

Totalna sinteza aflatoksina

Klobučar, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:428349>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-06**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Lucija Klobučar

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

TOTALNA SINTEZA AFLATOKSINA

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Nikola Cindro

Zagreb, 2022.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

10. kolovoza 2022.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

23. rujna 2022.

Mentor rada: doc. dr. sc. Nikola Cindro

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Aflatoksini.....	1
1.1.1. Otkriće aflatoksina.....	1
1.1.2. Kemijska struktura i svojstva	2
1.1.3. Mehanizmi toksičnosti.....	3
§ 2. TOTALNE SINTEZE AFLATOKSINA	7
2.1. G. Büchi <i>et al.</i> (1967.): Totalna sinteza racemičnog aflatoksina B ₁	8
2.2. J. C. Roberts <i>et al.</i> (1968.): Totalna sinteza (±)-aflatoksina B ₂	14
2.3. B. M. Trost, F. D. Toste (2003.): Paladijem katalizirane kinetičke i dinamičke kinetičke asimetrične transformacije γ -aciloksibutenolida. Enantioselektivna totalna sinteza (–)- aflatoksina B ₁ i B _{2a}	18
2.4. G. Zhou, E. J. Corey (2005.): Kratka, enantioselektivna totalna sinteza aflatoksina B ₂ uz korištenje asimetrične [3+2]-cikloadicije.....	24
§ 3. ZAKLJUČAK	30
§ 4. LITERATURNI IZVORI.....	31

§ Sažetak

Aflatoksini su skupina toksičnih gljivičnih metabolita koji kod ljudi i životinja izazivaju mnoge teške posljedice trovanja, uključujući kronične bolesti, razvoj karcinoma i smrt. Aflatoksini su česti kontaminanti prehrambenih proizvoda te zbog svoje rasprostranjenosti predstavljaju veliku opasnost za javno zdravstvo. Toksikologija aflatoksina i dalje većinom nije razjašnjena te ih je potrebno izolirati iz prirodnog izvora ili sintetizirati kako bi se mogla provoditi istraživanja s ciljem boljeg razumijevanja aflatoksina. Iz tog je razloga razvoj totalnih sinteza aflatoksina bitan cilj istraživanja u organskoj kemiji. Od otkrića aflatoksina objavljeno je nekoliko totalnih i formalnih sinteza aflatoksina. U ovom su radu opisane prve racemične te prve enantioselektivne sinteze aflatoksina B₁ i B₂.

§ 1. UVOD

1.1. Aflatoksini

1.1.1. Otkriće aflatoksina

Aflatoksini su skupina mikotoksina, sekundarnih gljivičnih metabolita relativno male molekulske mase koji mogu imati različite toksične utjecaje na kralježnjake.¹

Otkriće aflatoksina dogodilo se početkom 1960-ih godina kad je u Engleskoj epidemija „X-bolesti purana“ uzrokovala oboljenje, a zatim i smrt velikog broja peradi i drugih domaćih životinja.² Pokazalo se da je izvor bolesti hrana za životinje bogata kikirikijem uvezena iz Južne Amerike,² kontaminirana gljivicama vrste *Aspergillus flavus*.³ Ubrzo je otkriveno da ekstrakti gljivice *A. flavus* izolirani iz hrane za životinje imaju toksična svojstva i mogu uzrokovati „X-bolest purana“, a uzročnici su toksičnosti prema vrsti *A. flavus* nazvani aflatoksinima.⁴

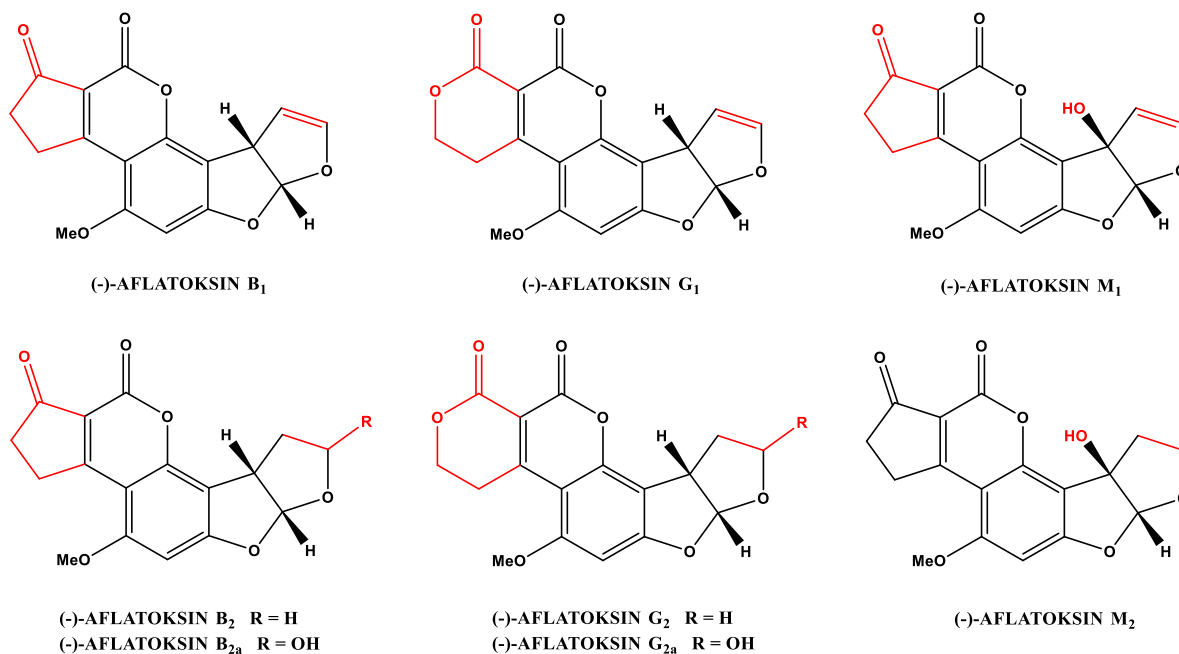
Danas je poznato da aflatoksine osim *A. flavus* proizvode i druge plijesni roda *Aspergillus*: *A. parasiticus*, *A. niger* itd.,¹ a kontaminirane mogu biti mnoge poljoprivredne kulture, kao što su kukuruz, pšenica, ječam, riža i začini, kao i proizvodi životinjskog porijekla poput mlijeka i sira. Do kontaminacije poljoprivrednih kultura može doći za vrijeme njihova uzgoja ili skladištenja. Pritom veliku ulogu igraju uvjeti u kojima se prehrambeni proizvodi nalaze; za razvoj gljivica potrebne su dovoljno visoke temperature i visoka vlažnost.⁵ Gljivičnim metabolizmom primarno nastaju četiri vrste aflatoksina: B₁, B₂, G₁ i G₂, no osim njih opisano je još više vrsta aflatoksina (npr. B_{2a}, G_{2a}, M₁, M₂) od kojih većina nastaje metaboličkom razgradnjom unesenih primarnih aflatoksina u sisavaca.¹ Primjerice, u krava se dio unesenog aflatoksina B₁ prevodi u hidroksilirani derivat aflatoksin M₁, koji se zatim izlučuje u mlijeku (Slika 1).⁶ Na taj način dolazi do kontaminacije proizvoda životinjskog porijekla aflatoksinima.

Otkriće aflatoksina dovelo je do velikog interesa za istraživanje drugih mikotoksina („mycotoxin gold rush“),⁷ kao i do istraživanja prirode i djelovanja samih aflatoksina u organizmu. Zbog svog toksičnog utjecaja na životinje i ljude te činjenice da su među toksičnim spojevima aflatoksini najčešći kontaminanti prehrambenih proizvoda aflatoksini predstavljaju veliku prijetnju za javno zdravstvo.⁵ Najčešće posljedice trovanja aflatoksinima uključuju akutne i kronične bolesti jetre, ali i imunotoksične, mutagene i karcinogene učinke. Zbog navedenog se redovito provode analize prehrambenih proizvoda dostupnih na tržištu te su

postavljena stroga ograničenja za dopuštene koncentracije aflatoksina u hrani.⁸ Od otkrića aflatoksina do danas postignut je velik napredak u razumijevanju svojstava i toksikologije aflatoksina,¹ kao i njihove biosinteze,¹⁰ mehanizama toksičnosti¹¹ i potencijalnih načina prevencije.⁹

1.1.2. Kemijska struktura i svojstva

Otkrivanje i izolaciju aflatoksina iz kontaminiranih uzoraka hrane značajno olakšava činjenica da aflatoksini emitiraju intenzivno fluorescentno zračenje pri izlaganju UV svjetlu. Prema bojama emitiranog zračenja četiri gljivična metabolita su dobila imena aflatoksini B – zračenje plave boje, odnosno aflatoksini G – zračenje žuto-zelene boje.¹² Molekulske formule aflatoksina B i G određene su masenom spektrometrijom i elementarnom analizom (Tablica 1).¹³ Godine 1963. prvi su put određene strukture aflatoksina B₁ i G₁,¹⁴ a strukture aflatoksina B₂ i G₂ određene su 1965.¹⁵ Apsolutne konfiguracije aflatoksina određene su 1967. godine (Slika 1).¹⁶



Slika 1. Kemijske strukture aflatoksina B₁, B₂, B_{2a}, G₁, G₂, G_{2a}, M₁ i M₂.

Tablica 1. Molekulske formule, relativne molekulske mase te specifično zakretanje svjetlosti aflatoksina B₁, B₂, G₁ i G₂ određeni 1963.¹³

Aflatoksin	Molekulska formula	Relativna molekulska masa	$[\alpha]_D^{23}$
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	−559
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	−492
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	−533
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	−473

Aflatoksini su pri sobnoj temperaturi krutine relativno stabilne na zraku.¹³ Dobro su topljivi u polarnim organskim otapalima kao što su metanol ili kloroform te u smjesama polarnih organskih otapala i vode.¹⁷ Izlaganjem aflatoksina svjetlosti uz prisutnost zraka dolazi do raspada, kao i pod utjecajem topline.¹⁷ Pokazano je da pri izlaganju temperaturi od 180°C dolazi do potpunog raspada aflatoksina B₁.¹⁸ Pri pH vrijednostima manjim od tri ili većim od 10 također dolazi do raspada aflatoksina.¹⁹ Aflatoksini su optički aktivni spojevi te se u prirodi pojavljuju kao (−)-enantiomeri (Tablica 1).¹³

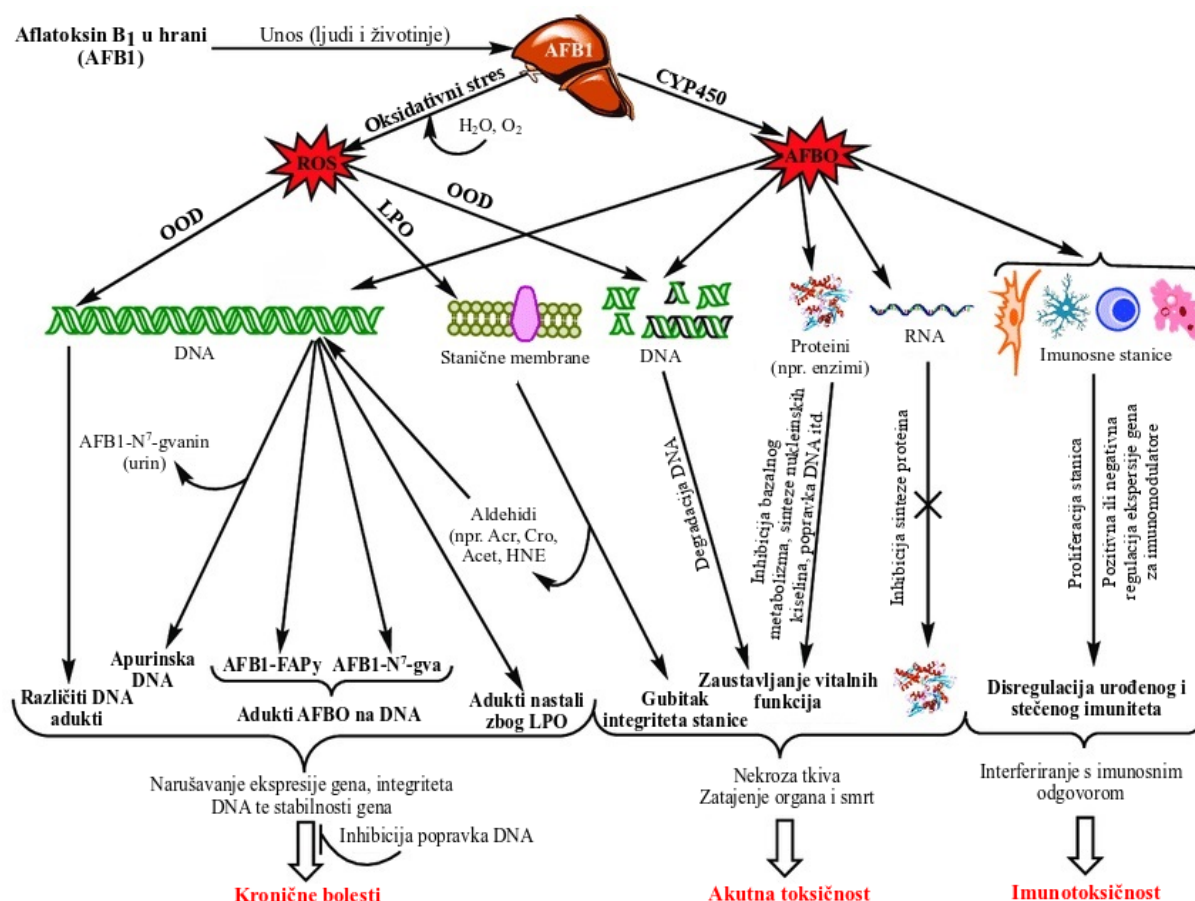
Strukturno su aflatoksini visoko supstituirani kumarini povezani s dihidrofurofuranskim prstenovima. Takva furokumarinska struktura česta je među prirodnim spojevima koji imaju farmakološke učinke.²⁰ Aflatoksini serije B ističu se ciklopentenonskim prstenom vezanim za laktonski prsten kumarina, dok aflatoksini serije G na tom mjestu sadrže drugi laktonski prsten. Aflatoksini B₁ i G₁ na 8,9-poziciji krajnjeg furanskog prstena sadrže dvostruku vezu čijim se hidrogeniranjem dobivaju aflatoksini B₂, odnosno G₂. Osim s vodikom, navedena dvostruka veza lako ulazi u reakcije adicije uz prisutnost jakih kiselina, a laktonski prsten podložan je hidrolizi u vodenim i bazičnim medijima.¹⁷

Strukturne pojedinosti aflatoksina direktno su povezane i s njihovom akutnom toksičnošću; smatra se da dodatni atom kisika prisutan u aflatoksinima G serije čini njihovu aktivnost oko dva puta slabijom, a 8,9-dvostruka veza pridonosi tome da aflatoksini B₁ i G₁ djeluju oko 4,5 puta snažnije od svojih hidrogeniranih analoga.¹⁷

1.1.3. Mehanizmi toksičnosti

Aflatoksini najčešće ulaze u organizam unosom kontaminirane hrane; iako je apsorpcija kroz kožu moguća, taj proces veoma je spor te se njime može unijeti vrlo mala količina aflatoksina.⁸ Simptomi nastali kao posljedica trovanja aflatoksinima nazivaju se aflatoksikoze. Ovisno o

količini unesenog aflatoksina te učestalosti izlaganju aflatoksinima trovanje može biti akutno ili kronično.¹ Aflatoksini se najčešće povezuju s nastankom teških kroničnih bolesti, među kojima je najučestaliji i najteži ishod trovanja razvoj karcinoma. Neki od drugih štetnih učinaka aflatoksina uključuju imunotoksičnost, teratotoksičnost, citotoksičnost te oštećenja središnjeg živčanog sustava. Posljedice trovanja najbolje su istražene za aflatoksin B₁ (Slika 2).¹¹



Slika 2. Glavni mehanizmi toksičnosti aflatoksina B₁ posredovani aflatoksin B₁-egzo-8,9-epoksidom te oksidativnim stresom. *Skraćeno*: AFBO: aflatoksin B₁-egzo-8,9-epoksid; ROS: reaktivne kisikove vrste (reactive oxygen species); OOD: oksidativno oštećenje DNA; LPO: lipidna peroksidacija; Acr: akrolein; Cro: krotonaldehid; Acet: acetaldehid; HNE: 4-hidroksinon-2-enal. (Prilagođeno prema: Benkerroum, N., *Int. J. Environ. Res. Public Health*

17 (2020) 423-451.)¹¹

U tijelu se aflatoksin B₁ apsorbira u tankom crijevu te krvotokom dolazi do jetre gdje ga enzimi skupine citokrom P450 bioaktiviraju epoksidacijom. Nastaje nestabilni metabolit aflatoksin B₁-egzo-8,9-epoksid (AFBO). AFBO se zatim interkalira u DNA gdje se kovalentno veže za N⁷

atom gvanina i tvori *trans*-8,9-dihidro-8-(N⁷-gvanil)-9-hidroksi-aflatoksin B₁ (AFB1-N⁷-gva) adukt koji je pozitivno nabijen što ga čini izrazito reaktivnim. AFB1-N⁷-gva odvaja se od molekule DNA koja na taj način ostaje bez dijela purinskih baza.²¹ Drugi mogući ishod vezanja AFBO za gvanin je otvaranje imidazolnog prstena gvanina čime nastaju *cis*- i *trans*-aflatoksin B₁-formamidopirimidin (AFB1-FAPy) adukti. Nastale apurinske (AP) molekule DNA te AFB1-FAPy imaju narušenu strukturu zavojnice što može imati genotoksične i karcinogene učinke ukoliko DNA nije moguće popraviti.¹¹

Metaboličkom se razgradnjom aflatoksina također stvara oksidativni stres; u stanici nastaju velike količine reaktivnih kisikovih vrsta (reactive oxygen species, ROS) koje mogu izravno djelovati na DNA vezanjem za dušikove baze ili prstene deoksiriboze. To se naziva oksidativnim oštećenjem DNA. Do neizravnog oštećenja DNA zbog oksidativnog stresa dolazi lipidnom peroksidacijom membranskih fosfolipida.²² Oksidacijom fosfolipida reaktivnim kisikovim vrstama kao nusprodukti nastaju aldehidi; najčešće malondialdehid, akrolein, 4-hidroksi-non-2-enal te 4-okso-non-2-enal. Oni također mogu reagirati s DNA, a nastali adukti imaju mutagena svojstva i potencijalno pridonose stvaranju karcinoma.²³ Djelovanje aldehida, za razliku od epoksida i ROS, nije ograničeno na tkiva u kojima su otpušteni, što objašnjava nastanak karcinoma zbog trovanja aflatoksinima u drugim organima osim jetre.²¹ Uloga oksidativnog stresa u genotoksičnosti aflatoksina također može objasniti karcinogene učinke aflatoksina koji nemaju 8,9-dvostruku vezu na krajnjem furanskom prstenu kao što su aflatoksini B₂ i G₂.¹¹

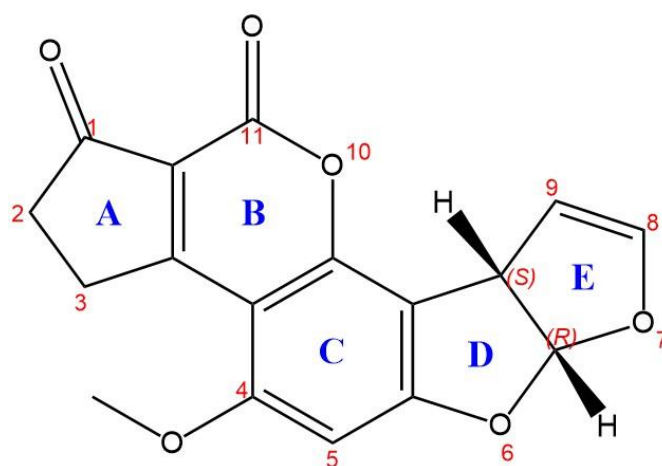
Smatra se da je drugi najčešći štetni učinak aflatoksina imunotoksičnost. Imunotoksičnost uzrokuje AFBO koji interakcijom s imunokompetentnim stanicama utječe na njihovu proliferaciju ili mogućnost imunosnog odgovora. Utjecajem na diobu stanica aflatoksini uništavaju fizičke barijere koje sprječavaju ulazak štetnih čimbenika, kao što su stanice kože ili crijeva. Utjecajem aflatoksina obično dolazi do potiskivanja imuniteta, no moguć je i imunostimulativni učinak kojim se narušava regulacija imunosnog odgovora.¹¹

Akutna aflatoksikoza vjerojatno je rezultat više kombiniranih mehanizama toksičnosti aflatoksina. Veliku ulogu tu igraju različiti adukti nastali vezanjem aflatoksina ili njihovih metabolita za stanične makromolekule, kao što su proteini, nukleinske kiseline ili fosfolipidi, čime dolazi do narušavanja obavljanja fizioloških uloga ovih makromolekula u stanici. Primjerice, vezanjem aflatoksina za proteine sprječava se sinteza proteina pa stanica ne može proizvoditi mnoge enzime koji kataliziraju metaboličke reakcije, replikaciju DNA te izvršavaju

druge funkcije bitne za preživljavanje. Mehanizmi toksičnosti spomenuti u kontekstu nastanka kroničnih bolesti također pridonose akutnom trovanju; velika količina aflatoksina vrlo brzo može dovesti do značajnih oštećenja DNA i staničnih membrana od kojih se organizam ne može oporaviti. Smrtnost kao posljedica akutne aflatoksikoze povezana je i s metabolitom aflatoksin-dihidrodiolom (AF-dhd) koji nastaje iz AFBO i veže se za albumin.¹¹

§ 2. TOTALNE SINTEZE AFLATOKSINA

Aflatoksini uzrokuju mnoge toksične učinke različitim mehanizmima, od kojih većina još nije u potpunosti razjašnjena. Kako bi se bolje istražilo djelovanje aflatoksina, potrebno ih je izolirati iz prirodnih izvora ili sintetizirati, stoga je razvijanje totalnih sinteza značajno za razumijevanje toksikologije aflatoksina.



Slika 3. Struktura aflatoksina B₁ s numeriranim atomima, oznakama apsolutne konfiguracije kiralnih ugljikovih atoma (crveno) te oznakama prstenova (plavo).

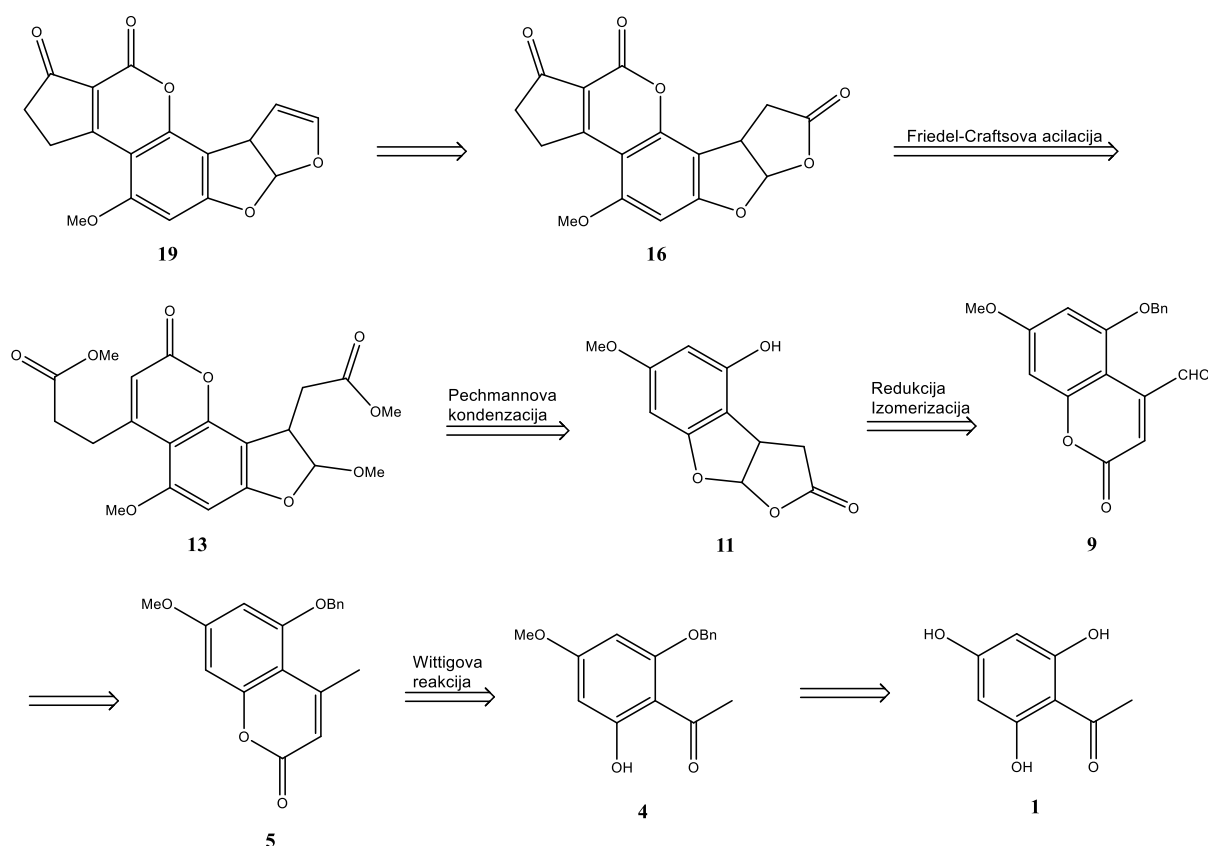
Aflatoksin se sastoji od pet spojenih prstenova u čijem je središtu floroglucinolska jezgra (C) s pet različitih supstituenata. Na aromatskoj je jezgri potrebno konstruirati kumarinski prsten B, na kojem se kasnije zatvara i prsten A, te dihidrofurofuranski sustav D i E uz visoku regioselektivnost. Aflatoksini imaju dva kiralna centra, no zbog obaveznog *cis*- vezanja prstena D i E mogu postojati kao dva enantiomera. Kako bi se izbjegla daljnja potreba za rezolucijom enantiomera, poželjno je u sintezu uvesti enantioselektivnost pri konstrukciji prstenova D i E (Slika 3).

Od prve sinteze racemičnog aflatoksina B₁ 1967. godine²⁵ objavljeno je još nekoliko formalnih i totalnih sinteza aflatoksina.²⁴ U ovom su radu opisane prve racemične i prve asimetrične totalne sinteze aflatoksina B₁ te B₂.

2.1. G. Büchi *et al.* (1967.): Totalna sinteza racemičnog aflatoksina B₁.

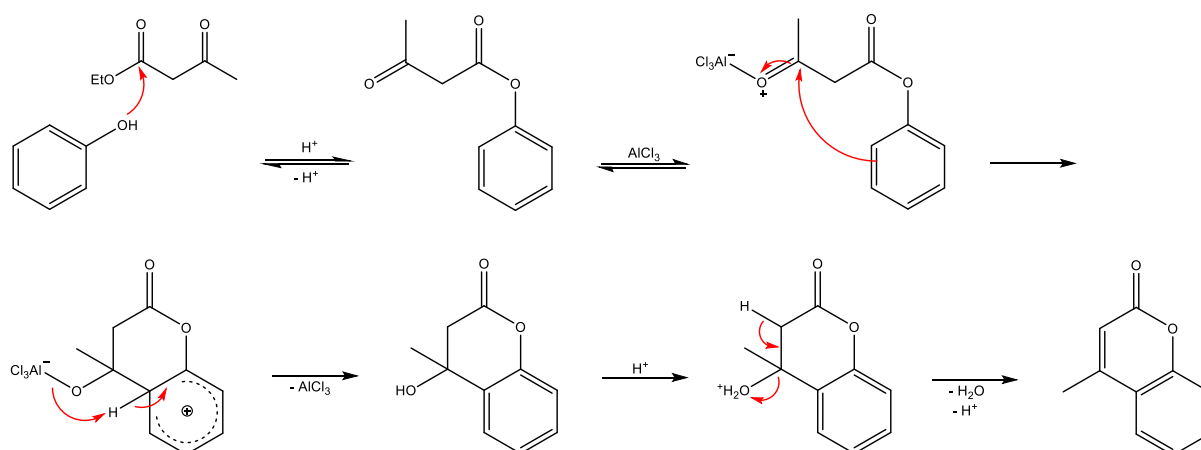
Nakon što su se bavili istraživanjem struktura aflatoksina,¹⁴⁻¹⁶ Büchi i suradnici osmislili su prvu totalnu sintezu racemičnog aflatoksina B₁ 1967. godine. Polazeći od floroacetofenona, aflatoksin B₁ dobiven je u 14 koraka uz ukupno iskorištenje 0,9%.²⁵

Analizom svojstava aflatoksina B₁ zaključeno je da kraj sintetskog postupka predstavlja uvođenje vinil-eterske skupine u prsten E zbog reaktivnosti 8,9-dvostruke veze.¹⁷ To je postignuto redukcijom i dehidratacijom pentacikličkog laktona **16** kojem je prethodno zatvoren prsten A acilacijom dvostruke veze na kumarinskom prstenu B spoja **13**. Prsten B uveden je u molekulu Pechmannovom kondenzacijom **11** i etil-metil-3-oksoadipata (**12**), a triciklički međuprodukt **11** produkt je redukcije i izomerizacije aldehida **9** pomoću cinka u koncentriranoj octenoj kiselini. Aldehid **9** dobiven je oksidacijom **5** selenijevim dioksidom, a zatvaranje šesteročlanog prstena spoja **5** postignuto je Wittigovom reakcijom **4**. Konačno, za dobivanje **4** floroacetofenon je bilo potrebno metilirati i benzilirati na odgovarajućim kisikovim atomima floriglucinolskog prstena (Slika 4).²⁵



Slika 4. Retrosintetska analiza Büchijeve totalne sinteze aflatoksina B₁ polazeći od floroacetofenona.

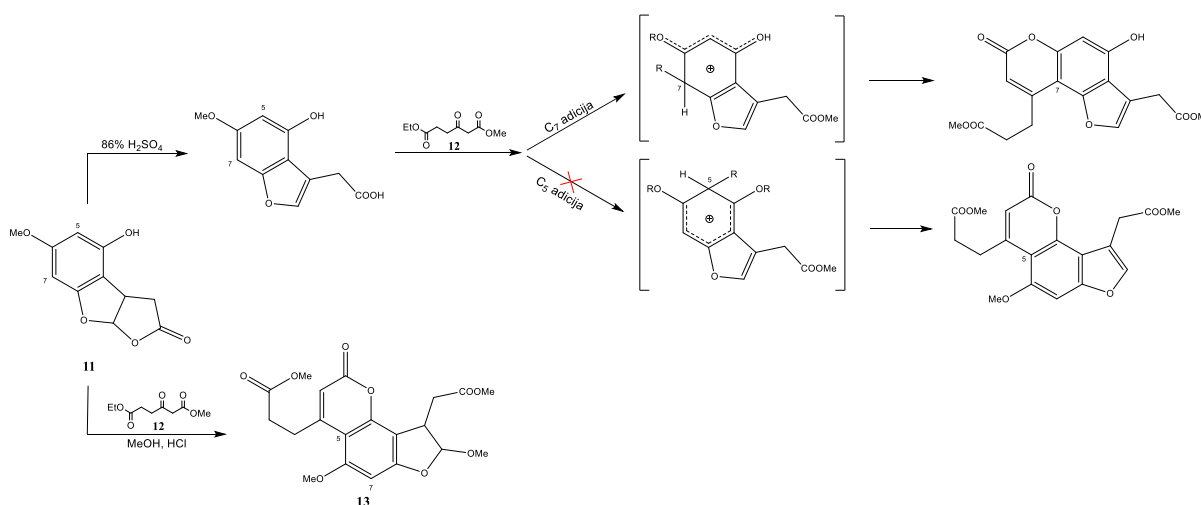
Pechmannova kondenzacija reakcija je kojom se sintetiziraju kumarin i njegovi derivati. Potrebni reagensi su fenoli i β -ketoesteri ili β -keto kiseline, a reakciju je potrebno provoditi u kiselim uvjetima. Reakcija se odvija u tri koraka: prvo dolazi do nukleofilne supstitucije fenola na karboksilnom ugljikovom atomu odabranog β -keto reagensa pri čemu nastaje fenilni ester β -keto reagensa. Sljedeći korak je elektrofilna supstitucija na aromatskom prstenu fenola kojom se zatvara drugi šesteročlani prsten. Kraj reakcije predstavlja dehidratacija kojom se uspostavlja aromatičnost drugog prstena. Obično se Pechmannova kondenzacija provodi u sumpornoj kiselini uz snažnu Lewisovu kiselinu kao katalizator, npr. aluminijev(III) klorid. Njegova je svrha povećanje elektrofilnosti β -ugljikova atoma vezanjem na karbonilni kisikov atom kako bi lakše došlo do adicije aromatskog prstena na β -ugljikov atom. Pri korištenju fenola s aktivirajućim supstuentima (npr. hidroksilna skupina, alkoksi-skupine, amino-skupina) reakcijski su uvjeti nešto blaži. Mehanizam Pechmannove kondenzacije između fenola i etil-3-oksobutanoata uz aluminijev(III) klorid kao katalizator prikazan je na slici 5.^{26,27}



Slika 5. Mehanizam Pechmannove kondenzacije.

Autori su pokušavajući pripremiti međuprodukt željene strukture nekoliko puta proveli Pechmannovu kondenzaciju pri različitim uvjetima, čime su dobiveni produkti različite regioselektivnosti, a mogu se podijeliti u dvije skupine: oni kod kojih je došlo do elektrofilne supstitucije na C_7 (neželjeni produkt) te oni kod kojih je došlo do elektrofilne supstitucije na C_5 (željeni produkt). Primijećeno je da reakcijski uvjeti, kao i struktura supstrata, u velikoj mjeri utječu na tok reakcije. Koristeći 86% sumpornu kiselinu, kao što je navedeno u ranijoj literaturi,¹⁴⁻¹⁶ došlo je do nastanka neželjenih C_7 supstituiranih produkata. Pretpostavljeno je da se neželjena reakcija odvija preko međuprodukta s furanskim prstenom koji nastaje hidrolizom

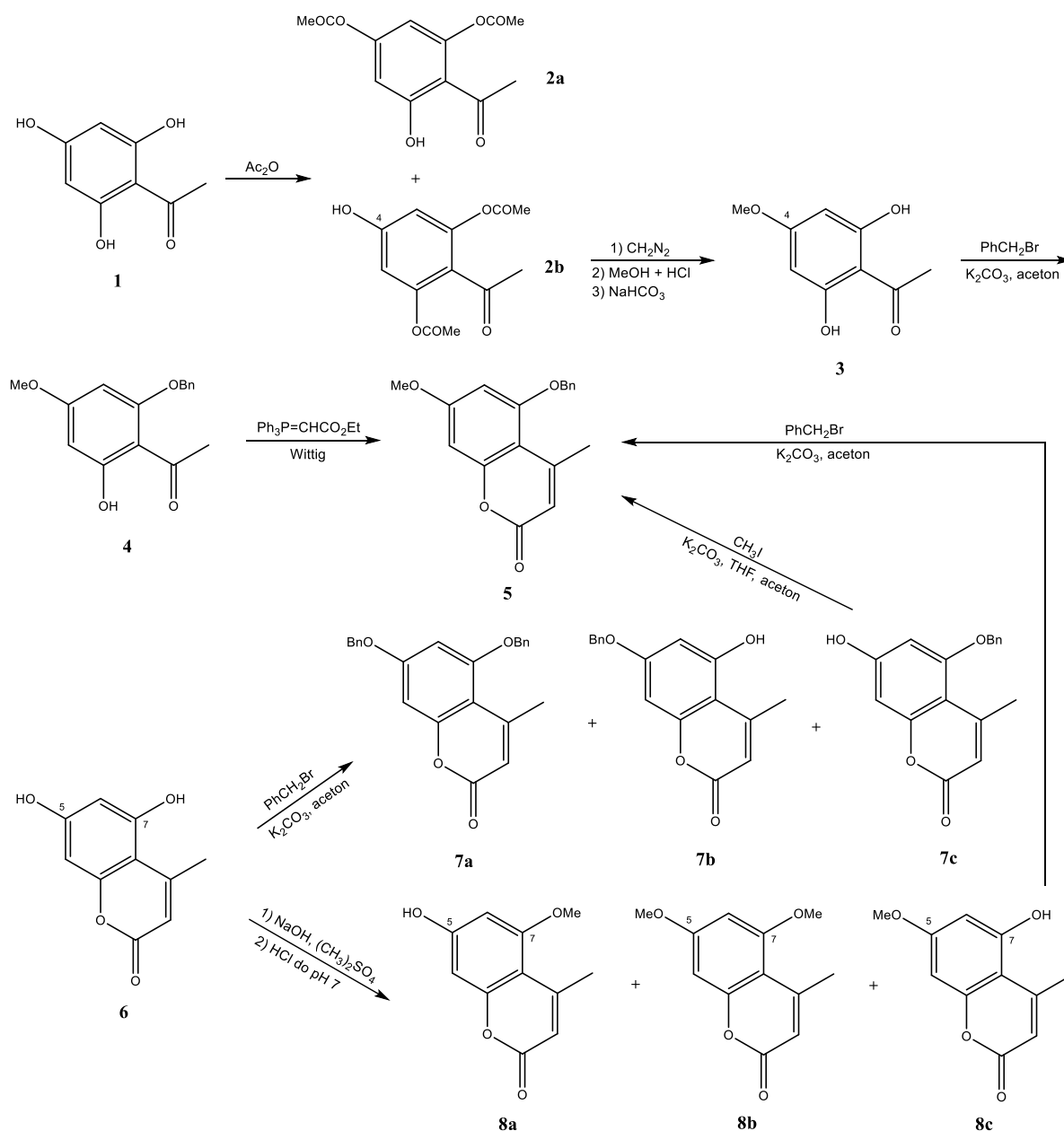
laktone **E** nakon koje slijedi eliminacija katalizirana sumpornom kiselinom. Nastali supstituirani benzofuran podložniji je elektrofilnoj adiciji na C₇ nego na C₅ jer je međuprodukt adicije na C₇ stabilniji; delokalizacija pozitivnog naboja može se postići bez narušavanja aromatičnosti furanskog prstena. Zaključeno je da je za dobivanje željenog C₅ adukta potrebno spriječiti nastanak benzofuranskog međuprodukta, tj. reakciju eliminacije, stoga je reakcija provedena u blažim uvjetima, odnosno u metanolu zasićenom klorovodikom, čime je uspješno pripremljen triciklički spoj **13** (Slika 6). Katalitičku ulogu umjesto aluminijsklorida u ovom slučaju igraju vodikovi ioni.²⁵



Slika 6. Mehanizmi nastajanja željenog i neželjenog produkta Pechmannove kondenzacije.

Sinteza započinje acetilacijom floroacetofenona (**1**) vrućim anhidridom octene kiseline čime nastaje smjesa produkata **2a** i **2b**. Produkt **2b** izolira se prekrizacijom iz kloroforma, a zatim metilacijom 4-hidroksilne skupine te deacetilacijom prevodi u spoj **3**. Alkilacijom **3** benzilbromidom postavlja se benzilna zaštita i nastaje spoj **4**. Wittigovom reakcijom **4** s karbetoksimetilentrifenilfosforanom u sklopu koje se transesterifikacijom zatvara kumarinski prsten dobiva se produkt **5**. Kako su ovim slijedom reakcija autori dobili **5** uz vrlo malo iskorištenje, naknadno su razvijena još dva postupka za sintezu **5** koja imaju bolje prinose; oba kao ishodu supstancu koriste komercijalno dostupan 5,7-dihidroksi-4-metilkumarin (**6**). Prvi alternativni postupak započinje benziliranjem **6** čime se dobiva smjesa produkata **7a**, **7b** i **7c**. Metiliranjem željenog spoja, **7c**, metil-jodidom izolirana je ciljna supstanca **5**. Drugi alternativni način pripreve **5** temelji se na otkriću autora da je vodikov atom 7-hidroksilne skupine spoja **6** kiseliji od vodikova atoma 5-hidroksilne skupine **6**. Pretpostavljeno je da je

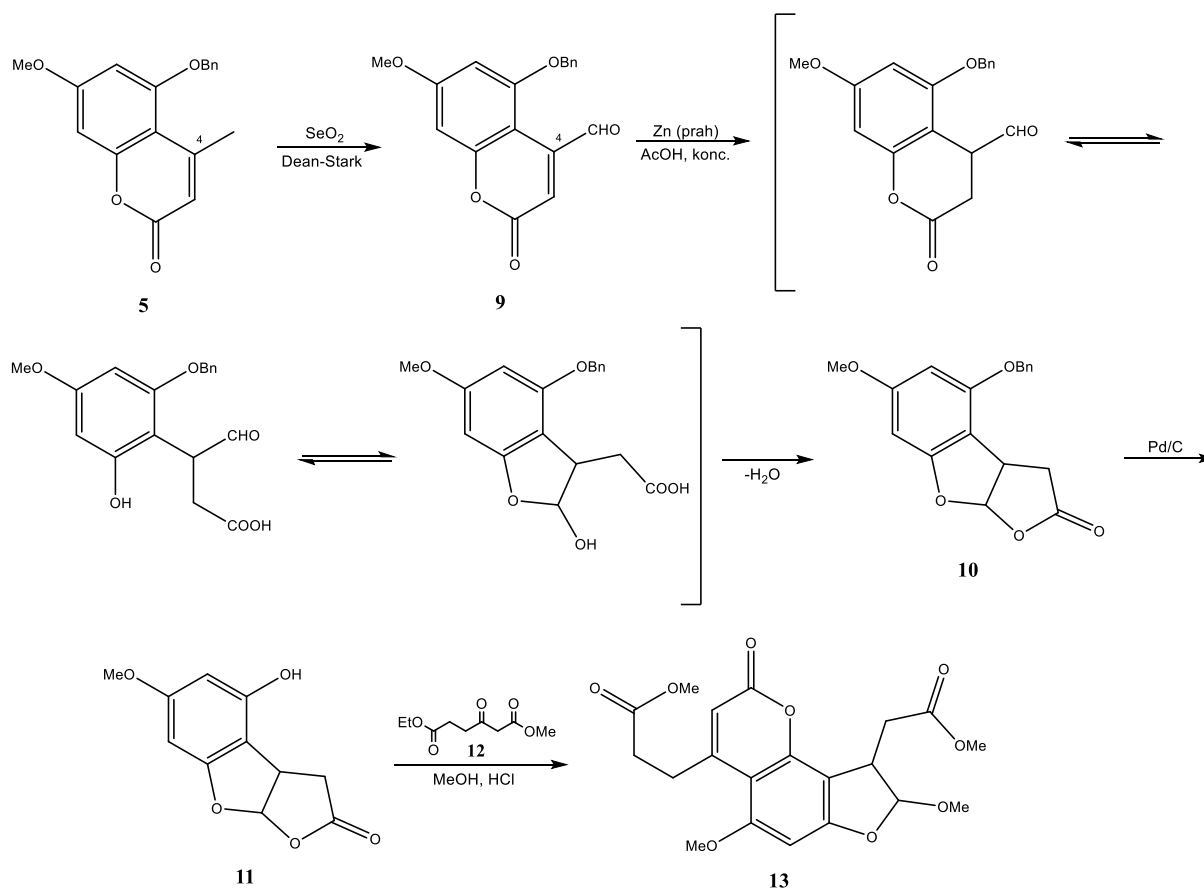
moгуće provesti selektivno metiliranje **6**, što je i potvrđeno u sklopu sintetskog postupka za dobivanje spoja **25** objavljenog 1966.²⁸ Selektivno je metiliranje 7-hidroksilne skupine **6** postignuto pomoću smjese natrijeva hidroksida i dimetil-sulfata, a dobivene su manje količine produkata **8a** i **8b** te željeni produkt **8c**. Benziliranjem **8c** dobiva se **5** (Slika 7).²⁵



Slika 7. Reakcije dobivanja kumarina **5** prema Büchijevoj sintezi.

Oksidacijom pomoću selenijeva dioksida 4-metil skupina kumarina **5** transformira se u karbonilnu skupinu i dobiva produkt **9**. Djelovanjem cinka u koncentriranoj octenoj kiselini

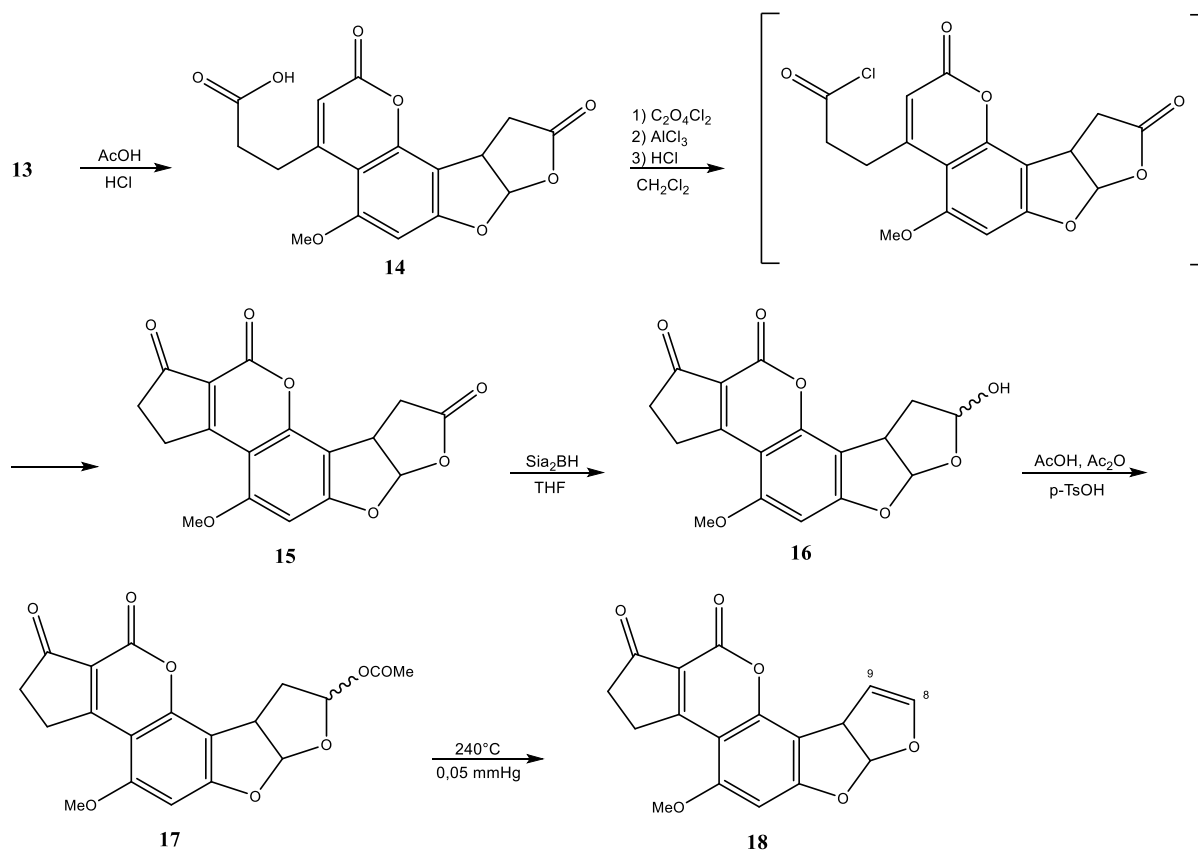
reducira se nezasićena veza kumarinskog prstena u spoju **9**, nakon čega hidrolizom dolazi do otvaranja prstena. Reakcijama nukleofilne adicije te nukleofilne supstitucije na karbonilnim ugljikovim atomima zatvaraju se dva peteročlana prstena i dobiva triciklički lakton **10**. Benzilna se zaštitna skupina uklanja s **10** pomoću paladijeva katalizatora čime se dobiva spoj **11**. Kumarinski prsten B konstruira se Pechmannovom kondenzacijom **11** i etil-metil-3-oksoadipata (**12**) u klorovodikom zasićenom metanolu. Pritom dolazi do nukleofilne supstitucije **11** i metanola kojom se otvara peteročlani laktonski prsten i formira acetal **13** (Slika 8).²⁵



Slika 8. Reakcije dobivanja spoja **13** polazeći od kumarina **5** prema Büchijevoj sintezi.

Metilni ester vezan na kumarinski prsten **13** hidrolizom u kiselom mediju prevodi se u kiselinu **14**. Pritom se odvija transesterifikacija metoksilne skupine i metilnog estera vezanih za prsten D kojom se ponovno formira laktonski prsten E. Reakcijom kiseline **14** s oksalil-kloridom dobiva se acil-klorid kojim se zatim acilira nezasićena veza kumarinskog prstena B uz aluminijev(III) klorid kao katalizator. Acilacijom se zatvara ciklopentenonski prsten A i dobiva

pentaciklički spoj **15**. Redukcijom laktonskog prstena E disiamilboranom nastaje poluacetal **16**, tj. aflatoksin B_{2a}. Acetilacijom **16** pomoću anhidrida octene kiseline uz p-toluensulfonsku kiselinu dobiva se acetat **17**, iz kojeg se pirolizom uz sniženi tlak uklanja octena kiselina, čime nastaje 8,9-dvostruka veza racemičnog produkta, aflatoksina B₁ (**18**) (Slika 9).²⁵

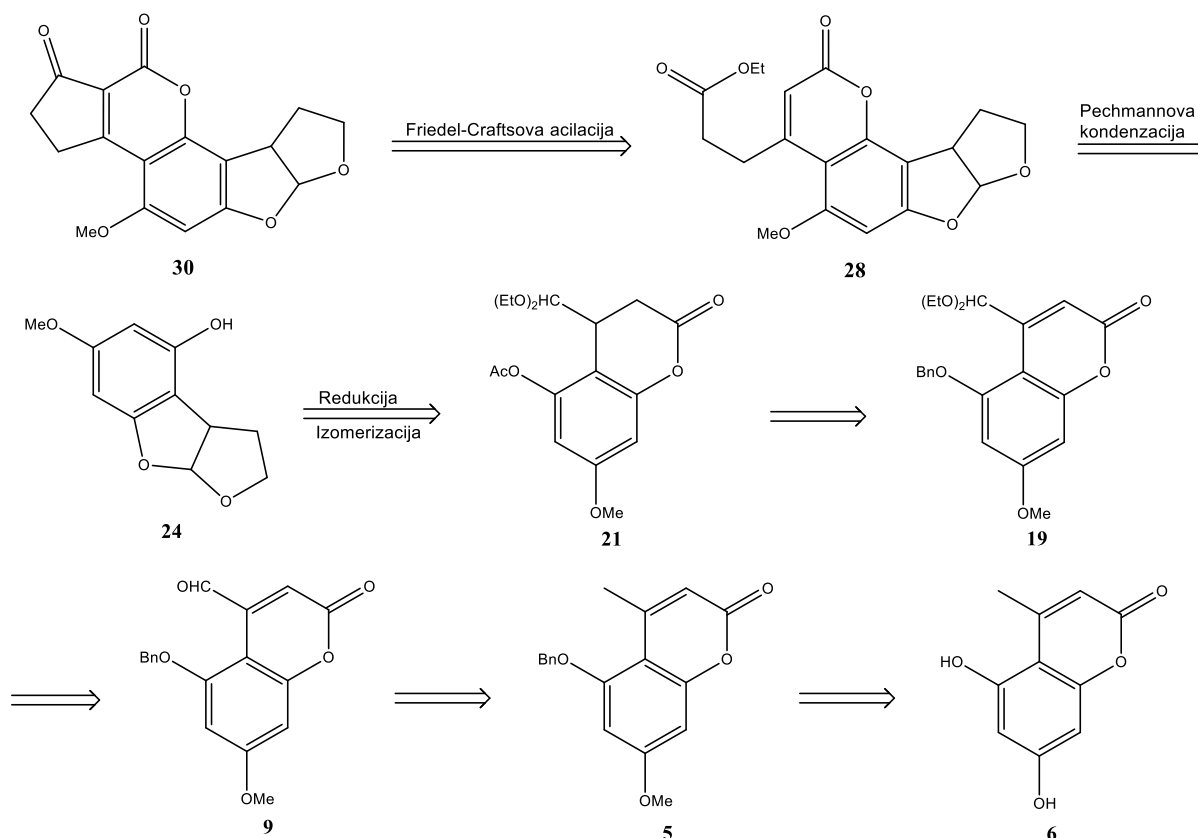


Slika 9. Reakcije dobivanja (±)-aflatoksina B₁ iz spoja **13**.

Jednostavnim kemijskim reakcijama Büchi i suradnici postigli su prvu totalnu sintezu aflatoksina, a pritom su opisali sintetske postupke kojima su se koristili i drugi kemičari prilikom osmišljavanja totalnih sinteza aflatoksina,^{24,29,30} primjerice Friedel-Craftsovo aciliranje za zatvaranje ciklopentenonskog prstena A ili Pechmannova kondenzacija za sintezu kumarinskog prstena B za koju su autori pronašli idealne reakcijske uvjete, kao i najbolji način za uvođenje vinil-eterske skupine u prsten E aflatoksina B₁.²⁵

2.2. J. C. Roberts *et al.* (1968.): Totalna sinteza ($\pm$)-aflatoksina B₂.

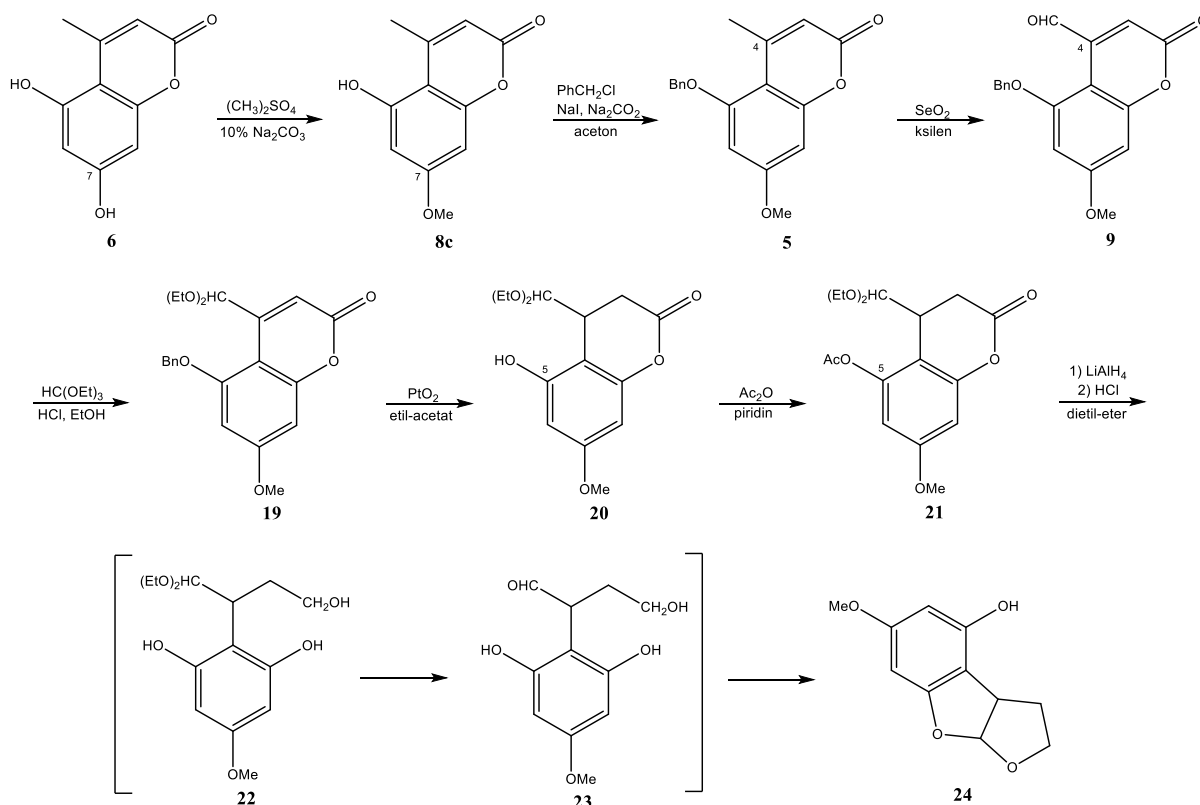
Godine 1966. J. A. Knight, J. C. Roberts i P. Roffey objavili su rad čiji je cilj bio potvrđivanje pretpostavljene strukture gljivičnog metabolita srodnog aflatoksinu, sterigmatocistina. Kako bi to postigli, razvili su sintezu racemičnog tricikličkog spoja koji (u obliku (–)-enantiomera) nastaje raspadom sterigmatocistina. Primijećeno je da se sintetizirani spoj može upotrijebiti kao međuprodukt u sintezi aflatoksina B₂ jer već sadrži zatvorene C, D i E prstenove ciljne molekule. U skladu s tim, u radu iz 1968. godine Roberts i suradnici opisali su totalnu sintezu racemičnog aflatoksina B₂ polazeći od sintetiziranog tricikličkog međuprodukta **24**. U toku rada autori su iz spoja **24** također pripravili i tetrahydrodeoksoaflatoksin B₁ (**26**) – produkt potpune hidrogenacije aflatoksina B₁.^{28,29}



Slika 10. Retrosintetska analiza dobivanja ($\pm$)-aflatoksina B₂ prema radu Roberta i suradnika.

Aflatoksin B₂ (**30**) moguće je dobiti iz tetracikličkog spoja **28** Friedel-Craftsovom acilacijom dvostruke veze kumarinskog prstena B čime se zatvara ciklopentenonski prsten A. Kumarinski se prsten dodaje na triciklički međuprodukt **24** Pechmannovom kondenzacijom s dietil-3-

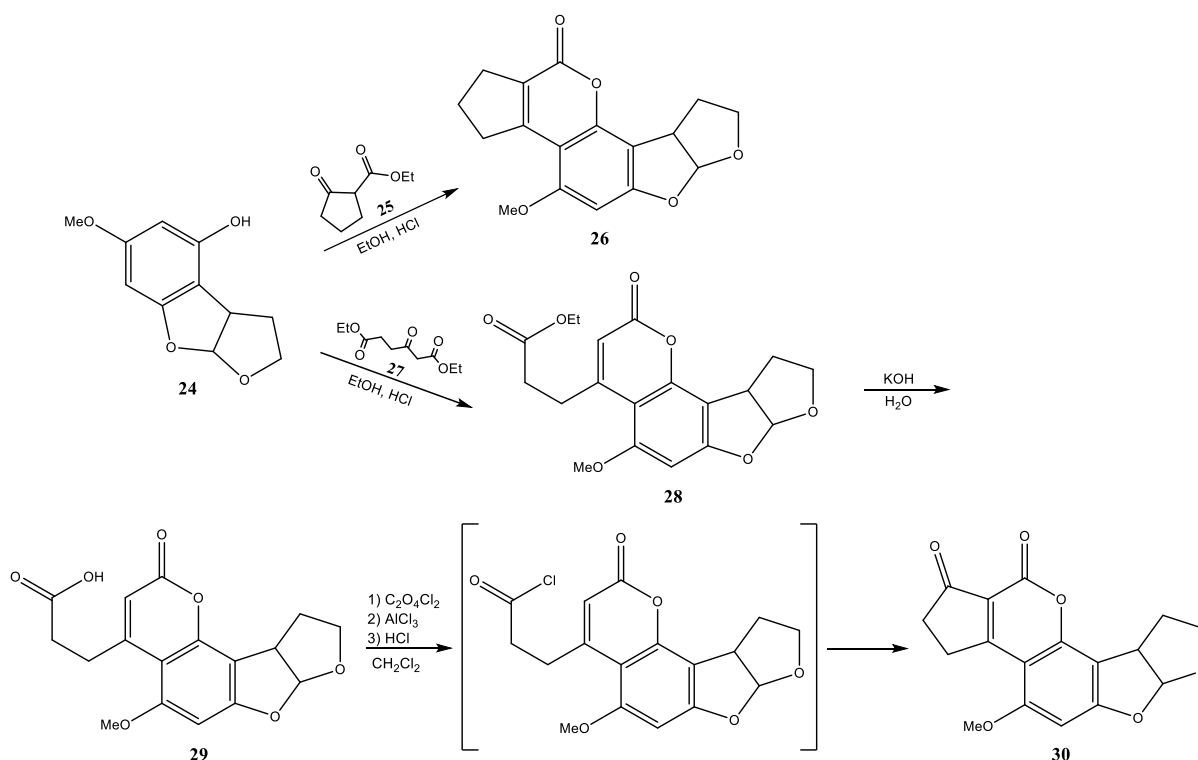
oksoadipatom. Spoj **24** nastaje redukcijom s litijevim aluminijevim hidridom, a potom hidrolizom i ciklizacijom acetata **21** koji se pripravlja katalitičkim hydrogeniranjem i acetiliranjem acetala **19**. **19** se može dobiti adicijom etanola na aldehid **9**, a on nastaje oksidacijom kumarina **5**. Od polazne supstance **6** selektivnim metiliranjem i benziliranjem dobiva se spoj **5** (Slika 10).^{28,29}



Slika 11. Reakcije dobivanja međuprodukta **24** prema sintezi koju su proveli Knight i suradnici.

Sinteza međuprodukta **24** polazi od 5,7-hidroksi-4-metilkumarina **6** koji se selektivnim metiliranjem 7-hidroksilne skupine pomoću dimetil-sulfata prevodi u **8c**. Na **8c** zatim se dodaje benzilna zaštita benzil-kloridom uz natrijev jodid kao katalizator čime nastaje spoj **5**. Oksidacijom 4-metilne skupine spoja **5** pomoću selenijeva dioksida dobiva se aldehid **9**. Karbonilni se ugljikov atom spoja **9** potom prevodi u acetal **19** reakcijom s trietil-orthoformatom u kiselom mediju. Hydrogeniranjem dvostruke veze kumarinskog prstena Adamsovim katalizatorom također se uklanja benzilna zaštita što dovodi do nastanka spoja **20**. 5-hidroksilna skupina spoja **20** se zatim acetilira pomoću anhidrida octene kiseline čime se

dobiva acetat **21**. Kostur spoja **21** ima jednak broj ugljikovih atoma kao i željeni produkt **24**; da bi došlo do izomerizacije prvo se otvara laktonski prsten redukcijom s litijevim aluminijevim hidridom koja kao produkt daje alkohol **22**. U reakcijskoj smjesi pritom dolazi do hidrolize acetala čime nastaje aldehid **23**, koji se dalje dvama reakcijama nukleofilne adicije ciklizira u triciklički spoj **24** (Slika 11).²⁸



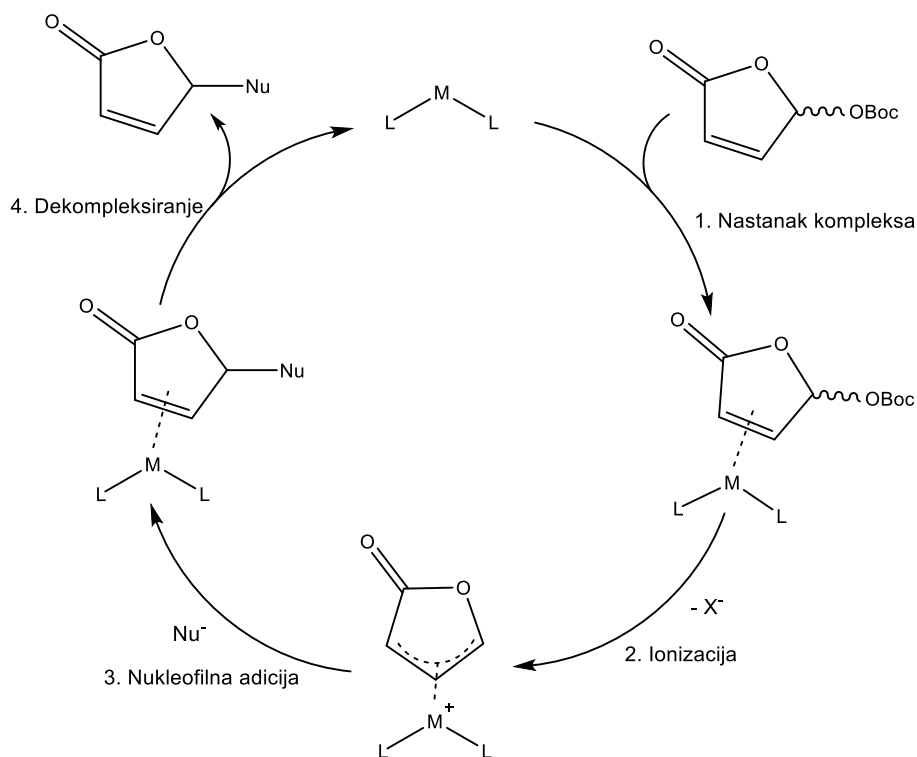
Slika 12. Reakcije dobivanja ($\pm$)-tetrahydrodeoksoaflatoxina B₁ (**28**) i ($\pm$)-aflatoxina B₂ (**30**) prema Robertsovoj sintezi.

Za sintezu aflatoxina B₂ od izoliranog međuprodukta **24** prvo se Pechmannovom kondenzacijom **24** s dietil-3-oksoadipatom (**27**) u etanolu zasićenom klorovodikom formira kumarinski prsten B. Dobiveni se kumarinski etil-ester **28** pomoću otopine kalijeva hidroksida hidrolizira u kiselinu **29**. Zatim se, postupkom koji su opisali Büchi *et al.*,²⁵ djelovanjem oksalil-klorida kiselina **29** prevodi u pripadni acil-klorid, koji u reakciji Friedel-Craftsove acilacije dvostruke veze kumarinskog prstena B, pomoću aluminijeva (III) klorida kao katalizatora, zatvara ciklopentenonski prsten A, čime se dobiva aflatoksin B₂ (**30**) (Slika 12).²⁹

($\pm$)-Tetrahydrodeoksoaflatoxin B₁ (**26**) dobiva se iz spoja **24** u jednom koraku; Pechmannovom kondenzacijom **24** s etil-ciklopentanon-2-karboksilatom (**25**) u etanolu zasićenom klorovodikom (Slika 12).²⁹

U okviru dva rada opisana je prva totalna sinteza racemičnog aflatoksina B₂ kojom se u 10 koraka može pripremiti željeni produkt. Velika je sličnost u korištenim reakcijama s onima koje su opisali Büchi *et al.*, počevši od sinteze međuprodukta **9**, za koji je opisan identični slijed reakcija u oba rada. Sličnost se očituje i u sintezi sustava C, D i E prstenova redukcijom i izomerizacijom supstituiranih kumarina s potrebnim brojem ugljikovih atoma. Za sintezu kumarinskog prstena B korišten je postupak Pechmannove kondenzacije opisan u radu Büchija i suradnika, kao i za zatvaranje ciklopentenonskog prstena A. Praktični dodatak uveden je u sklopu sinteze tetrahidrodeoksoaflatoksina B₁; korišten je ciklički reagens **25** za Pechmannovu kondenzaciju čime se eliminira potreba za provođenjem daljnjih reakcija za zatvaranje prstena A.^{25,28,29}

Asimetrične katalitičke reakcije predstavljaju vrlo privlačnu strategiju u sintezi kiralnih spojeva. Korištenje kiralnih liganada koordiniranih na prijelazne metale kao katalizatora pritom ima prednost nad enzimskom katalizom jer su oba enantiomera katalizatora jednako dostupna što omogućuje selektivno dobivanje željenog enantiomera produkta. Uvođenje asimetrije na ovaj način dio je sintetskog postupka, a ne dodatni korak.^{30,31}

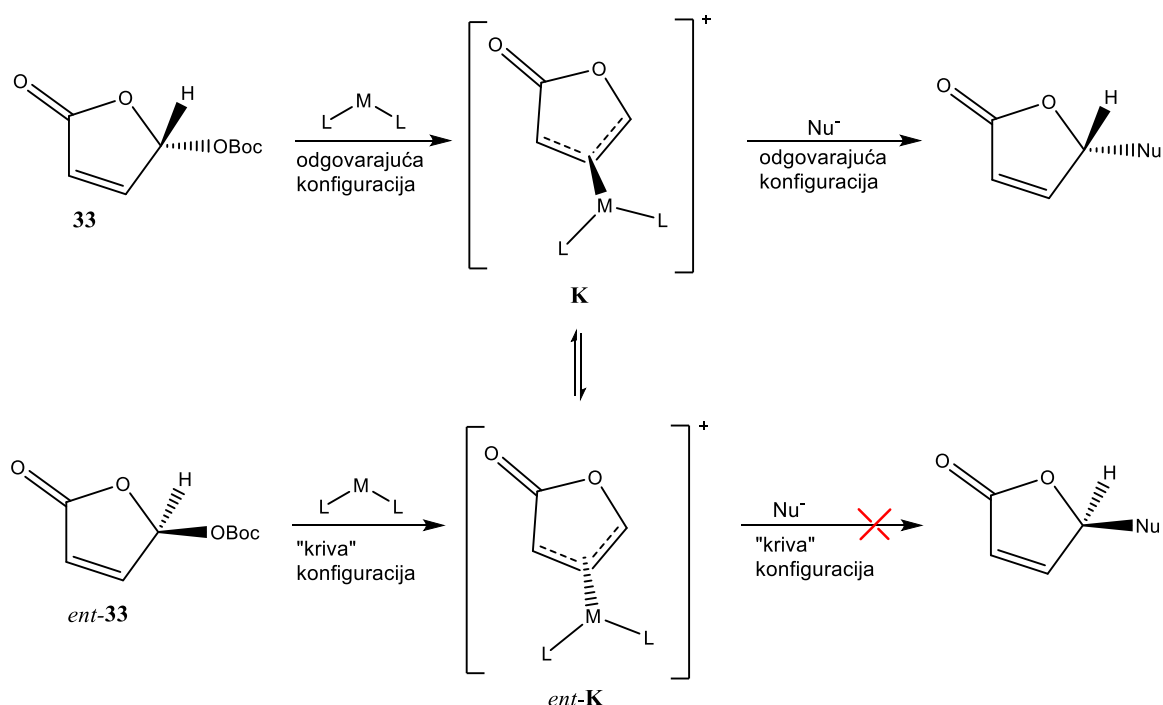


Slika 14. Mehanizam asimetrične alilne alkilacije.

Opisana reakcija butenolida **33** s jodidom **36** reakcija je asimetrične alilne alkilacije uz paladijev katalizator, koordiniran na ligand **37**, kojom se stvara nova C-C veza. Butenolidi predstavljaju racemične supstrate koji se didentatno koordiniraju na paladijev katalizator čime se stvara η^2 -olefinski kompleks. Sljedeći korak u reakciji predstavlja „ionizacija“ izlazne skupine kojom nastaje π -alil paladijev kompleks (**K**). Slijedi adicija nukleofila na nastali kompleks kojom nastaje produkt te na kraju dekompleksiranje katalizatora s produkta (Slika 14).^{30,32}

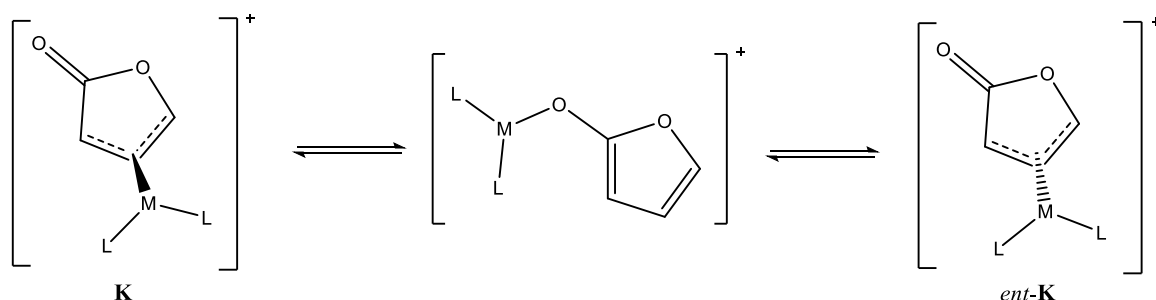
Asimetričnost u sintezi posljedica je steričkih ograničenja prisutnih zbog liganada u kompleksu s metalnim centrom katalizatora. Molekula liganda (**37**, Slika 18) sadrži aromatske prstenove koji onemogućuju prilaz nukleofila butenolidu s jedne strane, a elektrofilni ugljikov

atom je izložen nukleofilnom napadu samo ako je supstrat odgovarajuće apsolutne konfiguracije. Na taj je način dopušteno stvaranje samo jednog enantiomera. Reakcije koje se odvijaju takvim mehanizmom nazivaju se kinetičke asimetrične transformacije (KAT). Iako je njima omogućena visoka enantioselektivnost, nedostatak KAT je činjenica da je iskorištenje racemičnog supstrata ograničeno na maksimalno 50%. Međutim, π -alil paladijevi kompleksi koji nastaju ionizacijom izlazne skupine imaju mogućnost interkonverzije, odnosno racemizacije. Ukoliko je racemizacija brža od nukleofilne adicije na „krivi“ enantiomer π -alil paladijeva kompleksa, moguće je iskorištenje cijele količine racemičnog supstrata pri čemu se dobiva jedan enantiomer produkta. Ovaj proces naziva se DYKAT (Slika 15).^{30,31}

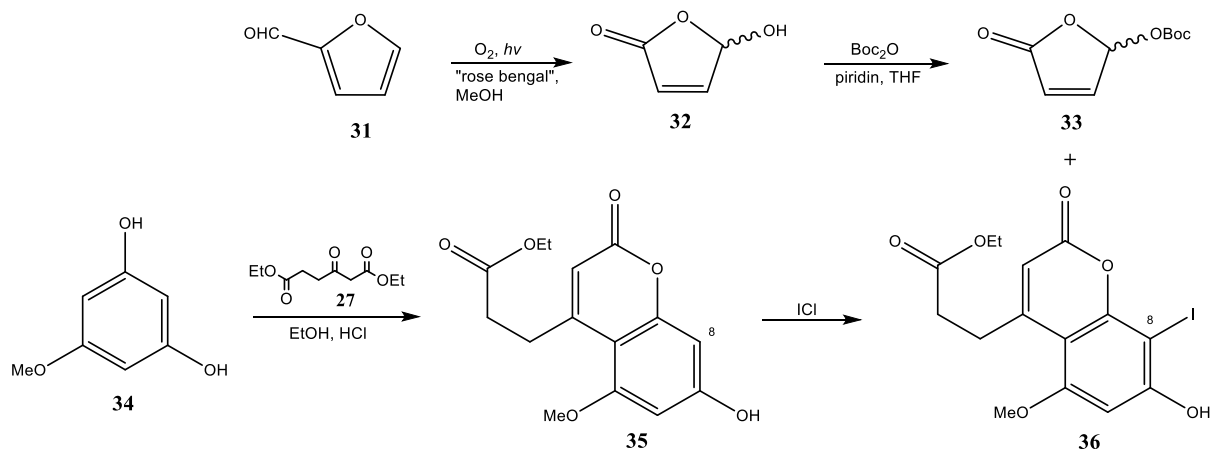


Slika 15. Mehanizam DYKAT γ -aciloksibutenolida.

Pretpostavlja se da mehanizam racemizacije π -alil paladijeva kompleksa uključuje nastajanje paladijeva enolata iz π -alil paladijeva kompleksa **K**. Rotacija oko O-Pd veze nakon koje slijedi ponovno nastajanje π -alil paladijeva kompleksa dovodi do nastanka enantiomera *ent-K* (Slika 16).³⁰

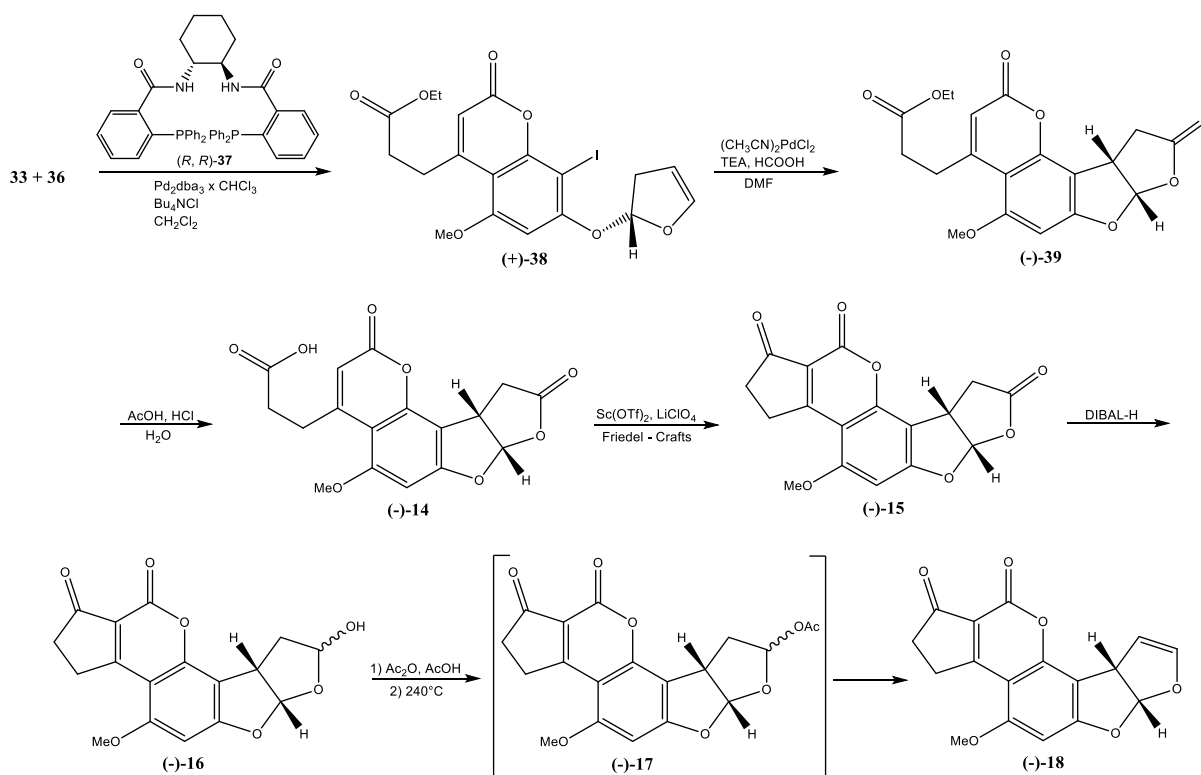
Slika 16. Mehanizam interkonverzije π -alil paladijeva kompleksa.

Sinteza započinje pripravom pogodnog supstrata za DYKAT. U reakciji sa singletnim kisikom, uz „rose bengal“, furfural (**31**) se prevodi u γ -hidroksibutenolid **32**. Kako hidroksilna skupina nije dobra izlazna skupina, u reakciji **32** s di-*tert*-butil-dikarbonatom dobiva se γ -(*tert*-butiloksikarbonil)butenolid **33**. Sljedeći dio sinteze je priprava pogodnog nukleofila za DYKAT butenolida **33**. Pechmannovom kondenzacijom katehola **34** s dietil-3-oksoadipatom (**27**) u etanolu zasićenom klorovodikom nastaje kumarinski ester **35** s oblikovanim prstenovima B i C. Reakcijom **35** s jodovim kloridom C₈ atom kumarinskog prstena selektivno se jodira čime se dobiva potrebni jodid **36** (Slika 17).³⁰

Slika 17. Reakcije dobivanja supstrata **33** i **36** za DYKAT prema Trostovoj i Tosteovoj sintezi.

DYKAT **33** i **36** uz tris(dibenzilidenacetone)paladij(0) te ligand **37** kao katalizator daje aril-eter (+)-**38** s iskorištenjem reakcije 89%. Prsten D potom se zatvara intramolekulskom reduktivnom Heckovom ciklizacijom **38** čime se dobiva tetraciklički međuprodukt (–)-**39**. Hidrolizom u kiselom mediju ester (–)-**39** prevodi se u kiselinu (–)-**14**. Zatvaranje prstena A postignuto je

Friedel-Craftsovom acilacijom dvostruke veze prstena B, kao što su učinili Büchi i sur.²⁵ Kako je korištenjem njihova postupka dobiveno malo iskorištenje, Trost i Toste proveli su eksperimente s alternativnim reagensima te različitim reakcijskim uvjetima. Najboljom se metodom pokazalo korištenje skandijeva(II) triflata i litijeva perklorata, pomoću kojih je dobiveno duplo veće iskorištenje nego korištenjem Büchijeve metode. Pentaciklički lakton (–)-**15** dobiven Friedel-Craftsovom acilacijom prevodi se u (–)-aflatoksin B_{2a} ((–)-**16**) redukcijom s di-*izo*-butilaluminijevim hidridom. Sinteza (–)-aflatoksina B₁ okončana je na isti način koji su koristili i Büchi *et al.*; acetilacijom hidroksilne skupine prstena E dobiven je acetat (–)-**17**, iz kojeg se pirolizom uklanja octena kiselina, čime nastaje (–)-aflatoksin B₁ ((–)-**18**) (Slika 18).³⁰



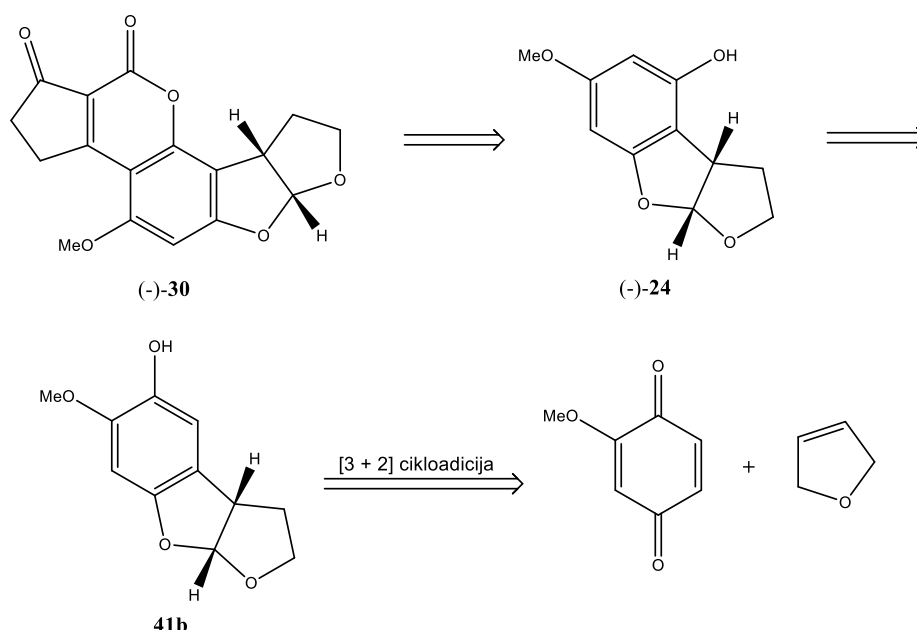
Slika 18. Dobivanje aflatoksina B₁ iz međuprodukata **33** i **36** prema sintezi koju su osmislili Trost i Toste.

Trostova i Tosteova enantioselektivna totalna sinteza aflatoksina B₁ i B_{2a} koristi inovativne postupke kojima je skraćena ukupna sinteza, poboljšano iskorištenje i osigurana optička čistoća krajnjih produkata. U sklopu rada opisane su reakcije KAT i DYKAT γ -aciloksibutenolida koje predstavljaju ključan korak u enantioselektivnoj sintezi aflatoksina. Autori su također

unaprijedili reakcijske uvjete korištene u Friedel-Craftsovoj acilaciji, kojom je zatvoren ciklopentenonski prsten A, čime je dobiveno značajno bolje iskorištenje nego korištenjem postupka koji su opisali Büchi *et al.* 1967. Krajnji sintetski postupak za dobivanje aflatoksina B₁ sastoji se od 10 koraka, a sinteza je provedena uz ukupno iskorištenje 1,6 %.³⁰

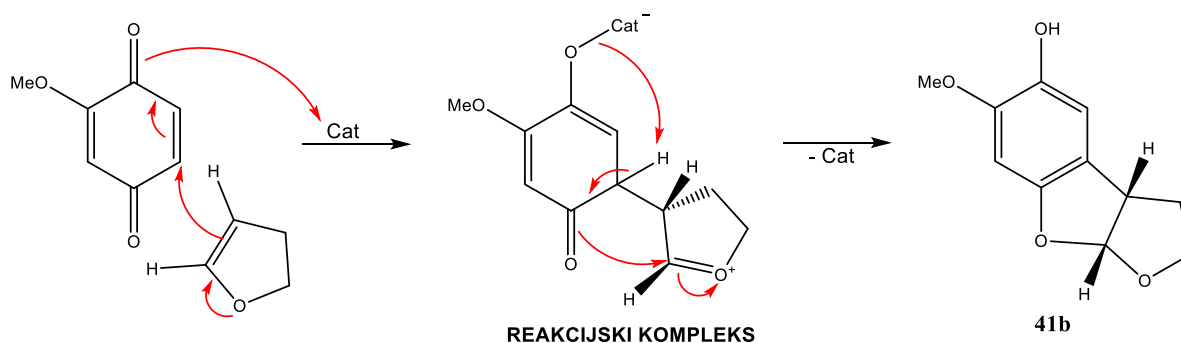
2.4. G. Zhou, E. J. Corey (2005.): Kratka, enantioselektivna totalna sinteza aflatoksina B₂ uz korištenje asimetrične [3+2]-cikloadicije.

Koristeći reakciju [3+2]-cikloadicije G. Zhou i J. Corey u radu iz 2005. godine opisali su totalnu sintezu (–)-aflatoksina B₂ u samo nekoliko koraka – polazeći od 2-metoksi-1,4-benzokinona [3+2]-cikloadicijom dolazi se do tricikličkog spoja **41b** s visokim iskorištenjem i enantiomernim viškom. S dobivenim spojem **41b**, za sintezu aflatoksina B₂ preostaje prevesti ga u izomer (–)-**24**, a potom dodati prstenove A i B što se ostvaruje kondenzacijom spoja (–)-**24** s cikličkim reagensom **45** (Slika 19).³³

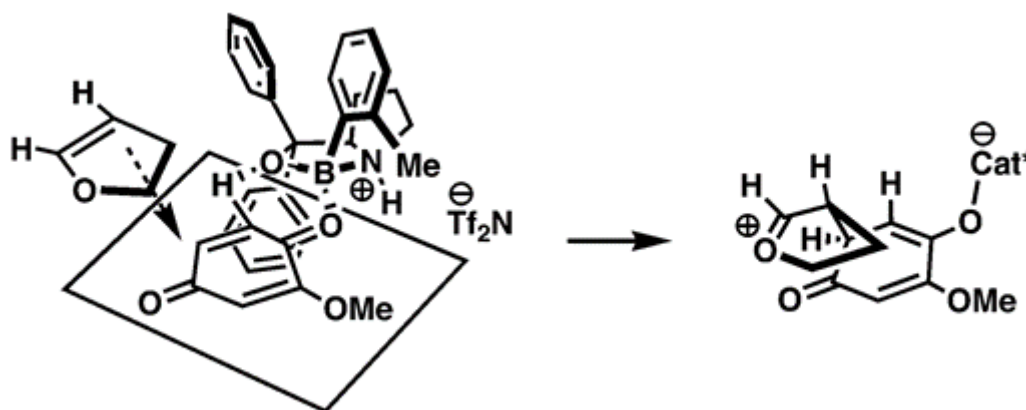


Slika 19. Retrosintetska analiza totalne sinteze aflatoksina koju su proveli Zhou i Corey.

[3+2]-cikloadicije su vrsta pericikličkih reakcija koje se zbivaju između 1,3-dipola, troatomskih, četveroelektronskih sustava, i dipolarofila, dvoatomskih sustava s π -vezom, a koje rezultiraju nastankom peteročlanih prstenova. Također se nazivaju i 1,3-dipolarnim cikloadicijama. Često se kao 1,3-dipoli u ovim reakcijama koriste nitroni, što omogućuje iskorištavanje [3+2]-cikloadicija za sintezu mnogih heterocikličkih spojeva. Mehanizam [3+2]-cikloadicije koji su predložili Zhou i Corey prikazan je na slici 20.^{33,34}



Slika 20. Predloženi mehanizam [3+2]-cikloadicije kojom nastaje spoj **41b** prema Zhou-evoj i Corey-evoj sintezi.



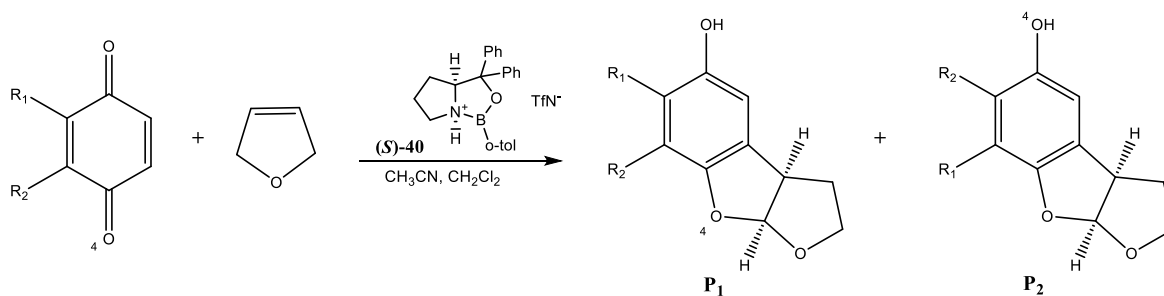
Slika 21. Struktura reakcijskog kompleksa koji dovodi do nastajanja produkta **41b**.

(Izvor: Zhou, G., Corey, E. J., *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 11958-11959.)³³

Ulogu u stereokemiji produkata [3+2]-cikloadicija igraju sterički faktori te stabilnost nastalih produkata.³⁴ Enantioselektivnost cikloadicije postiže se korištenjem sterički ograničavajućeg katalizatora koji određuje tok reakcije, odnosno s koje se strane reagensi mogu približiti dovoljno da dođe do stvaranja nove veze (Slika 21).³³

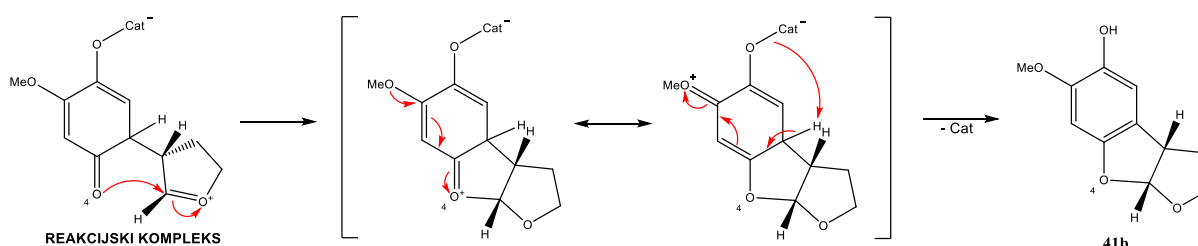
Autori su regioselektivnost [3+2]-cikloadicije testirali provođenjem reakcije s pet različito supstituiranih 1,4-benzokinona i (*S*)-enantiomerom korištenog katalizatora. Korišteni supstrati i iskorištenja reakcija navedeni su u tablici 2.³³

Tablica 2. Reagensi i iskorištenja enantioselektivnih [3+2]-cikloadicijskih reakcija.



R ₁	R ₂	% iskorištenja, P₁ ; P₂
MeO	H	65; 32
MeO	<i>i</i> -Pro	75; 15
MeO	Me	68; 29
H	H	63
Me	Me	82

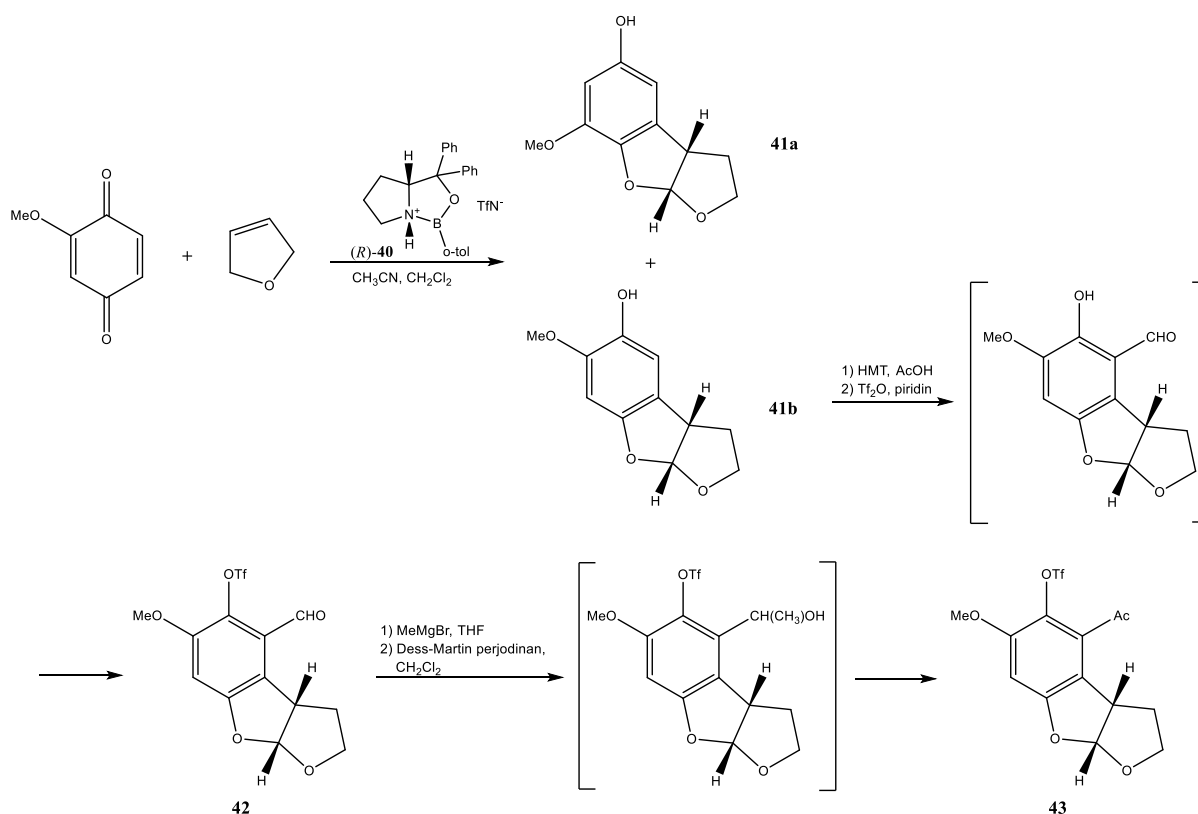
U smjesama dobivenih regioizomera prevladavaju oni u čijem se nastanku katalizator koordinirao na manje bazičan kisikov atom 1,4-benzokinona, iako je koordinacija katalizatora na bazičniji kisikov atom vjerojatno više preferirana. Pretpostavlja se da koordinacija katalizatora na bazičniji kisikov atom dovodi do brže [3+2]-cikloadicijske reakcije. Razlog tome je mehanizam same cikloadicije (Slika 20). Ako se elektroni s kisikova atoma benzokinona koriste za stvaranje veze s dipolarofilom, posljedica je ta da je cikloadicija na bazičniji kisikov atom brža. S obzirom na elektron-donorski karakter metoksilne skupine, rezonantne strukture upućuju na veću bazičnost 4-kisikova atoma (Slika 22).^{33,35}



Slika 22. Potencijalni način sudjelovanja elektron-donorskog supstituenta na aromatskom prstenu u mehanizmu [3+2]-cikloadicije na 1,4-benzokinone.

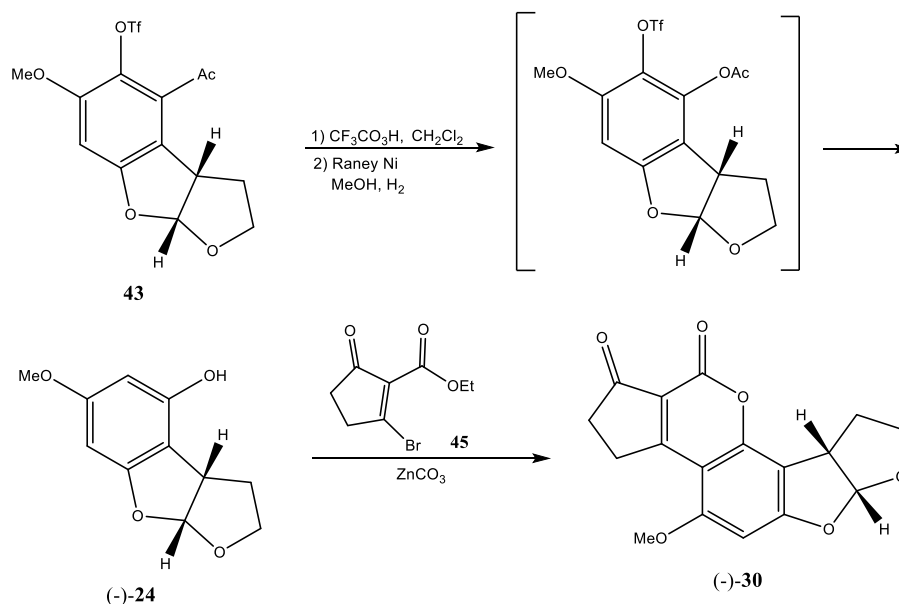
U slučaju reakcija provedenih sa simetričnim supstratima, veće je iskorištenje reakcije dimetil-supstituiranog benzokinona u odnosu na nesupstituirani benzokinon, što dodatno upućuje na

pozitivan utjecaj elektron-donorskih supstituenata pri dobivanju željenog produkta. Dodatno povećanoj regioselektivnosti pri korištenju 3-izopropil-2-metoksi-1,4-benzokinona kao supstrata pridonosi i steričko ograničenje koje predstavlja izopropilna skupina zbog koje je dodatno otežano vezanje katalizatora za bazičniji 4-kisikov atom. Dakle, regioselektivnost reakcije određena je prvenstveno rasporedom i prirodom supstituenata na 1,4-benzokinonu.³³



Slika 23. Reakcije dobivanja spoja **43** prema Zhou-evoj i Corey-evoj sintezi.

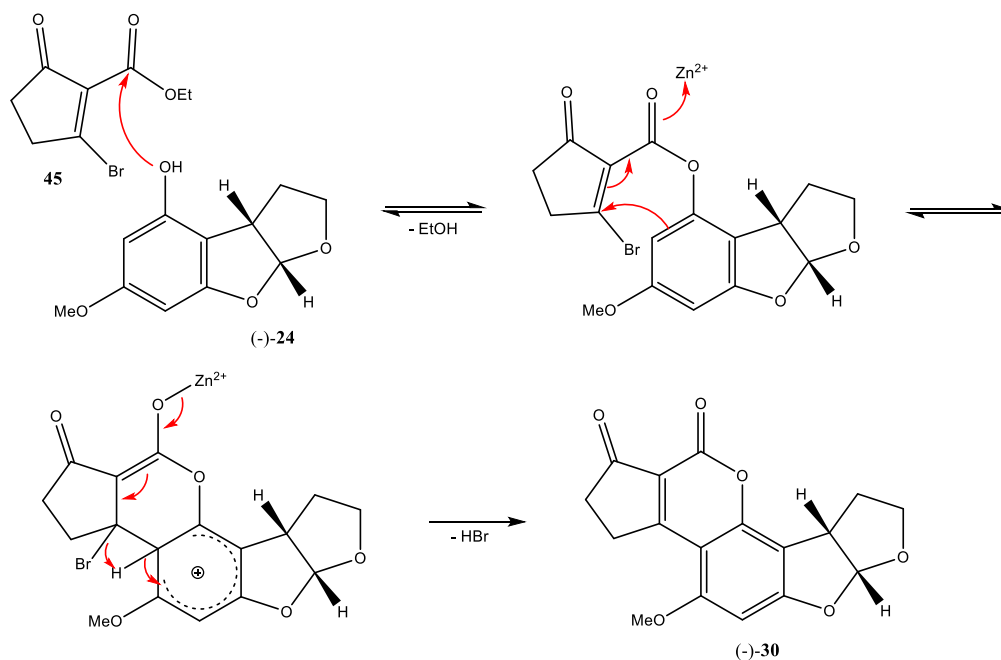
Prvi korak u sintezi je [3+2]-cikloadicija 2-metoksi-1,4-benzokinona s 2,3-dihidrofuranom katalizirana (R)-oksazaborolidinijevim triflimidom (**40**) kojom nastaju dva regioizomera visoke optičke čistoće: **41a** i **41b**. Prekristalizacijom iz dietil-etera izolira se optički čist triciklički spoj **41b**. Reakcijom **41b** s heksametilentetraminom (HMT) formilira se benzenski prsten na ortho-poziciji od hidroksilne skupine. Potom se na hidroksilnu skupinu postavlja zaštita u obliku triflatnog estera u reakciji s anhidridom trifluorometilsulfonske kiseline čime se dobiva spoj **42**. Sljedeći je korak metiliranje karbonilnog ugljikova atoma Grignardovim reagensom. Nastali se sekundarni alkohol oksidira Dess-Martinovim perjodinanom čime nastaje keton **43**.



Slika 22. Reakcije dobivanja (-)-aflatoksina B₂ iz međuprodukta **43** prema Zhou-evoj i Corey-evoj sintezi.

43 se Baeyer-Villigerovim pregrađivanjem pomoću trifluoroperoctene kiseline oksidira u acetat, a zatim se redukcijom Raney niklom uklanja triflatna zaštita te se ester deacetilira kako bi nastao triciklički fenol **44**. Završni korak u sintezi je kondenzacija **44** s etil-2-bromo-5-oksociklopent-1-en-1-karboksilatom (**45**) uz prisutnost cinkova karbonata, kojom nastaje optički čist (-)-aflatoksin B₂ ((-)-**30**) (Slika 22).³³

Kondenzacijska reakcija u posljednjem koraku sinteze odvija se mehanizmom sličnim Pechmannovoj kondenzaciji: reakcija započinje nukleofilnom supstitucijom fenola (-)-**24** na karboksilni ugljikov atom reagensa **45**. Nastaje konjugirani dien koji potom ulazi u intramolekulsku 1,4-adicijsku reakciju kojom se veže na aromatski prsten. Završetak reakcije predstavlja eliminacija bromovodika uz ponovno uspostavljanje aromatičnosti (Slika 23).

Slika 23. Mehanizam kondenzacijske reakcije **(-)-24** i **45**.

Reakcija [3+2]-ciklizacije omogućila je sastavljanje tricikličke benzofurofuranske strukture u samo jednom koraku uz visoko iskorištenje i enantioselektivnost čime je sinteza aflatoksina značajno skraćena; ovo je najkraća totalna sinteza opisana u ovom radu. Nedostatak ovog postupka je činjenica da međuprodukt **41** dobiven [3+2]-ciklizacijom nema potrebnu strukturu za sintezu aflatoksina B₂ pa ga je prvo potrebno prevesti u izomer **(-)-24**. Još jedno pojednostavljenje sintetskog postupka postignuto je korištenjem cikličkog reagensa **45** za kondenzaciju sa spojem **(-)-24** kojom su u jednom koraku zatvoreni prstenovi A i B, slično kao što je opisano u sintezi Roberta i suradnika 1968.²⁹ Opisana totalna sinteza zahtijeva 8 koraka, a autori su postigli ukupno iskorištenje od 2,5%.³³

§ 3. ZAKLJUČAK

Od otkrića aflatoksina do danas došlo je do značajnih napredaka u osmišljenim postupcima totalne sinteze, koji se očituju u skraćanju sintetskog postupka i poboljšanju iskorištenja reakcija. Inovativne reakcije koje osiguravaju enantioselektivnost poput DYKAT i [3+2]-cikloadicije moćno su oružje u sintezi koje u 1960-tim godinama, kad su osmišljene prve totalne sinteze aflatoksina, nije bilo dostupno. Dodatna prednost opisanih enantioselektivnih reakcija su njihova visoka iskorištenja i skraćanje ukupnog sintetskog postupka.

Iako su pronađeni različiti načini kojima je moguće sintetizirati aflatoksine, neke od reakcija su se od početka pokazale idealnima za ovu svrhu te su ih iskoristili i drugi kemičari u svojim sintezama. Najbolji primjer je Pechmannova kondenzacija kojom se sintetizira B prsten aflatoksina. Uz korištenje odgovarajućeg reagensa produkt kondenzacije dalje se intramolekulskom Friedel-Craftsovom acilacijom ciklizira čime se zatvara prsten A. Poboljšanje reakcijskih uvjeta za Friedel-Craftsovu acilaciju koje su opisali Trost i Toste pritom dokazuje da se čak i sintetski postupci koji garantirano funkcioniraju mogu dalje unaprijediti i usavršiti.

S obzirom da aflatoksini imaju velik utjecaj na javno zdravstvo, razvoj totalnih sinteza ovih spojeva i dalje predstavlja bitno područje istraživanja u koje bi trebalo uložiti još puno truda u budućnosti.

§ 4. LITERATURNI IZVORI

1. Bennett, J. W., Kale, S., Yu, J., u Shabbir Simjee (ur.), *Foodborne diseases*, Vol. 13, Humana Press, Totowa, New Jersey, 2007, str. 355.
2. Blount, W. P., *J Br Turkey Fed* **9** (1961) 52-77.
3. Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J., Carnaghan, R. B. A., *Nature* **192** (1961) 1096-1097.
4. Sargeant, K., Carnaghan, R. B. A., Allcroft, R., *Chem. Ind.* **31** (1963) 53-55
5. Janik, E., Niemcewicz, M., Ceremuga, M., Stela, M., Saluk-Bijak, J., Siadkowski, A., Bijak, M., *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2020) 8187.
6. Martínez, M., Magnoli, A., Pereyra, M.G., Cavaglieri, L., *Toxicon* **172** (2019) 1–7.
7. Maggon, K. K., Gupta, S. K., Venkitasubramanian, T. A., *Bacteriol. Rev.* **41** (1977) 822-855.
8. Bräse, S., Encinas, A., Keck, J., Nising, C. F., *Chem. Rev.* **109** (2009) 3903-3990.
9. Kensler, T. W., Roebuck, B. D., Wogan, G. N., Groopman, J. D., *Toxicol. sci.*, **120** (2011) 28-48.
10. Roze, L. V., Hong, S. Y., Linz, J. E., *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **4** (2013) 293-311.
11. Benkerroum, N., *Int. J. Environ. Res. Public Health* **17** (2020) 423-451.
12. Nesbitt, B. F., O'Kelly, J., Sargeant, K., Sheridan, A., *Nature* **195** (1962) 1062–1063.
13. Hartley, R. D., Nesbitt, B., F., O'Kelly, J., *Nature* **198** (1963) 1056-1058.
14. Asao, T., Büchi, G., Abdel-Kader, M. M., Chang, S. B., Wick, E. L., Wogan, G. N., *J. Am. Chem. Soc.* **85** (1963) 1706-1707.
15. Asao, T., Büchi, G., Abdel-Kader, M. M., Chang, S. B., Wick, E. L., Wogan, G. N., *J. Am. Chem. Soc.* **87** (1965) 882-886.
16. Brechbuehler-Bader, S., Buechi, G., Milne, G., *J.Org.Chem.* **32** (1967) 2641-2642.
17. Wogan, G. N., *Bacteriol. Rev.* **30** (1966) 460-470.
18. Raters, M., Matissek, R., *Mycotoxin Res.* **24** (2008) 130-134.
19. Iram, W., Anjum, T., Iqbal, M., Ghaffar, A., Abbas, M., *Sci. Rep.* **5** (2015) 1-15.
20. Soine, T. O., *J. Pharm. Sci.* **53** (1964) 231-264.
21. Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., Severino, L., *Toxins* **10** (2018) 214-233.

22. Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M., Hocevar, B.A., *Toxicol. Pathol.* **38** (2009) 96–109.
23. Gentile, F., Arcaro, A., Pizzimenti, S., Daga, M., Cetrangolo, G.P., Dianzani, C., Lepore, A., Graf, M., Ames, P.R.J., Barrera, G., *AIMS Genet* **4** (2017) 103–137.
24. Wang, Z., Yang, L., *Front. Chem.* **9** (2021) 1024-1038.
25. Büchi, G., Foulkes, D. M., Kurono, M., Mitchell, G. F., Schneider, R. S., *J. Am. Chem. Soc.* **89** (1967) 6745-6753.
26. https://en.wikipedia.org/wiki/Pechmann_condensation (datum pristupa 9. srpnja 2022.)
27. <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/von-pechmann-cycloaddition#mechanism> (datum pristupa 9. srpnja 2022.)
28. Knight, J. A., Roberts, J. C., Roffey, P., *J. Chem. Soc. (C)* (1966) 1308-1310.
29. Roberts, J. C., Sheppard, A. H., Knight, J. A., Roffey, P., *J. Chem. Soc. (C)* (1968) 22-24.
30. Trost, B. M., Toste, F. D., *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 3090-3100.
31. Trost, B. M., *Chem. Pharm. Bull.* **50** (2002) 1-14.
32. Trost, B. M., Zhang, T., Sieber, J. D., *Chem. Sci.* **1** (2010) 427-440.
33. Zhou, G., Corey, E. J., *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 11958-11959.
34. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, *Organic Chemistry*, Oxford University Press, New York, 2012., str. 901–902.
35. Ryu, D., Zhou, G., Corey, E. J., *Org. Lett.* **7** (2005) 1633-1636.