1515 (vs), 1449 (m), 1389 (w), 1356 (w), 1248 (s), 1112 (m) 1030 (w), 1001 (w), 808 (w), 747 (w), 692 (w) cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₇H₃₀NO₃ [M+H]⁺ 416,2220, нађено 416,2208.

1-(6,7-Диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолин-1-ил)-5-фенилпентан-3-он (104c)



Кроз микрофлуидни реактор који је осветљен са две компактне флуоресцентне сијалице од 8W протиче смеша 6,7-диметокси-2-(*p*-толил)-1,2,3,4-тетрахидроизохиолина (70,8 mg, 0,25 mmol), 5-фенилпент-1-ен-3-он (160 mg, 1 mmol), Ru(bpy)₃Cl₂ (1,9 mg, 0,0025 mmol), и TFA (19 μL, 0,025 mmol) у CH₃CN (2 mL). Реакциона смеша се пропушта кроз микрофлуидни реактор уз помоћ шприц пумпе са ретенционим временом од 1

h. Реакциони производ (89 mg, 75%) је пречишћен танкослојном хроматографијом на стакленим плочама пресвученим са силика-гелом (Петрол етар/Етил ацетат = 7/1). Добијени производ је уљаст и жућкасте боје.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,24 (t, 2H, ArH, *J* = 7,5 Hz), 7,17 (t, 1H, ArH, *J* = 7,5 Hz), 7,10 (d, 2H, ArH, *J* = 7,0 Hz), 7,00 (d, 2H, ArH, *J* = 8,0 Hz), 6,77 (d, 2H, ArH, *J* = 8,5 Hz), 6,65 (s, 1H, ArH), 6,53 (s, 1H, ArH), 4,54 (dd, 1H, C(1)H, *J* = 4,5 Hz, 10,0 Hz), 3,86 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,57 (ddd, 1H, *J* = 3,0 Hz, 5,2 Hz, 13,8 Hz) 3,41–5,47 (m, 1H), 2,85–2,89 (m, 1H), 2,84 (t, 2H, *J* = 6,6 Hz), 2,61–2,70 (m, 2H), 2,48–2,54 (m, 3H), 2,23 (s, 3H, CH₃), 2,13–2,21 (m, 1H), 2,04–2,11 (m, 1H);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 209,8; 148,0; 147,5; 147,2; 141,1; 130,3; 129,8; 128,4; 128,3; 127,7; 126,7; 126,0; 116,0; 111,5; 110,1; 57,8; 56,0; 55,8; 44,7; 41,6; 33,7; 30,6; 29,7; 25,2; 20,3;

ИЦ (ATR): ν = 3027 (w), 3001 (w), 2933 (m), 2859 (w), 2834 (w), 1710 (s), 1612 (m), 1515 (vs), 1453 (m), 1390 (w), 1250 (s), 1111 (m) 1031 (w), 859 (w), 811 (w), 751 (w), 701 (m) cm⁻¹;

HRMS: m/z (HESI) израчунато за C₂₉H₃₄NO₃ [M+H]⁺ 444,2533, нађено 444,2518.

9. БИОГРАФИЈА АУТОРА

Ана (Александар) Филиповић је рођена 23. маја 1985. године у Скопљу. Завршила је основне студије на Факултету за физичку хемију, Универзитета у Београду, 24.01.2011. године са просечном оценом 8,10. На одбрани дипломског рада чији је наслов био „Термичка деградација (*N*-бензилоксикарбовинилглицин)кадмијум(II)-комплекса” добија највишу оценоу 10. Исте године је уписала мастер академске студије на Факултету за физичку хемију, које је успешно завршила 11.11.2011. године са просечном оценом 9,00. На одбрани мастер рада под називом „Механизам термичке деградације $[Cd(N\text{-}boc\text{-}gly)_2(H_2O)_2]_n$ ” постигла је највишу оценоу 10. Након завршетка мастер студија па све до 2013. године, била је члан научно истраживачке групе коју је водила професорка др Драгица Минић. Осим научног рада, преносила је знање и кроз образовање као наставник физике и хемије у неколико основних школа. Од 2016. године Ана се посветила докторским академским студијама на Факултету за физичку хемију, Универзитета у Београду. Од новембра 2018. године је запослена на Институту за хемију технологију и металургију Универзитета у Београду, Институту од националног значаја за Републику Србију, у Центру за микроелектронске технологије које је под руководством др Дане Васиљевић-Радовић. У периоду од 2020–2021. године активно је учествовала на пројекту у оквиру програма Доказ Концепта „Микрофлуидни уређаји за примену у фоторедокс катализи” (РОС5183) финансираног од стране Фонда за иновациону делатност Републике Србије, под руководством др Бојана Бонцића, научног саветника Института за Хемију технологију и металургију, Универзитета у Београду. Учесник је на пројекту у оквиру програма Трансфер Технологије „Модуларни фотореактори за примену у класичној и микрофлуидној фотохемији” (ТТ1108) од 2022–2023. године финансираног од стране Фонда за иновациону делатност Републике Србије, такође под руководством др Бојана Бонцића, научног саветника Института за Хемију технологију и металургију, Универзитета у Београду.

Библиографија:

Научни радови и саопштења проистекли из докторске дисертације:

Рад у врхунском међународном часопису (M21)

1. **A. Filipović**, Z. Džambaski, D. Vasiljević–Radović, and B. P. Bondžić, “Visible light promoted photoredox C(sp³)–H bond functionalization of tetrahydroisoquinolines in flow,” *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 19, no. 12, pp. 2668–2675, 2021, [doi: 10.1039/D0OB02582H](https://doi.org/10.1039/D0OB02582H).

Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

1. **A. Filipović**, Z. Džambaski, A. M. Bondžić, and B. P. Bondžić, “Visible–light promoted photoredox catalysis in flow: addition of biologically important α -amino radicals to michael acceptors,” *Photochemical & Photobiological Sciences*, Jun. 2023, [doi: 10.1007/s43630-023-00448-8](https://doi.org/10.1007/s43630-023-00448-8).

Саопштења са међународног скупа штампано у целини (M33)

1. A.M.Bondžić, D. Jovanović, Z. Džambaski, **A. Filipović**, B.P.Bondžić, New derivatives of 2–phenyl–1,2,3,4–tetrahydroisoquinoline as dual inhibitors of cholinergic enzymes, 16th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, [September 26–30, 2022](https://doi.org/10.1007/s43630-023-00448-8).

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. **Filipović A.**, Džambaski Z., Bondžić B., Microreactor technology for green and sustainable photo– and organo– catalytic synthesis, Natural resources, green technology and sustainable development/4–GREEN2022, [September 14 –16, 2022](https://doi.org/10.1007/s43630-023-00448-8).
2. **Filipović A.**, Džambaski Z., Bondžić B., Visible Light Promoted Cross Dehydrogenative Coupling Reactions (CDC) of N–Aryl– tetrahydroisoquinolines in Flow, 58th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, [June 9–10, 2022](https://doi.org/10.1007/s43630-023-00448-8).

Остали научни радови и саопштења на којима је кандидат коаутор:

Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

1. M.M. Smiljanić, Ž. Lazić, M. Rašljić Rafajilović, K. Cvetanović Zobenica, E. Milinković, **A. Filipović**, *J. Micromechanics Microengineering*. 31(1) (2021) 017001. DOI: 10.1088/1361–6439/abcb67.
2. N. Begović, M. M. Vasić, **A. Grković**, V. A. Blagojević, and D. M. Minić, “Isokinetic parameters of thermal degradation of powder of [Cd(N–Boc–gly)₂(H₂O)₂]_n,” *Sci. Sinter.*, vol. 46, no. 3, pp. 323–330, 2014, doi: 10.2298/SOS1403323B.

Рад у међународном часопису (M23)

1. M.M. Smiljanić, B. Radjenović, Ž. Lazić, M. Radmilović–Radjenović, M. Rašljčić Rafajilović, K. Cvetanović Zobenica, E. Milinković, **A. Filipović**, *Hem. Ind.* 75(1) (2021) 15–24. DOI: 10.2298/HEMIND200807005S.

Врхунски часопис националног значаја (M51)

1. Gajić M., Ilić, B.; Bondžić, B.; Džambaski, Z.; **Filipović, A.**; Kocić, G.; Šmelcerović, A. „Xanthine Oxidase Inhibitory Properties of 1,2,3,4–Tetrahydroisoquinoline Derivatives“, *Acta Medica Medianae* 2021, 60, 48–55. *Acta Medica Medianae*.

Саопштења са међународног скупа штампано у целини (M33)

1. M.M. Smiljanić, Ž. Lazić, B. Radjenović, M. Radmilović–Radjenović, V. Jović, M. Rašljčić, K. Cvetanović Zobenica, **A. Filipović**, Etched Parallelogram Patterns with Sides Along $\langle 100 \rangle$ and $\langle n10 \rangle$ Directions in 25 wt % TMAH, ETRAN 2019, Jun 3–6, Srebrno jezero, Serbia.
2. Dragica Minić–Popović, Šumar Ristović M., **Grković A.**, Blagojević V., Poledi D., Andjelković K., Mechanism and kinetics of degradation of d metal complexes with n–benzyloxycarbonylglycinato ligand, 11th International Conference on Fundamental and Applied Aspect of Physical Chemistry, physical chemistry 2012, Proceedings, vol. 1, pp. 191 – 193, issn: 978–86–82475–27–9, Serbia, 24. – 28. Sep, 2012.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. Dunja Jovanović, **Ana Filipović**, Bojan Bondžić, Aleksandra Bondžić, Influence of the structures of THIQ derivatives on their inhibitory properties toward acetyl– and butyrylcholinesterase, Eleventh International conference on Radiation, Natural Science, Medicine, Engineering, Technology and Ecology, june 19–23,2023 Herceg Novi, Montenegro; RAD 11.
2. Kinetic investigations of deconvoluted processes of thermal degradation of Co(II), Cd(II) and Zn(II) complexes with N–benzyloxycarbonylglycinato ligand M. Šumar Ristović, **A. Grković**, V. Blagojević, K. Anđelković, D. Poleti, D.M.Minić YUCOMAT 2012, September 3–7, 2012, Herceg Novi, Montenegro.
3. Influence of Thermally Induced Structural Transformations on Magnetic Properties of Fe₇₅Ni₂Si₈B₁₃C₂ Alloy Vladimir Blagojević, Milica Vasić, **Ana Grković**, Dušan Minić, Dragica Minić, Serbian Ceramic Society Conference: Advanced ceramics and application, May 10–11th, 2012, Belgrade, Serbia.

Ново техничко решење (није комерцијализовано) (M85)

1. M. Rašljčić, M. M. Smiljanić, Ž. Lazić, K. Cvetanović–Zobenica, **A. Filipović**, M. Sarajlić, D. Vasiljević–Radović, “Dvostrano vlažno hemijsko nagrivanje Pyrex stakla”, TR–32008 MPNTR, 2018.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Филиповић Ана

Број индекса: 2016/0315

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

„Фоторедокс функционализација *N*-арил-тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима и испитивање интеракције добијених деривата са ензимима ацетилхолинестеразом и бутирилхолинестеразом“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 19.10.2023.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Ана Филиповић

Број индекса: 2016/0315

Студијски програм: Докторске студије

Наслов рада: „Фоторедокс функционализација N–арил–тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима и испитивање интеракције добијених деривата са ензимима ацетилхолинестеразом и бутирилхолинестеразом”

Ментори:

1. др Ана Поповић Бијелић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију,
2. др Бојан Бонцић, научни саветник, Универзитет у Београду – Институт за хемију технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 19.10.2023.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Фоторедокс функционализација *N*-арил-тетрахидроизохинолина у микрофлуидним реакторима и испитивање интеракције добијених деривата са ензимима ацетилхолинестеразом и бутирилхолинестеразом“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY–NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY–NC–ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY–NC–SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY–ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY–SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 19.10.2023.

1. Ауторство. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.