

Totalna sinteza marinoaziridina A i B te njihovih derivata

Buljan, Anđela

Doctoral thesis / Disertacija

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:217:716821>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Andela Buljan

TOTALNA SINTEZA MARINOAZIRIDINA A I B TE NJIHOVIH DERIVATA

DOKTORSKI RAD

Mentor: Dr. sc. Marin Roje

Zagreb, 2022.



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Andela Buljan

TOTAL SYNTHESIS OF MARINOAZIRIDINES A, B, AND THEIR DERIVATIVES

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: Dr. Marin Roje

Zagreb, 2022.

Ova doktorska disertacija izrađena je u Laboratoriju za stereoselektivnu katalizu i biokatalizu i Laboratoriju za kiralne tehnologije, Zavoda za organsku kemiju i biokemiju, Instituta Ruđer Bošković, pod vodstvom dr. sc. Marina Roje, v. znan. suradnik Instituta Ruđer Bošković, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog studija pri Kemijskom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Doktorska disertacija izrađena je u sklopu projekta "Bioprospecting Jadranskog mora – BioProCro" (KK.01.1.1.01.0002). Projekt sufinancira Vlada Republike Hrvatske i Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj.

ZAHVALE

Srdačno se zahvaljujem svome mentoru dr. sc. Marinu Roje na predivnoj suradnji i vodstvu, koji je uvijek i bez iznimke imao strpljenja i razumijevanja za sve moje probleme s kojima sam se susretala tijekom izrade ove disertacije. Velika hvala na ukazanom povjerenju, odabranoj temi, uloženom trudu te pomoći kad mi je trebala.

Zahvaljujem voditeljici projekta Bioprospecting Jadranskog mora dr. sc. Rozelindri Čož-Rakovac na svim korisnim savjetima.

Zahvaljujem dr. sc. Andreji Lesac na susretljivosti, razumijevanju, pomoći te ukazanom povjerenju.

Zahvaljujem dr. sc. Darku Kontrecu na izdvojenom vremenu i pomoći tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem dr. sc. Višnji Štepanić na lijepoj suradnji, uloženom trudu i vremenu, brojnim pozitivnim raspravama te pomoći kad mi je trebala.

Zahvaljujem svim svojim kolegama iz Laboratorija za kiralne tehnologije i Laboratorija za stereoselektivnu sintezu i biokatalizu na ugodnoj, vedroj i zabavnoj atmosferi. Posebno hvala mojoj dragoj kolegici Antoniji.

Zahvaljujem članovima Centra za NMR na snimljenim spektrima. Posebno hvala dr. sc. Ani Čikoš.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Genarru Pescitelli sa Sveučilišta u Pizi na određivanju apsolutne konfiguracije.

Zahvaljujem dr. sc. Marijeti Kralj iz Laboratorija za eksperimentalnu terapiju Instituta Ruđer Bošković na ispitivanju antiproliferativne aktivnosti.

Zahvaljujem kolegama iz Laboratorija za biotehnologiju u akvakulturi Instituta Ruđer Bošković, dr. sc. Krunoslavu Bojaniću na ispitivanju antimikrobne aktivnosti, te dr. sc. Sanji Babić na ispitivanju embriotoksičnosti.

Zahvaljujem svim svojim prijateljima koji su uvijek bili uz mene, svima koji su se veselili mojim uspjesima i bili potpora u manje uspješnim trenucima. Posebno hvala mojim dragim prijateljicama Anđeli, Mariji, Zlati i Zuzani.

Velika hvala mojoj obitelji, mami, tati i mojoj najboljoj braći Antoniju i Dinu bez čije podrške i ljubavi ne bi bila tu gdje jesam.

Najljepša hvala svima!

Sadržaj

SAŽETAK.....	XVII
ABSTRACT	XIX
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Od <i>Bioprospectinga</i> do totalne sinteze sekundarnih metabolita	1
1.1.1. Ciljevi i svrha rada.....	2
§ 2. LITERATURNI PREGLED	7
2.1. Aziridini	7
2.1.1. Uvod u strukturu i reaktivnost aziridina	7
2.1.2. Reakcije otvaranja aziridinskog prstena	9
2.1.3. Biološki aktivni aziridini	11
2.1.4. Stereoselektivna sinteza aziridina	15
2.1.4.1. Sinteza aziridina intramolekulskom ciklizacijom (A).....	16
2.1.4.2. Sinteza aziridina transferom dušika na olefine (B).....	22
2.1.4.3. Sinteza aziridina adicijom karbena ili karbenoida na imine (C)	29
2.2. Kinolinoni	42
2.2.1. Uvod u strukturu i reaktivnost kinolinona.....	42
2.2.2. Biološki aktivni prirodni i sintetski kinolinoni	44
2.2.3. Sinteza kinolinona.....	45
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	50
3.1. Materijali i metode.....	50
3.1.1. Molekulsko modeliranje.....	50
3.1.1.1. Metode i parametri kvantno-kemijskih izračuna	50
3.1.1.2. In silico karakterizacija marinoepoksida, marinoaziridina A i B te derivata	50
3.1.1.2.1. Primjena poslužitelja SwissADME-a	51
3.1.1.2.2. Primjena poslužitelja admetSAR-a.....	51
3.1.1.2.3. Primjena poslužitelja pkCSM-a.....	52
3.1.1.2.4. Primjena računalnog programa admetPredictor-a TM 9.5.....	52
3.1.1.2.5. Primjena poslužitelja SwissTargetPrediction-a.....	52
3.1.2. Totalna sinteza.....	53
3.1.2.1. Kemikalije, reagensi i otapala korištena u sintezama.....	53
3.1.2.2. Korištene metode za praćenje tijeka reakcije i pročišćavanje pripremljenih spojeva	53
3.1.2.3. Strukturna karakterizacija pripremljenih spojeva.....	54
3.1.2.4. Totalna sinteza marinoaziridina A i B te njihovih derivata	56

3.1.2.4.1.	Priprava <i>N</i> -benzilaniolina (1c).....	56
3.1.2.4.2.	Priprava Knorrovih produkata.....	57
3.1.2.4.2.1.	Priprava 4-metil-kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (3).....	57
3.1.2.4.2.2.	Priprava 1,4-dimetil-kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (4).....	58
3.1.2.4.2.3.	Priprava 1-benzil-4-metil-kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (5).....	59
3.1.2.4.3.	Priprava 2-okso-1,2-dihidrokinolin-2(1 <i>H</i>)-on-4-karbaldehida (6).....	60
3.1.2.4.4.	Priprava kinolin-2(1 <i>H</i>)-on-4-karbaldehida (7,8).....	60
3.1.2.4.4.1.	Priprava 1-benzil-4-metil-kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (7).....	61
3.1.2.4.4.2.	Priprava 1-benzil-4-metil-kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (8).....	62
3.1.2.4.5.	Priprava izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata (9).....	62
3.1.2.4.6.	Priprava benzil(dimetil)sulfonijevog perklorata (10).....	63
3.1.2.4.7.	Pripravu racemičnih trisupstituiranih marinoepoksida (<i>rac</i> - 11–13).....	64
3.1.2.4.7.1.	Priprava racemčnog (±)-4-(3,3-dimetiloksiran-2-il)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 11).....	64
3.1.2.4.7.2.	Priprava racemčnog (±)-4-(3,3-dimetiloksiran-2-il)-1-metilkinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 12) 65	
3.1.2.4.7.3.	Priprava racemčnog (±)-1-benzil-4-(3,3-dimetiloksiran-2-il)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 13) 66	
3.1.2.4.8.	Pripravu disupstituiranih marinoepoksida (<i>rac</i> - 14–16).....	67
3.1.2.4.8.1.	Priprava racemčnog (±)-4-(3-feniloksiran-2-il)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 14).....	68
3.1.2.4.8.2.	Priprava racemčnog (±)-1-metil-4-(3-feniloksiran-2-il)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 15)... 69	
3.1.2.4.8.3.	Priprava racemčnog (±)-1-benzil-4-(3-feniloksiran-2-il)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 16)... 70	
3.1.2.4.9.	Priprava kinolin-2(1 <i>H</i>)-on-azidoalkohola.....	71
3.1.2.4.9.1.	Priprava (±)-4-(1-azido-2-hidroksi-2-metilpropil)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 17).....	71
3.1.2.4.9.2.	Priprava (±)-4-(1-azido-2-hidroksi-2-metilpropil)-1-(metilkinolin-2(1 <i>H</i>))-ona (<i>rac</i> - 18) 72	
3.1.2.4.9.3.	Priprava (±)-4-(1-azido-2-hidroksi-2-metilpropil)-1-(benzilkinolin-2(1 <i>H</i>))-ona (<i>rac</i> - 19) 73	
3.1.2.4.9.4.	Priprava (±)-4-(1-azido-2-benzil-2-hidroksi)kinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (<i>rac</i> - 20).....	74
3.1.2.4.9.5.	Priprava (±)-4-(1-azido-2-benzil-2-hidroksi)-1-(metilkinolin-2(1 <i>H</i>))-ona (<i>rac</i> - 21).... 75	
3.1.2.4.9.6.	Priprava (±)-4-(1-azido-2-benzil-2-hidroksi)-1-(benzilkinolin-2(1 <i>H</i>))-ona (<i>rac</i> - 22)... 76	
3.1.2.4.10.	Priprava trisupstituiranih marinoaziridina.....	77
3.1.2.4.10.1.	Priprava (±)-marinoaziridina <i>B</i> (<i>rac</i> - 23).....	77
3.1.2.4.10.2.	Priprava derivatiziranog marinoaziridina <i>B</i> (<i>rac</i> - 24).....	78
3.1.2.4.10.3.	Priprava derivatiziranog marinoaziridina <i>A</i> (<i>rac</i> - 25).....	79
3.1.2.5.	Totalna sinteza disupstituiranih derivata marinoaziridina <i>A</i> i <i>B</i>	81
3.1.2.5.1.	Priprava kinolin-2(1 <i>H</i>)-on-sulfonijevih soli (32–34).....	81
3.1.2.5.1.1.	Priprava metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-karboksilata (26).....	81

3.1.2.5.1.2.	Priprava alkohola.....	81
3.1.2.5.1.2.1.	Priprava 4-(hidroksimetil)kinolin-2(1H)-ona (27).....	82
3.1.2.5.1.2.2.	Priprava 4-hidroksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona (28).....	83
3.1.2.5.1.2.3.	Priprava 1-benzil-4-(hidroksimetil)kinolin-2(1H)-ona (29)	83
3.1.2.5.1.3.	Priprava kinolin-2(1H)-on-bromida	84
3.1.2.5.1.3.1.	Priprava 4-(brommetil)kinolin-2(1H)-ona (30)	84
3.1.2.5.1.3.2.	Priprava 4-(brommetil)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (31).....	85
3.1.2.5.1.3.3.	Priprava 4-(brommetil)-1-benzilkinolin-2(1H)-ona (32)	86
3.1.2.5.1.4.	Priprava akiralnih kinolin-2(1H)-on-sulfonijevih soli.....	86
3.1.2.5.1.4.1.	Priprava dimetil-((2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (33)...	87
3.1.2.5.1.4.2.	Priprava dimetil((1-metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (34) 88	
3.1.2.5.1.4.3.	Priprava dimetil((1-benzil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (35) 88	
3.1.2.5.2.	Priprava N-tosil-imina (36-43)	89
3.1.2.5.2.1.	Priprava N-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida (36)	90
3.1.2.5.2.2.	Priprava N-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (37).....	90
3.1.2.5.2.3.	Priprava N-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (38)	91
3.1.2.5.2.4.	Priprava N-(3-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (39)	92
3.1.2.5.2.5.	Priprava N-(2-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (40)	92
3.1.2.5.2.6.	Priprava N-(2,6-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (41)	93
3.1.2.5.2.7.	Priprava N-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (42)	94
3.1.2.5.2.8.	Priprava N-(2,4,5-trifluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (43)	94
3.1.2.5.3.	Priprava disupstituiranih derivata marinoaziridina A i B	95
3.1.2.5.3.1.	Priprava (±)-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-44).....	96
3.1.2.5.3.2.	Priprava (±)-4-(3-(4-klor-fenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-45).....	97
3.1.2.5.3.3.	Priprava (±)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-46)	98
3.1.2.5.3.4.	Priprava (±)-4-(3-(3-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-47).....	99
3.1.2.5.3.5.	Priprava (±)-4-(3-(2-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-48).....	100
3.1.2.5.3.6.	Priprava (±)-4-(3-(2,6-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-49) .	101
3.1.2.5.3.7.	Priprava (±)-4-(3-(3,4-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-50)	102
3.1.2.5.3.8.	Priprava (±)-4-(1-tosil-3-(2,4,5-trifluorfenil)aziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-51) 103	
3.1.2.5.3.9.	Priprava (±)-1-metil-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-52)	104
3.1.2.5.3.10.	Priprava (±)-4-(3-(4-klorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac- 53) 105	

3.1.2.5.3.11. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-54) 106	
3.1.2.5.3.12. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-55)	107
3.1.2.5.3.13. Priprava (\pm)-4-(3-(2-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-56)	108
3.1.2.5.3.14. Priprava (\pm)-4-(3-(2,6-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-57)	109
3.1.2.5.3.15. Priprava (\pm)-4-(3-(3,4-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-58) 110	
3.1.2.5.3.16. Priprava (\pm)-1-metil-4-(1-tosil-3-(2,4,5-trifluorfenil)aziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-59) 111	
3.1.2.5.3.17. Priprava (\pm)-1-benzil-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-60)....	112
3.1.2.5.3.19. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-benzilkinolin-2(1H)-ona (rac-62) 114	
3.1.2.5.3.20. Priprava (\pm)-4-(3-(2-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-benzilkinolin-2(1H)-ona (rac-63)	115
3.1.2.6. Stereoselektivna sinteza.....	116
3.1.2.6.1. Priprava Elielovog oksatiana ¹⁵⁴	116
3.1.2.6.1.1. Priprava 5-metil-2-[1-metil-1-(fenilmetiltio)etil]-cikloheksan-1-on (ili 7-tiomenton) (64) 116	
3.1.2.6.1.2. Priprava 2-(merkpto-1-metiletil)-5-metilcikloheksan-1-ol (ili 7-tiomentol) (65).....	117
3.1.2.6.1.3. Priprava (+)-(R,R,R)- heksahidro-4,4,7-trimetil-4H-1,3-benzoksatian (66)	118
3.1.2.6.2. Priprava kinolin-2(1H)-on-oksatianske soli.....	119
3.1.2.6.2.1. Priprava 1-benzil-4-(metiltrifluormetansulfonil)kinolin-2(1H)-ona (67)	119
3.1.2.6.2.2. Priprava kinolin-2(1H)-on-oksatianske soli (68).....	120
3.1.2.6.3. Priprava izopropil-oksatianske soli (69).....	120
3.1.2.6.4. Priprava N-tosil zaštićenog imina.....	121
3.1.2.6.4.1. Priprava propan-2-on-oksima (70)	121
3.1.2.6.4.2. Priprava 4-metil-N-(propan-2-ilidene)benzenesulfonamida (71)	122
3.1.2.6.4.3. Priprava N-SES zaštićenog kinolin-2(1H)-on-imina (73).....	122
3.1.2.7. Priprava marinociklopropana.....	123
3.1.2.7.1. Priprava N-metil-zaštićenih kinolin-2(1H)-on-imina.....	123
3.1.2.7.1.1. Priprava 4-((metilimin)metil)kinolin-2(1H)-ona (74).....	123
3.1.2.7.1.2. Priprava 1-benzil-4-((metilimin)metil)kinolin-2(1H)-ona (75).....	124
3.1.2.7.2. Priprava marinociklopropana.....	125
3.1.2.7.2.1. Priprava 1,1,3-trimetil-2-okso-1,1a,2,3-tetrahidro-7bH-cikloprop[c]-kinolin-7b-karbaldehid (rac-76).....	125

3.1.2.7.2.2. Priprava 1,1,3-trimetil-2-okso-1,1a,2,3-tetrahidro-7bH-cikloprop[c]-kinolin-7b-karbaldehid (rac-77).....	126
3.1.3. Razdvajanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije i superkritične fluidne kromatografije.....	127
3.1.4. Određivanje apsolutne konfiguracije	128
3.1.5. Biološka ispitivanja	129
3.1.5.1. Ispitivanje antiproliferativnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva	129
3.1.5.1.1. Stanične linije.....	129
3.1.5.1.2. Kultura stanica.....	129
3.1.5.1.3. Testovi profileracije	130
3.1.5.2. Ispitivanje embriotoksičnosti odabranih novosintetiziranih spojeva upotrebom modelnog organizma <i>Danio rerio</i>	131
3.1.5.2.1. Materijali i metode	131
3.1.5.3. Ispitivanje antimikrobnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva	132
3.1.5.3.1. Materijali i metode	132
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	133
4.1. Molekulsko modeliranje	133
4.1.1. Kvantno-kemijski izračuni.....	133
4.1.1.1. Keto-enolna tautomerija marinoaziridina A i B.....	133
4.1.1.2. NMR-predikcija marinoaziridina A i B primjenom DFT izračuna	135
4.1.2. In silico karakterizacija marinoaziridina A i B, njihovih derivata, marinoepoksida, kinolin-2(1H)-onskih derivata.....	137
4.1.2.1. Lipinski pravilo 5.....	138
4.1.2.2. Apsorpcija	140
4.1.2.3. Distribucija.....	142
4.1.2.4. Metabolizam lijeka	142
4.1.2.5. Eliminacija lijeka	144
4.1.2.6. Toksičnost.....	145
4.1.2.7. Predviđanje bioloških meta primjenom internetskog poslužitelja <i>SwissTargetPrediction-a</i> ..	147
4.2. Totalna sinteza marinoaziridina A i B te njihovih derivata.....	149
4.2.1. Uvod u totalnu sintezu marinoaziridina A i B.....	149
4.2.1.1. Priprava Knorrovih produkata (3-5).....	151
4.2.1.2. Priprava kinolin-2(1H)-on-karbaldehida (6-8)	153
4.2.1.2. Priprava akiralnih sulfonijevih soli (9,10).....	154
4.2.1.4. Priprava marinoepoksida (rac-11-16).....	155
4.2.1.4.1. Priprava trisupstituiranih marinoepoksida (rac-11-13).....	155

4.2.1.4.2. Priprava disupstituiranih marinoepoksida (<i>rac</i> -14–16)	156
4.2.1.5. Priprava azidoalkohola (<i>rac</i> -17–22).....	158
4.2.1.5.1. Priprava trisupstituiranih azidoalkohola (<i>rac</i> -17–19).....	158
4.2.1.5.2. Priprava disupstituiranih azidoalkohola (<i>rac</i> -20–22)	160
4.2.1.6. Priprava marinoaziridina A i B, te njihovih derivata (<i>rac</i> -23–25).....	162
4.2.1.6.1. Statistička analiza i vizualna usporedba linijskih spektara između eksperimentalnih i računskih vrijednosti ^1H i ^{13}C pomaka za marinoaziridin B (<i>rac</i> -23).....	163
4.2.2.1. Priprava kinolin-2(1H)-onskih soli (33–35)	169
4.2.2.2. Priprava N-tosil zaštićenih imina (36–43).....	171
4.2.2.3. Priprava disupstituiranih derivata marinoaziridina (<i>rac</i> -44–63).....	173
4.2.2.4. Kvantno-kemijski računi.....	175
4.2.3. Stereoselektivna sinteza aziridina.....	183
4.2.3.1. Priprava Elielovog oksatiana.....	183
4.2.3.2. Priprava kiralnih sulfonijevih soli za reakcije aziridacije	184
4.2.3.3. Priprava N-tosil zaštićenih imina.....	184
4.2.4. Priprava marinociklopropana <i>rac</i> -76,77	186
4.3. Odijeljivanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije.....	187
4.3.1. Odijeljivanje enantiomera (\pm)-2,3,3-trisupstituiranih marinoepoksida (<i>rac</i> -11–13) i (\pm)- <i>trans</i> -2,3-disupstituiranih marinoepoksida (<i>rac</i> -14–16- <i>trans</i>) primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije	189
4.3.1.1. Odijeljivanje enantiomera (\pm)-2,3,3-trisupstituiranih marinoepoksida (<i>rac</i> -11–13) podskupine 1A	191
4.3.1.2. Odijeljivanje enantiomera (\pm)- <i>trans</i> -2,3-disupstituiranih marinoepoksida <i>rac</i> -14–16 podskupine 1B primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije.....	201
4.3.2. Odijeljivanje enantiomera marinoaziridina B (<i>rac</i> -23) i metiliranog derivata marinoaziridina A (<i>rac</i> -25) primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije.....	213
4.3.3. Odijeljivanje enantiomera derivata marinoaziridina <i>rac</i> -52–59 primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti.....	216
4.4. Određivanje apsolutne konfiguracije.....	220
4.4.1. Određivanje apsolutne konfiguracije marinoepoksida (14a, 14b).....	223
4.4.2. Određivanje apsolutne konfiguracije marinoaziridina B (23a, 23b)	226
4.4.3. Određivanje apsolutne konfiguracije derivata marinoaziridina A (25a, 25b).....	229
4.5. Biološka testiranja.....	233
4.5.1. Ispitivanje antiproliferativnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva	233
4.5.2. Ispitivanje embriotoksičnosti odabranih novosintetiziranih spojeva upotrebom modelnog organizma zebrice <i>Danio rerio</i>	234

4.5.3. Ispitivanje antimikrobnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva	238
§ 5. ZAKLJUČAK	240
§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ.....	243
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	245
§ 8. DODATAK.....	XVI
8.1. Dodatak 1: NMR spektri	xvi
8.2. Dodatak 2: Razdvajanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina primjenom HPLC i SFC	lxxi
§ 9. ŽIVOTOPIS	LXXIV



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

TOTALNA SINTEZA MARINOAZIRIDINA A I B TE NJIHOVIH DERIVATA

Andela Buljan

Institut Ruđer Bošković, Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Laboratorij za kiralne tehnologije,
Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb, Republika Hrvatska

U okviru ove doktorske disertacije razvijena je prva totalna sinteza marinoaziridina B, metiliranog derivata marinoaziridina A te njihovih strukturnih derivata. Kvantno-kemijskim izračunima primjenom DFT funkcionala B3LYP uz korištenje baznog skupa 6-311++G(d,p) optimizirane su strukture marinoaziridina A i B, te je ispitan solvatacijski utjecaj (kloroform) na ravnotežu para tautomera kinolin-2(1*H*)-ona u strukturi marinoaziridina A i B. Razvijena je enantioselektivna metoda za razdvajanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama utemeljenim na derivatima amiloze i celuloze primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije i superkritične fluidne kromatografije. Apsolutna konfiguracija uspješno je određena primjenom računskih i kirooptičkih metoda (elektronski cirkularni dikroizam, ECD i vibracijski cirkularni dikroizam, VCD). Biološka ispitivanja marinoaziridina i odabranih derivata provedena su na tri stanične linije (MCF-7 rak dojke, H-460 rak pluća i HEK293T embrionalnog bubrega) te na bakterijskim kulturama *Escherichia Coli* i *Staphylococcus aureus*. Toksikološka ispitivanja načinjena su primjenom testa na embrijima zebra ribica.

(256 stranica, 66 slika, 73 sheme, 19 tablica, 247 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

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

Ključne riječi: aziridini, enantiomeri, enantioselektivnost, dijastereoselektivnost marinoaziridini, marinoepoksidi, sumporovi ilidi, totalna sinteza

Mentor: dr. sc. Marin Roje, v. znan. sur. (Institut Ruđer Bošković)

Rad prihvaćen: 7. 12. 2022.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Ines Primožič, PMF, Zagreb
2. prof. dr. sc. Nives Galić, PMF, Zagreb
3. prof. dr. sc. Senka Djaković, PBF, Zagreb



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

TOTAL SYNTHESIS OF MARINOAZIRIDINES A, B, AND THEIR DERIVATIVES

Andela Buljan

Ruđer Bošković Institute, Division of Organic Chemistry and Biochemistry, Laboratory for Chiral Technologies, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb, Croatia

Within this dissertation, the total synthesis of marinoaziridine B, the methylated derivative of marinoaziridine A and their structural derivatives was developed for the first time. The structures of marinoaziridines A and B were optimized by quantum-chemical calculations using the DFT functional B3LYP with the use of the 6-311++G(d,p) basis set, and the solvation effect (chloroform) on the equilibrium of the tautomeric pairs of quinolin-2(1*H*)-on was examined. An enantioselective method was developed for the separation of enantiomers of marinoepoxide and marinoaziridine on polysaccharide chiral stationary phases based on amylose and cellulose derivatives using high performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography. The absolute configuration was successfully determined using computational and chiroptical methods (electronic circular dichroism, ECD and vibrational circular dichroism, VCD). Biological tests of marinoaziridine and selected derivatives were performed on three cell lines (MCF-7 breast cancer, H-460 lung cancer and HEK293T embryonic kidney) and on bacterial cultures of *Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus*. Toxicological tests were performed using a test on zebrafish embryos.

(256 pages, 66 figures, 73 scheme, 18 tables, 247 references, original in Croatian)

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

Keywords: aziridines, enantiomers, enantioselectivity, diastereoselectivity, marinoaziridines, marinoepoxides, sulfur ylides, total synthesis

Supervisor: Dr. Marin Roje, Senior Research Associate (Ruđer Bošković Institute)

Thesis accepted: 7. 12. 2022.

Reviewers:

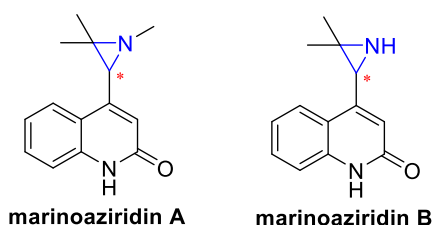
Dr. Ines Primožič, Professor, PMF, Zagreb
Dr. Nives Galić, Professor, PMF, Zagreb
Dr. Senka Djaković, Professor, PBF, Zagreb

§ 1. UVOD

1.1. Od *Bioprospectinga* do totalne sinteze sekundarnih metabolita

Veliki broj prirodnih spojeva izoliranih iz morskih organizama nerijetko pokazuje bioaktivna svojstva i na taj način dobar su trag u otkrivanju lijekova, ali njihova dostupnost i iskoristivost je vrlo ograničena.¹ *Bioprospecting* kao novi koncept održivog korištenja biološke raznolikosti pruža mogućnost za očuvanjem bioloških resursa. Istraživanjem prirodnih izvora malih molekula i makromolekula, te proučavanjem kemijske i genetske osnove, može dovesti do vrijednih proizvoda koji svoju primjenu mogu naći u prehrambenoj, kozmetičkoj, farmaceutskoj industriji i mnogim drugima.^{2,3} Važnost izolacije i totalne sinteze prirodnog spoja dolazi do izražaja ako novootkriveni spojevi posjeduju inovativne strukture koje sadrže i do nekoliko kiralnih središta, te pokazuju karakteristična farmakološka svojstva koja se mogu primijeniti u medicini ili farmaciji.⁴ Totalna sinteza grana je organske sinteze koja opisuje kemijsku sintezu ciljne molekule *de novo*, od početka do kraja, iz jednostavnih i jeftinih polaznih spojeva. Kako bi se odredio slijed reakcija, koje će dovesti do ciljne molekule, koristi se pristup poznat kao retrosintetska analiza. To je misaoni proces u kojem se neka ciljna molekula rastavlja na jednostavnije fragmente, sintone, koji se zatim odabirom dobrih uvjeta i/ili varijacijom istih, spajaju u željenu (ciljnu) molekulu.⁵

Proizvodi *bioprospectinga*, marinoaziridini A i B (Slika 1), kiralni su alkaloidi izolirani iz Gram negativnih bakterija reda *Cytophagales* morskog sedimenta s područja Palmyra otočja (Tihi ocean).⁶ U svojoj strukturi sadrže dva heterociklička prstena, od čega je jedan kinolin-2(1*H*)-onski, a drugi aziridinski.



Slika 1. Strukturne formule izoliranih prirodnih spojeva: marinoaziridin A i marinoaziridin B.

Temeljem vrlo ograničenih bioloških ispitivanja na *Pontibacillus sp.* i *V. shiloi* utvrđeno je da marinoaziridini A i B ne pokazuju antibiotsko djelovanje. Relativna konfiguracija marinoaziridina je poznata, ali ne i apsolutna konfiguracija jedinog kiralnog centra u molekuli.

Zanimljivi strukturni elementi, kinolin-2(1*H*)-onski i aziridinski prsten, te potencijalna biološka aktivnost predstavljaju dobre razloge za totalnu sintezu ovih molekula, koja još uvijek nije opisana u literaturi.

1.1.1. Ciljevi i svrha rada

Građevni elementi prirodnih spojeva, kinolin-2(1*H*)-onski i aziridinski prsten, česti su strukturni motivi bioaktivnih prirodnih i sintetskih molekula.^{7,8} Spoznaja o njihovoj raznovrsnoj biološkoj aktivnosti stavlja ih u fokus istraživanja u organskoj i medicinskoj kemiji. Aziridini se opisuju kao vrlo reaktivni spojevi, koji su podložni reakcijama otvaranja prstena s različitim nukleofilima, pri čemu se može postići izvrsna stereo- i regiokontrola u pripravi raznovrsnih molekula poput alkaloida, β -laktama, aminokiselina i mnogih drugih.⁹ Potaknuti navedenim te činjenicom da u literaturi još uvijek nije opisana totalna sinteza marinoaziridina A i B, kao niti poznata apsolutna konfiguracija jedinog kiralnog centra u molekuli, usmjerili smo naše istraživanje na razvoj sintetskog protokola za pripravu marinoaziridina A i B. Zadaci i aktivnosti provedeni u ovom doktorskom radu prikazani su na slici 2.



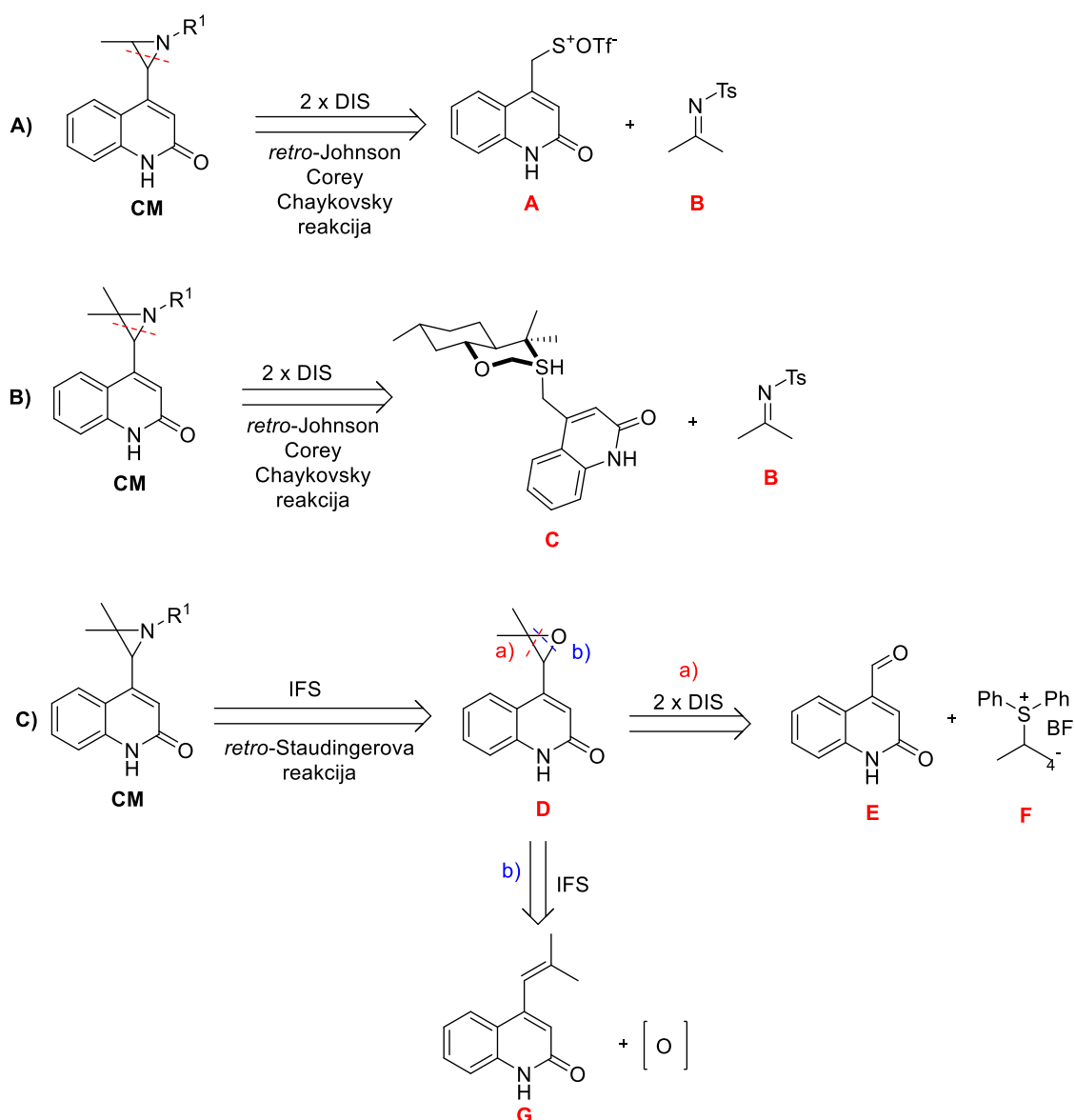
Slika 2. Shematski prikaz zadatka i aktivnosti u doktorskom radu.

U prvoj fazi ovog dokorskog rada provedena su preliminarna istraživanja kako bi se dobio uvid u strukturu molekule prirodnih spojeva s kemijskog i farmakološkog aspekta primjenom računalnih metoda. Određene su ravnotežne strukture keto- i enol-tautomernih oblika u kloroformu primjenom DFT hibridnog funkcionala B3LYP u kombinaciji s baznim skupom 6-311++G(d,p). Zbog konformacijske slobode aziridinskog prstena, izračunati su i pripadni energijski profili. Kako bi se potvrdila struktura izoliranih prirodnih spojeva predviđeni su i NMR spektri za po dvije moguće ravnotežne konformacije marinoaziridina A i B te njihova

dva moguća tautomerna stanja korištenjem istog DFT pristupa (SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) uz upotrebu metode GIAO (engl. *Gauge-Independent Atomic Orbital*). Uvid u farmakološki i toksikološki profil te prijedlog strukturnih derivata marinoaziridina s potencijalno boljim biološkim svojstvima dat je primjenom računalnog programa admetPredictor TM 9.5 te internetskih poslužitelja SwissADME-a, admetSAR-a i pkCSM-a. Primjenom internetskog poslužitelja SwissTargetPrediction-a predviđene su biološke mete za marinoaziridin A i B. Također, predviđen je farmakološki i toksikološki profil marinoepoksida (*rac-11–16*) kao prekursora marinoaziridina i derivata, te zanimljivih kinolin-2(1*H*)-onskih derivata, koji u svojoj strukturi sadrže ciklopropanski prsten, nazvanih marinociklopropani (*rac-76,77*).

U drugoj fazi ovog doktorskog rada razrađena je retrosintetska analiza marinoaziridina A i B te predloženih strukturnih derivata.

Za pripremu marinoaziridina A i B, predloženo je nekoliko sintetskih pristupa sintezi ciljnih molekula prikazanih na shemi 1. Retrosintetski pristup **A**) opisuje jedan od potencijalnih načina pripreme marinoaziridina A i B, korištenjem akiralne sulfonijeve soli **A** i ketimina **B**, reakcijom poznatom kao Johnson Corey Chaykovsky reakcija. Retrosintetski pristup **B**) opisuje stereoselektivnu pripremu marinoaziridina A i B iz kiralne oksatianske soli **C** i ketimina **B**, pri čemu oksatian ima ulogu kiralnog induktora. Retrosintetski pristup **C**) opisuje potencijalnu pripremu marinoaziridina A i B, preko epoksidnog prekursora **D**, reakcijom poznatom kao Staudingerova reakcija u kojoj se epoksidi regioselektivno otvaraju u odgovarajuće azidoalkohole koji se potom prevode u aziridine termičkom ciklizacijom. Retrosintetska analiza epoksidnog međuprodukta **D** može se razmotriti na dva načina. Prvi pristup sintezi epoksida **D** opisuje reakciju između akiralne sulfonijeve soli **F** i odgovarajućeg aldehida **E**, reakcijom poznatom kao Johnson Corey Chaykovski, dok drugi način opisuje oksidaciju dvostruke veze spoja **G** u prisustvu oksidansa. Cilj doktorskog rada bio je razviti jedan od sintetskih pristupa sintezi ciljnih molekula. Uspješno je razvijena prva totalna sinteza marinoaziridina B (*rac-23*), derivata marinoaziridina B (*rac-24*) i marinoaziridina A (*rac-25*) preko epoksidnog prekursora **D** (retrosintetski pristup **C**). Epoksidni prekursori pripremljeni su iz aldehida **E** i akiralne sulfonijeve soli **F**. Derivat marinoaziridina A (*rac-25*) posjeduje metilnu skupinu na internoj amidnoj vezi kinolin-2(1*H*)-ona, dok derivat marinoaziridina B (*rac-24*) posjeduje benzilnu skupinu. Nažalost stereoselektivna sinteza marinoaziridina nije uspješno razvijena, ali su sintetizirani prekursori i dobivena su vrijedna saznanja o načinima provedbe njihove sinteze.

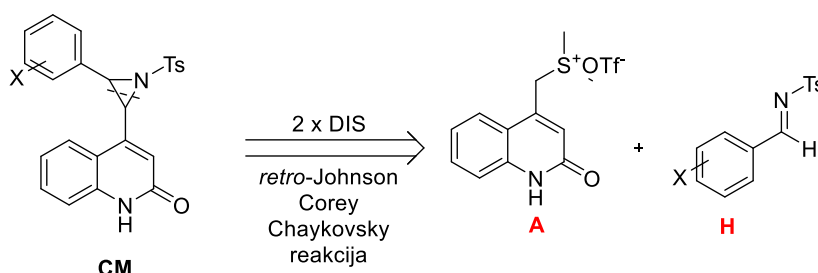


Shema 1. Retrosintetska analiza marinoaziridina A i B: **A)** *retro*-Johnson Corey Chaykovsky reakcija, **B)** *retro*-Johnson Corey Chaykovsky reakcija – stereoselektivni pristup, **C)** *retro*-Staudingerova reakcija.

Razvijena metodologija započinje pripremom kinolin-2(1*H*)-ona **3** iz komercijalno dostupnih kemikalija anilina i etil-acetoacetata u dva sintetska koraka reakcijom poznatom kao Knorrova sinteza. U sljedećem koraku, Knorrov produkt **3** oksidiran je u aldehyd **6** reakcijom poznatom kao Rileyeva oksidacija. Nakon uspješne priprave jednog od fragmenata, provedena je i priprava drugog fragmenta, akiralne sulfonijeve soli **9**, iz komercijalno dostupnih polaznih kemikalija 2-brompropana i dimetil-sulfida u prisustvu srebrnog tetrafluorborata. U reakciji poznatoj kao Johnson Corey Chayovsky, generiran je *in situ* sumporov ilid iz sulfonijeve soli **9**

u prisustvu *tert*-butil-litija, te u reakciji s aldehidom pripravljen je epoksid koji je nazvan marinoepoksid (*rac*-**11**). U sljedećem koraku provedena je reakcija nukleofilnog otvaranja epoksida u azidoalkohol, koji je preveden u marinoaziridin B (*rac*-**23**) primjenom termički potpomognute ciklizacije. Iz marinoaziridina B u prisustvu baze i metil-jodida, pripravljen je derivat marinoaziridina A (*rac*-**25**).

Retrosintetska analiza predloženih strukturnih derivata *rac*-**44–63** prikazana je na shemi 2. Retrosintetski pristup opisuje pripravu disupstituiranih derivata marinoaziridina *rac*-**44–63** reakcijom između akiralnih sulfonijevih soli **A** i *N*-tosil-aldimina **H**.



Shema 2. Retrosintetska analiza disupstituiranih derivata marinoaziridina; *retro*-Johnson Corey Chaykovsky reakcija.

Razvijena metodologija započinje pripravom Knorrovih produkata (**3–5**) te potom aldehida (**7–8**) istom metodologijom ranije opisanom. U sljedećem sintetskom koraku Rileyevi produkti (**7,8**) reducirani su u odgovarajuće alkohole (**28,29**) u prisustvu natrijevog borhidrida. Alkohol **27** pripravljen je u dva sintetska koraka iz komercijalno dostupne kiseline, koja je prevedena u ester **26**, koji je potom reduciran u željeni alkohol **27** u prisustvu DiBAL-H reducirajućeg agensa. Pripravljene alkoholi (**27–29**) kemijskom transformacijom poznatom kao Appelova reakcija prevedeni su u odgovarajuće bromidne produkte (**30–32**), iz kojih su pripravljene akiralne sulfonijske soli (**33–35**). Drugi fragment, *N*-tosil-zaštićenih imina (**36–43**), pripravljene su reakcijom između različitih aldehida i tosil-amida u prisustvu kiselog katalizatora. U reakciji između akiralnih sulfonijevih soli (**33–35**) i odgovarajućih imina (**36–43**) uz korištenje kalijevog hidroksida u acetonitrilu pripravljene su odgovarajući *N*-tosil zaštićeni aziridini (*rac*-**44–63**) kao smjese *cis* i *trans* izomera. Dijastereoselektivnost reakcije je različita i ovisna je o iminskom supstituentu. U većini slučajeva prevladava *trans* izomer. U slučaju aziridina koji u iminskom supstituentu posjeduju dva atoma fluora u di-*ortho* položajima fenilnog prstena, postignuta je 100 %-tna *trans* selektivnost. Dok je kod derivata marinoaziridina, koji u *meta* položaju fenilnog prstena (iminski supstituent) sadrže atom fluora, dobivena 100 %-tna *cis*

selektivnost. Da bi objasnili 100 %-tnu *trans*, odnosno 100 %-tnu *cis* diastereoselektivnost provedeno je računalno istraživanje reakcijskih profila dviju aziridacijskih reakcija korištenjem DFT pristupa uzimajući u obzir implicitni učinak otapala.

Za pripravu marinoaziridina A, B i njihovih derivata primjenjene su metode sintetske organske kemije. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom i/ili tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *High-performance liquid chromatography*, HPLC). Pripravljene proizvode okarakterizirani su različitim analitičkim metodama poput NMR spektroskopije (1D, 2D), IR spektroskopije, spektrometrije masa visoke rezolucije (engl. *High-resolution mass spectrometry*, HR-MS), HPLC-a i superkritične fluidne kromatografije (engl. *supercritical fluid chromatography*, SFC), te im je određena točka taljenja.

U trećoj fazi ovog doktorskog rada razvijena je enantioselektivna HPLC i SFC metoda za razdvajanje marinoepoksida (*rac-11–16*), marinoaziridina B (*rac-23*), derivata marinoaziridina A (*rac-25*) te disupstituiranih derivata marinoaziridina (*rac-52–69*) na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama koje su utemeljene na derivatima celuloze i amiloze. Ispitano je koji kiralni selektor pokazuje najbolje kiralno prepoznavanje za novosintetizirane spojeve. Na temelju kromatografske evaluacije, objašnjen je mehanizam kiralnog prepoznavanja između novosintetiziranih spojeva i selektora. Za svaku kombinaciju sastava pokretne faze i polisaharidne kiralne nepokretne faze određeni su kromatografski parametri: faktor zadržavanja enantiomera k_1 i k_2 , separacijski faktor α i razlučivanje enantiomera R_s . Najbolji postignuti kromatografski parametri primjenjeni su na preparativnoj skali u svrhu izolacije enantiomerno čistih spojeva u svrhu određivanja apsolutne konfiguracije.

U četvrtoj fazi ovog doktorskog rada određena je apsolutna konfiguracija enantiomerno čistih marinoepoksida (**14a**, **14b**) marinoaziridina B (**23a**, **23b**) i derivata marinoaziridina A (**25a**, **25b**) primjenom računalnih i eksperimentalnih tehnika temeljenih na elektroničkom cirkularnom dikroizmu (engl. *Electronic Circular Dichroism*, ECD) i vibracijskom cirkularnom dikroizmu (engl. *Vibrational Circular Dichroism*, VCD) uz korištenje kvantno-mehaničke TDDFT metode (engl. *Time-Dependent Density Functional Theory*).

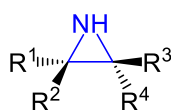
U petoj fazi ovog doktorskog rada provedena su biološka ispitivanja marinoaziridina B (*rac-23*), derivata marinoaziridina A (*rac-25*) te odabranih derivata na tri stanične linije (MCF-7 rak dojke, H-460 rak pluća, HEK293T zdrave stanice embrionalnog bubrega) te na bakterijskim kulturama *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* u *in vitro* uvjetima. Toksikološka ispitivanja provedena su upotrebom modelnog organizma zebrice *Danio rerio*.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Aziridini

2.1.1. Uvod u strukturu i reaktivnost aziridina

Aziridini, poznati još i kao azaciklopropani ili etilenimini, zasićeni su najmanji tročlani heterociklički spojevi s jednim dušikovim atomom u prstenu (Slika 3).¹ Otkriće aziridina datira iz 1888. godine i pripada Siegmundu Gabrielu,¹⁰ te predstavlja uvod u sintezu nove skupine heterocikličkih spojeva.



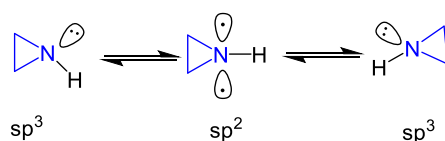
Slika 3. Općenita strukturalna formula aziridina.

Zbog izražene polarnosti uzrokovane dušikovim atomom u prstenu, aziridini se opisuju kao vrlo reaktivni spojevi.^{1,11} Osim dušikova atoma, na reaktivnost utječe i strukturalna rigidnost (kutna napetost ili deformacija) tročlanog prstena. Vezni kutovi C–N–C kod aziridinskog tročlanog prstena iznose približno 60°, što je znatno manje od veznih kutova ugljikovih atoma u simetrično supstituiranim zasićenim molekulama metana i tetraklormetana, koji iznose 109,5°. ^{11,12} Baeyer je još 1885. godine postavio teoriju o napetosti kutova kod cikloalkana, prema kojoj se razlika između tetraedarskog kuta i unutrašnjeg kuta cikloalkana, uzima kao mjerilo stabilnosti molekule. Aziridini, prema njegovoj teoriji, imaju povećani stupanj tzv. *Baeyerove napetosti kuta*.¹³ Odstupanje veznih kutova od 109,5° dovodi do dodatnog naprezanja i visoke kutne napetosti (koja je procijenjena na oko 111 kJ mol⁻¹ za etilenimin). S obzirom na kutnu deformaciju i nestabilnost heterocikličkog prstena, aziridini pokazuju visoku elektrofilnu reaktivnost.¹⁴ Kao posljedica elektrofilne reaktivnosti, aziridini su podložni reakcijama otvaranja prstena, u blagim reakcijskim uvjetima, s različitim ugljikovim,¹⁵ kisikovim,¹⁶ dušikovim,^{16,17} sumporovim¹⁸ i halogenim nukleofilima.¹⁹ Otvaranjem prstena omogućena je regio- i stereoselektivna sinteza različitih 1,2-bifunkcionalnih molekula sa zanimljivom topologijom, što čini aziridine vrlo korisnim međuproduktima i građevnim blokovima u sintezi biološki aktivnih prirodnih i sintetskih molekula.²⁰

Priroda vezivanja unutar aziridinskog prstena može utjecati na njegova kemijska svojstva. Nepodijeljeni elektronski par na dušikovom atomu aziridinskog prstena u neposrednoj blizini

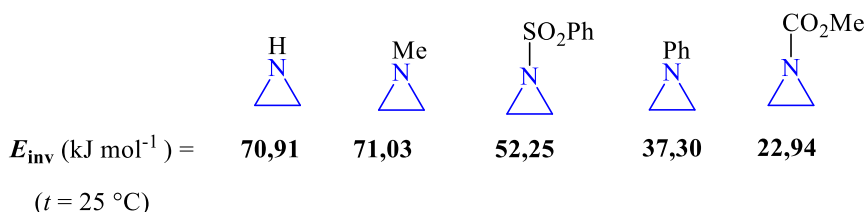
je jezgre, pa orbitala u kojoj su smješteni ti elektroni ima veći s karakter, dok će doprinos orbitale nepodijeljenog para elektrona veznim orbitalama C–N imati veći p karakter. Kao posljedica povećanog s karaktera nepodijeljenog para elektrona na dušikovom atomu, aziridini su manje bazični ($pK_a = 7,9$), u odnosu na acikličke sekundarne amine ($pK_a = 11$).^{1,21}

Kutno naprezanje u aziridinskom prstenu određuje vrijednost energije inverzije dušikova atoma u prstenu. Proces inverzije dušikova atoma uključuje međuprodukt u kojem dušik ima sp^2 hibridizaciju. Kutna deformacija i elektronska struktura molekule smanjuju p karakter N–C prstenastih veza (Shema 3).²²



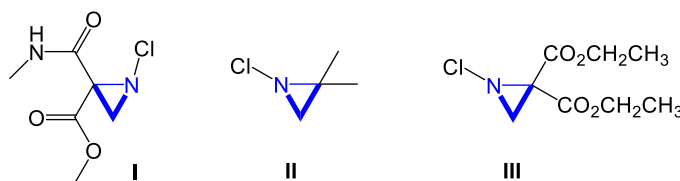
Shema 3. N -inverzija u prstenu.

Ukoliko se kao supstituenti na dušikovom atomu upotrebljavaju skupine koje imaju elektron-odvlačeća svojstva, utoliko se mogu očekivati niže vrijednosti energija tzv. Waldenove inverzije prstena. Tako primjerice, esterska skupina CO_2Me , koja je konjugirana s elektronskim parom dušikova atoma, doprinosi smanjenju energije inverzije. Drugim riječima, energija aktivacije ovisi o prirodi supstituenata vezanih na dušikovom atomu aziridinskog prstena (Slika 4).²³



Slika 4. Izračunate energije N -inverzije supstituiranih aziridina.

Ako supstituenti nisu konjugirani s elektronskim parom dušikova atoma, onda je energija aktivacije veća, odnosno inverzija je sporija zbog povećanog kutnog naprezanja u sp^2 hibridiziranom međuproduktu. Vezanje atoma klora na dušikov atom, dovodi do porasta energije inverzije.

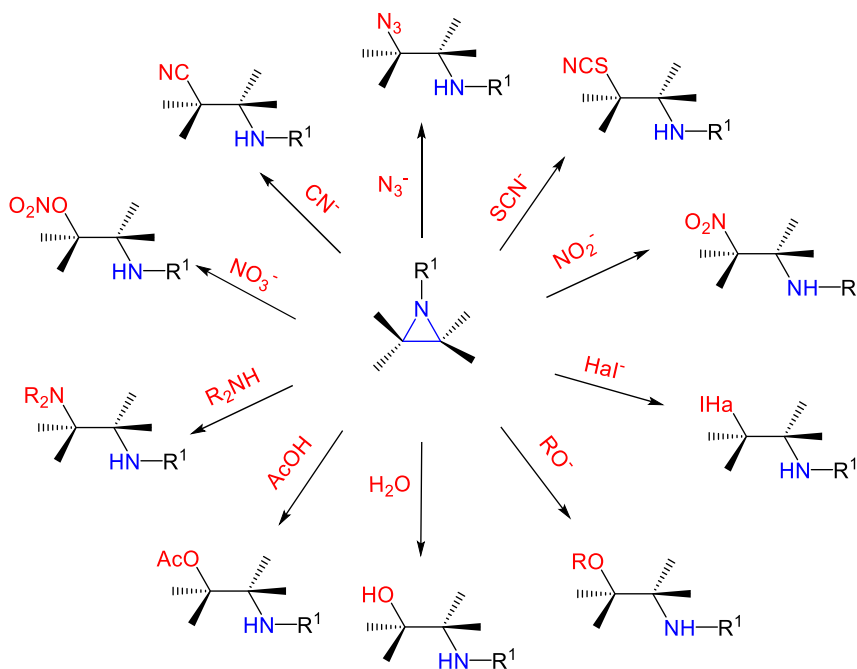


Slika 5. Strukture spojeva **I**, **II**, **III** s visokom barijerom inverzije.

Primjerice spoj **I** s barijerom inverzije 112 kJ mol^{-1} postoji kao Z-izomer, te ne epimirizira ni kad se otopina zagrije na $50 \text{ }^\circ\text{C}$ (Slika 5). Spojevi **II** i **III** posjeduju barijeru inverzije od oko 250 kJ mol^{-1} .^{23,24}

2.1.2. Reakcije otvaranja aziridinskog prstena

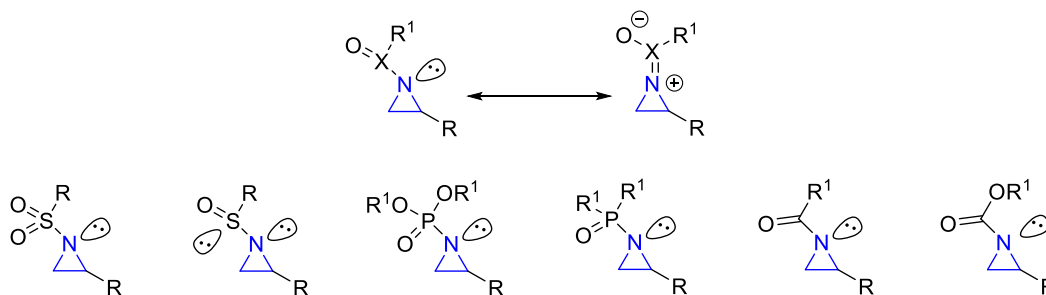
Iako su i sami aziridini strukturne podjedinice mnogih biološki aktivnih prirodnih i sintetskih molekula te pokazuju antikarcinogeno, antifungalno i antibakterijsko djelovanje, njihova primjena uvelike je vezana i uz brojne transformacije kojima podliježe aziridinski prsten, zbog čega se često ističu kao građevni blokovi u organskoj sintezi.^{1,25} S obzirom da je riječ o krutim i napetim cikličkim strukturama, aziridini su opisani kao vrlo reaktivni spojevi s tendencijom prema otvaranju prstena, odnosno pucanju C–N veze.^{1,11,26} Aziridinski prsten uspješno se može otvoriti velikim brojem nukleofilnih reagensa u prisustvu različitih katalitičkih sustava, kao što su primjerice Lewisove kiseline i baze, prijelazni metali ili tetrabutilamonijev fluorid.^{27,28,29} U literaturi postoje i primjeri fotoredoks reakcija otvaranja prstena uz korištenje katalitičkih kompleksa prijelaznih metala.³⁰ Produkti otvaranja prstena su spojevi sa zanimljivim funkcionalnim skupinama u α i β položaju prema dušikovom atomu (shema 4).²⁵



Shema 4. Pregled mogućih nukleofilnih reakcija otvaranja aziridinskog prstena.

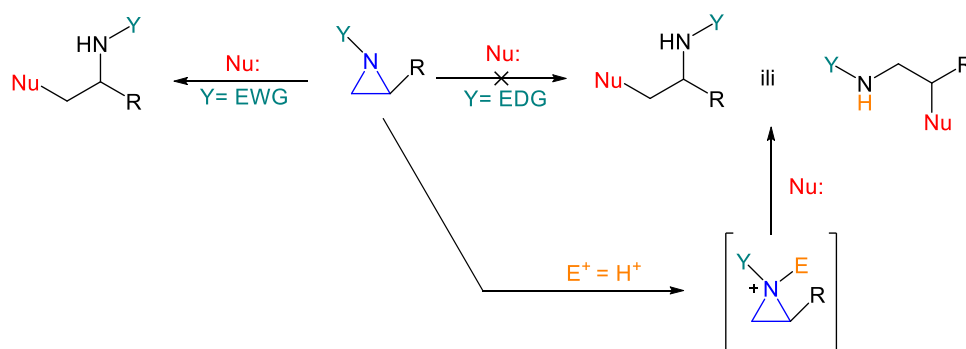
S obzirom na elektronska svojstva supstituenata vezanih na dušikov atom tročlanog prstena, aziridini se u osnovi dijele na aktivirane i neaktivirane.³¹

Aktivirani aziridini posjeduju rezonanciju između dušikovog neveznog elektronskog para i elektron-odvlačeće sulfonilne, sulfinilne, fosforilne, fosfinilne ili acilne skupine (Slika 6). Kinetička aktivacija koju osiguravaju *N*-supstituenti javlja se kao rezultat induktivnog i termodinamičkog efekta.¹



Slika 6. Pregled *N*-aktiviranih aziridina.

Ukoliko su na dušikov atom vezane alkilne i arilne skupine ili vodikov atom, utoliko govorimo o neaktiviranim aziridinima. Prilikom otvaranja prstena neaktiviranog aziridina, potrebno je provesti protoniranje, odnosno kvartenizaciju dušikova atoma ili stvaranje adukta s Lewisovom kiselinom (Shema 5).^{1,31}

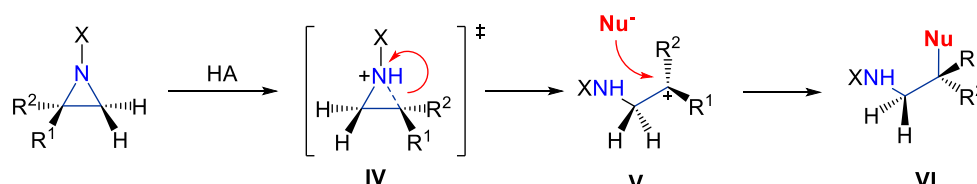


EWG-(*engl.* electron-withdrawing group) – elektron-odvlačeća skupina
EDG-(*engl.* electron-donating group) – elektron-donirajuća skupina

Shema 5. Reakcije otvaranja prstena aktiviranih i neaktiviranih aziridina.

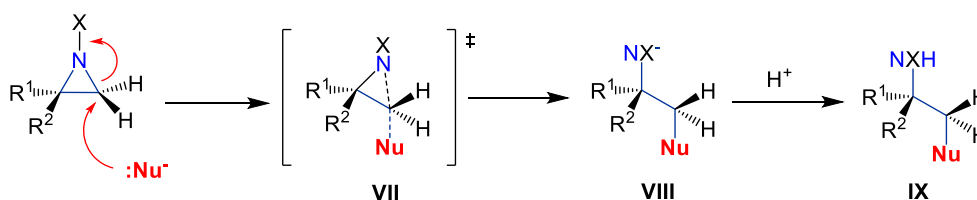
Reakcije otvaranja aktiviranih i neaktiviranih aziridina mogu se odvijati jednim od mehanizama nukleofilne supstitucije, tzv. S_N1 i S_N2 reakcije. Kada reakcije otvaranja aziridinskog prstena

slijede S_N1 mehanizam, mjesto nukleofilnog napada često je više supstituirani ugljikov atom, a reakcija se odvija u dva koraka. U prvom koraku, protoniranjem dušika, nastaje nestabilno prijelazno stanje **IV** u kojem dolazi do pucanja C–N veze. Pucanjem C–N veze nastaje međuprodukt – karbokation **V**, čemu slijedi nukleofilan napad i nastanak konačnog produkta **VI** (Shema 6).^{32,33}



Shema 6. Reakcija otvaranja aziridinskog prstena u kiselim reakcijskim uvjetima, S_N1 mehanizmom.

S_N2 mehanizam najčešće prevladava u bazičnim uvjetima (pH > 7), a mjesto nukleofilnog napada često je manje supstituirani ugljikov atom. U prijelaznom stanju dolazi do istodobnog stvaranja nove i pucanja postojeće veze (**VII**), a protoniranjem dušika (**VIII**) nastaje konačni produkt, β-supstituirani amin **IX** (Shema 7).^{32,33}



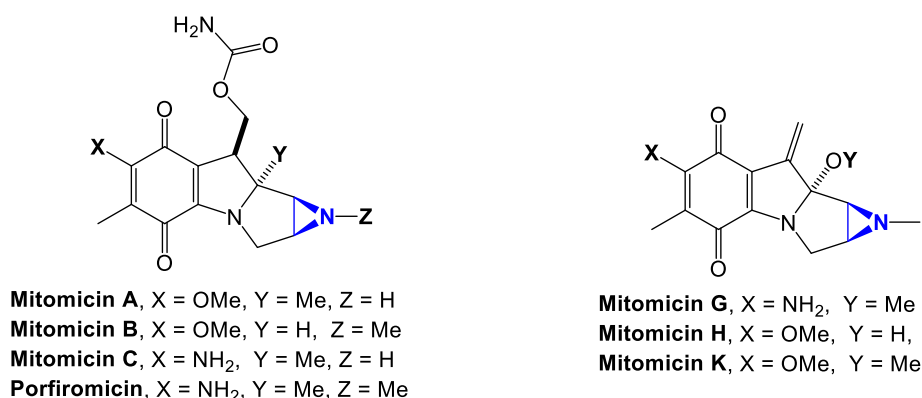
Shema 7. Reakcija otvaranja aziridinskog prstena u baznim reakcijskim uvjetima, S_N2 mehanizmom.

2.1.3. Biološki aktivni aziridini

Heterociklički spojevi čine najveću i najraznovrsniju obitelj organskih spojeva s kemijskim, biomedicinskim i industrijskim značajem.³⁴ Naime, oni su jedni od najvažnijih građevnih blokova velikog broja makromolekula uključujući enzime, vitamine, hormone, nukleinske kiseline, alkaloida te mnoge druge. Spoznaja o njihovoj raznovrsnoj biološkoj aktivnosti stavlja ih u fokus istraživanja u području organske i medicinske kemije.³⁵ Prema provedenom

istraživanju američkih znanstvenika, heterociklički spojevi koji sadrže dušik, najzastupljenije su strukture u međunarodno odobrenim lijekovima od strane Američke agencije za lijekove i hranu (engl. *Food and Drug Administration, FDA*).³⁶ Premda su aziridini najmanji heterociklički spojevi sa dušikom, njihova primjena u medicini i medicinskoj kemiji široko je rasprostranjena. Aziridinski strukturni motiv pojavljuje se u mnogobrojnim bioaktivnim prirodnim i sintetskim spojevima, a ono što predstavlja dodatan interes organskim i medicinskim kemičarima jest spoznaja da je aziridinski prsten nositelj biološke aktivnosti.¹ Zanimljiva biološka aktivnost proizlazi iz njegove kemijske sposobnosti da djeluje kao alkilirajući agens u važnim biokemijskim procesima.³⁷

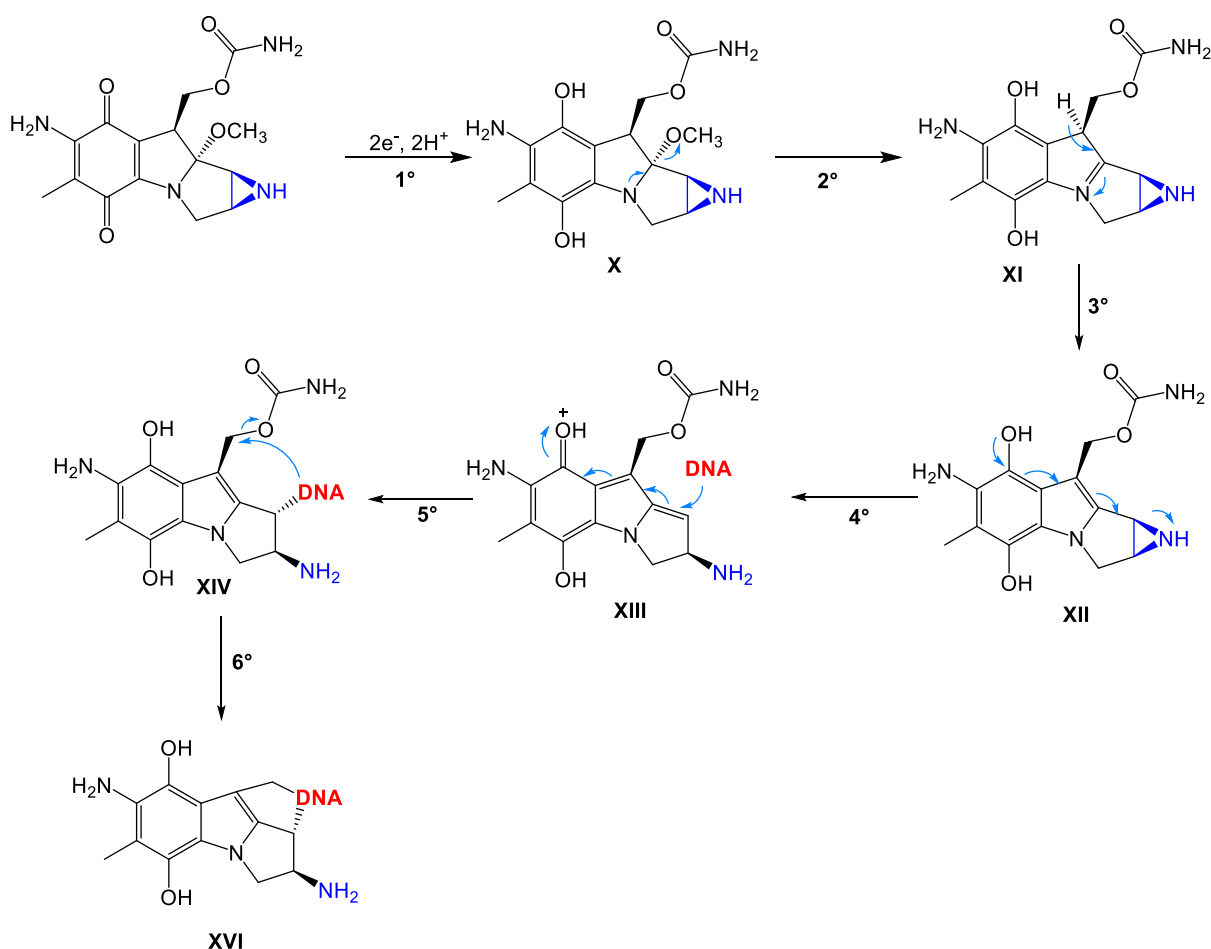
Najpoznatiji predstavnici bioaktivnih aziridina su mitozani (Slika 7). Izolirani su iz Gram pozitivne bakterije *Streptomyces verticillatus* te pokazuju antitumorsko i antibakterijsko djelovanje.³⁸ Najvažniji predstavnik ove skupine, mitomicin C, jedan je od najmoćnijih antitumorskih agenasa u kliničkoj kemoterapiji. Do sada, veliki broj njegovih sintetskih analoga je pripremljen i testiran na antitumorsku aktivnost.



Slika 7. Strukturne formule biološki aktivnih spojeva: mitozani.

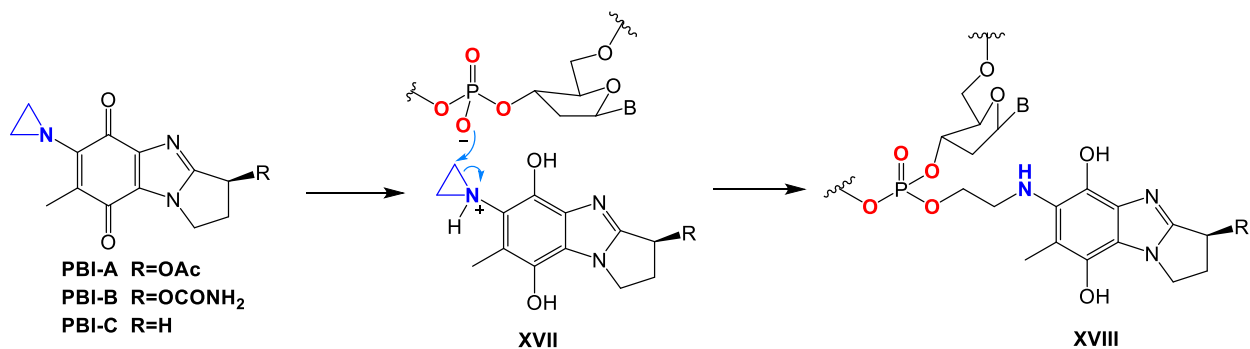
Mehanizam djelovanja mitomicina C prikazan je na shemi 8. Prikazani proces opisuje alkiliranje DNA s mitomicinom C u nekoliko sintetskih koraka. Reakcija započinje reduktivnom aktivacijom kinonskog oblika u hidrokinon **X**, koji se onda, u drugom i trećem koraku, kemijskim transformacijama prevodi u indolaziridin **XII**. U četvrtom koraku provedena je reakcija otvaranja aziridinskog prstena u međuprodukt **XIII**, nakon čega slijedi nukleofilni napad dušične baze gvanina iz molekule DNA na elektrofilni ugljikov atom, pri čemu nastaje kovalentna veza između dušične baze i mitomicina C (**XVI**). Drugim riječima, dolazi do alkilacije i premoštavanja DNA uzvojnice, što u konačnici uzrokuje umrežavanje međulančanih

DNA. Povezivanje dvaju antiparalelnih lanaca unutar iste molekule DNA dovodi do prekida staničnog ciklusa i utječe na sposobnost stanica raka da se razmnožavaju.³⁹



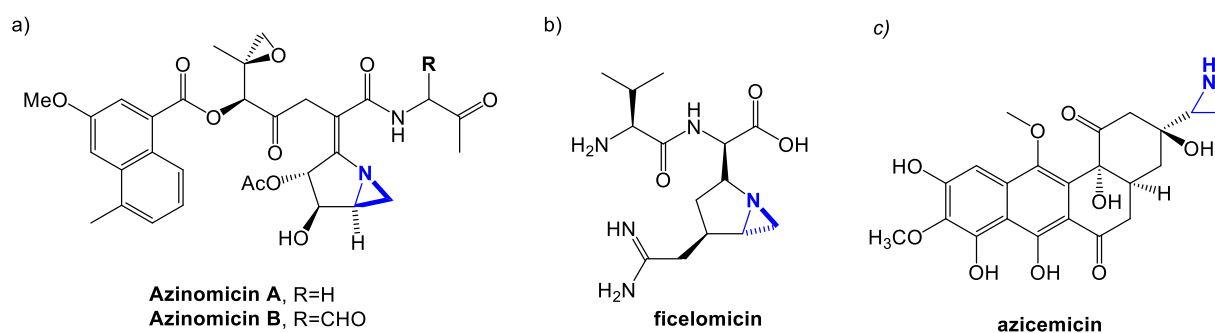
Shema 8. Otvaranje aziridinskog prstena mitomicina C i alkilacija DNA.

PBI – obitelj predstavlja drugu DNA – alkilirajuću vrstu kinonskih aziridina. U strukturi ovih spojeva, aziridinski prsten direktno je vezan na kinonsku podjedinicu te podliježe nukleofilnom napadu fosfatne skupine DNA (Shema 9), a ne dušikovom atomu purinske baze kao što je to slučaj kod mitomicina C.¹



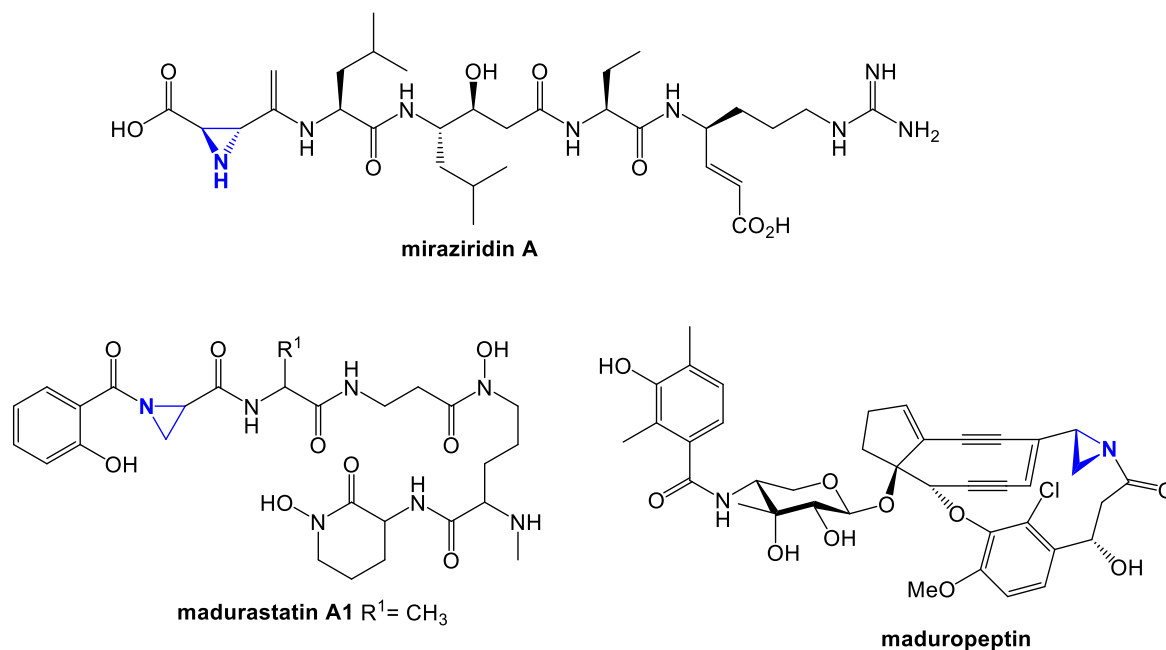
Shema 9. Otvaranje aziridinskog prstena PBI-a i alkilacija DNA.

Azinomicini A i B (Slika 8a) izolirani su iz Gram pozitivne bakterije *Streptomyces griseofuscus* te pokazuju antitumorsko djelovanje. Ova klasa spojeva inhibira replikaciju DNA uz pomoć elektrofilnih epoksida i aziridina kao alkilirajućih agenasa, oboje prisutnih u strukturi molekula.^{40,41} Iz mikroorganizma *Streptomyces ficellus* izoliran je ficelomicin (Slika 8b), koji pokazuje iznimnu moć u borbi protiv Gram pozitivnih bakterija *in vitro*, te pokazuje *in vivo* učinkovitost protiv Gram pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus*. Također je dokazano da inhibira DNA replikaciju kod *Escherchie Coli* alkilacijom DNA.⁴² Azicemicin (Slika 8c), strukturno je vrlo zanimljivi aromatični poliketid, koji se sastoji od anguciklinske jezgre na koju je vezan aziridinski prsten na položaju C-3. Izoliran je iz *Kibdelosporangium sp.* te pokazuje antimikrobno djelovanje protiv Gram pozitivnih bakterija, ali i male znakove toksičnosti za miševе.⁴³



Slika 8. Strukturne formule biološki aktivnih spojeva: a) azinomicini b) ficelomicin, c) azicemicin.

Miraziridin A (Slika 9a), izoliran je iz morske spužve *Theonella mirabilis* te djeluje kao inhibitor enzima proteaze katepsin B ($IC_{50} = 1,4 \text{ mg mL}^{-1}$; $2,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) vezanjem aziridinske podjedinice na cistein u aktivno mjesto.⁴⁴ Iz mikroorganizma *Actinomadura madurae* izoliran je madurastatin A1 (Slika 9b). Njegovo djelovanje temelji se na kompleksiranju s Fe^{3+} ionima te se pretpostavlja da prenosi Fe^{3+} iz okoliša u bakterijsku stanicu i da ima sideroporično djelovanje.⁴⁵ Maduropeptin (Slika 9c), izoliran iz *Actinomadura sp.*, jedan je od strukturno najzanimljivijih proteina koji sadrži kromoforni dio u omjeru 1:1, na kojeg je vezan aziridinski prsten. Pokazuje antibakterijsko i antitumorsko djelovanje.⁴⁶

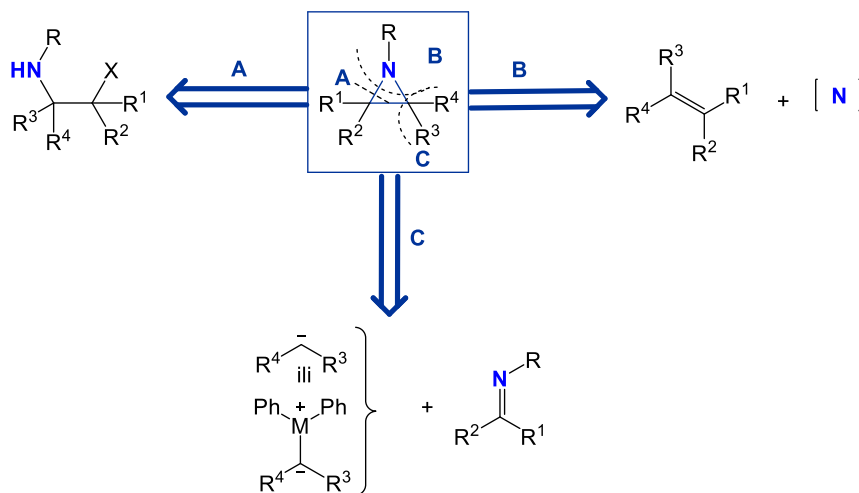


Slika 9. Strukturne formule biološki aktivnih spojeva: a) miraziridin A, b) madurastatini c) kromofor maduropeptina.

2.1.4. Stereoselektivna sinteza aziridina

Spoznaja o prisutnosti aziridina u mnogobrojnim bioaktivnim prirodnim spojevima,¹ te o njihovoj jednostavnoj transformaciji u farmakološki i biološki aktivne dušikove spojeve, kao i o njihovoj širokoj primjeni u stereoselektivnoj sintezi, potakla je razvoj različitih strategija kojima se može pristupiti željenom optički aktivnom spoju.^{9,47,48} Razvijene metode uključuju pripremu enantiomera iz racemične smjese (rezolucijske metode), iz optički aktivnih prirodnih spojeva (engl. *chiral pool*) te iz prokiralnih supstrata u stereoselektivnoj sintezi. Stereoselektivna indukcija u tijeku reakcije može se ostvariti pod kontrolom supstrata (pomoćna kiralna sredstva), kiralnog reagensa ili korištenjem kiralnog katalizatora.⁴⁹ Među njima, najveći napredak postignut je upotrebom pomoćnih kiralnih sredstava ili optički aktivnih prirodnih spojeva, koji se ugrađuju u molekulu u jednom sintetskom koraku. Za razliku od prirodnih materijala koji se koriste u sintezi iz kiralnog spremnika, kiralna pomoćna sredstva nisu dio strukture konačnog produkta. Iako se jednostavno uvode i uklanjaju u blagim reakcijskim uvjetima, te imaju sposobnost da se recikliraju, jedini nedostatak pripreve ovom metodom zahtijeva dva dodatna koraka u sintezi. Uz to, nisu pogodna za provođenje reakcija

na velikim skalama. Na shemi 10, prikazana su tri temeljna retrosintetska puta gdje je ciljna molekula (CM) opisana aziridinskom strukturom.^{50,51}



Shema 10. Retrosintetski pristup dobivanja aziridina: **A** sinteza iz prokiralnih supstrata ciklizacijom, **B** adicija nitrena ili nitrenoida na alkene, **C** adicija karbena ili karbenoida na imine.

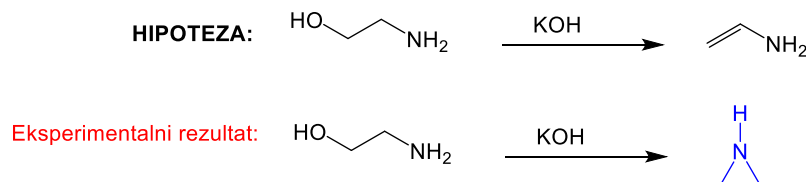
Jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda opisana je reakcijom intramolekulske ciklizacije različitih aaminskih derivata **A**. Premda su olefini najčešće korišteni polazni spojevi, uspješna aziridinacija postiže se transferom povoljnog izvora dušikova atoma na dvostruku vezu C=C, **B**, kao i adicijom karbenskih ekvivalenata na imine **C**.

2.1.4.1. Sinteza aziridina intramolekulskom ciklizacijom (**A**)

Reakcija ciklizacije jedna je od najstarijih i najjednostavnijih pristupa u sintezi aziridina. Aziridini se mogu lako pripremiti intramolekulskom ciklizacijom prema S_N2 mehanizmu iz različitih aaminskih prekursora poput 2-aminoalkohola, 2-aminohalida, 2-aminosulfida, 2-aminoselenida te epoksida, što predstavlja jedan od najsvestranijih puteva za pripremu aziridina.⁵⁰ Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća, razvijene su brojne stereoselektivne metode koje su omogućile pristup složenim kiralnim organskim strukturama.

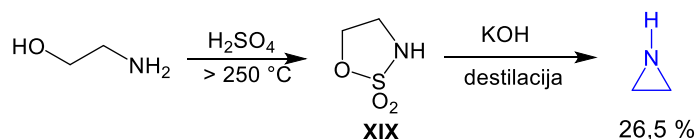
Prva takva opisana priprema aziridina bila je Gabrielova reakcija, koja je ime dobila po njemačkom kemičaru Siegmundu Gabrielu, koji ju je 1888. g prvi put proveo.¹⁰ U reakciji sudjeluje aminoalkohol i kalijev hidroksid, a hipoteza reakcije, odnosno cilj reakcije bio je

pripraviti vinil-amin (Shema 11). Nakon niza neuspješnih pokušaja, Marckwald je ustanovio i objasnio da je riječ o cikličkoj strukturi koja ima jedan dušikov atom, kasnije nazvana aziridin.^{52,53}



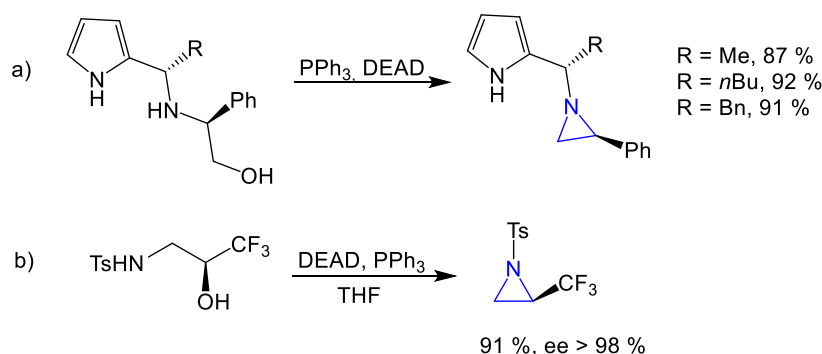
Shema 11. Prva Gabrielova sinteza aziridina iz 1888. godine.

1935. godine Wenker je razvio protokol, koji se temelji na reakciji između etanolamina i sumporne kiseline, pri čemu *in situ* nastaje ciklički sulfamidat **XIX**, iz kojeg se destilacijom u prisustvu kalijevog hidroksida dobiva aziridin (Shema 12).⁵⁴ Nedostatci razvijene metodologije, kao što su kiseli reakcijski uvjeti koji dovode do kompetitivnih reakcija eliminacije i supstitucije, usmjerili su istraživanje na razvoj novih metodologija koje će biti fokusirane na aktivaciji hidroksilne skupine u blagim reakcijskim uvjetima.



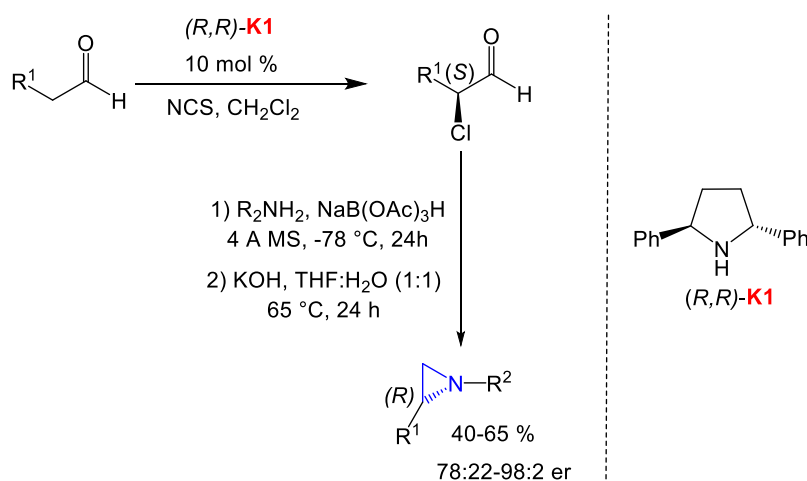
Shema 12. Wenkerova sinteza aziridina.

U nekoliko zadnjih desetljeća, razvijene su brojne metode za aktivaciju hidroksilnih skupina, među kojima se posebno ističe oksifosfonijeva aktivacija u Mitsunobu uvjetima. Riječ je o reakciji u kojoj se hidroksilna skupina aktivira uz pomoć dietil-azodikarboksilata (DEAD), bromida ili tetraklormetana te se potom u prisustvu trifenilfosfina prevodi u aziridin reakcijom intramolekulske ciklizacije (Shema 13).⁵⁵



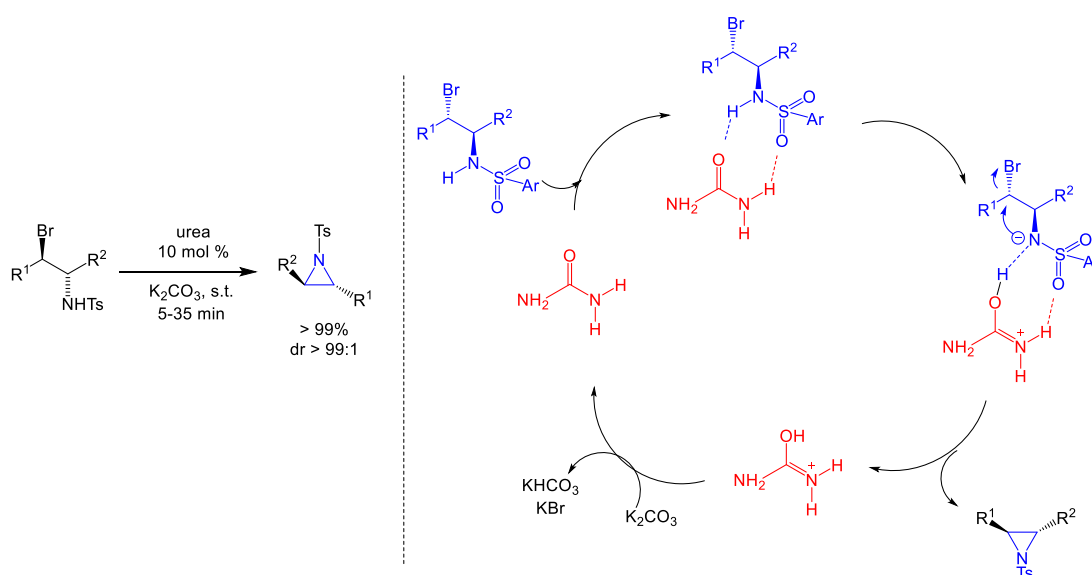
Shema 13. Aktivacija hidroksilne skupine u Mitsunobu uvjetima i priprava aziridina.

Lindsley i sur. su 2009. godine izvijestili o enantioselektivnoj sintezi *N*-alkilnih aziridina uz korištenje organokatalizatora (*R,R*)-**K1**, gdje je veliki broj strukturno različitih aziridina pripravljeno u iskorištenju od 51–75 % s visokom enantioselektivnošću (> 90 ee) (Shema 14). Razvijeni protokol sastoji se od tri koraka, koji opisuju enantioselektivno α -kloriranje aldehida, nakon čega slijedi reduktivna aminacija korištenjem primarnih amina, te na kraju bazno-inducirana ciklizacija.⁵⁶ Godinu dana kasnije, uspješno su proširili razvijenu metodologiju i za enantioselektivno α -fluoriranje aldehida, nakon čega u reakciji s primarnim aminima nastaju kiralni fluoramini od farmaceutskog značaja, koji se u uvjetima intramolekulske ciklizacije mogu transformirati u aziridine.⁵⁷



Shema 14. Priprava *N*-alkilnih aziridina korištenjem organokatalizatora.

Kako bi pridonijeli raznovrsnosti sintetskih pristupa optički aktivnim aziridinima, Wei i sur. razvili su postupak za jednostavnu i brzu metodu, kojom se produkti dobivaju u visokim prinosisima (> 99 %) i dijastereomernim viškovima ($d_v > 99:1$). Ova metodologija temelji se na reakciji intramolekulske ciklizacije, gdje se različiti 1,2-vicinalni haloamini izvedeni iz elektron-siromašnih olefina u prisustvu bezvodnog kalijevog karbonata te uz katalitičku količinu uree, primjenom mehanokemije, prevode u *N*-tosil-aziridine. Urea ima ulogu jakog donora i akceptora vodikove veze što pospješuje intramolekulsku ciklizaciju. Na temelju provedenih studija, predložen je mehanizam reakcije prikazan na shemi 15.⁵⁸

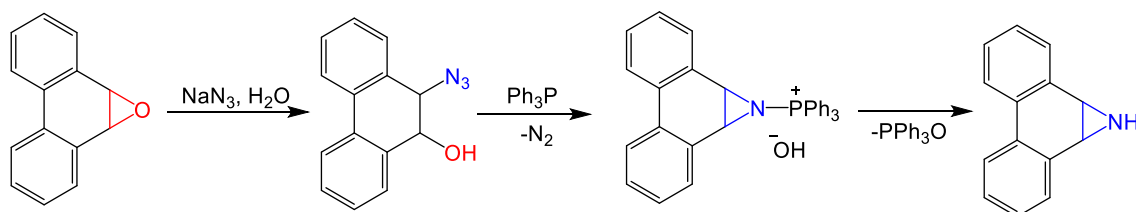


Shema 15. Priprava *N*-Ts-aziridina reakcijom intramolekulske ciklizacije katalizirane ureom.

Priprava aziridina iz epoksida od iznimne važnosti je za ovu doktorsku disertaciju. Epoksidi su kisikovi analozi aziridinima, te su i jedni i drugi iznimno korisni sintetski međuprodukti. Međutim, postoji neusporedivo veći broj metoda za pripravu epoksida, pa ne čudi ni činjenica na dostupnost velikog broja enantiomerno čistih epoksida.⁴⁹ Epoksidne molekule opisane su kao tročlani heterociklički spojevi s kisikom i tendencijom prema otvaranju prstena, odnosno pucanju C–O veze. Njihova zanimljiva elektrofilna reaktivnost prema različitim nukleofilima, stavila je fokus na istraživanja primjene epoksida kao međuprodukata sinteze racemičnih ili optički aktivnih aziridina.^{59,60}

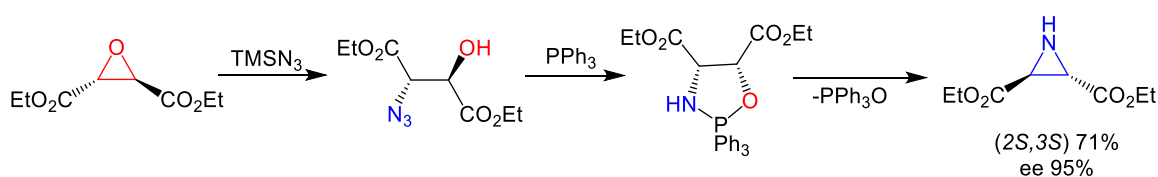
Najčešće korištena Staudingerova reakcija, u kojoj epoksidne strukture podliježu reakciji poznatoj kao azidoliza, gdje dolazi do nukleofilnog otvaranja prstena i nastanka smjese regioizomera zanimljivih struktura s azidnom funkcionalnom skupinom u β -položaju prema atomu kisika. Tako dobiveni 1,2-azidoalkoholi pokazuju različitu aktivnost s trifenilfosfinom te prelaze u oksazafosfolidin, iz kojeg nastaju aziridini termički potpomognutom ciklizacijom.^{61,62}

Na shemi 16 prikazana je jedna od prvih sinteza aziridina primjenom Staudingerove reakcije. Reakcija opisuje nukleofilno otvaranje epoksida u bicikličkoj strukturi korištenjem natrijevog azida u vodi. Zatim slijedi redukcija azidnog dijela molekule s trifenilfosfinom, pri čemu nastaje iminofosforan. Aziridin je dobiven preko oksafosfolidinskog međuprodukta, koji se termički induciranom ciklizacijom prevodi u konačan produkt.^{63,64}



Shema 16. Staudingerova aziridinacija.

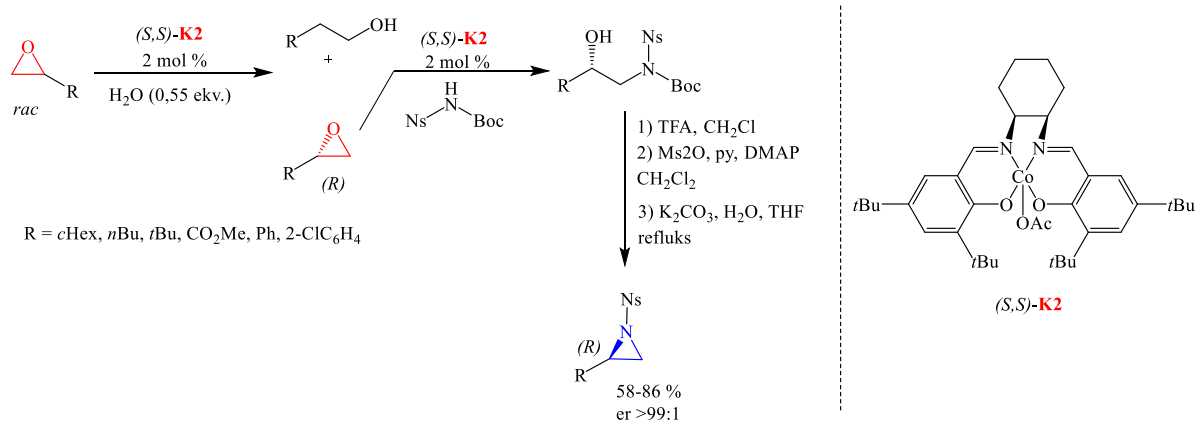
Na shemi 17 prikazan je drugi primjer Staudingerove sinteze aziridina-2,3-dikarboksilnog estera, koji je dobiven u dobrom iskorištenju i visoke enantioselektivnosti.⁶⁵



Shema 17. Staudingerova sinteza aziridina-2,3-dikarboksilnog estera.

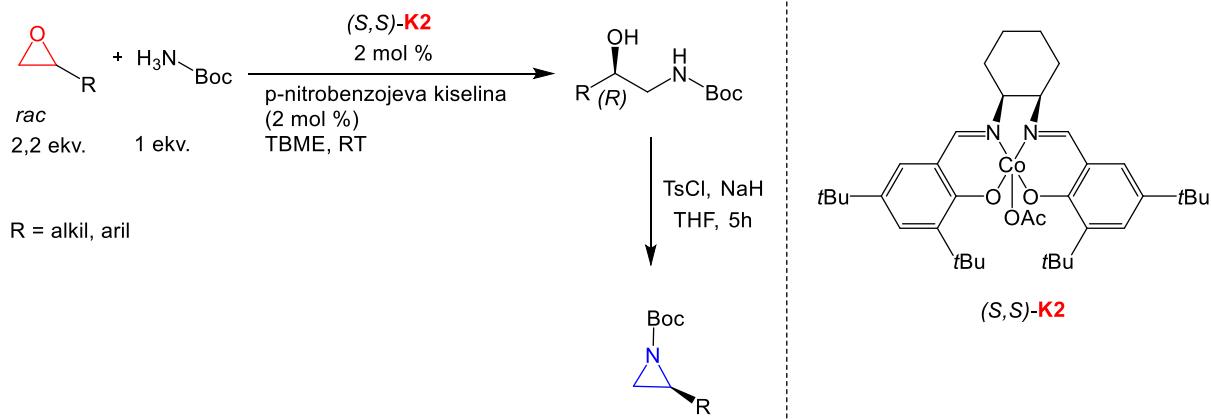
Svijest o visokoj reaktivnosti epoksidnih molekula prema različitim nukleofilima, pobudila je interes za proučavanjem i razvojem novih strategija za sintezu aziridina preko epoksidnih struktura.

Enantiomerno čisti aziridini mogu se dobiti i "indirektnom" kinetičkom rezolucijom iz racemičnih epoksida. Jacobsen i sur. su 2004. godine izvijestili o razvoju učinkovite metodologije, koja se temelji na kinetičkoj rezoluciji racemičnih epoksida korištenjem karbamata kao nukleofila i Co^{III} Salen katalitičkog kompleksa (*S,S*-**K2**). Sintetska strategija opisuje neusklađeno otvaranje enantiomera epoksida, što dovodi do pripreve enantiomerno obogaćenih 1,2-aminoalkohola, koji se potom transformiraju u *N*-sulfonil-aziridine. Neizreagirani (*R*)-enantiomer izoliran je, te potom podvrgnut reakciji s karbamatom i opisanim katalizatorom, uz prethodno aktiviranu hidroksilnu skupinu i bazno-potpomognutu intramolekulsku ciklizaciju (shema 18).⁶⁶



Shema 18. Priprava *N*-sulfonil-aziridina primjenom metode kinetičke rezolucije.

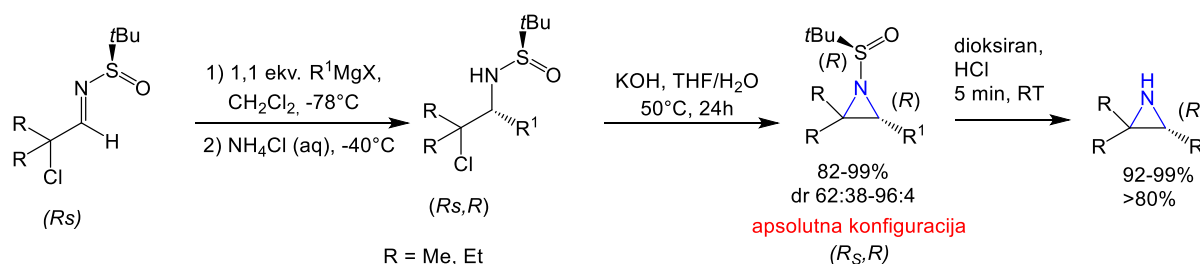
Bartoli i suradnici, uspješno su proširili razvijeni protokol na dobivanje enantiomerno obogaćenih *N*-Boc-aziridina primjenom stereoselektivne aminolitičke kinetičke rezolucije (shema 19). Proces se temelji na kinetičkoj rezoluciji terminalnih epoksida u prisustvu vode kao nukleofila i (*S,S*)-katalitičkog kompleksa–**K2**, pri čemu dolazi do otvaranja prstena (*S*)-enantiomera terminalnog epoksida. Neizreagirani (*R*)-enatiomer podvrgnut je nukleofilnom napadu *N*-Boc-karbamata u svrhu pripreme enantiomerno obogaćenih *N*-Boc-zaštićenih aminoalkohola, koji se u nastavku reakcijom intramolekulske ciklizacije, uz prethodnu aktivacije hidroksilne skupine, transformiraju u *N*-Boc-aziridine u dobrom prinosu i visoke enantiomerne čistoće.⁶⁷



Shema 19. Priprava enantiomerno obogaćenih *N*-Boc-aziridina primjenom aminolitičke kinetičke rezolucije.

Osim navedenih metoda koje koriste epoksidge kao polazne spojeve, postoji još mnoštvo drugih koji koriste akiralne ili kiralne prekursore poput aminoalkohola, hidroksikiselina, imina te

vicinalnih diola, koji se u nekoliko sintetskih koraka prevode u aziridine. Jedan od zanimljivih pristupa sintezi enantiomerno obogaćenih aziridina, razvili su David i sur.⁶⁸ te Ellman.⁶⁹ Riječ je o diastereoselektivnoj adiciji organometalnog reagensa na *N*-sulfinil-imine. Nedavno, De Kimpe i sur.⁷⁰ objavili su rad u kojem su opisali adiciju Grignardevog reagensa na α -halo-*N*-sulfinil-aldimine, koji su u nastavku podvrgnuti bazno-induciranoj ciklizaciji i deprotekciji u svrhu pripreme NH-aziridina (Shema 20). Godinu dana kasnije, autori su razvijenu strategiju primjenili i za pripravu NH-aziridina iz odgovarajućih kiralnih ketimina.⁷¹



Shema 20. Dijastereoselektivna adicija organometalnog reagensa na *N*-sulfinil-imine, te potom bazno-inducirana intramolekulska ciklizacija.

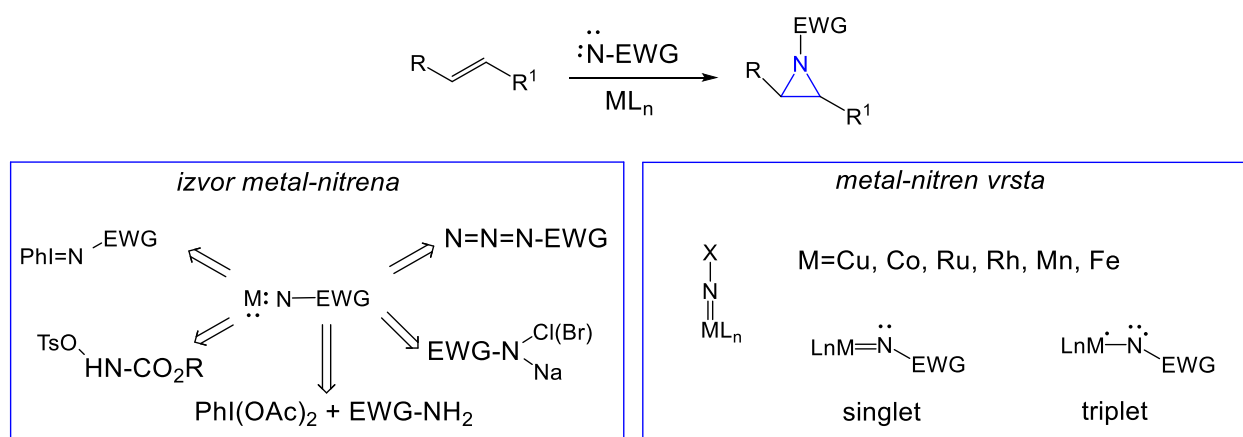
2.1.4.2. Sinteza aziridina transferom dušika na olefine (**B**)

Zbog dostupnosti velikog broja olefina, prijenos dušika na olefine posebno je privlačna strategija za pripravu strukturno različitih aziridina. Postoje dvije općenite metode adicije nitrena ili nitrenoida na olefine, koje uključuju jedno- ili dvo-stupanjski proces. Nitreni ili metalonitreni reagiraju s alkenima u jednom stupnju direktnom aziridacijom, dok nemetalni nitrenoidi reagiraju obično kroz adicijsko-eliminacijski mehanizam.⁷² U ovom dijelu razmotrit će se dva pristupa sintezi optički aktivnih aziridina, koja se razlikuju po načinu na koji se generira aktivna nitrenska vrsta.⁵⁰

- a) Adicija metal-nitrena na olefin
- b) Generiranje nitrena oksidacijom *N*-aminoimida

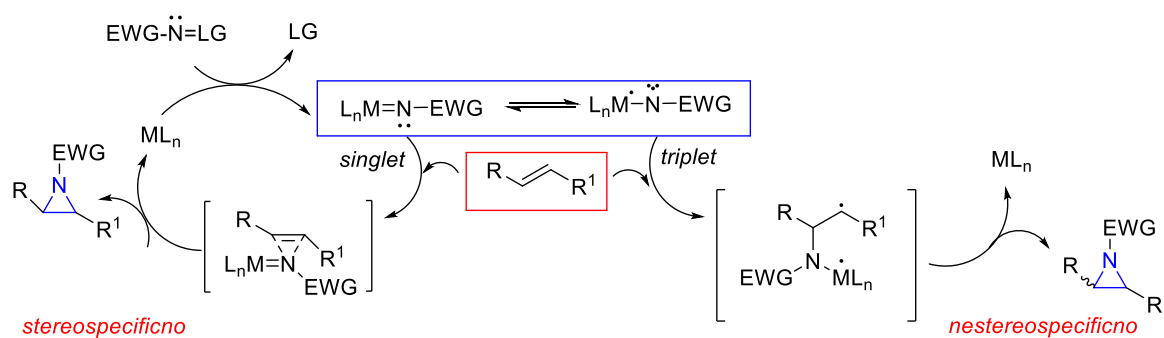
a) Adicija metal-nitrena na olefin

Nitreni su vrlo reaktivne vrste u kojima dušikov atom nosi jednu elektron-odvlačeću skupinu i dva nesparena elektrona. Mogu biti generirani iz različitih "nitrenskih izvora" kao što su arilazidi, sulfonil-azidi, iminoiodinani, haloamini i tosiloksi karbamati (Shema 21). Aziridinacija se često provodi u prisustvu liganda (porfirin, bisooksazolin, acetilaceton, imin, diimin) te katalitičke količine metala skupine **7-11**.⁵⁰



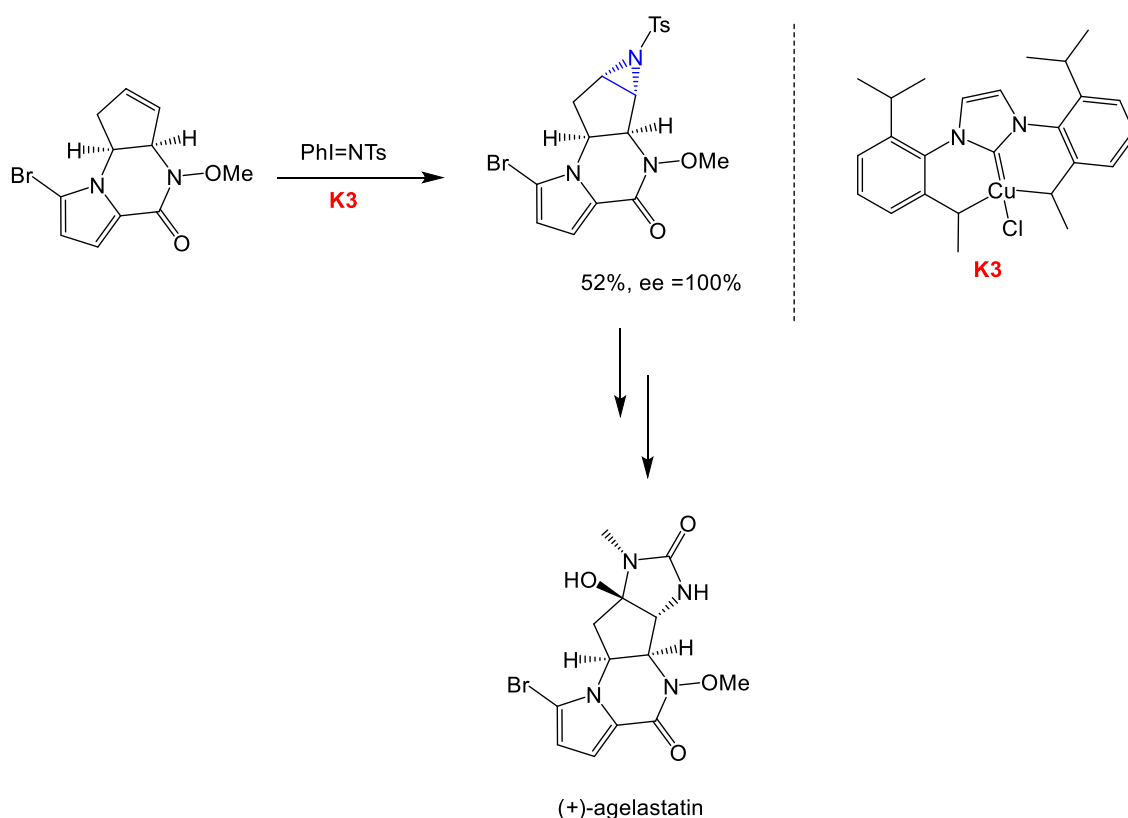
Shema 21. Adicija metal-nitrena na olefin.

Metal-nitren ili metalni nitrenoid, intermedijeri su koji igraju važnu ulogu u katalitičkom prijenosu dušikova atoma na olefin. Međutim, postoji još uvijek neizvjesnost u mehanizmu ovih reakcija i prirodi aktivne vrste koja je uključena. Uvidom u strukturu elektrofilnog metal-nitren intermedijera, predložen je mehanizam metal-nitren aziridinacije, koja se odvija u jednom stupnju, tzv. direktnom aziridinacijom. Multiplicitet (singlet ili triplet) nitrenske vrste važni su parametri sa stereokemijskog aspekta. Singletni nitreni reagiraju stereospecifično, usklađenim mehanizmom, zadržavajući prostorni odnos skupina kao kod polaznog olefina. Za razliku od njih, tripletni nitreni ne reagiraju stereospecifično jer kao međuprodukt nastaje biradikal, kod kojeg je moguća rotacija oko C–C veze (Shema 22).⁷³



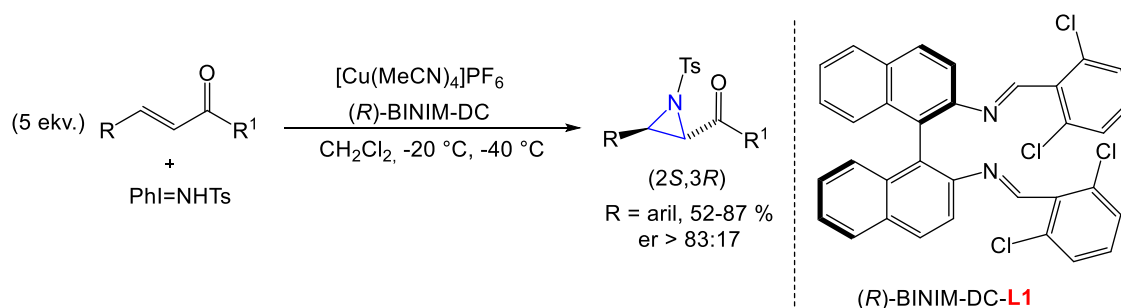
Shema 22. Stereospecifična adicija singletnog nitrena i nestereospecifična adicija tripletnog nitrena.

Široko je rasprostranjena upotreba nitren vrste iz sulfonil-iminoiodinana poput $\text{PhI}=\text{NTs}$ i $\text{PhI}=\text{NNs}$, koji mogu biti jednostavno generirani iz sulfonil-amida. Nedostatak njihove upotrebe leži u uklanjanju *N*-sulfonilne skupine u žestokim reakcijskim uvjetima, u uvjetima u kojima aziridinski prsten nije stabilan, također i potreba za izolacijom nitrenskog prekursora. Među prvima, koji su započeli sintezu aziridinskih motiva primjenom ove metodologije, bili su Evans i sur.,⁷⁴ koji su 1993. godine objavili prvu stereoselektivnu aziridaciju alkena korištenjem $\text{PhI}=\text{NTs}$ uz katalizu bakrom. Gotovo istovremeno s Evansovom grupom, Jacobsen i sur.⁷⁵ opisali su upotrebu kiralnih 1,2-diiminskih derivata u kombinaciji s bakrovim triflatom kao katalizatorom. Razvijena metodologija uspješno je primjenjena u totalnoj sintezi bioaktivnih molekula, kao što je primjerice (+)-agelastatin A (Shema 23), koji posjeduje nanomolarnu aktivnost protiv nekoliko staničnih linija raka te inhibira glikogen sintazu kinazu-3 β .⁷²



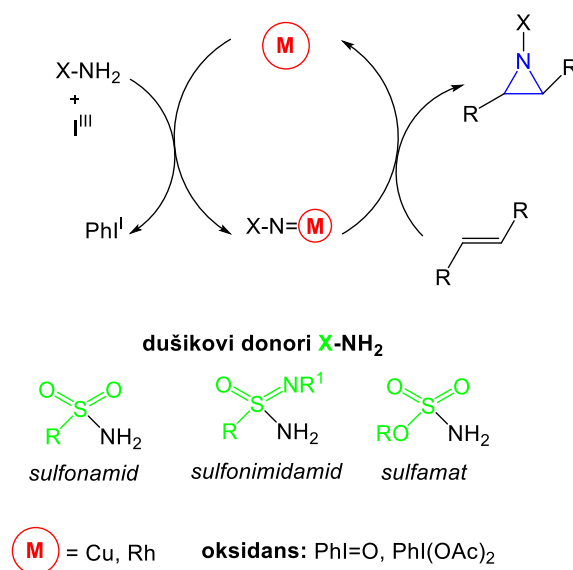
Shema 23. Totalna sinteza (+)-agelastatina primjenom Evansonove i Jacobsonove metodologije.

Suga i sur.,⁷⁶ razvili su protokol za enantioselectivnu aziridnaciju *trans*-cinamil-estera i halkona u prisustvu katalitičkog sustava, koji se sastoji od (*R*)-BINIM-DC-**L1** kiralnog liganda i $[\text{Cu}(\text{MeCN})_4]\text{PF}_6$ kao izvora bakrovih iona (Shema 24). Autori su objavili da reakcijski uvjeti poput temperature i otapala utječu na enantioselectivnost reakcije. Najbolji rezultat postignut je pri $-40\text{ }^\circ\text{C}$ u diklormetanu kao otapalu.



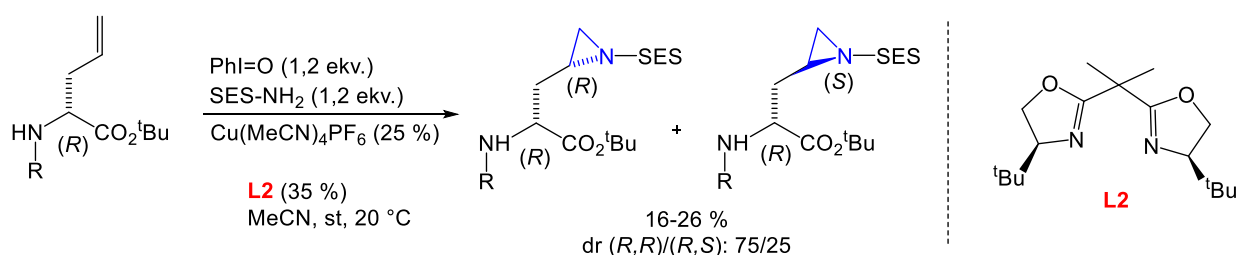
Shema 24. Priprava *N*-Ts-aziridina adicijom nitrena na olefin u prisustvu katalitičkog sustava (*R*)-BINIM-DC-Cu.

Glavni nedostatak opisanih metoda potreba je za prethodnom pripravom i izolacijom imidojodinana, koji su u većini slučajeva eksplozivni i nestabilni. Kako bi se riješio problem, razvijene su metode koje omogućuju *in situ* generiranje imidojodinana. Na shemi 25 prikazan je proces u kojem se aktivne vrste metal-nitren generiraju oksidacijom amina s viševalentnim jodnim reagensom. Sulfonamidi, sulfonimidamidi i sulfamati predstavljaju korisne dušikove donore u prisustvu oksidansa.⁵⁰



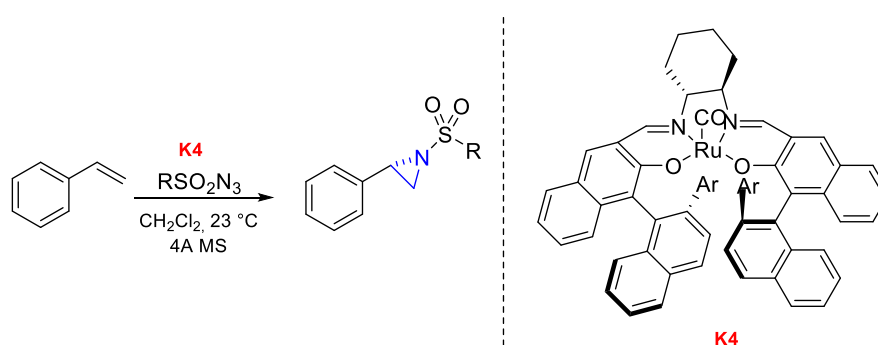
Shema 25. Proces generiranja metal-nitren vrste iz odgovarajućih amina u prisustvu oksidansa.

Dauban i sur. izvijestili su o upotrebi 2-trimetilsililetansulfonamida (SES-NH₂) kao dušikovog donora u enantioselektivnoj aziridaciji (*R*)- α -alilglicin-derivata u prisustvu bakrovog katalitičkog sustava (Shema 26). Reakcija je provedena uz Cu(MeCN)₄PF₆ kao izvor bakra i PhI=O kao oksidans za generiranje metal-nitren prekursora iz Ses-NH₂. Reakcija je provedena uz lošu konverziju i skromnu diastereoselektivnost.⁷⁷



Shema 26. Dijastereoselektivna Cu-katalizirana aziridacija (*R*)- α -alilglicin-derivata u prisustvu oksidansa.

Organski azidi predstavljaju korisne dušikove izvore za C–H aminaciju i aziridinacijske reakcije. Aril-azidi mogu se lako pripremiti iz amina i kompatibilni su s različitim funkcijskim skupinama. Također, predstavljaju idealne metal-nitren prekursore u pogledu atomske učinkovitosti i održivosti. Nedostatak njihove upotrebe sinteza je u nekoliko sintetskih koraka, slabija reaktivnost azidnog iona, što za posljedicu ima upotrebu žestokih uvjeta poput zagrijavanja ili UV ozračivanja.⁵⁰ Prve radove u ovom području objavili su Jacobsen i sur.⁷⁸ koji su opisali stereoselektivnu aziridiniciju uz korištenje tosil-azida u prisustvu kiralnog Cu-diimina. Iako je kataliza bakrovim katalitičkim sustavima najbolje istražena, do danas su razvijeni i drugi različiti katalizatori koji osim bakra koriste i druge metale poput rodija, mangana, kobalta i rutenija, u različitim oksidacijskim stanjima. Primjer takve reakcije objavili su Muller i sur.,^{79,80} koja uključuje aziridiniciju olefina uz korištenje nosil-azida i katalizu kiralnim Rh-bisnaftol-fosfatnim kompleksom. U obje reakcije, obavezna je upotreba UV zračenja. Značajan napredak postigli su Katsuki i sur.,⁸¹ koji su razvili katalitički kompleks Ru-salen-(CO)–**K4**, koji se pokazao vrlo učinkovitim u stereoselektivnim aziridinicijama stirena sa sulfonil-azidom (Shema 27).

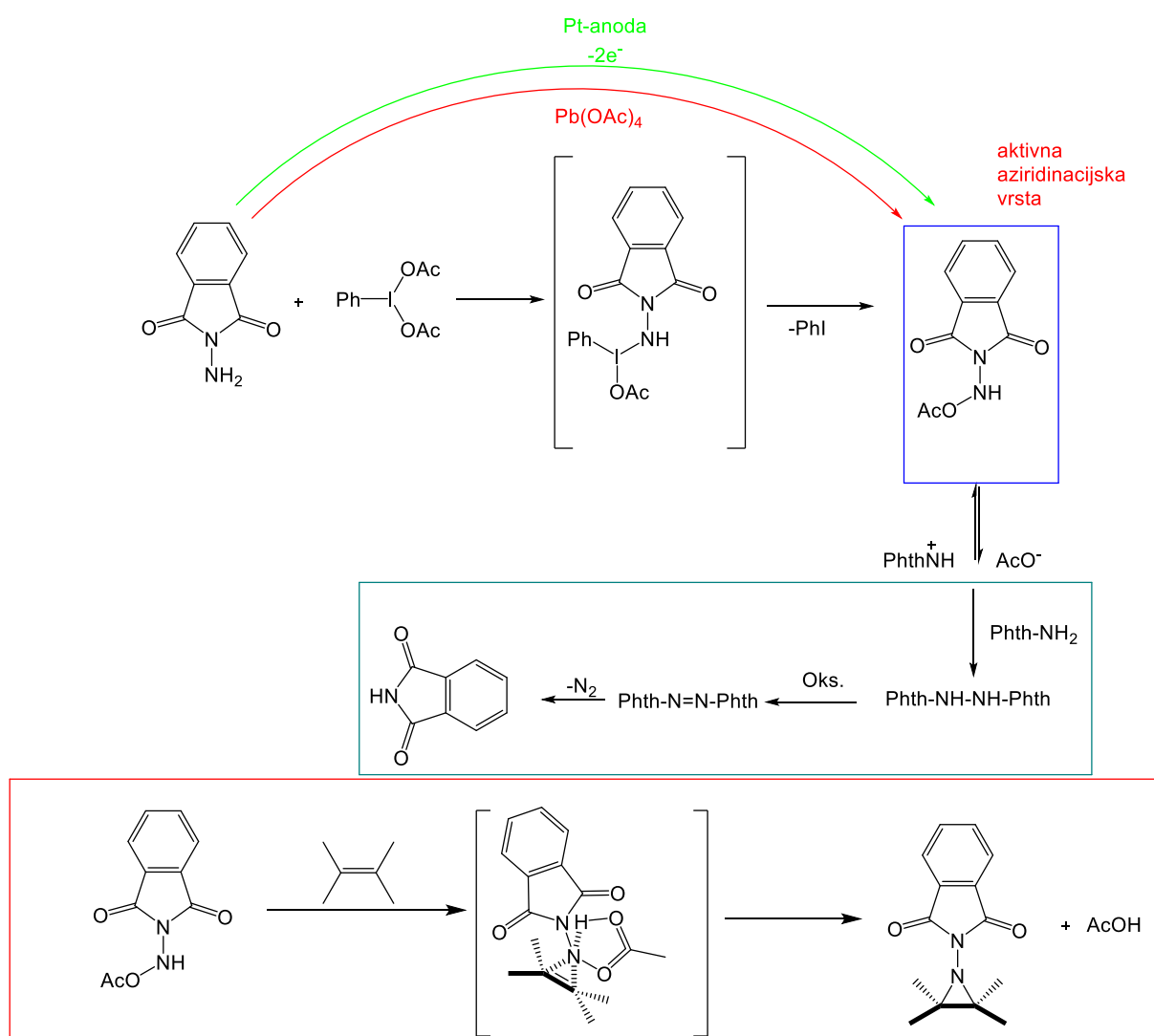


Shema 27. Stereoselektivna aziridinicija stirena uz Ru-katalitički sustav.

b) Dušikovi izvori generirani oksidacijom *N*-aminoimida

N-aminoftalimidi mogu se koristiti kao izvor nitrena za upotrebu u stereoselektivnoj aziridiniciji olefina. Mehanizam ovih reakcija proučavali su Atkinson,^{82,83} Chan⁸⁴ i Yudin,⁸⁵ koji su izvijestili da je *N*-acetoksiaminoftalimid aktivna aziridinijska vrsta. Međutim, kao aktivna vrsta može biti generirana iz *N*-aminoftalimida u prisustvu kemijskog oksidansa ($\text{Pb}(\text{OAc})_4$) ili elektrokemijski (Shema 28). U nastavku, Yudin i sur. izvijestili su da se aktivna

nitrenska vrsta može generirati korištenjem i manje toksičnog kemijskog oksidansa $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (PIDA).⁵⁰ Protokol elektrokemijske aziridacije omogućuje pristup sintezi različitih strukturnih aziridina u odličnom iskorištenju. Acetatni ion u reakciji ima ulogu da spriječi dimerizaciju ftalimida, koja bi ujedno dovela do zaustavljanja reakcije aziridacije u nedostatku aktivne nitrenske vrste. Također je uočeno da koncentracija acetatnog iona diktira iskorištenje reakcije aziridacije. U odnosu na elektrokemijsku aziridaciju, kemijski proces uz primjenu PIDA-a ima nekoliko prednosti. Uz to što ne zahtjeva dodatnu laboratorijsku opremu, postupak reakcije je jednostavan i pristupačan. Jedini nusprodukt reakcije je jodbenzen, koji se lako uklanja iz reakcijske smjese i ne predstavlja opasnost za druge funkcijske skupine. Također, primjećeno je da se aktivna vrsta generira iz *N*-aminoftalimida i PIDA u nedostatku metalnih aditiva.⁸⁵



Shema 28. Generiranje aktivnih nitrenskih vrsta primjenom oksidansa ili elektrokemijski.⁵⁰

2.1.4.3. Sinteza aziridina adicijom karbena ili karbenoida na imine (C)

Za razliku od adicije nitrena na olefin, gdje dolazi do nastanka dviju C–N veza, adicijom karbena ili karbenoida na imine, nastaju jedna C–N veza, te druga C–C veza. U ovom području, aziridini se mogu pripremiti na više načina: **a)** reakcije imina s karbenima, **b)** aza-Darzensenova reakcija i **c)** reakcije imina s ilidima.

Za ovu doktorsku disertaciju od posebnog značaja je priprava aziridina adicijom ilida, izvedenih iz sulfonijevih soli, na dvostruku vezu C=N odgovarajućih imina.

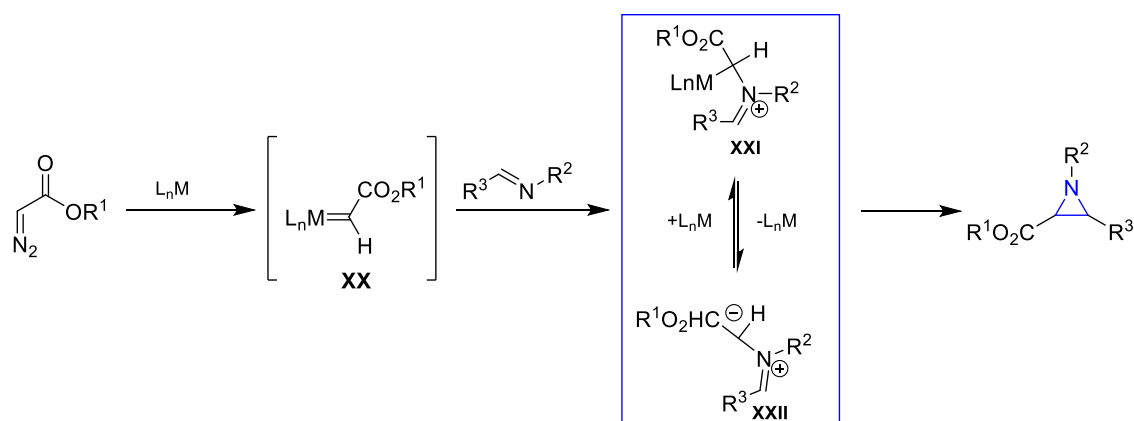
a) Reakcije imina s karbenima

Sinteza 2,3-disupstituiranih aziridina iz imina i diazo spojeva vrlo je zanimljiva strategija koja se uspješno razvija već nekoliko desetljeća. Ovaj proces može se odvijati kroz dva različita mehanizma: **aa)** adicija karbena na imin u prisustvu metalnog katalizatora, **ab)** direktna aziridacija diazo spojeva s Lewisovim ili Brønstedovim kiseloo-aktiviranim iminima.⁵⁰

aa) adicije karbena na imin u prisustvu metalnog katalizatora

Adicija metalnog karbena generiranog iz diazo spoja na imin, u prisustvu bakrovog ili rodijevog katalizatora, opisana je u literaturi.⁵⁰ Prve stereoselektivne sinteze aziridina primjenom karben–imin metodologije, objavili su Jacobsen⁸⁶ i Jørgensen.⁸⁷ Razvijene metodologije, temelje se na reakciji imina i etil-diazoacetata (EDC), uz katalizu bakrovim solima u prisustvu kiralnih bisoksazolinskih liganada. Aziridini su dobiveni u rasponu iskorištenja 10–90 %, dobre dijastereoselektivnosti (dr (*cis/trans*) > 10:1) u korist *cis* izomera, dok je enantioselektivnost bila niska u mnogim slučajevima (< 44 % ee). Isti proces proveden je i s rodijevim acetatom i drugim rodijevim kompleksima, ali uz nezadovoljavajuće rezultate.⁸⁸

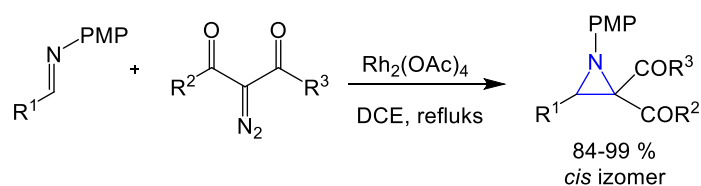
Mehanističke studije pokazale su da se reakcija odvija u tri koraka. U prvom koraku reakcijom između metala i diazo spoja nastaje metal–karben kompleks **XX**, koji se adira na dvostruku vezu C=N uz formiranje međuprodukta, azometan–ilida **XXI,XXII**, koji se reakcijom intramolekulske ciklizacije prevodi u aziridin. Enantioselektivnost reakcije uvedena je u koraku u kojem ligand koordinira s metalnim centrom (Shema 29).⁵⁰



Shema 29. Mehanizam adicije karbena na imin katalizirane metalom.

2003. godine, Tilley i sur. opisali su upotrebu novog katalizatora. Za razliku od tradicionalnih katalizatora za transfer karbena, novi katalizator sastoji se od monomernog Rh-(II)-kompleksa s bisoksazolinskim ligandima. Rodijem katalizirane reakcije serije *N*-aril-imina s EDA u tetrahidrofuranu dale su odgovarajuće aziridine u rasponu iskorištenja 10–73 %, uz varijabilnu dijastereoselektivnost i nisku enantioselektivnost.⁸⁹

Zhang i sur. izvijestili su o dijastereoselektivnoj sintezi visoko funkcionaliziranih aziridina iz raznovrsnih derivata diazoacetata i *N*-*para*-metoksifenil-imina, izvedenih iz aromatskih aldehida (Shema 30). Provedena je optimizacija metalnog katalizatora te je dokazano da najbolji izbor pripada di-rodijevom tetraacetatu. Riječ je o visoko učinkovitom katalizatoru za enantiokontrolu u metal–karben transformacijama.⁹⁰



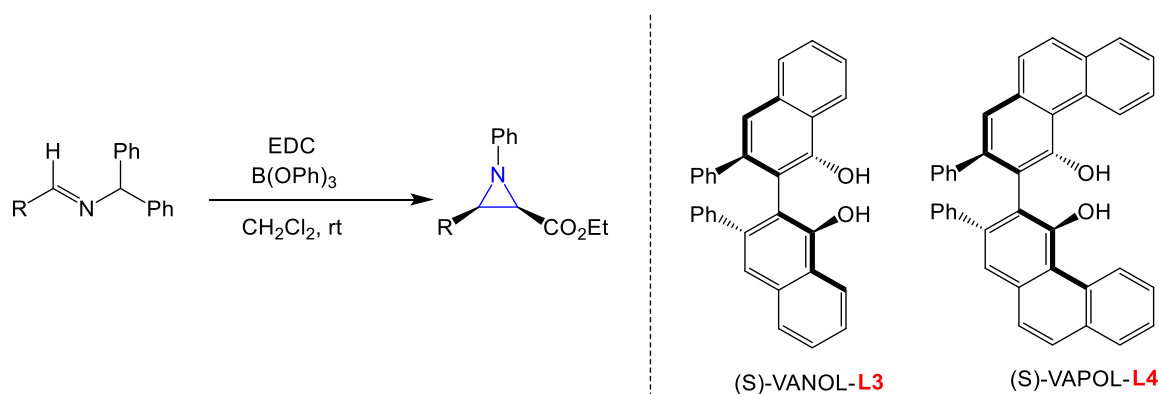
Shema 30. Dijastereoselektivna sinteza aziridina primjenom metal–karben metodologije.

Unatoč napretcima ostvarenima u ovom području, stereoselektivne transformacije koje dovode do ciljnih aziridinskih struktura, još uvijek predstavljaju najveći izazov s gledišta iskorištenja i enantioselektivnosti reakcije.

ab) direktna aziridinacija diazo spojeva s Lewisovim ili Brønstedovim kiselo aktiviranim iminima

Lewisove/Brønstedove kiseline u osnovi su organokatalizatori. Njihova donorska svojstva u interakciji sa supstratom ili strukturom u prijelaznom stanju omogućuju kataliziranje različitih procesa.⁹¹ Aktivacija supstrata temelji se na nekovalentnim interakcijama koje se javljaju između supstrata i katalizatora. U odnosu na kovalentne veze, nekovalentne interakcije (elektrostatske interakcije, vodikova veza) su slabije, kratkog dometa i manje su usmjerene. Aktivacija može biti ostvarena preko ionskog para supstrat–katalizator ili odgovarajućeg kompleksa.⁹²

U ovom području, Antila i Wulf^{93,94} razvili su najučinkovitiji i sintetski najkorisniji pristup sintezi aziridina iz imina i diazo spojeva. Razvijena metodologija uključuje aziridinaciju *N*-difenilmetilimina s etil-diazoacetatom u prisustvu VAPOL-BH₃ katalizatora pripremljenog iz trifenilborata i kiralnog biaril-liganda VAPOL ili VANOL. Reakcijom su dobiveni aziridini visoke *cis* dijastereoselektivnosti i enantiomerne čistoće 90 % ee. U nastavku je provedena optimizacija Lewisove kiseline za reakciju, pri čemu je utvrđeno da se najbolji rezultati postižu kombinacijom trifenilborata s VANOL–**L3** i VAPOL–**L4** ligandima (Shema 31).

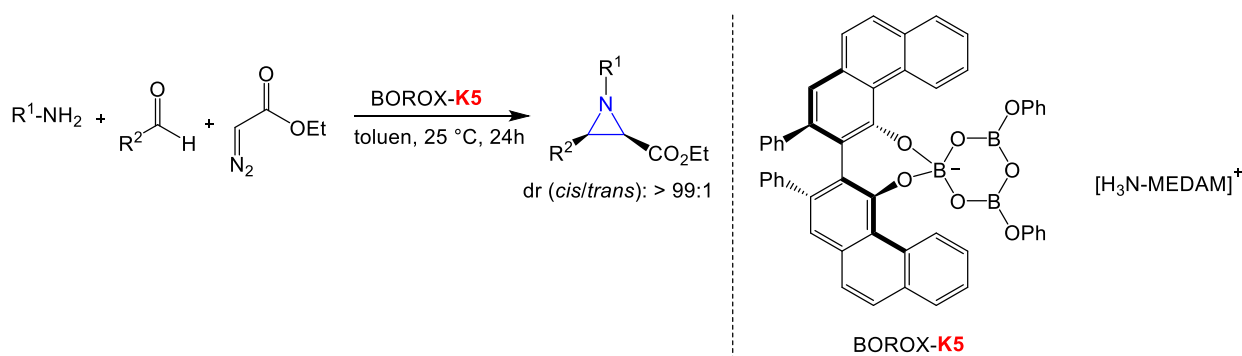


Shema 31. Wulfova katalitička stereoselektivna sinteza aziridina.

Mehanističke studije opisuju adiciju diazo spojeva na aktivirane imine, pri čemu nastaje α -diazonium- β -amino-karbonilni međuprodukt, koji intramolekulskom supstitucijom daje aziridin. Proučavanjem kinetičkog izotopnog efekta dokazano je da stvaranje C–N veze predstavlja odlučujući korak koji određuje dijastereoselektivnost i enantioselektivnost reakcije.⁹⁵ Prilikom adicije nukleofila u prisutnosti kiralnog liganda (ili drugog izvora

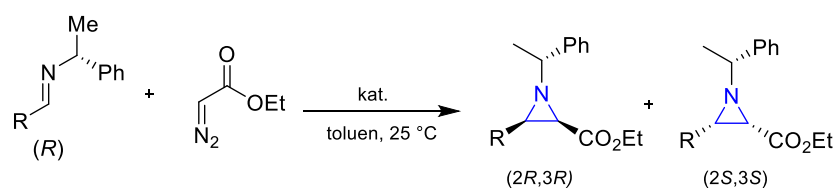
kiralnosti), vrlo je vjerojatno da preferencije za adiciju na *Si* i *Re* prokiralnu stranu elektrofila nisu jednake. Kiralni ligand može pokazati sklonost formiranju interakcijskog kompleksa s jednom od mogućih orijentacija prokiralnog supstrata, čineći jednu od prokiralnih strana podložnijom nukleofilnom napadu. U ovom slučaju, postoje četiri moguće kombinacije (*Si-Si*, *Si-Re*, *Re-Re*, *Re-Si*) iz kojih nakon zatvaranja prstena mogu nastati četiri stereoisomera.

Kako bi smanjili broj sintetskih koraka, Wulf i sur.^{96,97} razvili su prvu višekomponentnu katalitičku stereoselektivnu aziridiniciju za pripremu aziridin-2-karboksilnog estera visoke enantioselektivnosti i diastereoselektivnosti (Shema 32). U reakciji sudjeluje aldehid, amin i diazo spoj u prisustvu kiralnog poliboratnog anionskog katalizatora, koji je generiran *in situ* iz biaril-liganda i B(OPh)₃ uz pomoćaminskog supstrata. Kako bi provjerili učinkovitost razvijene metode, ispitali su mogućnost upotrebe VANOL-**L3**, VAPOL-**L4** i *t*-Bu₂VANOL-BOROX-**K5** katalizatora u prisustvu amina u reakcijama sa raznovrsnim aldehydima. Na temelju dobivenih rezultata, uočeno je da sva tri opisana liganda pokazuju visoku stereoselektivnu indukciju u reakcijama s arenkarbaldehydima, dok su viša iskorištenja reakcija zabilježena upotrebom supstituiranih liganda (*t*-Bu₂VANOL-BOROX) u reakcijama s alifatskim aldehydima.



Shema 32. Wulfova višekomponentna stereoselektivna sinteza aziridina.

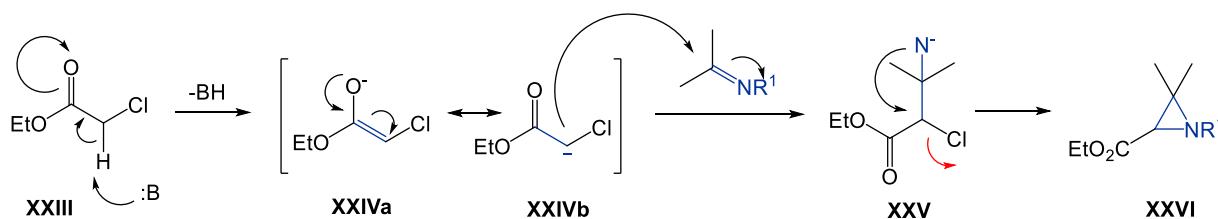
2012. godine Wulf i sur.⁹⁸ objavili su jedan primjer reakcije, u kojoj se koristi (*R*)-kiralni imin u kombinaciji s kiralnim ligandom (*S*)-VANOL ili (*R*)-VANOL ili VAPOL s ciljem poboljšanja stereoselektivne indukcije (Shema 33).



Shema 33. Wulfova stereoselektivna sinteza aziridina primjenom dvostruke stereodiferencijacije.

b) Aza-Darzensova reakcija

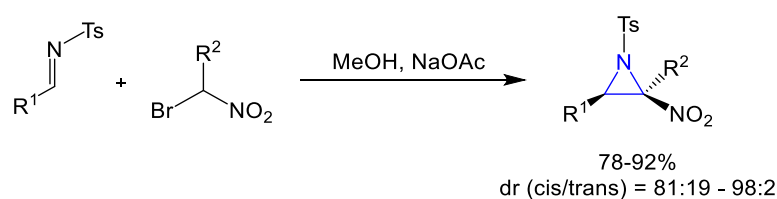
Jedna od najstarijih i najvažnijih metoda za pripremu aziridina jest aza-Darzensova reakcija. Riječ je o opće poznatoj kondenzacijskoj reakciji pripreve aziridina iz odgovarajućih imina i α -haloenolata u prisustvu baze.⁵⁰ Mehanizam reakcije predložio je organski kemičar Auguste Georges Darzens davne 1904. godine.⁹⁹ Na shemi 34, prikazan je mehanizam reakcije, koji započinje odcjepljenjem protona na α -ugljikovom atomu **XXIII** jakim bazom. Cijepanjem protona dolazi do nastanka rezonantno-stabiliziranog enolata **XXIVa**,**XXIVb**, koji nosi ulogu nukleofila u sljedećem koraku reakcije, intramolekularne S_N2 supstitucije. Pucanjem veze između halogenida i atoma ugljika **XXV** dolazi do nukleofilnog napada dušikova atoma te formiranja aziridinskog prstena **XXVI**.¹⁰⁰



Shema 34. Mehanizam aza-Darzensove reakcije.

Stereoselektivna varijanta aza-Darzensove reakcije može se postići pomoćnim kiralnim sredstvom koje može biti dio ili imina ili enolnog aniona, ali i sintezom iz optički aktivnih imina ili enolata.⁵⁰

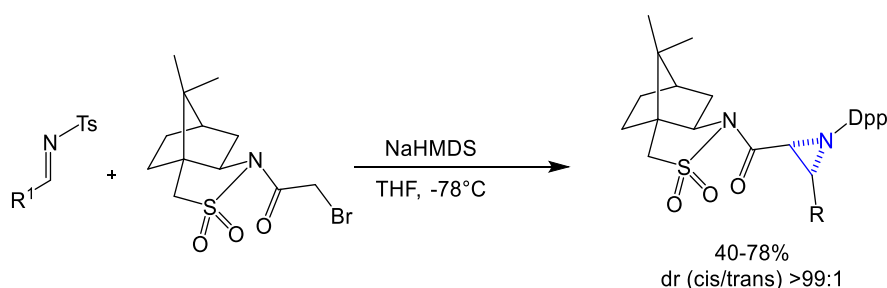
Yadav i sur.¹⁰¹ objavili su prvi primjer dijastereoselektivne nitroaziridacije u kojoj sudjeluju *N*-tosil-aldimin i 1-bromnitroalkan (Shema 35). Metanol i natrijev acetat pokazali su se najboljim izborom otapalo/baza. Pripravljene su aziridini u rasponu iskorištenja 78 – 92 % dobre dijastereoselektivnosti (dr (*cis/trans*) = 81:19–98:2).



Shema 35. Yadavova dijastereoselektivna sinteza aziridina.

Davis i sur.^{102,103} izvijestili su primjer aza-Darzensove reakcije primjenom strategije kiralnog imina, pri čemu su koristili enantiomerno čisti *N*-(benziliden)-toluensulfinil u reakciji s bromenolatima. U reakciji su dobiveni aziridin-2-karboksilati u dobrom iskorištenju i visoke dijastereoselektivnosti.

Primjer reakcije koja umjesto kiralnog imina koristi kiralni enolat dao je Sweeney i sur (Shema 36).¹⁰⁴ U reakciji sudjeluju različito supstituirani *N*-difenilfosfinil-imini (Dpp) i kiralni 2-(*R*)-*N*-bromacetilkamforsultam, pri čemu su pripremljeni *cis* aziridini u rasponu iskorištenja 40–78 % visoke dijastereoselektivnosti u korist *cis* izomera. Uvidom u apsolutnu konfiguraciju, predloženo je da se reakcija odvija kroz *sin*-selektivnu aza-aldolnu reakciju, koja uključuje nukleofilni napad *Si*-strane enolatnog iona na *Si*-stranu prokiralnog imina.



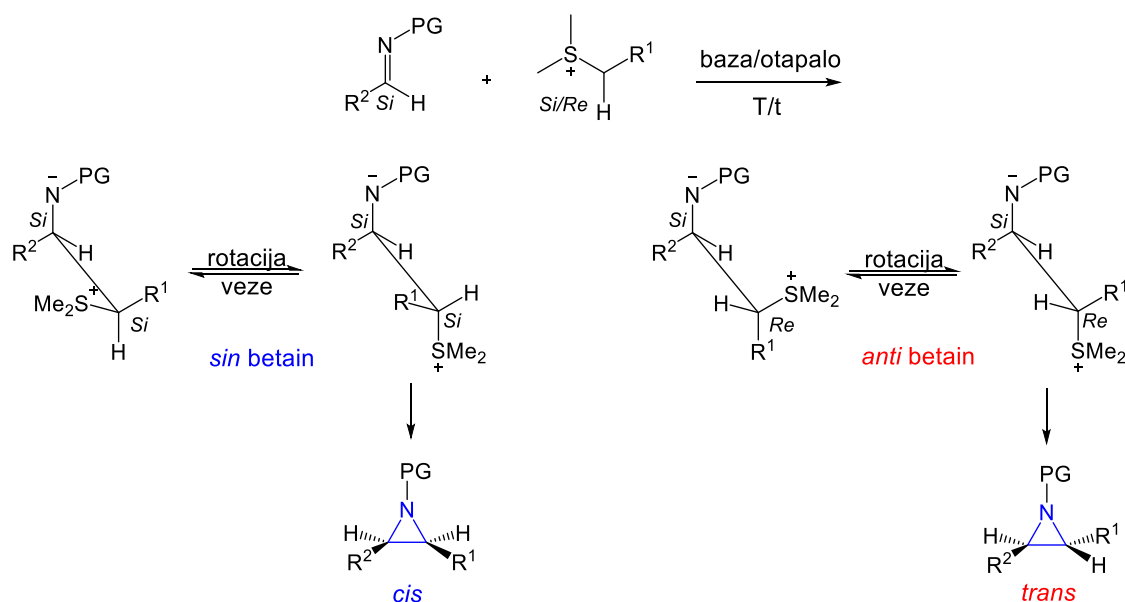
Shema 36. Stereoselektivna Sweeneyeva reakcija upotrebom kiralnog enolata.

c) Adicija ilida na imine (aza-Johnson Corey Chaykovsky reakcija)

Kao alternativa adiciji karbena na imin, razvijena je metoda za sintezu racemičnih ili optičkih aktivnih jednostavnih i/ili složenih molekula aziridina, polazeći iz aktiviranih imina i sumporovih ilida.⁵⁰ Interes za razvojem ove sintetske metode pobudio je organski kemičar A. William Johnson, koji je davne 1958. godine, pomoću 9-dimetilsulfonijevog fluorida, generirao sumporov ilid te u reakciji s aldehidom (4-nitrobenzaldehyd) priredio epoksid u samo jednom

sintetskom koraku. Nekoliko godina poslije, Elias James Corey i Michael Chaykovsky opisali su novu sintetsku metodologiju, u kojoj su istaknuli važnost sumpornih ilida kao vrlo reaktivnih nukleofila u reakcijama s različitim elektrofilima. Johnson Corey Chaykovsky reakcija široko je primjenjiva u sintezi racemičnih ili optički aktivnih epoksida, ciklopropana i aziridina.^{105,106}

Opće prihvaćeni mehanizam reakcije uključuje tri koraka: adiciju, rotaciju veze te intramolekulsku ciklizaciju (eliminaciju). U prvom koraku, adicija ilida na imin, može dovesti do stvaranja dva diastereoizomerna betaina *sin* i *anti*, i on je često stereoselektivni odlučujući korak. Budući da u ovom koraku mogu biti uključene *Si* i *Re* strane imina i ilida, moguća su četiri nukleofilno-adicijska ishoda (*Si-Si*, *Si-Re*, *Re-Si*, *Re-Re*). *Si-Si* (*Re-Re*) vode do *sin* betaina, dok *Si-Re* (*Re-Si*) vode do *trans* betaina. U svakom slučaju, *cisoidno* prijelazno stanje daje *gauche* betaine, dok *transoidno* prijelazno stanje proizvodi *trans* betain (Shema 37).⁵⁰



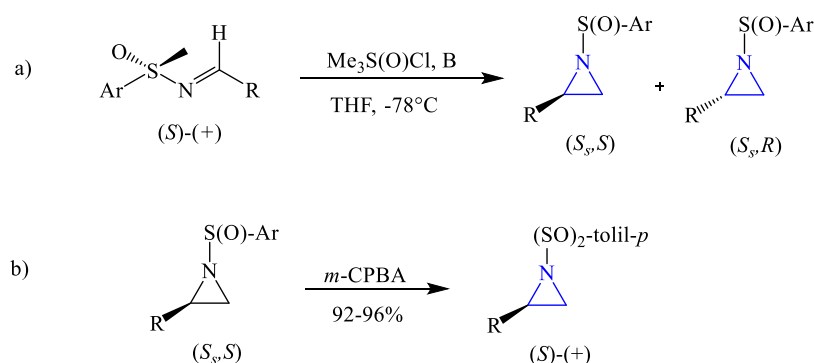
Shema 37. Općeniti mehanizam sinteze aziridina adicijom sumporovog ilida na imin.

U slučaju semistabiliziranih ilida (R₂SCHR¹, R¹ = aril, alkenil), stereoselektivno odlučujući korak je adicija ilida na imin, budući da je reakcija ireverzibilna i pod kinetičkom kontrolom. Ireverzibilnost reakcije može se prikazati kroz *cross-over* eksperimente i računalne studije. U slučaju stabilizirajućih ilida, situacija je pomalo drukčija, *cross-over* i računalne studije, ukazuju da stereoselektivno odlučujući korak nije korak u kojem nastaje betain, već korak ciklizacije u aziridin. Uslijed stabilizacije ilida, vjerojatno adicijski korak je reverzibilan, čineći prijelazno stanje zatvaranja prstena najvišom točkom na energetskom profilu unutar procesa.

Međutim, objavljene studije nisu uvjerljive i još uvijek može se uočiti varijabilnost dijastereoselektivnosti ovisno o prirodi imina i ilida. Kao općenito pravilo vrijedi, *semistabilizirajući ilidi daju nisku trans dijastereoselektivnost, dok stabilizirajući ilidi pokazuju lošu cis dijastereoselektivnost*. Najveći doprinos u računalnom istraživanju mehanizma i stereoselektivnosti aza-Johnson Corey Chaykovski reakcije dali su Robiette,¹⁰⁷ Sunoj i Janardanan,¹⁰⁸ čiji su rezultati istraživanja u osnovi vrlo slični.

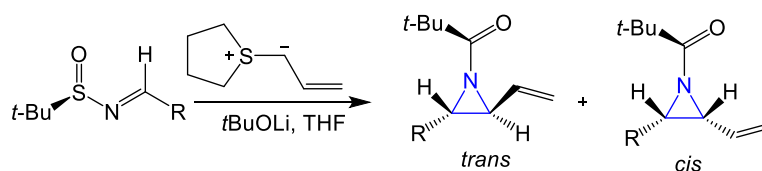
Prva uspješna aziridinacija imina sumpornim ilidima dogodila se 1995. godine kada je nekoliko znanstvenika objavilo studiju na tu temu. Stereoselektivnost reakcije može se postići korištenjem kiralnog imina ili kiralne sulfonijeve soli.

Garcia-Ruano i Davis,^{109,110} objavili su nekoliko radova koji opisuju upotrebu kiralnih imina, *tert*-butilsulfinilimina za pripremu mono-, di- i trisupstituiranih aziridina. Na shemi 38a prikazan je primjer supstratom kontrolirane stereoselektivne aziridinacije (*S*)-(+)-sulfinilimina dimetilsulfoksonijevim metilidom u prisustvu baze. Reakcijom su dobiveni 2-supstituirani aziridini u dobrom iskorištenju kao smjesa dva dijastereoizomera. Ispitivanjem sustava otapalo/baza utvrđeno je da se najbolji prinosi postižu korištenjem NaHMDS/THF uz najbolju dijastereoselektivnost od *dr* (*cis/trans*) = 84:16. Pripravljene 2-supstituirani aziridini prekursori su bioaktivnih *sin*- β -hidroksi- α -amino kiselina, koje su sastavni dio mnogih bioaktivnih molekula koje posjeduju antibiotsku aktivnost. Dijastereoizomeri uspješno su odjeljeni uz pomoć preparativnog TLC na silikagelu u odličnom iskorištenju. Apsolutna konfiguracija određena je prevođenjem pripremljenih spojeva u spojeve poznate apsolutne konfiguracije oksidacijom uz pomoć *m*-CPBA (Shema 38b).



Shema 38. Stereoselektivna sinteza aziridina kontrolirana supstratom.

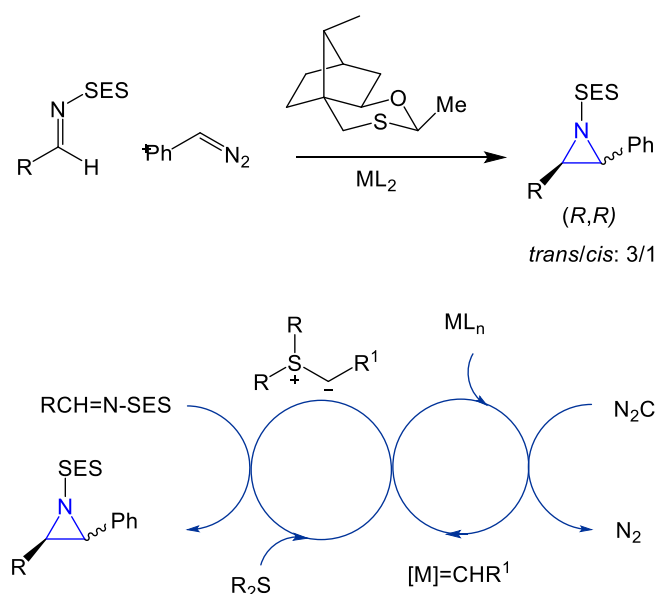
Stockman i sur.,^{111,112,113} primjenili su istu metodologiju za pripremu optički aktivnih aziridina (Shema 39). U reakciji su korišteni aromatski i alifatski (*R_s*)-*tert*-butilsulfinilimini sa dimetilsulfonijevim metilidom u DMSO-u, pri čemu je za generiranje ilida korišten NaH kao baza. Dobiveni su aziridini u dobrom iskorištenju i umjerene diastereoselektivnosti.



Shema 39. Stockmanova stereoselektivna sinteza aziridina kontrolirana supstratom.

Primjenu enantiomerno čistih sumporovih ilida u reakcijama aziridinacije, prvi su razvili Aggarwal i Dai.^{50,114}

Aggarwalova razvijena metoda temelji se na aziridinaciji imina sumpornim ilidima korištenjem diazo-spojeva i metalnih katalizatora, te predstavlja alternativnu metodu za pripremu sumpornog ilida. Na shemi 40, prikazan je katalitički ciklus koji uključuje raspad diazo-spoja u prisustvu prijelaznog metala. Novonastali karben prenosi se na sulfid, formirajući sumporov ilid, koji onda podliježe reakciji s odgovarajućim iminom, dajući tako konačni produkt, optički aktivni aziridin. Nastankom aziridina, sulfid se vraća u ciklus i omogućava ponovno formiranje ilida. Osnovna prednost ove metodologije jest činjenica da su metalni karbeni izrazito reaktivni spojevi, pa je izbor alkil-halogenida za pripremu sulfonijeve soli puno širi. Na ovaj način pripremljeni su optički aktivni (*R,R*)-aziridini u dobrom iskorištenju i uz visoku enantioselektivnost. Uočena je visoka *trans* selektivnost u svim slučajevima.¹¹⁵



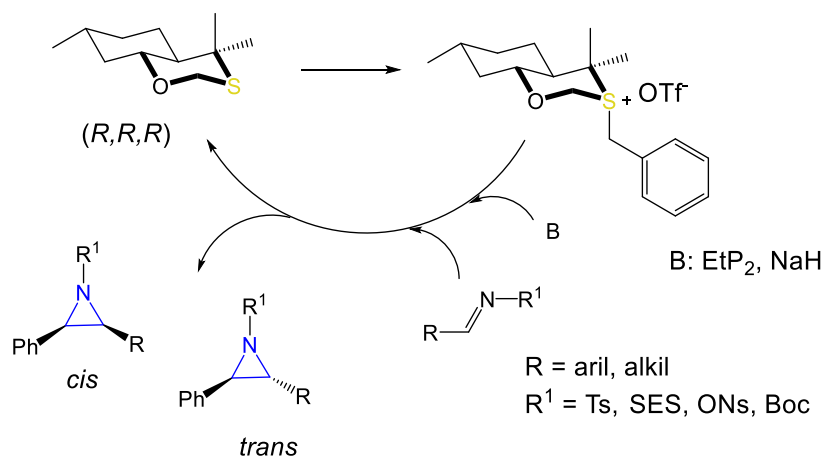
Shema 40. Aggarwalova katalitička stereoselektivna sinteza aziridina.

Dai. i sur.^{116,117} opisali su aziridiniciju *N*-sulfonilimina s alilnim sulfonijevim, telurijevim i arsenijevim ilidima, pri čemu su dobiveni vinilaziridini loše dijastereoselektivnosti.

Solladiè-Cavallo i sur.¹¹⁸ su 2004. godine izvijestili o stereoselektivnoj sintezi 2,3-disupstituiranih *N*-tosilaziridina iz *N*-tosil-imina i kiralne (*R,R,R,S_S*)-(-)-benzil-sulfonijeve soli izvedene iz Elielovog oksatiana (Shema 41). Kao baza za generiranje ilida korištena je fosfazenska baza EtP₂. U reakciji nastaju smjese dijastereoizomera *cis/trans* aziridina iznimno visoke enantioselektivnosti (98,7–99,9 %). Na temelju dobivenih rezultata zaključili su da dijastereoselektivnost ovisi o iminskom supstituentu. U slučaju *tert*-butilnog supstituenta, postigli su 100 %-tnu *cis* dijastereoselektivnost.

Nekoliko godina poslije, Hameršak i sur. 2008. godine istražili su mogućnost zamjene toksične i skupe EtP₂ baze s NaH u reakcijama aziridinicije *N*-zaštićenih imina s kiralnom (*R,R,R,S_S*)-(-)-benzil-sulfonijevom soli. Pripravljen je niz različito supstituiranih aziridina bez gubitka iskorištenja, enantioselektivnosti i dijastereoselektivnosti. Na temelju provedenog istraživanja, zaključili su da dijastereoselektivnost reakcije ovisi o iminskom supstituentu i strukturi sulfida. Uspoređivanjem dijastereoselektivnosti, *N*-zaštitne skupine mogu se poredati u nizu s opadajućom *trans* dijastereoselektivnošću: Boc > SES > Ts > ONs. U reakciji aziridinicije *N*-Ts-*tert*-butil-aldimina i *N*-SES-*tert*-butil-aldimina s kiralnom benzil-sulfonijevom soli dobiveni su konačni produkti sa 100 %-tnom *cis* dijastereoselektivnošću. Mehanističke studije potvrdile su da rotacija–korak određuje brzinu i selektivnost reakcije. S

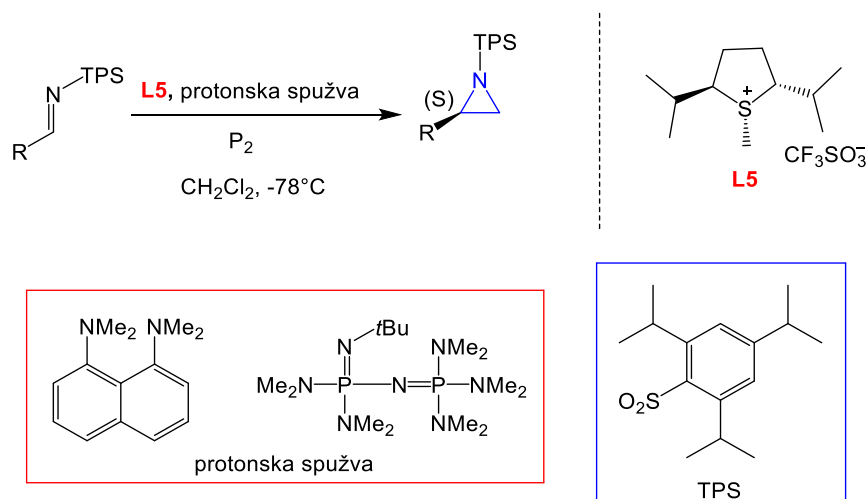
obzirom da je barijera za rotaciju *cisoid-anti* betaina u *transoid-anti* betain previsoka, u reakciji dominira *sin* put koji dovodi do visoke *cis* dijastereoselektivnosti.^{119,120}



Shema 41. Stereoselektivna sinteza *N*-tosil-aziridina iz *N*-tosil-imina i kiralne benzil-sulfonijeve soli.

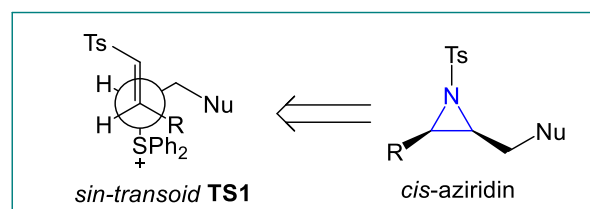
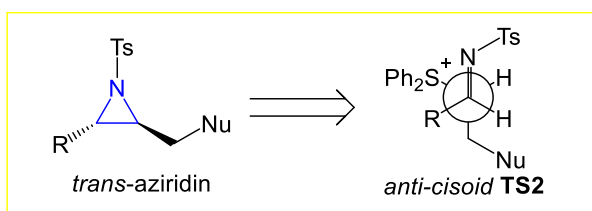
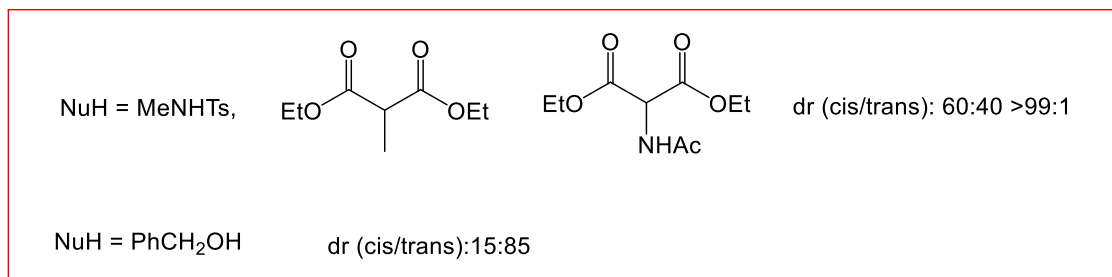
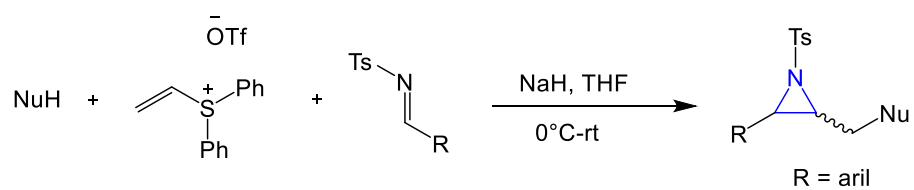
Huang i sur.,¹²¹ izvijestili su o upotrebi kiralnog sulfonijevog ilida generiranog *in situ* iz C₂-simetričnih sulfida i benzil-bromida u prisustvu kalijevog karbonata. U reakciji s opisanim ilidom sudjeluju aromatski *N*-tosil-imini, pri čemu se reakcija provodi u acetonitrilu uz upotrebu *phase-transfer* katalizatora TBAI. Pripravljene su željeni *trans* aziridini u dobrom iskorištenju i odlične enantioselektivnosti.

Connon i sur.¹²² objavili su stereoselektivnu sintezu aziridina transferom metilena iz kiralnog sumporovog ilida (Shema 42). TPS-supstituirani imini, dobiveni iz aromatskih, alifatskih i α,β -nezasićenih aldehida, prevedeni su u odgovarajuće aziridine u dobrom iskorištenju. Za generiranje kiralnog ilida iz kiralne sulfonijeve soli korištena je jaka organska baza. Unatoč niskoj enantioselektivnosti, razvijena metodologija jedan je od rijetkih primjera za pripremu kiralnih aziridina.



Shema 42. Connonova stereoselektivna sinteza aziridina.

Aggarwal i sur.¹²³ objavili su zanimljiv pristup dijastereoselektivnoj aziridaciji imina s nestabilizirajućim sumporovim ilidima, te je po prvi puta objavljena studija *cis/trans* selektivnosti (shema 43). U reakciji sudjeluju tri komponente: difenilvinilsulfonijev triflat, nukleofil i imin. Nukleofil reagira sa sulfonijevom soli dajući nestabilizirani ilid, koji dalje reagira s iminima dajući aziridine. U gotovo svim slučajevima postignuta je *cis* dijastereoselektivnost. Preferencija za nastanak *trans* izomera uočena je u slučaju alkohola kao nukleofila. Na temelju mehanističkih studija predložen je model koji objašnjava da uočena dijastereoselektivnost uključuje *sin-transoidno* prijelazno stanje koje dovodi do *cis* aziridina, favorizirano kod elektron-bogatih imina zbog nastanka π - π interakcija između skupina. U prisustvu alkohola kao nukleofila, pretpostavlja se da β -alkoksi skupina ilida može stvoriti stabilizirajuću vodikovu vezu s iminom C-H u *anti-cisoidnom* prijelaznom stanju, vodeći do *trans* konfiguracije aziridina.



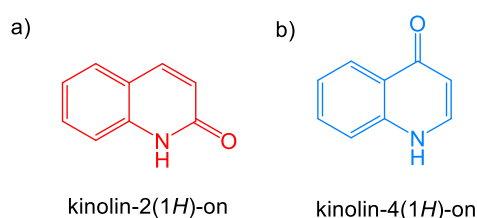
Shema 43. Aggarwalova dijastereoselektivna aziridinicija imina s nestabilizirajućim ilidima.

2.2. Kinolinoni

2.2.1. Uvod u strukturu i reaktivnost kinolinona

Kinolinoni su heterociklički spojevi koji se sastoje od dva kondenzirana šesteročlana prstena, od čega je jedan benzenski, a drugi α - ili γ -piridinonski. Piridinoni pripadaju skupini šesteročlanih heterocikličkih spojeva koji sadrže dušikov atom u prstenu te karbonilnu skupinu, koja je vezana na prsten u *ortho* ili *para* položaj u odnosu na dušikov atom.

S obzirom na položaj karbonilne skupine, u osnovi se dijele na dva strukturalna izomera: benzo- α -piridinon (kinolin-2(1*H*)-on) i benzo- γ -piridinon (kinolin-4(1*H*)-on) (Slika 10).¹²⁴ Mogu se izolirati iz prirodnog izvora, sintetizirati, a neki od njih su i komercijalno dostupni.^{124,125,126}



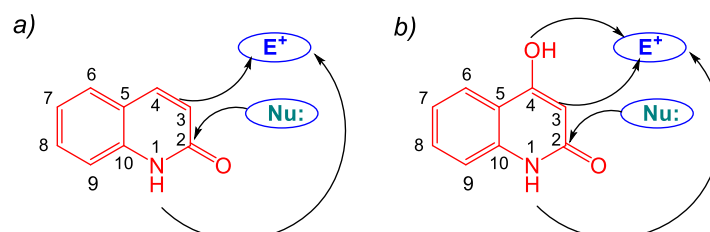
Slika 10. Općenita strukturalna formula a) kinolin-2(1*H*)-on, b) kinolin-4(1*H*)-on.

Benzo- α -piridinoni ili kinolin-2(1*H*)-oni javljaju se u dva tautomerna oblika **XXVII** i **XXVIII** (Shema 44).¹²⁷ Keto-enolna tautomerija uključuje intramolekularni transfer protona od dušikova atoma do karbonilne skupine. Ovakav prijenos protona iznimno je važan u biokemijskim procesima. No, nije uvijek jasno koji će tautomerni oblik biti odgovoran za biološku aktivnost nekog spoja, termodinamički stabilniji ili onaj manje stabilan, koji posjeduje određena kiselo-bazna, elektrofilno-nukleofilna ili samo geometrijska svojstva. Provedena istraživanja koja se temelje na primjeni kalorimetrijskih metoda u plinovitoj fazi, ukazuju da je laktim "enol-oblik" **XXVII** stabilniji od laktama "keto-oblika" **XXVIII** za 0,3 kcal mol⁻¹. Međutim, utvrđeno je da je solvatirani laktam stabiliziran zwitterionskom rezonatnom strukturom što doprinosi stabilizaciji i pomiće ravnotežu u smjeru keto-oblika. U zwitterionskoj rezonatnoj strukturi **XXIX**, dušikov atom nosi pozitivan naboj, a kisikov atom negativan naboj. Polarna otapala mogu dodatno stabilizirati zwitterionsku rezonatnu strukturu **XXIX** što dovodi do smanjenja energije laktama **XXVIII** u odnosu na laktim **XXVII**.^{127,128}



Shema 44. Prikaz tautomernih i rezonantnih struktura kinolin-2(1*H*)-ona.

Jednostavnim sintetskim modifikacijama uvođenjem supstituenata na različite položaje u prstenu moguća je priprava velikog broja spojeva koji pokazuju različita biološka svojstva, poput antimikrobnog, antitumorskog, antioksidativnog, antibakterijskog djelovanja. Opisana skupina spojeva posjeduje elektrofilna i nukleofilna svojstva. Zbog različite reaktivnosti pojedinih položaja, ovakvi sustavi ulaze u različite tipove kemijskih reakcija (Slika 11). Ugljikov atom u položaju **3** visoko je aktiviran zbog utjecaja karbonilne skupine, koja ima svojstva elektron-odvlačeće skupine. Također, dolazi do konjugacije π -elektrona iz dvostruke veze i usamljenog para elektrona iz atoma kisika. To dovodi do visoke reaktivnosti prema različitim elektrofilima, pri čemu sudjeluju u reakcijama poput elektrofilne aromatske supstitucije, aldolne kondenzacije (produkti α,β -nezasićeni karbonilni spojevi), Mannichove reakcije (β -aminokarbonilni spojevi) i Michaelove reakcije. Karbonilna skupina podložna je nukleofilnom napadu, dok dušikov atom amidne veze sudjeluje kao nukleofil u reakcijama.¹²⁸

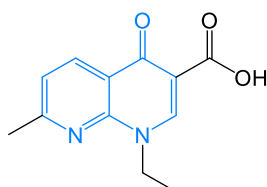


Slika 11. Kemijska reaktivnost a) kinolin-2(1*H*)-ona, b) 4-hidroksi-kinolin-2(1*H*)-ona.

4-hidroksi-benzo- α -piridinon pokazuje sličnu reaktivnost kao i benzo- α -piridinon, no za razliku od njega sadrži hidroksilnu skupinu kao dodatni reaktivni centar, čime je otvoren put ka sintezi mnoštva drugih spojeva. Hidroksilna skupina ulazi u reakcije karakteristične za primarne alkohole, pri čemu hidroksilna skupina može stvarati etere i estere, a koji produkt će nastati ovisi o vrsti i količini reagensa i baze korištene u reakciji. Lako se transformira u dobre izlazne skupine koje se mogu lako supstituirati različitim funkcijskim skupinama.^{128,129}

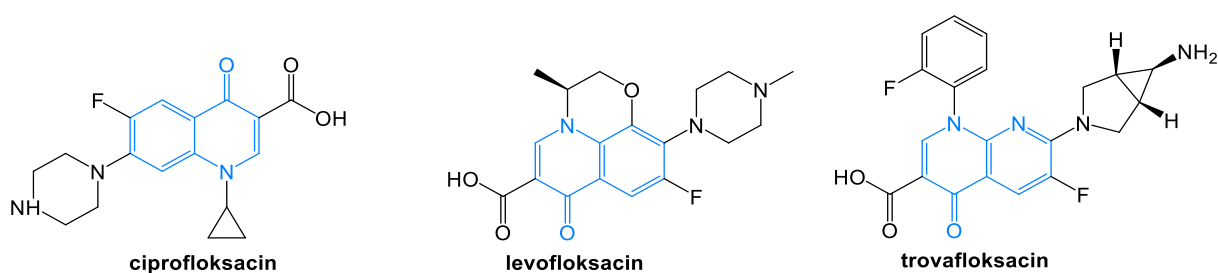
2.2.2. Biološki aktivni prirodni i sintetski kinolinoni

Kinolinoni su strukturne podjedinice biološki aktivnih prirodnih i sintetskih molekula, te pokazuju antibakterijsko, antitumorsko i antifungalno djelovanje, zbog čega se prvenstveno ističu kao intermedijeri u sintezi spojeva s benzo- α -piridinonskim i benzo- γ -piridinonskim motivima.^{8,130,131} Klinička primjena kinolinonskog motiva prvi puta zabilježena je 1962. godine kada je nalidiksična kiselina kao antimikrobni agens dobivena kao međuprodukt u sintezi antimalarijskog lijeka klorkina (Slika 12). Nalidiksična kiselina prvi je sintetski antibiotik koji inhibira rast Gram negativnih bakterija, te pokazuje manju učinkovitost prema Gram pozitivnim bakterijama.¹³²



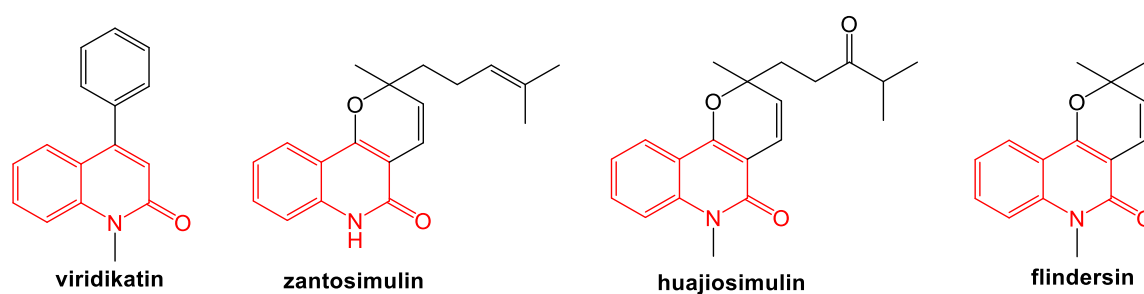
Slika 12. Strukturna formula nalidiksične kiseline.

Najpoznatiji bioaktivni kinolinoni su fluorkinolinonski antibiotici, koji sadrže atom fluora u bicikličkoj strukturi kinolin-4(1*H*)-ona (Slika 13). Najbolji primjer ove skupine je **ciprofloksacin**, jedan od najčešće korištenih antibiotika u svijetu, koji inhibira rast Gram negativnih i Gram pozitivnih bakterija. **Levofloksacin** poznat je kao respiratorni antibiotik, koji pokazuje učinkovitost protiv Gram pozitivne bakterije *Streptococcus aureus* te ima široku primjenu u liječenju infekcije respiratornog i mokraćnog sustava, tuberkuloze i meningitisa. **Trovafloksacin** je antibiotik široke primjene, koji inhibira rast bakterija blokirajući aktivnost DNA-giraze i topoizomeraze IV. Iako je pokazao bolju aktivnost prema Gram pozitivnim bakterijama, povučen je s tržišta zbog rizika o hepatoksičnosti.¹³³



Slika 13. Strukturne formule 4-fluorkinolinonskih antibiotika.

Bioaktivni kinolin-2(1*H*)-onski alkaloidi najčešće pokazuju antibakterijsko i citotoksično djelovanje (Slika 14). *Viridikatin* je gljivični metabolit izoliran iz različitih vrsta *Peniciliuma*, koji pokazuje antibakterijsku aktivnost. Iz kore korijena izolirani su *zantosimulin* i *huajiosimulin* za koje je utvrđeno da pokazuju citotoksično djelovanje protiv staničnih linija raka. Piranokinolinonski alkaloid *flindersin* pokazuje citotoksično djelovanje protiv *Hela* staničnih linija.¹³⁴



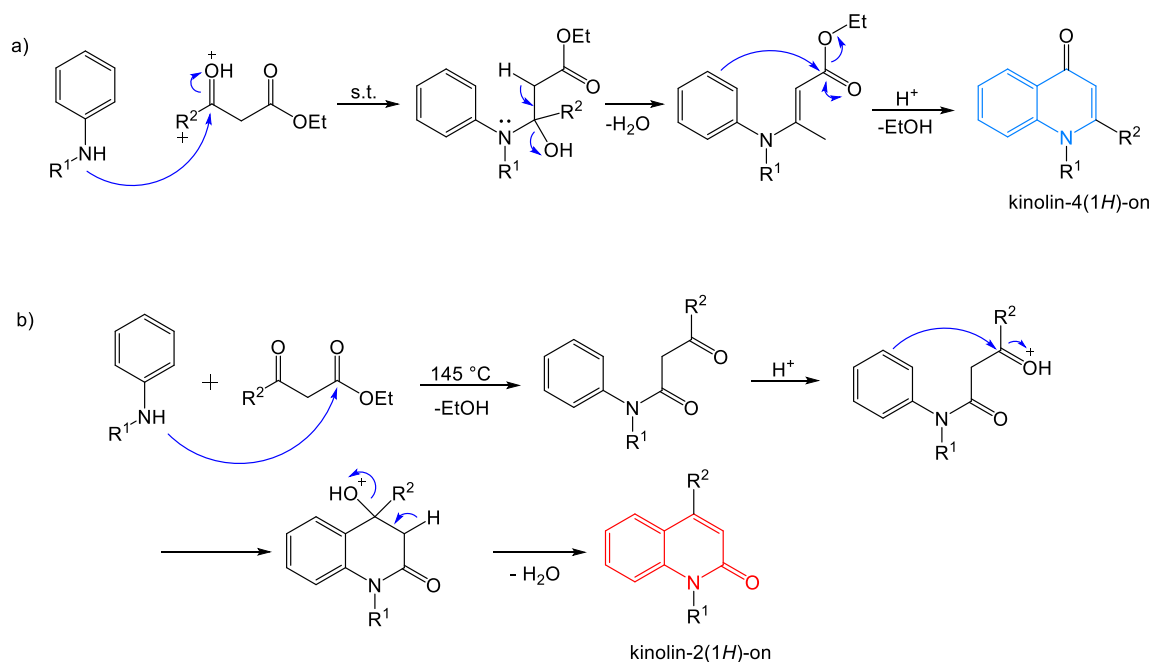
Slika 14. Strukturne formule biološki aktivnih prirodnih spojeva s kinolin-2(1*H*)-onskim motivom.

2.2.3. Sinteza kinolinona

Značaj kinolinonskog motiva u biološki aktivnim prirodnim i sintetskim spojevima inspirirao je mnoga istraživanja koja su se usmjerila na razvoj učinkovitih metoda za njegovu pripravu. Sintetski pristupi ovim spojevima temelje se na reakcijama kondenzacije i intramolekulske ciklizacije, pri čemu mogu nastati kinolin-2(1*H*)-oni (Conrad–Limpach–Knorr sinteza) ili kinolin-4(1*H*)-oni (Conrad-Limpach sinteza). Druge klasične metode vode do nastanka C3–C4 veze uključujući Friedlanderovu sinezu, Campsove modifikacije i Niementowsku sinezu.^{124,135,136,137}

Prva opisana priprava kinolin-2(1*H*)-ona i kinolin-4(1*H*)-ona bila je Knorrova sinteza, koja je ime dobila po Ludwigu Knorru, koji ju 1886. godine prvi puta proveo. Riječ je o dvostupanjskom procesu u kojem iz komercijalno dostupnih kemikalija, odgovarajućih anilina (*meta*- ili *para*-anilina, *meta*- ili *para*-nitroanilina ili *meta*-metoksianilina) i etil-acetoacetata, u prisustvu kiselog katalizatora (*para*-toluensulfonske kiseline ili octene kiseline) nastaju β -keto-anilidi. Regioselektivnost ovog stupnja reakcije ovisi o temperaturi. Kada se reakcija provodi pri sobnoj temperaturi, tada do nukleofilnog napada dolazi na keto-skupini, što dovodi do

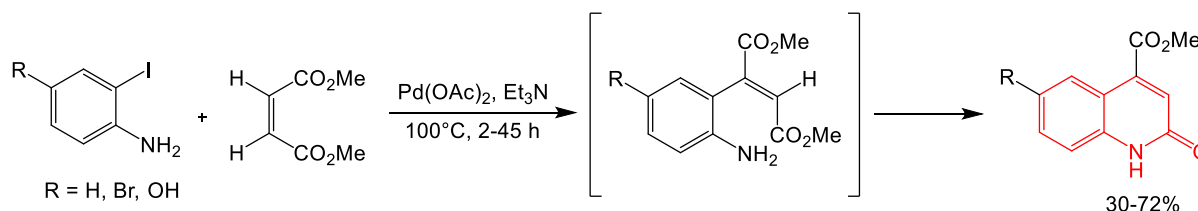
nastanka kinetičkog produkta (kinolin-4(1*H*)-ona). Pri višim temperaturama (> 140 °C) dolazi do nukleofilnog napada na estersku skupinu β -keto-estera i nastanka termodinamičkog produkta (kinolin-2(1*H*)-ona). Iz nastalih regioizomera elektrofilnom aromatskom supstitucijom uz eliminaciju vode dobivaju se konačni Knorrovi produkti (Shema 45).¹³⁸



Shema 45. Reakcijski mehanizam nastanka a) kinetičkog produkta, b) termodinamičkog produkta.

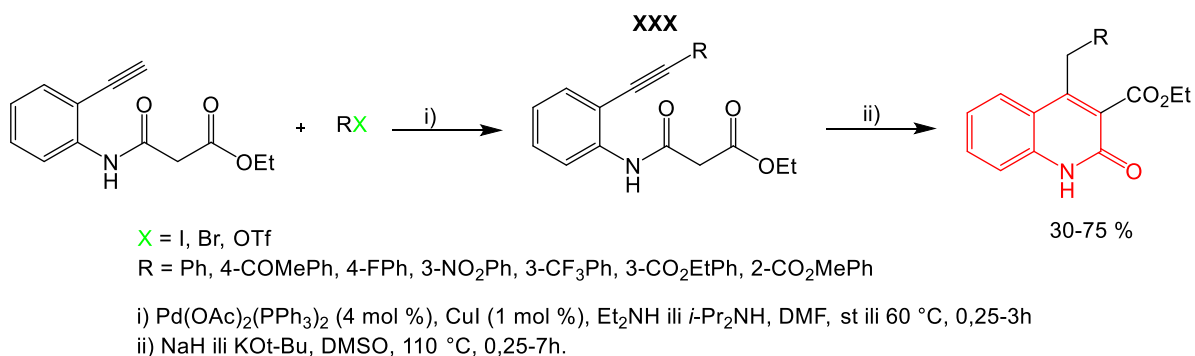
Zbog loše konverzije i agresivnih reakcijskih uvjeta te kompetitivnih reakcija javila se potreba za modifikacijom opisane Knorrove sinteze. Osim klasičnog pristupa, često se provodi i mikrovalno-potpomognuta Knorrova sinteza. U odnosu na konvencionalnu sintezu, mikrovalna sinteza značajno skraćuje vrijeme trajanja kemijske reakcije (s nekoliko dana na nekoliko sati), smanjuje broj nusprodukata, pruža bolja iskorištenja te veću čistoću izoliranih produkata. Do zagrijavanja reakcijske smjese tijekom mikrovalne sinteze dolazi zbog direktne interakcije molekula otapala, reagensa ili katalizatora, koji su prisutni u reakcijskom mediju, s MW zračenjem. Ostale razvijene strategije uključuju bazno-kataliziranu Friedlanderovu kondenzaciju, Baylis-Hillmanovu reakciju,¹³⁹ metalno-katalizirane karbonilacije internih alkina,¹⁴⁰ paladij kataliziranu tandemnu ciklizaciju 2-bromcinamida i aril-jodida i mnoge druge.¹⁴¹

1978. Heck i sur.¹⁴² razvili su protokol, koji se temelji na reakciji između 1,2-disupstituiranih olefina s 2-iodanilinom u prisustvu Pd(OAc)₂ kao katalizatora i Et₃N kao baze, pri čemu *in situ* nastaje Z-izomer koji ciklizira u konačan produkt u iskorištenju od 30–72 % (Shema 46).



Shema 46. Heckova sinteza kinolin-2(1*H*)-ona iz 1,2 disupstituiranih olefina i 2-iodanilina.

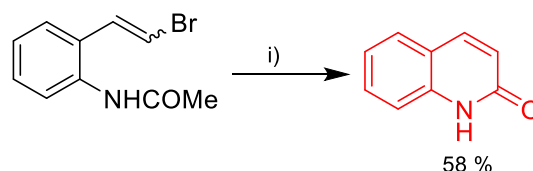
Pace i sur.¹⁴³ izvijestili su o sintezi 3,4-disupstituiranih kinolin-2(1*H*)-ona, koja se temelji na Pd-kataliziranom povezivanju etil *N*-(2-etinil)malonanilidu s arilom, heteroarilom, vinil-triflatom, vinil-halidom. U reakciji nastaju međuprodukti **XXX**, koji intramolekulskom ciklizacijom u baznim uvjetima, daju konačne produkte. Mehanizam reakcije temelji se na karbociklizaciji, koja uključuje intramolekulski nukleofilni napad karbaniona, generiranog iz **RX**, na C=C vezu, nakon čega slijedi protoniranje te potom izomerizacija, koja dovodi do nastanka produkata u rasponu iskorištenja 30–75 % (Shema 47). Dokazano je da supstituenti koji sadrže elektron-odvlačeće skupine na aromatskom sustavu doprinose višim prinosisima.



Shema 47. Sonogashira sinteza 3,4-disupstituiranih kinolin-2(1*H*)-ona uz Pd kao katalizator.

Larock, Jia i sur.¹⁴⁴ razvili su sintetski protokol za učinkovitu sintezu 4,5-fuzioniranih tricikličkih kinolin-2(1*H*)-ona koji se temelji na intramolekulskoj karbonilativnoj anulaciji alkina supstituiranog *o*-jodanilinom. Uočeno je da korištenje trifenilfosfina doprinosi pozitivnom ishodu reakcije, ali nije utvrđeno koju ulogu ima u reakciji.

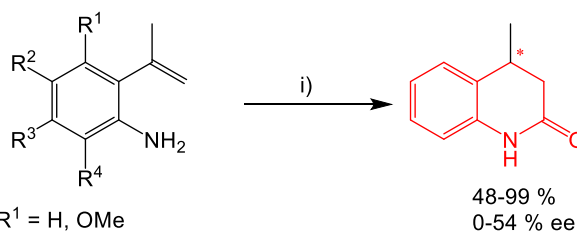
1979. Ban i sur.,¹⁴⁵ opisali su Pd-kataliziranu karbonilaciju vinil-bromida koji sadrže internu amidnu skupinu. U prisustvu katalitičkog sustava Pd(OAc)₂ i trifenilfosfina, nastaje *Z*-izomer vinil-bromid iz kojeg nastaje kinolin-2(1*H*)-on (Shema 48). Pri istim reakcijskim uvjetima zabilježen je nastanak i *E*-izomera iz kojeg nastaje isti produkt u iskorištenju od 7,7 %.



i) Pd(OAc)₂ (2 mol%), PPh₃ (10 mol%), CO (1 atm), Bu₃N (1,2 ekv.), HMPA (0,75 ekv.), 70 °C, 24h

Shema 48. Sinteza kinolin-2(1*H*)-ona Pd-kataliziranom karbonilacijom vinil bromide.

Alper i sur.¹⁴⁶ izvijestili su o Pd-kataliziranoj stereoselektivnoj ciklokarbonilaciji 2-(1-metilvinil)anilina, pri čemu nastaju derivati kinolin-2(1*H*)-ona u iskorištenju od 48–99 % loše enantiomerne čistoće (0–54 % ee) (Shema 49).

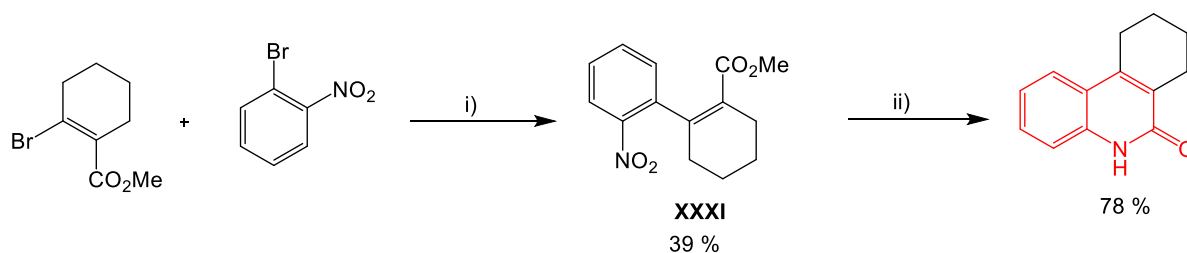


R¹ = H, OMe
R² = H, OMe, Br
R³ = H, OMe,
R⁴ = H, OMe, Me, Br, *i*-Pr

i) Pd(OAc)₂-2-(-)-DIOP, CO (500 psi), H₂ (100 psi), CH₂Cl₂, 100 °C, 48 h

Shema 49. Stereoselektivna ciklokarbonilacija 2-(1-metilvinil)-anilina.

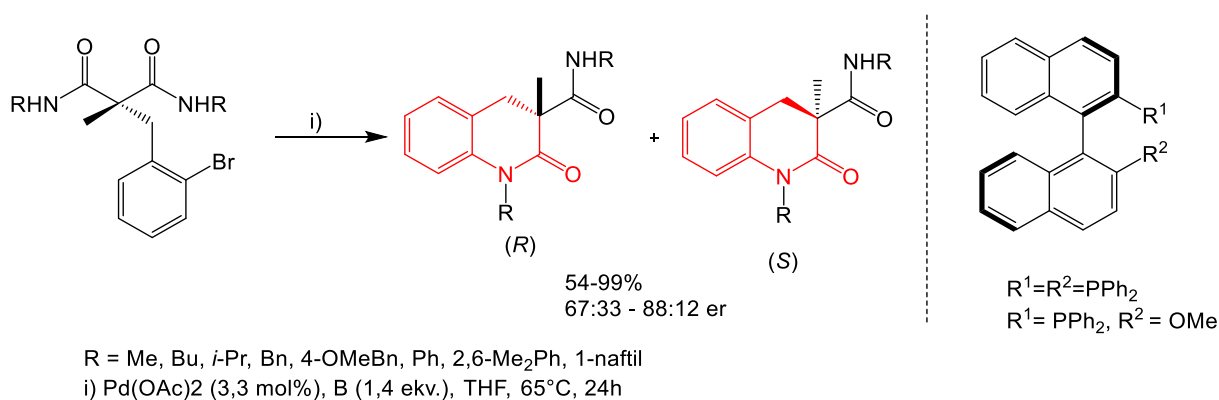
Jedan od primjera Ullmanove reakcije opisuje *cross-coupling* reakciju β-bromestera 1-brom-2-nitrobenzena, pri čemu nastaje nitro-ester **XXXI**, koji je podvrgnut hidrogeniranju uz H₂/Pd-katalitički sustav, pri čemu nastaje kinolin-2(1*H*)-on (Shema 50).¹⁴⁷



i) Cu (5 ekv.), Pd (0) (3 mol %), DMSO, 80 °C, 2 h
 ii) H₂ (1 atm), MeOH, 10 % Pd/C, 18 °C, 1 h

Shema 50. Sinteza kinolin-2(1*H*)-ona Pd-posredovanom Ullmanovom reakcijom.

Buchwald-Hartwigova reakcija opisuje povezivanje zaštićenih *N*-hidroksiamida s benzaldehidima ili benzoatima u prisustvu Pd-katalizatora Buchwaldovog tipa, pri čemu nastaje C–N veza nakon čega slijedi proces ciklodehidratacije, koji dovodi do nastanka kinolin-2(1*H*)-ona (Shema 51).¹⁴⁸



Shema 51. Sinteza enantiomerno čistih 3,4-dihidrokinolin-2(1*H*)-ona primjenom enantioselektivne Buchwald-Hartwigove reakcije.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

3.1.1. Molekulska modeliranje

3.1.1.1. Metode i parametri kvantno-kemijskih izračuna

Svi računi provedeni su upotrebom programskog paketa Gaussian 16 C.01. [Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; et al. Gaussian 16, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, USA, 2016] na klasteru Isabella Sveučilišnog računalnog centra (SRCE) u Zagrebu (www.srce.hr). U svrhu vizualizacije dobivenih rezultata, korišten je program GaussView (Gaussian, Inc., Carnegie Office Park, Pittsburgh, PA). Ravnotežne strukture keto- i enol-tautomernih oblika marinoaziridina A i B u kloroformu određene su korištenjem DFT hibridnog funkcionala B3LYP u kombinaciji s baznim skupom 6-311++G(d,p). Zbog konformacijske slobode aziridinskog supstituenta, izračunati su i pripadni energijski profili. Utjecaj otapala opisan je implicitno korištenjem SCRF (engl. *Self-Consistent Reaction Field*) modela SMD. U tom modelu otapalo je opisano kao polarizabilni kontinuum pri čemu se otopljena tvar smješta u stvorenu šupljinu u modeliranom tzv. reakcijskom polju otapala.

NMR spektri predviđeni su za po dvije moguće ravnotežne konformacije marinoaziridina A i B te njihova dva moguća tautomerna stanja. NMR spektri predviđeni su s istim DFT pristupom (SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) uz upotrebu metode GIAO (engl. *Gauge-Independent Atomic Orbital*) za izračun NMR tenzora zasjenjenja (engl. *shielding tensors*).¹⁴⁹ Referenti spoj TMS je izračunat na isti način.

Ravnotežne konformacije reaktanata, betainskih međuprodukata, prijelaznih stanja i produkata aziridina u acetonitrilu (ACN) optimizirane su korištenjem DFT pristupa temeljenog na hibridnom funkcionalu M062X u kombinaciji s osnovnim skupom 6-31+G(d,p).

3.1.1.2. In silico karakterizacija marinoepoksida, marinoaziridina A i B te derivata

In silico karakterizacija marinoepoksida *rac*-**11–13**, *rac*-**14–16**, marinoaziridina A, B, njihovih derivata (*rac*-**44–63**) te kinolin-2(1*H*)-onskih derivata (*rac*-**76,77**) provedena je primjenom internetskih poslužitelja SwissADME-a (<http://www.swissadme.ch>), admetSAR-a

(<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSAR2>), pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/prediction_single/absorption_1667239457.82) ili računalnog programa admetPredictor TM 9.5. Primjenom internetskog poslužitelja SwissTargetPrediction-a (<http://www.swisstargetprediction.ch>) predviđene su biološke mete za marinoaziridin A i B. Primjenjeni poslužitelji zasnivaju se na ucrtavanju strukture kemijskog spoja ili unošenju njegove SMILES oznake. SMILES (engl. *simplified molecular-input line-entry system*) je jednodimenzionalni kodirani ASCII zapis koji sadrži podatke o strukturi kemijske molekule te kao takav unosi se u računalne programe ili poslužitelje.¹⁵⁰ Strukture svih spojeva nacrtane su u računalnom programu ChemDraw Professional 16.0 i sačuvane su u SMILES formatu. Primjer SMILES zapisa za molekulu marinoaziridina A je O=C1NC2=CC=CC=C2C(C3C(C)(C)N3C)=C1.

3.1.1.2.1. Primjena poslužitelja SwissADME-a

Internetski poslužitelj swissADME korišten je za predviđanje fizikalno-kemijskih svojstava kao što su broj rotirajućih veza, broj vodikovih akceptora (HBD) i donora (HBD), topološka ukupna polarna površina (TPSA); lipofilnost ($\log P_{o/w}$); topljivost u vodi ($\log S$); farmakokinetike uključujući parametre koji opisuju vjerojatnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru (BBB), jesu li spojevi supstrati ili inhibitori CYP izoenzima (citokrom P450), permeabilnost kože ($\log Kp$) i "drug-likeness" koji se temelji na 5 pravila (Lipinski, Ghose, Veber, Egan i Muegge).

3.1.1.2.2. Primjena poslužitelja admetSAR-a

Internetski poslužitelj admetSAR (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSAR2>) korišten je za predviđanje parametara koji opisuju toksičnost organa, genomsku toksičnost i eko-toksičnost.

3.1.1.2.3. Primjena poslužitelja pkCSM-a

Internetski poslužitelj pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction_single/absorption_1667239457.82) korišten je za predviđanje parametara koji opisuju eliminaciju lijeka iz organizma.

3.1.1.2.4. Primjena računalnog programa admetPredictor-a TM 9.5.

Računalni program admetPredictor TM 9.5. (Simulations Plus Inc.) korišten je za predviđanje parametara kao što su molekularni deskriptori: broj donora vodikovih vaza (engl. *Hydrogen Bond Donor*, HBD), broj akceptora vodikovih veza (engl. *Hydrogen Bond Acceptor*, HBA), topološka ukupna polarna površina (engl. *Topological PolarSurface Area*, TPSA), topljivost u vodi ($S+S_w$), lipofilnost ($S+\log P$), permeabilnost ($S+P_{eff}$), vjerojatnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru (*BBB*), udio spoja vezanog za protein plazme i slobodnog u plazmi (*hum_fup*), omjer koncentracije lijeka u krvi i plazmi (*RBP*), vjerojatnost inhibicije P-glikoproteina (P-gp), akutna toksičnost (*Rat_Acute*), kronična toksičnost (*Rat_TD50*), parametri hepatotoksičnosti (*Ser_AlkPhos*, *Ser_ALT*, *Ser_AST*, *Ser_GGT* i *Ser_LDH*). Primjenom ovog programa procijenjeni su rizici prolaska kroz stijenku crijeva i ulaska u krv (*Absn_Risk*) te broj potencijalnih problema koje sa toksičnošću može imati ispitivani spoj (*Tox_Risk*).¹⁵¹

3.1.1.2.5. Primjena poslužitelja SwissTargetPrediction-a

Internetski poslužitelj SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch>) korišten je za predviđanje bioloških meta marinoaziridina A i B.

3.1.2. Totalna sinteza

3.1.2.1. Kemikalije, reagensi i otapala korištena u sintezama

U sintezama su korišteni komercijalno dostupni polazni spojevi, reagensi i otapala (analitičke i HPLC čistoće). Otapala potrebna za provođenje reakcija te obradom istih, korištena su uz prethodnu destilaciju. Bezvodna otapala sušena su na molekulskim sitima 4 Å, a određene reakcije provedene su u inertnim uvjetima, u atmosferi argona. Reagensi i otapala korišteni u sintezama bili su sljedeći: Amberlyst® 15 (C₁₈H₁₈O₃S, *Sigma Aldrich*), anhidrid trifluormetansulfonske kiseline (Tf₂O, *Sigma Aldrich*), amonijak (NH₃, *Kemika*), anilin (*Sigma Aldrich*), argon (Ar, *Messer*), amonijev klorid (NH₄Cl, *Kemika*), benzil-bromid (C₆H₅CH₂Br, *Sigma Aldrich*), benzil-klorid (C₆H₅CH₂Cl, *Sigma Aldrich*), 4-brommetil-kinolin-2(1H)-on (*Alfa Aesar*), dietilaluminijev klorid (Et₂AlCl, *Sigma Aldrich*), dimetil-sulfid ((CH₃)₂S, *Sigma Aldrich*), etil-acetoacetat (*Sigma Aldrich*), fosfazenska baza (EtP₂, *Sigma Aldrich*), hidroksilamin hidroklorid (*Sigma Aldrich*), kalijev karbonat (K₂CO₃, *Kemika*), klorovodična kiselina (HCl, 36,5 %, *Kemika*), 18-kruna-6-eter (C₁₂H₂₄O₆, *Sigma Aldrich*), magnezij (Mg, *Sigma Aldrich*), natrijev azid (NaN₃, *Sigma Aldrich*), natrijev borhidrid (NaBH₄, *Sigma Aldrich*), natrijev hidroksid (NaOH, *Merck*), natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO₃, *Merck*), natrijev klorid (NaCl), natrijev sulfat (Na₂SO₄, *Gram Mol*), selenov dioksid (SeO₂, *Sigma Aldrich*), srebrov perklorat (AgClO₄, *Sigma Aldrich*), trifluorometansulfonat (AgOTf, *Sigma Aldrich*), sumporna kiselina (H₂SO₄, *Sigma Aldrich*), *tert*-butil-litij (*t*BuLi, *Sigma Aldrich*), trietilamin (Et₃N, *Fluka*), trifenilfosfin (PPh₃, *Sigma Aldrich*), ugljikov tetrabromid (CBr₄, *Sigma Aldrich*), aceton, acetonitril (CH₃CN), benzen, dietil-eter (Et₂O), diklormetan (CH₂Cl₂), dimetilformamid (DMF), dimetil-sulfoksid (DMSO), etanol (EtOH), etil-acetat (EtOAc), metanol (CH₃OH), nitrometan, *n*-heksan, pentan, petrol-eter, tetrahidrofuran (THF), toluen, ugljikov tetraklorid (CCl₄).

3.1.2.2. Korištene metode za praćenje tijeka reakcije i pročišćavanje pripremljenih spojeva

Za praćenje tijeka reakcije, kontrolu čistoće spojeva i preliminarnu identifikaciju produkata korištena je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti i tankoslojna kromatografija na aluminijskim pločicama presvučenim tankim slojem silikagela (Kieselgel 60 F254 0,25 mm,

Merck). Analize tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti provedene su tehnikom obrnutih faza instrumentom Shimadzu 10A VP HPLC-DAD sustavu, na HPLC kolonama Nucleosil 100-5-C18 (250 × 4,6 mm) uz gradijentno eluiranje 50–100 %. Mjerenja su provedena pri 35 °C uz protok 1 mL min⁻¹, a sastav otapala pokretnih faza bio je za fazu A: 10 % metanol; 90 % voda (0,5 % fosforna kiselina), fazu B: 100 % metanol. Tijekom provođenja TLC-analize, spojevi su detektirani UV svjetlom ($\lambda = 254$ nm) te otopinama cerijevog amonijevog molibdata, *para*-anisaldehida ili ninhidrina uz zagrijavanje. Otopina cerijevog amonijevog molibdata pripravljena je otapanjem amonijevog molibdata (5 g) i cerijevog sulfata (200 mg) u 5 %-tnoj sumpornoj kiselini (100 mL). Otopina *p*-anisaldehida pripravljena je dodatkom koncentrirane sumporne kiseline (5 mL), ledene octene kiseline (1,5 mL) i *para*-anisaldehida (3,7 mL) apsolutnom etanolu (135 mL). Otopina ninhidrina pripravljena je otapanjem ninhidrina (862 mg) u etanolu (100 mL).

Pripravljene spojevi pročišćeni su postupcima kolonske kromatografije s običnim silikagelom (Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,063–0,200 mm, Merck) ili *flash* silikagelom (Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,040–0,063 mm, Merck) kao stacionarnoj fazi uz odgovarajuće sustave otapala kao eluens, te su, po potrebi, dodatno pročišćeni postupcima prekrystalizacije ili trituriranja.

3.1.2.3. Strukturna karakterizacija pripremljenih spojeva

Strukturna karakterizacija sintetiziranih spojeva provedena je pomoću spektroskopije nuklearne magnetske rezonancije (NMR), infracrvene spektroskopije (IR) i spektrometrije masa (MS), odnosno spektrometrije masa visoke rezolucije (HR-MS). Pripremljenim spojevima određena je temperatura taljenja.

NMR spektri snimljeni su u odgovarajućim deuteriranim otapalima (DMSO-*d*₆, (CD₃)₂CO, CDCl₃, CD₃CN) pri temperaturi od 298 K uz tetrametilsilan ((CH₃)₄Si) kao unutarnji standard instrumentom Bruker Avance 300 (300,13 MHz (¹H) i 75,47 MHz (¹³C)), te Bruker Avance 600 (600,13 MHz (¹H) i 150,92 MHz (¹³C)). Snimljeni NMR spektri obrađeni su u program MestReNova (verzija 6,0,2–5475, Mestrelab Research S,L; 2009.). Uz jednodimenzionalne ¹H i ¹³C NMR tehnike, za asignaciju signala korištene su i dvodimenzionalne NMR tehnike: COSY (engl. *Correlation Spectroscopy*), HMQC (engl. *Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation*), HSQC (engl. *Heteronuclear Single Quantum Coherence*) i NOESY

(engl. *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*). Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima, relativno u odnosu na rezidualne pikove deuteriranih otapala (DMSO- d_6 : ^1H NMR $\delta = 2,50$ ppm, ^{13}C NMR $\delta = 39,52 \pm 0,06$ ppm, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: ^1H NMR $\delta = 2,05$ ppm, ^{13}C NMR $\delta = 29,84 \pm 0,01$ ppm, $206,26 \pm 0,13$ ppm, CDCl_3 : ^1H NMR $\delta = 7,26$ ppm, ^{13}C NMR $\delta = 77,16 \pm 0,06$ ppm, $206,26 \pm 0,13$ ppm, CD_3CN : ^1H NMR $\delta = 1,94$ ppm, ^{13}C NMR $\delta = 1,32 \pm 0,02$ ppm, $118,26 \pm 0,02$ ppm). ^1H spektri prikazani su kako slijedi: ^1H NMR (otapalo, frekvencija spektrometra): δ kemijski pomak (multiplicitet, konstante sprege, broj protona). ^{13}C spektri prikazani su kako slijedi: ^{13}C NMR (otapalo, frekvencija spektrometra): δ kemijski pomak (konstante sprege, broj ugljikovih atoma (gdje je primjenjivo)). Multipliciteti signala izraženi su kao: *s* (singlet), *d* (dublet), *br s* (broad singleta), *br d* (broad dubleta), *dd* (dublet dubleta), *td* (triplet dubleta), *t* (triplet), *dt* (dublet tripleta), *q* (kvartet), *dq* (dublet kvarteta), *m* (multiplet) i *p* (pentet). Konstante sprege (*J*) izražene su u Hz.

IR spektri snimljeni su instrumentom PerkinElmer UATR Two. Snimano je u ATR modu u rasponu $450\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, uz razlučivanje od 4 cm^{-1} i osam snimaka po spektru.

Spektri mase (MS) snimljeni su uređajem Agilent 6420 Triple Quad tvrtke Agilent Technologies (vezani sustav tekućinska kromatografija-spektrometrija masa (LC-MS)) uz ionizaciju elektroraspršenjem (ESI, engl. *Electron Spray Ionisation*). Spektri su snimani u pozitivnom (ESI+) i negativnom (ESI-) načinu rada. Spektrometrija masa visoke rezolucije provedena je instrumentom Agilent 6545 LC/Q-TOF MS uz pozitivnu ionizaciju elektroraspršenjem. Uzorci su otopljeni u smjesi metanol/acetoni-tril (9/1) i injektirani su direktno u MS detektor uz sastav mobilne faze: 70 % acetoni-trila (0,1 % mravlje kiseline), odnosno 30 % vode (0,1 % mravlje kiseline), protoka $0,2\text{ ml min}^{-1}$. Snimanje i obrada podataka provedeni su u Agilent MassHunter software.

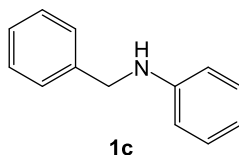
Rendgenska strukturna analiza provedena je rendgenskim difraktometrom Xcalibur Nova R (Oxrad Diffraction) uz snagu X-zraka oko 50 W.

Temperatura taljenja pripravljenih spojeva određena je pomoću Electrothermal 9100 instrumenta u otvorenim kapilarama.

Optičko skretanje enantiomerno obogaćenih produkata mjereno je instrumentom Autopol IV (Rudolf Research Analytical, Flanders, USA).

Sustavni nazivi spojeva dobiveni su iz programa ChemDraw Ultra (verzija 16.0) i ne slijede nužno IUPAC-ovu konvenciju.

3.1.2.4. Totalna sinteza marinoaziridina A i B te njihovih derivata

3.1.2.4.1. Priprava N-benzilanilina (**1c**)

Reakcijska smjesa sastavljena od anilina (12,00 mL, 129,0 mmol), natrijevog hidrogenkarbonata (3,42 g, 40,0 mmol) i vode (3,60 mL) miješana je tijekom 5 min pri temperaturi od 95 °C. U nastalu suspenziju dodan je benzil-klorid (3,90 mL, 33,3 mmol) te se reakcijska smjesa nastavila miješati na navedenoj temperaturi tijekom 4 h dok se tankoslojnom kromatografijom (petrol-eter/etil-acetat = 30/1) nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode (40 mL) te potom ekstrahirana diklormetanom (3 × 20 mL). Spojeni organski slojevi isprani su zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (2 × 15 mL). Organski ekstrakt osušen je nad bezvodnim natrijevim sulfatom, filtriran i uparen pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze petrol-eter/etil-acetat = 30/1 ($R_f = 0,31$). Dobiven je spoj **1c** (5,19 g, 86 %) u obliku žutog ulja koje kristalizira sniženjem temperature.

t.t. = 37,9–39,0 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 4,01 (1H, s); 4,32 (s, 2H); 6,63 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 8,6$ Hz, 2H); 6,71 (tt, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, 1H); 7,17 (ddd, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 4,1$ Hz, $J_3 = 10,6$ Hz, 2H); 7,23–7,38 (m, 5H).

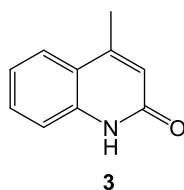
¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 48,4; 112,9 (2C); 117,6; 127,3 (2C); 127,5 (2C); 128,7; 129,3 (2C); 139,5; 148,2.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₁₃H₁₃N, izračunato 184,11262, eksperimentalno određeno 184,11299.

3.1.2.4.2. Priprava Knorrovih produkata

Općeniti postupak 1:

Reakcijska smjesa sastavljena od spoja **1a,c** (1 ekv.) i etil-acetoacetata (2 ekv.) podvrgnuta je mikrovalnom zračenju u reaktoru pri zadanim reakcijskim uvjetima (150 °C, 22–30 W, 1 h). Reakcija je praćena HPLC – metodom ($t_{R2a} = 6,5$ min, $t_{R2b} = 8,77$ min). Po završetku reakcije, višak etil-acetoacetata je uparen pod visokim vakuumom (45 °C, 0,008 mmHg), a dobiveni sirovi produkt **2a,c** (1 ekv.) podvrgnut je sljedećem sintetskom koraku, intramolekulskoj ciklizaciji u prisustvu sumporne kiseline (23 mL, 70 %). Reakcija je miješana tijekom 1,5 h pri temperaturi od 95 °C dok se tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti ($t_{R3} = 9$ min, $t_{R5} = 12$ min) nije utvrdio završetak reakcije. Po završetku reakcije, u nastalu suspenziju dokapavana je otopina natrijevog hidroksida ($c = 6$ mol L⁻¹, 40 mL) dok se nije postigla pH vrijednost 9. Vodena otopina ekstrahirana je etil-acetatom (3 × 30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Sirova reakcijska smjesa pročišćena je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz pokretnu fazu diklormetan/metanol = 25/1 ili uz kloroform/etil-acetat = 30/1. Strukturna analiza dobivenih produkata provedena je primjenom spektroskopskih tehnika.

3.1.2.4.2.1. Priprava 4-metil-kinolin-2(1H)-ona (**3**)

Spoj **3** pripremljen je iz anilina **1a** (1,00 g, 10,7 mmol) i etil-acetoacetata (2,80 g, 20,1 mmol) prema općenitom postupku 1 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.2. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,22$). Dobiven je spoj **3** (0,66 g, 40 %) u obliku žute krutine.

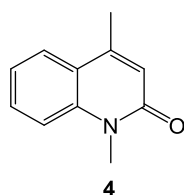
t.t. = 217,1–218,9 °C

¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ /ppm: 2,40 (d, $J_1 = 1,2$ Hz, 3H); 6,38 (q, $J_1 = 1,4$ Hz, 1H); 7,17 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, $J_3 = 8,3$ Hz, 1H); 7,30 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz,

1H); 7,48 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, $J_3 = 8,5$ Hz, 1H); 7,68 (dd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 1H); 11,57 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 18,89; 115,87; 120,05; 121,30; 122,09; 125,15; 130,71; 139,11; 148,36; 162,09.

3.1.2.4.2.2. Priprava 1,4-dimetil-kinolin-2(1H)-ona (**4**)



Okrugla tikvica, opremljena s povratnim hladilom i magnetičem za miješanje, u kojoj su *N*-metil-anilin **1b** (6,00 mL, 55,4 mmol) i etil-acetoacetat (14,01 mL, 110,8 mmol), ispunjena je argonom, te je dodana octena kiselina (30,0 mL). Reakcijska smjesa miješana je tijekom 48 h pri temperaturi od 145 °C. Nastaje smeđa otopina. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1. Po završetku reakcije, višak etil-acetoacetata je uparen pod visokim vakuumom (45 °C, 0,008 mmHg), a dobiveni produkt **2b** podvrgnut je ciklizaciji u prisustvu sumporne kiseline (24 mL, 96 %) pri temperaturi od 100 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 te tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Dobivena reakcijska smjesa ohlađena je i neutralizirana natrijevim hidroksidom ($c = 6$ mol L⁻¹). Vodeni sloj ekstrahiran je etil-acetatom (3 × 20 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,60$). Dobiven je spoj **4** (2,54 g, 27 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 131,8–133,1 °C

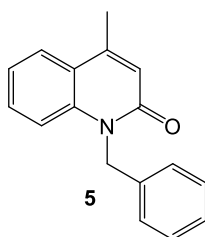
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,47 (s, 3H); 3,71 (s, 3H); 6,61 (s, 1H); 7,26 (d, $J_1 = 15,0$ Hz, 1H); 7,38 (d, $J_1 = 8,4$ Hz, 1H); 7,57 (t, $J_1 = 7,7$ Hz, 1H); 7,71 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 18,96; 29,23; 114,41; 121,17; 121,47; 121,90; 125,22; 130,45; 139,86; 146,37; 162,14.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 2919, 2886, 2850, 1652, 1615, 1592, 1562, 1503, 1455, 1409, 1387, 1.371, 1322, 1268, 1162, 1139, 1113, 1066, 1041, 924, 874, 863, 843, 769, 753.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}$, izračunato 174,09189, eksperimentalno određeno 174,09181.

3.1.2.4.2.3. Priprava 1-benzil-4-metil-kinolin-2(1H)-ona (**5**)



Spoj **5** pripremljen je iz *N*-benzil-anilina **1c** (4,7 g, 26 mmol) i etil-acetoacetata (6,5 mL, 52 mmol) prema općenitom postupku 1 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.2. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze kloroform/etil-acetat = 30/1 (R_f = 0,22). Dobiven je spoj **5** (3,15 g, 49 %) u obliku žute krutine.

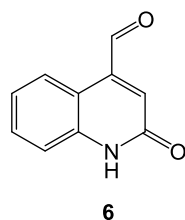
t.t. = 114,1–115,5 °C

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,51 (d, J_1 = 1,0 Hz, 3H); 5,56 (s, 2H); 6,70 (d, J_1 = 0,8 Hz, 1H); 7,17–7,32 (m, 7H); 7,42 (ddd, J_1 = 1,5 Hz, J_2 = 7,1 Hz, J_3 = 8,6 Hz, 1H); 7,71 (dd, J_1 = 1,3, J_2 = 8,0 Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 18,66; 45,18; 114,85; 120,51; 121,19; 121,52; 124,78; 126,03 (2C); 126,69; 128,28 (2C); 129,96; 136,05; 138,67; 146,57; 161,77.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3316, 3141, 3098, 3017, 2968, 2891, 2856, 2741, 1669, 1651, 1594, 1511, 1473, 1435, 1403, 1267, 1206, 1145, 1130, 982.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}$, izračunato 250,12319, eksperimentalno određeno 250,12365.

3.1.2.4.3. Priprava 2-okso-1,2-dihidrokinolin-2(1H)-on-4-karbaldehida (**6**)

Okrugla tikvica, opremljena s povratnim hladilom i magnetičem za miješanje, u kojoj je spoj **3** (2,00 g, 12,6 mmol), selenijev dioksid (9,76 g, 88,1 mmol) i aktivirana molekulska sita (5 Å, 3,80 g), ispunjena je argonom te je dodan ksilen (50 mL). Reakcijska smjesa miješana je tijekom 24 h pri temperaturi od 150 °C dok se tankoslojnom kromatografijom nije utvrdio završetak reakcije (kloroform/metanol = 5/1). U nastalu reakcijsku suspenziju dodan je diklormetan. Nastali crni talog selenija odfiltriran je preko celita i ispran diklormetanom. Filtrat je uparen pod vakuumom, a sirovi produkt reakcije pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze kloroform/metanol = 5/1 ($R_f = 0,54$). Prekristalizacijom iz metanola, dobiven je spoj **6** (1,20 g, 55 %) u obliku žute krutine.

t.t. = 214,2–216,4 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 7,16 (s, 1H); 7,35 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 1H); 7,60 (m, 1H); 8,76 (d, $J_1 = 7,7$ Hz, 1H); 10,21 (s, 1H); 10,88 (s, 1H).

¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ/ppm: 114,93; 115,67; 122,66; 125,17, 131,02, 131,61; 139,61; 141,18; 161,37; 194,74.

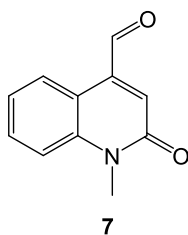
HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₁₀H₇NO₂, izračunato 174,05550, eksperimentalno određeno 174,05535.

3.1.2.4.4. Priprava kinolin-2(1H)-on-4-karbaldehida (**7,8**)**Općeniti postupak 2:**

Zatvorena ampula, opremljena magnetičem za miješanje, u kojoj su polazni spojevi **4,5** (1 ekv.), zagrijana je do 150 °C. U nastalu reakcijsku talinu dodan je selenijev dioksid (1,5 ekv.) te se reakcija nastavila miješati tijekom 3 sata pri temperaturi od 175 °C dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. U nastalu krutu

masu dodan je diklormetan, a nastali crni talog selenija odfiltriran je preko celita i dodatno ispran diklormetanom. Filtrat je uparen pod vakuumom, a sirovi produkt reakcije pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1.

3.1.2.4.4.1. Priprava 1-benzil-4-metil-kinolin-2(1H)-ona (7)



Spoj 7 pripravljen je iz spoja 4 (1,92 g, 11,1 mmol) i selenijevog dioksida (1,85 g, 16,6 mmol) u zatvorenoj ampuli prema općenitom postupku 2 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.4.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,22$). Dobiven je spoj 7 (1,30 g, 63 %) u obliku žute krutine.

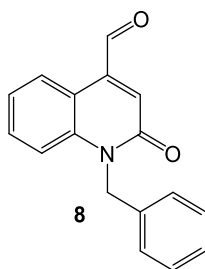
t.t. = 187,1–189,2 °C

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ /ppm: 3,67 (s, 3H); 7,28 (s, 1H); 7,36 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,2$ Hz, 1H); 7,62 (dd, $J_1 = 0,7$ Hz, $J_2 = 8,4$ Hz, 1H); 7,71 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 8,67 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 10,19 (s, 1H).

^{13}C (DMSO- d_6 , 151 MHz) δ /ppm: 30,04; 115,74; 116,39; 123,29; 126,09; 130,93; 131,92; 140,18; 140,70; 161,15; 195,05.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3024, 2882, 2772, 1698, 1659, 1587, 1453, 1412, 1392, 1326, 1053, 937, 898, 750, 656, 518, 468.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_2$, izračunato 188,07115, eksperimentalno određeno 188,07098.

3.1.2.4.4.2. Priprava 1-benzil-4-metil-kinolin-2(1H)-ona (**8**)

Spoj **8** pripravljen je iz spoja **5** (1,33 g; 5,34 mmol) i selenijevog dioksida (0,89 g; 8,0 mmol) u zatvorenoj ampuli prema općenitom postupku 2 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.4.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,18$). Dobiven je spoj **8** (1,35 g, 96 %) u obliku narančaste krutine.

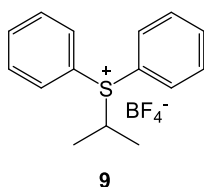
t.t. = 84,7–86,1 °C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 5,60 (s, 2H); 7,19–7,37 (m, 8H); 7,50 (ddd, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,7$ Hz, 1H); 8,84 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 1H); 10,20 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 45,94; 114,88; 116,27; 122,91; 126,03 (2C); 126,17; 127,05; 128,44 (2C); 131,05; 131,10; 135,11; 139,51; 140,05; 161,32; 192,22.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3313, 3132, 3045, 3010, 2940, 2851, 2810, 2741, 1730, 1717, 1669, 1651, 1594, 1511, 1473, 1435, 1403, 1267, 1206, 1145, 1130, 982.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_2$, izračunato 265,10245, eksperimentalno određeno 265,10533.

3.1.2.4.5. Priprava izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata (**9**)

Okrugla tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj su 2-jodpropan (3,00 g, 17,6 mmol) i difenil sulfid (2,65 mL, 15,9 mmol), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni diklormetan (20 mL). Reakcijska smjesa ohlađena je na temperaturu od -10 °C te je dodan

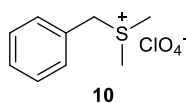
srebrov tetrafluorborat (3,43 g, 15,9 mmol) u obrocima. Dolazi do taloženja srebrovog jodida. Reakcijska tikvica prekrivena je aluminijskom folijom. Reakcija se nastavila miješati tijekom 24 h pri sobnoj temperaturi, a kraj reakcije utvrđen je metodom tankoslojne kromatografije. Po završetku, nastali srebrov jodid odfiltriran je, a filtrat je uparen pod vakuumom i trituiran dietil-eterom. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/dietil-eter = 1/4 dobiven je spoj **9** (2,50 g, 50 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 122,3–123,5 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 1,50 (d, *J*₁ = 6,6 Hz, 6H); 5,04 (p, 1H); 7,57–7,79 (m, 6H); 8,02–8,20 (m, 4H).

¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 18,54 (2C); 50,68; 123,81 (2C); 131,33 (4C); 131,66 (4C); 134,83 (2C).

3.1.2.4.6. Priprava benzil(dimetil)sulfonijevog perklorata (**10**)



Okrugla tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je benzil-klorid (0,84 g, 4,9 mmol) i dimetil-sulfid (0,37 g, 5,9 mmol), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni diklormetan (20 mL). U nastalu otopinu dodan je srebrov perklorat (1,03 g, 4,9 mmol) u obrocima. Dolazi do taloženja srebrovog klorida. Reakcijska smjesa nastavila se miješati tijekom 3 h pri sobnoj temperaturi, dok se tankoslojnom kromatografijom nije utvrdio završetak reakcije. Po završetku, reakcijska smjesa je filtrirana, a filtrat je uparen i trituiran dietil-eterom. Dobiven je spoj **10** (1,18 g, 79 %) u obliku bijele krutine.

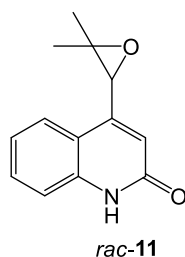
t.t. = 108,1–117,9 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 2,91 (s, 6H); 4,66 (s, 2H); 7,45 (m, 5H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 23,74 (2C); 45,75; 126,09; 129,85 (2C); 130,56; 130,86; 131,01.

3.1.2.4.7. Pripravu racemičnih trisupstituiranih marinoepoksida (rac-**11**–**13**)**Općeniti postupak 3:**

Schlenk tikvica, u kojoj je izopropil(difenil)sulfonijev tetrafluorborat **9** (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h ($p = 0,008$ mmHg) i ispunjena je argonom. Dodano je nekoliko mililitara suhog tetrahidrofurana (~1 mL na 0,10 g soli). Suspenzija je ohlađena na -78 °C i dokapana je otopina *tert*-butil-litija ($1,9$ mol L⁻¹, 1,1 ekv.). Nastaje narančasta otopina. Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h prije nego što je dodana otopina odgovarajućeg aldehida (1 ekv.) u suhom tetrahidrofuranu. Nastaje smeđa otopina. Nakon dodatka aldehida reakcija je miješana 5 h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Sirova reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom (3×30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama.

3.1.2.4.7.1. Priprava racemčnog (\pm)-4-(3,3-dimetiloksiran-2-il)kiinolin-2(1H)-ona (rac-**11**)

Spoj *rac-11* pripravljen je iz izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9** (1,30 g, 4,0 mmol) i aldehida **6** (0,32 g, 1,8 mmol), korištenjem baze *tert*-butil-litija (2,5 mL, 4,8 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (70 mL) prema općenitom postupku 3 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.7.. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,32$). Dobiven je spoj *rac-11* (0,06 g, 14,6 %) u obliku bijele krutine.

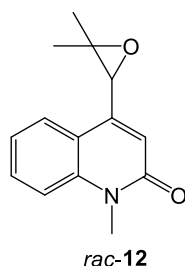
^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 1,14 (s, 3H); 1,65 (s, 3H); 4,05 (d, $J_1 = 0,3$ Hz, 1H); 6,71 (d, $J_1 = 0,4$ Hz, 1H); 7,26 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_2 = 15,3$ Hz, 1H); 7,40 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 1H); 7,55 (ddd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,3$ Hz, 1H); 7,63 (dd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H); 11,32 (s, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 17,05; 23,45; 60,54; 60,68; 115,81; 117,55; 117,60; 121,78; 122,39; 129,81; 137,35; 146,34; 163,15.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 2983, 2963, 2850, 1651, 1612, 1557, 1437, 1373, 1190, 1119, 912, 885, 719, 695, 508.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₁₃H₁₃NO₂, izračunato 216,10245, eksperimentalno određeno 216,10226.

3.1.2.4.7.2. Priprava racemčnog (\pm)-4-(3,3-dimetiloksiran-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-12)



Spoj *rac*-12 pripravljen je iz izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9** (0,80 g, 2,5 mmol) i aldehida **7** (0,47 g, 2,7 mmol), korištenjem baze *tert*-butil-litija (1,6 mL, 3,0 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (15 mL) prema općenitom postupku 3 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.7.. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,57$). Dobiven je spoj *rac*-12 (0,20 g, 35 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 92,9–94,8 °C

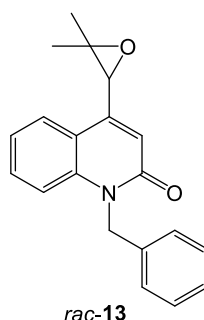
^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 1,10 (s, 3H); 1,62 (s, 3H); 3,72 (s, 3H); 4,00 (d, $J_1 = 0,9$ Hz, 1H); 6,71 (d, $J_1 = 0,9$ Hz, 1H); 7,26–7,29 (m, 1H); 7,41 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 1H); 7,60 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 7,64 (d, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,9$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ /ppm: 18,07; 24,41; 29,36; 61,38; 61,55; 114,75; 119,22; 119,36; 122,14; 124,17; 130,75; 139,88; 144,56; 161,94.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2961, 2923, 1649, 1590, 1565, 1504, 1453, 1365, 1320, 1250, 1119, 1071, 933, 795, 750, 728, 693, 461.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_2$, izračunato 230,11810, eksperimentalno određeno 230,11866.

3.1.2.4.7.3. Priprava racemičnog (\pm)-1-benzil-4-(3,3-dimetiloksiran-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac*-**13**)



Spoj *rac*-**13** pripravljen je iz izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9** (0,38 g, 1,2 mmol) i aldehida **8** (0,32 g, 1,2 mmol), korištenjem baze *tert*-butil-litija (0,7 mL, 1,4 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (7 mL) prema općenitom postupku 3 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.7.. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,72$). Dobiven je spoj *rac*-**13** (0,32 g, 86 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 140,0–142,0 °C

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 1,16 (s, 3H); 1,65 (s, 3H); 4,03 (d, $J_1 = 1,1$ Hz, 1H); 5,47 (d, $J_1 = 15,4$ Hz, 1H); 5,65 (d, $J_1 = 16,2$ Hz, 1H); 6,82 (d, $J_1 = 1,2$ Hz, 1H); 7,19–7,26 (m, 4H); 7,26–7,35 (m, 3H); 7,46 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 18,14; 24,44; 45,89; 61,49; 61,64; 115,65; 119,10; 119,60; 122,26; 124,24; 126,61 (2C); 127,30; 128,82 (2C); 130,75; 136,34; 139,29; 145,19; 162,10.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2978, 1652, 1596, 1567, 1497, 1450, 1366, 1316, 1253, 1304, 1160, 1073, 929, 800, 753, 725, 715, 696, 576, 510, 458.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_2$, izračunato 306,14940, eksperimentalno određeno 306,15009.

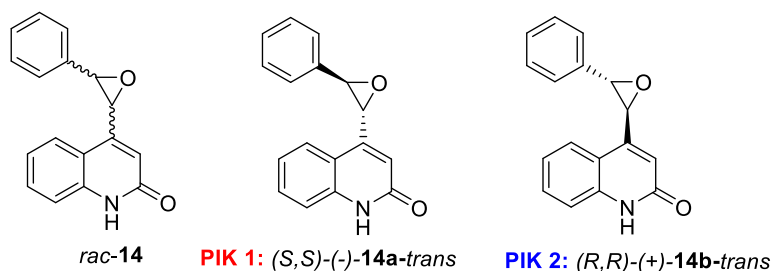
3.1.2.4.8. Pripravu disupstituiranih marinoepoksida (rac-14–16)

Općeniti postupak 4:

Schlenk tikvica, u kojoj je benzil-sulfonijeva sol (1 ekv.), odgovarajući aldehid (1 ekv.) i kalijev hidroksid (1,2 ekv.), evakuirana je 0,5 h ($p = 0,008$ mmHg) i ispunjena je argonom. Dodano je nekoliko mililitara suhog acetonitrila (~1 mL na 0,10 g soli). Reakcijska smjesa miješana je 20 h pri sobnoj temperaturi. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Sirova reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom (3 × 30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama.

Općeniti postupak 5:

Schlenk tikvica, u kojoj je benzil-sulfonijeva sol (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h ($p = 0,008$ mmHg) i ispunjena je argonom. Dodano je nekoliko mililitara suhog tetrahidrofurana (~1 mL na 0,1 g soli). Suspenzija je ohlađena na -78 °C i dokapana je fosfazenska baza (1,1 ekv.). Nastaje narančasta otopina. Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h prije nego što je dodana otopina odgovarajućeg aldehida (1 ekv.) u suhom tetrahidrofuranu. Nastaje smeđa otopina. Nakon dodatka aldehida reakcija je miješana 5 h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Sirova reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom (3 × 30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama.

3.1.2.4.8.1. Priprava racemičnog (\pm)-4-(3-feniloksiran-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac-14*)

Spoj *rac-14* pripravljen je iz benzil-sulfonijeve soli **10** (0,16 g, 0,52 mmol) i aldehida **6** (0,09 g, 0,5 mmol) u acetonitrilu (~10 mL) korištenjem kalijevog hidroksida (0,06 g, 1,0 mmol) prema općenitom postupku 4 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.8.. Produkt je izoliran *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,20$). Dobiven je spoj *rac-14* (0,11 g, 79 %) u obliku bijele krutine, kao smjesa *trans/cis* izomera u omjeru 88/12. Omjer izomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Glavni izomer *rac-14a-trans*

t.t. = 254,9–257,0 °C (određena na smjesi dvaju diastereoizomera)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 3,87 (d, $J_1 = 1,9$ Hz, 1H); 4,25 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H); 6,84 (d, $J_1 = 1,0$ Hz, 1H); 7,18–7,23 (m, 1H); 7,23–7,32 (m, 1H); 7,38–7,47 (m, 5H); 7,55 (ddd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,4$ Hz, 1H); 7,64 (dd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz); 11,61 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 59,18; 61,84; 116,51; 118,46; 122,88; 123,49; 125,67 (2C); 128,85 (2C); 128,94; 130,97; 136,04; 138,33; 147,55; 163,88.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3002, 2847, 1652, 1557, 1510, 1438, 1425, 1380, 1351, 1265, 1240, 983, 883, 768, 751, 703, 583.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_2$, izračunato 264,10245; eksperimentalno određeno 264,10257.

Enantioselektivna kromatografija (SemiPrep-CHIRAL ART Amylose-SA, acetonitril/voda = 9/1, λ 254 nm, protok 1,0 mL min^{-1})

PIK 1 ($t_R = 6,29$ min)

ee = 99,9 %

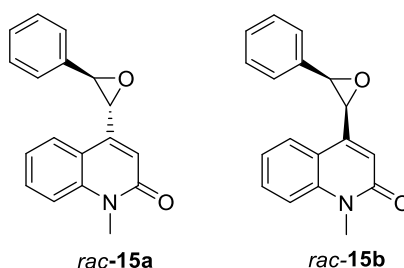
$[\alpha]_D^{23} = -92$ (c $2,93 \times 10^{-3}$ g mL $^{-1}$; MeOH)

PIK 2 ($t_R = 9,19$ min)

ee = 95 %

$[\alpha]_D^{23} = +110$ (c $2,33 \times 10^{-3}$ g mL $^{-1}$; MeOH)

3.1.2.4.8.2. Priprava racemičnog (\pm)-1-metil-4-(3-feniloksiran-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-15)



Spoj *rac-15* pripravljen je iz benzil-sulfonijeve soli **10** (0,60 g, 2,1 mmol) i aldehida **7** (0,40 g, 2,1 mmol) u acetonitrilu (~12 ml) korištenjem kalijevog hidroksida (0,24 g, 4,2 mmol) prema općenitom postupku 4 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.8.. Produkt je izoliran *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,22$). Dobiven je spoj *rac-15* (0,40 g, 75 %) u obliku bijele krutine, kao smjesa *trans/cis* izomera u omjeru 87/13. Omjer izomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Glavni izomer *rac-15a-trans*

t.t. = 198,1–200,9 °C (određena na smjesi dvaju dijastereoizomera)

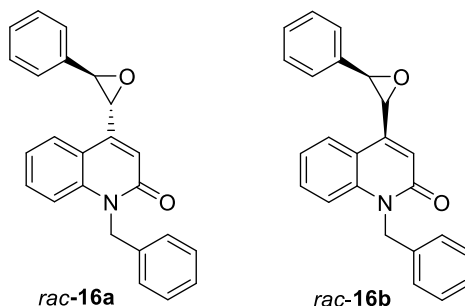
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 3,74 (s, 3H); 3,84 (d, $J_1 = 2,0$ Hz, 1H); 4,21 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H); 6,85 (d, $J_1 = 0,9$ Hz, 1H); 7,22 (td, $J_1 = 0,8$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, 1H); 7,35–7,50 (m, 6H); 7,60 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 7,67 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 29,43; 59,12; 61,60; 114,73; 117,02; 122,23; 124,16; 125,65 (2C); 128,82 (2C); 128,88; 130,94; 136,10; 139,95; 144,89; 162,10; 170,56.

$\text{IR } \tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3060, 1650, 1592, 1568, 1499, 1456, 1415, 1378, 1324, 1272, 1163, 1083, 934, 881, 753, 701, 644, 608, 701, 591, 507, 480.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{18}H_{15}NO_2$, izračunato 278,11810, eksperimentalno određeno 278,11784.

3.1.2.4.8.3. Priprava racemičnog (\pm)-1-benzil-4-(3-feniloksiran-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-16)



Spoj *rac-16* pripravljen je iz benzil-sulfonijeve soli **10** (0,17 g, 0,57 mmol) i aldehida **8** (0,15 g, 0,57 mmol) u acetonitrilu (~10 ml) korištenjem kalijevog hidroksida (0,06 g, 1,14 mmol) prema općenitom postupku 4 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.8.. Produkt je izoliran *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,65$). Dobiven je spoj *rac-16* (0,16 g, 80 %) u obliku bijele krutine, kao smjesa *trans/cis* izomera u omjeru 94/6. Omjer izomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Glavni izomer *rac-16a-trans*

t.t. = 161,4–163,6 °C

1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 3,89 (d, $J_1 = 1,9$ Hz, 1H); 4,23 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 2,0$, 1H); 5,58 (s, 2H); 6,94 (s, 1H); 7,16 (td, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, 1H); 7,20–7,26 (m, 3H); 7,26–7,35 (m, 3H); 7,35–7,50 (m, 6H); 7,66 (dd, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 45,92; 59,19; 61,64; 115,66; 116,94; 119,50; 122,32; 124,23; 125,67 (2C); 126,60 (2C); 127,33; 128,84 (4C); 128,92; 130,88; 136,09; 136,28; 139,36, 145,49, 162,27.

IR $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3034, 1652, 1590, 1564, 1496, 1454, 1379, 1314, 1073, 1029, 898, 840, 752, 723, 694, 594, 505.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{24}H_{19}NO_2$, izračunato 354,14940, eksperimentalno određeno 354,15016.

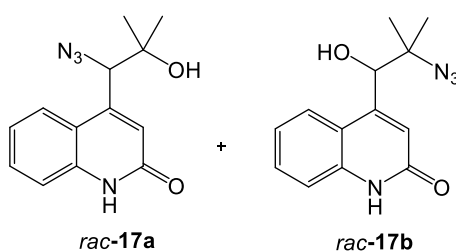
3.1.2.4.9. Priprava kinolin-2(1H)-on-azidoalkohola

Općeniti postupak 6:

U zatvorenu ampulu, redom su dodani odgovarajući marinoepoksid (1 ekv.), natrijev azid (3 ekv.), Lewisova kiselina (3 ekv.), katalitička količina Amberlyst® 15 (10 % w) te otapalo. Reakcijska smjesa podvrgnuta je ultrazvučnoj kupelji te zatim miješana pri povišenoj temperaturi dok se nije utvrdio završetak reakcije. Tijek reakcije praćen je metodom tankoslojne kromatografije, a reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom ili etil-acetatom (3 × 20 mL), a sakupljeni i spojeni organski slojevi osušeni su nad natrijevim sulfatom, filtrirani te upareni pod vakuumom.

Općeniti postupak 7:

U toluenu pri 0 °C, suspendiran je natrijev azid (2,2 ekv.) u atmosferi argona. S kratkim vremenskim odmakom dodana je sol dietilaluminijev klorid (2 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi 6 h te je potom dodan prethodno otopljeni marinoepoksid. Reakcija se miješala pri sobnoj temperaturi sve dok se tankoslojnom kromatografijom nije utvrdio završetak reakcije (diklormetan/metanol = 25/1). Reakcija je zaustavljena dodatkom vode, potom ekstrahirana diklormetanom ili etil-acetatom (3 × 20 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom te upareni pod vakuumom.

3.1.2.4.9.1. Priprava (±)-4-(1-azido-2-hidroksi-2-metilpropil)kinolin-2(1H)-ona (*rac-17*)

Smjesa regioizomera *rac-17a,b* pripravljena je iz kinolin-2(1H)-onskog marinoepoksida *rac-11* (0,12 g, 0,5 mmol) i natrijevog azida (0,10 g, 1,6 mmol) u prisustvu amonijevog klorida (0,09 g, 1,6 mmol) i Amberlyst® 15 (0,025 g) u bezvodnom metanolu (3 mL) prema općenitom postupku 6 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom

na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,16$). Dobivena je smjesa regioizomera *rac-17a,b* (0,09 g, 63 %) u omjeru *rac-17a/rac-17b* = 80/20 u obliku žutog ulja. Omjer regioizomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela..

Glavni regioizomer *rac-17a*

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 1,30 (s, 3H); 1,31 (s, 3H); 1,93 (s, 1H); 5,10 (s, 1H); 6,94 (s, 1H); 7,28 (ddd, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, $J_3 = 1,5$ Hz, 1H); 7,38 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1H); 7,55 (ddd, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 1,2$ Hz, 1H); 7,87 (d, $J_1 = 8,4$ Hz, 1H); 11,10–11,23 (m, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ /ppm: 26,17; 27,03; 68,62; 73,62; 116,71; 119,25; 121,98; 122,77; 124,84; 130,99; 138,08.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₁₃H₁₄N₄O₂, izračunato 259,11950, eksperimentalno određeno 259,11968.

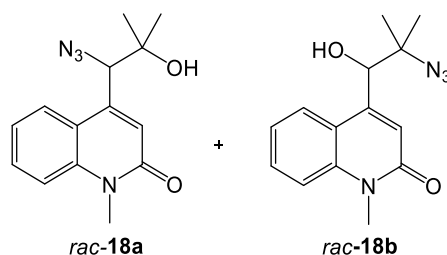
Sporedni regioizomer *rac-17b*

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 1,35–1,40 (m, 6H); 2,57 (br d, $J_1 = 3,7$ Hz, 1H); 5,19 (d, $J_1 = 2,9$ Hz, 1H); 6,99 (s, 1H); 7,25 (t, $J_1 = 7,3$ Hz, 1H); 7,34 (d, $J_1 = 8,1$ Hz, 1H); 7,52 (br t, $J_1 = 8,1$ Hz, 1H); 7,83 (d, $J_1 = 8,1$ Hz, 1H); 10,98–11,08 (m, 1H);

^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 22,33; 22,49; 65,01; 74,64; 116,56; 120,60; 122,54; 121,04; 125,07; 131,25; 147,29.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₁₃H₁₄N₄O₂, izračunato 259,11950, eksperimentalno određeno 259,11968.

3.1.2.4.9.2. Priprava (\pm)-4-(1-azido-2-hidroksi-2-metilpropil)-1-(metilkinolin-2(1H))-ona (*rac-18*)



Smjesa regioizomera *rac-18a,b* pripravljena je iz kinolin-2(1H)-onskog marinoepoksida *rac-12* (0,07 g, 0,03 mmol) i natrijevog azida (0,60 g, 0,91 mmol) u bezvodnom metanolu prema

općenitom postupku 6 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,22$). Dobivena je smjesa regioizomera *rac-18a,b* (0,05 g, 60 %) u omjeru *rac-18a/rac-18b* = 56/44. Omjer regioizomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela, a reakcija pripreme smjese regioizomera *rac-18a,b* ponovljena je uz promjenu reakcijskih uvjeta prema tablici 6 (4.2.1.5.1.) i općenitim postupcima 6 i 7 opisanim u poglavlju 3.1.2.4.9..

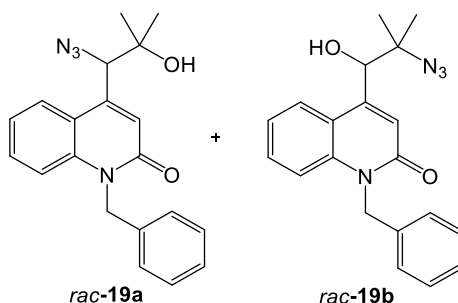
Glavni regioizomer *rac-18a*

t.t. = 95,3–111,1 °C (određena na smjesi dvaju regioizomera)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 1,20 (d, $J_1 = 11,2$ Hz, 3H); 1,29 (d, $J_1 = 9,8$ Hz, 3H); 3,45 (s, 3H); 3,67 (s, 1H); 6,89 (s, 1H); 7,23 (m, 2H); 7,37 (m, 1H); 7,84 (d, $J_1 = 8,1$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,74; 21,89; 25,22; 28,34; 63,85; 113,72; 113,94; 120,43 (2C); 120,88; 121,05; 129,54; 129,89; 165,47.

3.1.2.4.9.3. Priprava (\pm)-4-(1-azido-2-hidroksi-2-metilpropil)-1-(benzilkinolin-2(1H))-ona (*rac-19*)



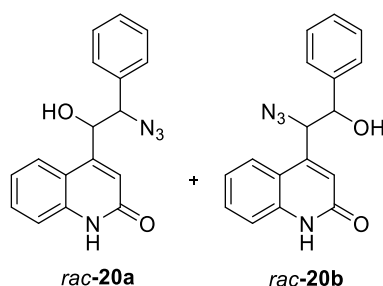
Smjesa regioizomera *rac-19a,b* pripravljena je iz kinolin-2(1H)-onskog marinoepoksida *rac-13* (0,05 g; 0,16 mmol) i natrijevog azida (0,32 g, 0,50 mmol) u bezvodnom metanolu prema općenitom postupku 6 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,54$). Dobivena je smjesa regioizomera *rac-19a,b* (0,02 g, 39 %) u omjeru *rac-19a/rac-19b* = 54/46. Omjer regioizomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Glavni regioizomer *rac-19a*

t.t. = 77,9–93,4 °C (određena na smjesi dvaju regioizomera)

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 1,40 (d, *J*₁ = 7,23 Hz, 6H); 2,01 (s, 1H); 3,30 (s, 1H); 5,22 (s, 1H); 7,05 (s, 1H); 7,31 (m, 5H); 7,43 (ddd, *J*₁ = 7,3 Hz *J*₂ = 8,3 Hz, *J*₃ = 15,5 Hz, 2H); 7,90 (m, 2H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 22,91; 45,97; 64,95; 73,65; 115,71; 120,27; 121,28; 122,16; 125,50; 126,44; 126,58 (2C); 127,35 (2C); 128,85 (2C); 130,59; 136,02; 139,20; 145,45; 161,99.

3.1.2.4.9.4. Priprava (±)-4-(1-azido-2-benzil-2-hidroksi)kinolin-2(1H)-ona (*rac-20*)

Smjesa regioizomera *rac-20a,b* pripravljena je iz kinolin-2(1H)-onskog marinoepoksida *rac-14* (0,10 g, 0,36 mmol) i natrijevog azida (0,7 g, 1,08 mmol) u bezvodnom metanolu prema općenitom postupku 6 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 (*R*_f = 0,04). Dobivena je smjesa regioizomera *rac-20a,b* (0,06 g, 53 %) u omjeru *rac-20a/rac-20b* (90/10). Omjer regioizomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Glavni regioizomer *rac-20a*

t.t. = 232,0–241,0 °C (određena na smjesi dvaju regioizomera)

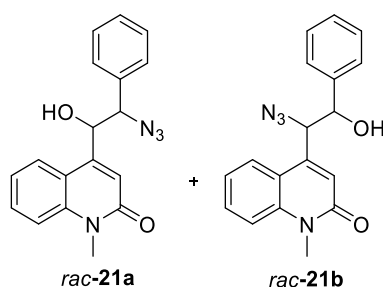
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 4,93 (d, *J*₁ = 5,8 Hz, 1H); 5,37 (d, *J*₁ = 5,8 Hz, 1H); 6,67 (s, 1H); 7,25 (m, 3H); 7,29 (d, *J*₁ = 8,2 Hz, 1H); 7,36 (m, 3H); 7,52 (t, *J*₁ = 7,7 Hz, 1H); 7,77 (d, *J*₁ = 8,1 Hz, 1H).

¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 47,12; 65,84; 116,53; 118,46; 122,88; 123,49; 125,67 (2C); 128,85 (2C); 128,94; 130,94; 136,04; 138,33; 147,55; 163,88.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3152, 2104, 1648, 1544, 1510, 1431, 1347, 1266, 1090, 881, 750, 697, 613.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$, izračunato 307,11950, eksperimentalno određeno 307,11929.

3.1.2.4.9.5. Priprava (\pm)-4-(1-azido-2-benzil-2-hidroksi)-1-(metilkinolin-2(1H))-ona (*rac*-**21**)



Smjesa regioizomera *rac*-**21a,b** pripravljena je iz kinolin-2(1H)-onskog marinoepoksida *rac*-**15** (0,10 g, 0,37 mmol) i natrijevog azida (0,74 g, 1,11 mmol) u bezvodnom metanolu prema općenitom postupku 6. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,16$). Dobivena je smjesa regioizomera *rac*-**21a,b** (0,08 g, 69 %) u omjeru *rac*-**21a**/*rac*-**21b** (87/19). Omjer regioizomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela, a reakcija priprave smjese regioizomera *rac*-**21a,b** ponovljena je uz promjenu reakcijskih uvjeta prema tablici 7 (4.2.1.5.2.) i općenitom postupku 6 i 7 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9..

Glavni regioizomer *rac*-**21a**

t.t. = 78,1–81,6 °C (određena na smjesi dvaju regioizomera)

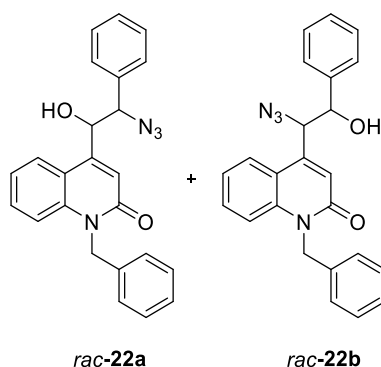
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 3,57 (s, 3H); 4,90 (d, $J_1 = 6,2$ Hz, 1H); 5,34 (d, $J_1 = 6,5$ Hz, 1H); 6,72 (s, 1H); 7,30 (m, 3H); 7,36 (m, 4H); 7,58 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, $J_3 = 15,7$ Hz, 1H); 7,84 (dd, $J_1 = 7,74$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1H).

¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 29,33; 69,61; 72,18; 114,84 (2C); 120,55 (2C); 122,10 (2C); 124,73; 128,17 (2C); 128,79; (2C); 129,12 (2C); 130,57 (C); 161,86.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3301, 2940, 2099, 1638, 1576, 1494, 1452, 1324, 1251, 1163, 1076, 1049, 936, 883, 750, 699, 550, 465.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{18}H_{16}N_4O_2$, izračunato 321,13515, eksperimentalno određeno 321,13513.

3.1.2.4.9.6. Priprava (\pm)-4-(1-azido-2-benzil-2-hidroksi)-1-(benzilkinolin-2(1H))-ona (*rac*-**22**)



Smjesa regioizomera *rac*-**22a,b** pripravljena je iz kinolin-2(1H)-onskog marinoepoksida *rac*-**16** (0,10 g, 0,28 mmol) i natrijevog azida (0,55 g, 0,84 mmol) u bezvodnom metanolu prema općenitom postupku 6 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 (R_f = 0,43). Dobivena je smjesa regioizomera *rac*-**22a,b** (0,10 g, 90 %) u omjeru regioizomera *rac*-**22a**/*rac*-**22b** = 88/12. Omjer regioizomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela, a reakcija pripreve smjese regioizomera *rac*-**22a,b** ponovljena je uz promjenu reakcijskih uvjeta prema tablici 7 (4.2.1.5.2.) i općenitom postupku 6 i 7 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.9..

Glavni regioizomer *rac*-**22a**

t.t. = 78,5–84,2 °C (određena na smjesi dvaju regioizomera)

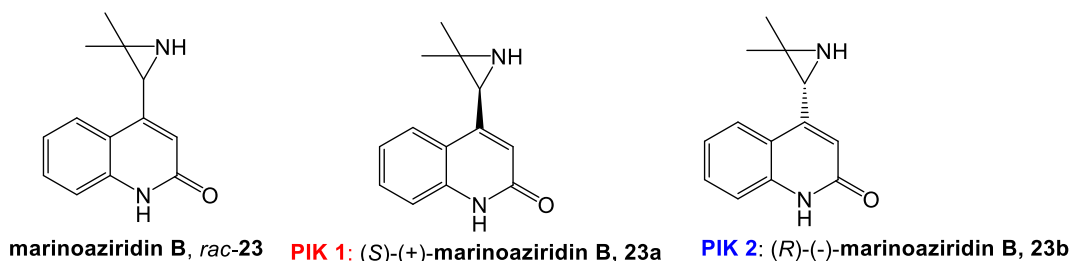
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 3,43 (s, 2H); 4,88 (d, J_1 = 6,4 Hz, 1H); 5,33 (d, J_1 = 6,4 Hz, 1H); 6,74 (s, 1H); 7,31 (m, 11H); 7,56 (m, 2H); 7,85 (m, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 28,14 (2C); 68,55 (2C); 71,17 (2C); 113,73 (2C); 118,20; 119,52 (2C); 121,14 (2C); 123,92 (2C); 127,13 (3C); 127,70 (3C); 127,96 (2C); 129,50 (2C); 134,41; 138,51; 147,70; 160,90.

3.1.2.4.10. Priprava trisupstituiranih marinoaziridina

Općeniti postupak 8:

Okrugla tikvica, opremljena s povratnim hladilom i magnetičem za miješanje, u kojoj su odgovarajući azidoalkohol (1 ekv.) i trifenilfosfin (1 ekv.), ispunjena je argonom te je dodan acetonitril. Nastala suspenzija miješana je tijekom 2 h pri sobnoj temperaturi. Dolazi do oslobađanja dušika. Reakcija se nastavila miješati tijekom 24 h pri temperaturi od 85 °C dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) i visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Sirova reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom (3 × 20 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama.

3.1.2.4.10.1. Priprava (±)-marinoaziridina B (*rac*-**23**)

Marinoaziridin B, *rac*-**23**, pripravljen je iz azidoalkohola *rac*-**17a** (0,09 g, 0,33 mmol) i trifenilfosfina (0,10 g, 0,40 mmol) prema općenitom postupku 8 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.10.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze kloroform/metanol = 5/1 ($R_f = 0,62$). Dobiven je marinoaziridin B, *rac*-**23** (0,05 g; 80 %) u obliku žutog ulja.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 0,98 (s, 3H); 1,64 (s, 3H); 3,25 (br s, 1H); 6,81 (s, 1H); 7,25 (t, $J_1 = 7,0$ Hz, 1H); 7,50 (m, 1H); 7,52 (m, 1H); 7,71 (br d, $J_1 = 7,7$ Hz, 1H); 12,14 (br s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 19,16; 26,75; 39,67; 43,03; 116,74; 119,58; 119,79; 122,70; 123,83; 130,63; 138,32; 149,03; 164,16.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$, izračunato 215,11844, eksperimentalno određeno 215,11857.

NORMALNA FAZA-KIRALNI HPLC (anal-CHIRAL ART Cellulose-SC, diklormetan, λ 254 nm, protok 1,0 mL min $^{-1}$)

PIK 1 ($t_R = 6,92$ min)

ee = 98 %

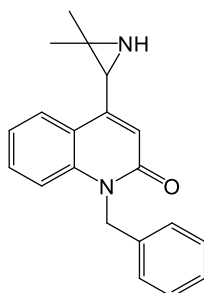
$[\alpha]_D^{23} = +45$ (c 2,98 $\times 10^{-3}$ g mL $^{-1}$; MeOH)

PIK 2 ($t_R = 8,69$ min)

ee = 97 %

$[\alpha]_D^{23} = -44$ (c 2,52 $\times 10^{-3}$ g mL $^{-1}$; MeOH)

3.1.2.4.10.2. Priprava derivatiziranog marinoaziridina B (*rac*-**24**)



derivatizirani marinoaziridin B, *rac*-**24**

Derivatizirani marinoaziridin B, *rac*-**24**, pripravljen je iz azidoalkohola *rac*-**18a** (0,07 g, 0,20 mmol) i trifetil-fosfina (0,05 g, 0,20 mmol) prema općenitom postupku 8 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.10.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,27$). Dobiven je derivatizirani marinoaziridin B, *rac*-**24** (0,05 g, 91 %) u obliku bijele krutine.

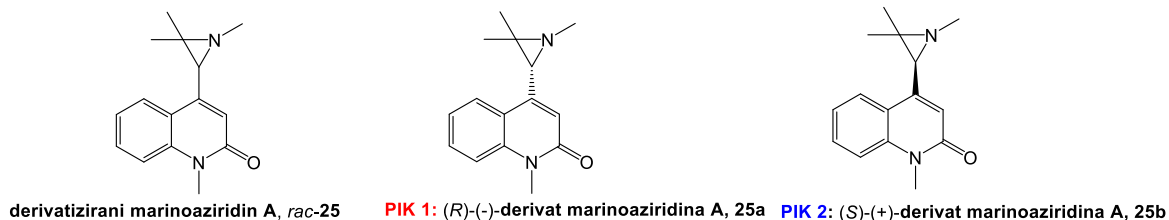
^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 0,99 (s, 3H); 1,62 (s, 3H); 3,14 (br s, 1H); 5,46 (s, 1H); 5,66 (d, $J_1 = 16,8$ Hz, 1H); 6,88 (s, 1H); 7,19–7,25 (m, 4H); 7,27–7,32 (m, 3H); 7,44 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,7$ Hz, 1H); 7,76 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,9$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 19,38; 27,04; 39,03; 42,69; 45,81; 115,48; 119,90; 120,98; 122,12; 124,74; 126,63 (2C); 127,23; 128,79 (2C); 130,49; 136,52; 139,26; 147,43; 162,40;

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3267, 3031, 2955, 1646, 1590, 1563, 1496, 1451, 1361, 1313, 1156, 1066, 1028, 926, 888, 750, 718, 638, 569, 456, 529, 506.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$, izračunato 305,16539, eksperimentalno određeno 305,16585.

3.1.2.4.10.3. Priprava derivatiziranog marinoaziridina A (*rac*-25)



Schlenk tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je marinoaziridin B, *rac*-23 (0,02 g, 0,09 mmol), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni tetrahidrofuran (5 mL). Nastala otopina ohlađena je na temperaturu od $-10\text{ }^\circ\text{C}$ te je potom dodan natrijev hidrid (0,003 g, 0,13 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h na navedenoj temperaturi prije dodatka metiljodida (6 μL , 0,09 mmol). Reakcijska smjesa nastavila se miješati tijekom 1 h na temperaturi od $-10\text{ }^\circ\text{C}$ te potom 24 h pri sobnoj temperaturi dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1, $R_f = 0,56$) i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Sirova reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom ($3 \times 30\text{ mL}$). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,38$). Dobiven je derivatizirani marinoaziridin A, *rac*-25 (0,02 g, 91 %) u obliku bijele krutine.

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 0,90 (s, 3H); 1,51 (s, 3H); 2,44 (s, 1H); 2,61 (s, 3H); 3,72 (s, 3H); 6,85 (d, $J_1 = 1,1\text{ Hz}$, 1H); 7,25 (ddd, $J_1 = 8,1\text{ Hz}$, $J_2 = 7,0\text{ Hz}$, $J_3 = 1,2\text{ Hz}$, 1H); 7,39 (d, $J_1 = 8,4\text{ Hz}$, 1H); 7,58 (ddd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 7,2\text{ Hz}$, $J_3 = 1,5\text{ Hz}$, 1H); 7,70 (dd, $J_1 = 7,9\text{ Hz}$, J_2

= 1,3 Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 17,34; 21,35; 29,25; 39,47; 43,09; 51,27; 114,53; 119,91; 120,76; 121,86; 124,56; 130,34; 139,88; 146,93; 162,34.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$, izračunato 243,14974, eksperimentalno određeno 243,1499.

NORMALNA FAZA-KIRALNI HPLC (SemiPrep-CHIRAL ART Amylose-SA, heksan/*i*-propanol (95/5), λ 254 nm, protok 1,0 mL min $^{-1}$)

PIK 1 ($t_{\text{R1}} = 17,41$ min)

ee = 98 %

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -114$ (c $3,18 \times 10^{-3}$ g mL $^{-1}$; MeOH)

PIK 2 ($t_{\text{R2}} = 20,84$ min)

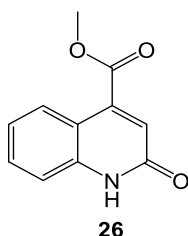
ee = 97 %

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +104$ (c $4,70 \times 10^{-3}$ g mL $^{-1}$; MeOH)

3.1.2.5. Totalna sinteza disupstituiranih derivata marinoaziridina A i B

3.1.2.5.1. Priprava kinolin-2(1H)-on-sulfonijevih soli (32–34)

3.1.2.5.1.1. Priprava metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-karboksilata (26)



Okrugla tikvica, opremljena s povratnim hladilom i magnetičem za miješanje, u kojoj je kinolin-2(1H)-on-4-karboksilna kiselina (1,0 g, 5,0 mmol), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni metanol (30 mL). Nastala suspenzija ohlađena je na temperaturu od 0 °C te je potom dokapavan tionil-klorid (3,0 mL, 41,0 mmol). Nakon završenog dokapavanja tionil-klorida, reakcijska smjesa refluksirana je tijekom 24 h dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 4/1, $R_f = 0,84$) i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti nije utvrdio završetak reakcije. Po završetku reakcije, hlađenjem reakcijske smjese dolazi do kristalizacije produkta. Prekristalizacijom iz metanola dobiveno je 1,05 g (98 %) spoja **26** u obliku bijelih kristala.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ /ppm: 3,94 (s, 3H); 6,91 (s, 1H); 7,25 (t, $J_1 = 5,9$ Hz, 1H); 7,40 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 1H); 7,58 (t, $J_1 = 5,9$ Hz, 1H); 8,06 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 1H); 12,12 (s, 1H).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ /ppm: 53,38; 116,31; 122,95; 124,59; 125,88; 131,21; 139,48; 140,53; 161,04; 165,98.

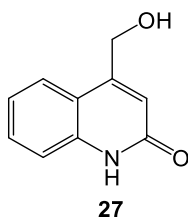
3.1.2.5.1.2. Priprava alkohola

Općeniti postupak 9:

Dvogrla tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je odgovarajući aldehid **6–8** (1 ekv.), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni etanol. U nastalu suspenziju dodan je natrijev borhidrid (2 ekv.) te je reakcijska smjesa miješana tijekom 2 h pri sobnoj temperaturi dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) i tekućinskom kromatografijom nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom zasićene otopine amonijeva

klorida (40 mL). Vodeni sloj ekstrahiran je diklormetanom (3×30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1.

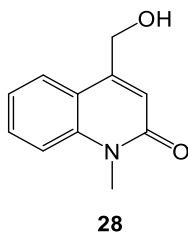
3.1.2.5.1.2.1. Priprava 4-(hidroksimetil)kinolin-2(1H)-ona (**27**)



Dvogrta tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je spoj **26** (0,90 g, 4,43 mmol), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni toluen (22 mL). Nastala suspenzija, ohlađena je na temperaturu od -25 °C te je potom dokapavana otopina DIBAL-H (1 mol L^{-1} , 27 mL, 6 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je tijekom 4 h na navedenoj temperaturi dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 4/1, $R_f = 0,66$) i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom metanola (20 mL) i bezvodne soli natrijevog sulfata. Nastala smjesa miješana je tijekom 1 h uz zagrijavanje do sobne temperature, te potom filtrirana preko celita kroz sinter lijevak. Talog je ispran metanolom nekoliko puta, a filtrat je uparen pod vakuumom. Prekristalizacijom iz metanola dobiveno je 0,35 g spoja **27** (0,35 g, 45 %) u obliku bijelih kristala.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ /ppm: 4,76 (s, 1H); 5,48 (s, 1H); 6,56 (s, 1H); 7,16 (t, $J_1 = 7,8$ Hz, 1H); 7,32 (d, $J_1 = 10,4$ Hz, 1H); 7,49 (t, $J_1 = 7,8$ Hz, 1H); 7,65 (d, $J_1 = 9,1$ Hz, 1H); 11,60 (s, 1H).

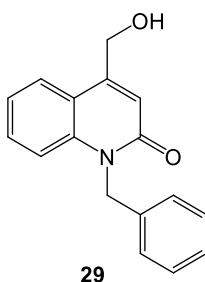
$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6) δ /ppm: 60,04; 115,96; 117,82; 122,02 (2C); 124,14; 130,56; 139,17; 151,71; 162,34.

3.1.2.5.1.2.2. Priprava 4-hidroksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**28**)

Spoj **28** pripravljen je iz aldehida **7** (1,16 g, 6,20 mmol) i natrijevog borhidrida (0,48 g, 12,40 mmol) prema općenitom postupku 9 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.2.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,25$). Dobiven je spoj **28** (1,01 g, 87 %) u obliku bijele krutine.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 3,64 (s, 3H); 4,95 (s, 2H); 6,87 (s, 1H); 7,22-7,30 (m, 1H); 7,34 (d, $J_1 = 8,5$ Hz, 1H); 7,58 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, $J_3 = 8,5$ Hz, 1H); 7,72 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 60,04; 115,96; 117,82; 122,02 (2C); 124,14; 130,56; 139,17; 151,71; 162,34.

3.1.2.5.1.2.3. Priprava 1-benzil-4-(hidroksimetil)kinolin-2(1H)-ona (**29**)

Spoj **29** pripravljen je iz aldehida **8** (1,00 g, 3,8 mmol) i natrijevog borhidrida (0,144 g, 7,6 mmol) prema općenitom postupku 9 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.2.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,16$). Dobiven je spoj **29** (0,96 g, 95 %) u obliku bijele krutine.

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 3,76 (s, 1H); 4,94 (s, 2H); 5,49 (s, 2H); 7,03–7,27 (m, 8H); 7,42 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 7,66 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz);

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 45,8; 61,6; 115,6; 118,2; 119,3; 122,3; 124,3; 126,5 (2C); 127,2; 128,8 (2C); 130,6; 136,3; 139,3; 149,1; 162,5.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3313, 3132, 3045, 3010, 3036, 2511, 2467, 2400, 1669, 1651, 1594, 1511, 1473, 1435, 1403, 1267, 1206, 1145, 1130, 982.

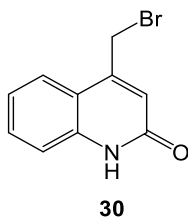
HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2$, izračunato 266,11028, eksperimentalno određeno 266,11838.

3.1.2.5.1.3. Priprava kinolin-2(1H)-on-bromida

Općeniti postupak 10:

Okrugla tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj su odgovarajući alkohol **27**–**29** (1 ekv.) i tetrabrommetan (1,6 ekv.), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni diklormetan. Nastala suspenzija, ohlađena je na temperaturi od 0 °C te je potom dodan trifenilfosfin (1,8 ekv.) u obrocima. Reakcijska smjesa miješana je tijekom 1 h na temperaturi od 0 °C te je potom ostavljena preko noći uz zagrijavanje do sobne temperature. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 4/1) i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Po završetku reakcije, otapalo je upareno, a dobiveni talog suspendiran je u metanolu (50 mL). Nastali trifenilfosfonijev oksid je odfiltriran, a filtrat je uparen pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1.

3.1.2.5.1.3.1. Priprava 4-(brometil)kinolin-2(1H)-ona (**30**)



Spoj **30**, pripremljen je iz alkohola **27** (0,10 g, 0,57 mmol), tetrabrommetana (0,32 g, 0,91 mmol) i trifenilfosfina (0,27 g, 1,03 mmol) u diklormetanu (15 mL) prema općenitom postupku 10

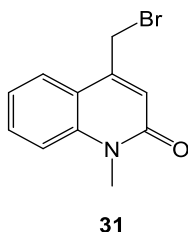
opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.3.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,32$). Dobiven je spoj **30** (0,05 g, 33 %) u obliku bijele krutine.

^1H NMR (d₆-DMSO) δ /ppm: 4,96 (s, 2H); 6,71 (s, 1H); 7,25 (d, $J_1 = 7,5$ Hz, 1H); 7,33 (d, $J_1 = 10,3$ Hz, 1H); 7,58 (t, $J_1 = 6,8$ Hz, 1H), 7,84 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 1H); 11,71 (s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl₃) δ /ppm: 29,51; 115,56; 116,64; 121,00; 122,07; 124,94; 130,37; 138,75; 146,70; 161,20.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₁₀H₈BrNO, izračunato 237,97893, eksperimentalno određeno 237,98623.

3.1.2.5.1.3.2. Priprava 4-(brommetil)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**31**)



Spoj **31**, pripravljen je iz alkohola **28** (10,1 g, 5,40 mmol), tetrabrommetana (2,84 g, 8,63 mmol) i trifenilfosfina (2,52 g, 9,71 mmol) u diklormetanu (500 mL) prema općenitom postupku 10 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.3.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,66$). Dobiven je spoj **31** (1,22 g, 90 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 200,5–202,2 °C

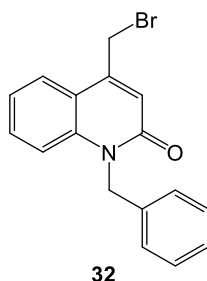
^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 3,73 (s, 3H); 4,58 (s, 2H); 6,82 (s, 1H); 7,33 (ddd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,1$ Hz, 1H); 7,42 (m, 1H); 7,62 (ddd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 7,85 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ /ppm: 28,24; 29,51; 114,85; 118,59; 122,19; 122,23; 125,16; 131,08; 140,45; 144,60; 161,62.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3071; 3028; 2973; 1662; 1641; 1587; 1504; 1563; 1450; 1396; 1323; 1213; 751; 717.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{11}H_{10}BrNO$, izračunato 250,99458, eksperimentalno određeno 250,00268.

3.1.2.5.1.3.3. Priprava 4-(brommetil)-1-benzilkinolin-2(1H)-ona (**32**)



Spoj **32**, pripravljen je iz alkohola **29** (0,07 g, mmol), tetrabrommetana (0,131 g, mmol) i trifenilfosfina (0,117 g, mmol) u diklormetanu (20 mL) prema općenitom postupku 10 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.3.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,63$). Dobiven je spoj **32** (0,08 g, 93 %) u obliku žute krutine.

1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 4,62 (d, $J_1 = 0,6$ Hz, 2H); 5,56 (s, 2H); 6,91 (s, 1H); 7,21-7,30 (m, 8H); 7,46 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 7,85 Hz (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ /ppm: 28,27; 46,04; 115,76; 122,11; 122,34; 125,21; 126,57 (3C); 127,37; 128,86 (2C); 131,07, 136,12; 139,86; 145,18; 161,82.

IR (KBr) ν/cm^{-1} : 3313, 3132, 3045, 3010, 3036, 2511, 2467, 2400, 1669, 1651, 1594, 1511, 1473, 1435, 1403, 1267, 1206, 1145, 1130, 982, 899, 881, 750, 585.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{17}H_{14}BrNO$, izračunato 328,02588, eksperimentalno određeno 328,03362.

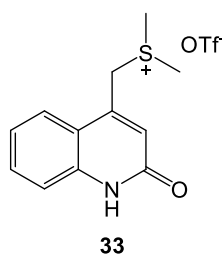
3.1.2.5.1.4. Priprava akiralnih kinolin-2(1H)-on-sulfonijevih soli

Općeniti postupak 11:

Dvogrla tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj su odgovarajući bromidi **30-32** (1 ekv.) i dimetil-sulfid (1,2 ekv.), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni diklormetan. Nastala suspenzija miješana je tijekom 20 min pri sobnoj temperaturi prije nego li je dodan srebrov triflat (1 ekv.) u obrocima. Srebrov bromid odmah počinje taložiti. Miješanje je

nastavljeno tijekom 20 h te je reakcija praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1. Ukoliko reakcije ne napreduje, utoliko se reakcija nastavi miješati uz povišenu temperaturu (40 °C). Po završetku reakcije, otapalo je upareno pod vakuumom. Talog je otopljen u dimetil-sulfoksidu, a netopljivi srebrov bromid je profiltriran preko celita. Dimetil-sulfoksid uparen je pod visokim vakuumom (40 °C, 0,008 mbar), a sirovi talog pročišćen je prekrizacijom iz metanola. Struktura dobivenih produkata potvrđena je NMR spektroskopijom.

3.1.2.5.1.4.1. Priprava dimetil-((2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (33)

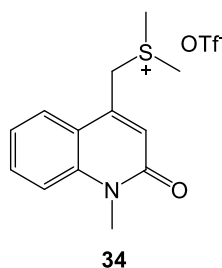


Spoj **33**, pripravljen je iz bromida **30** (0,39 g, 1,63 mmol), dimetil-sulfida (0,122 g, 1,96 mmol) i srebrovog triflata (0,420 g, 1,63 mmol) u diklormetanu (20 mL) prema općenitom postupku 11 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.4.. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **33** (0,57 g, 95 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ /ppm: 2,95 (s, 6H); 4,85 (s, 2H); 6,73 (s, 1H); 7,23–7,35 (m, 1H); 7,38 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 1H); 7,60 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 8,2$ Hz, 1H); 8,04 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 1H); 12,01 (s, 1H).

¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ /ppm: 25,34 (2C); 43,22; 116,47; 117,99; 122,48; 125,10; 126,43; 131,74; 139,08; 139,81; 161,17.

3.1.2.5.1.4.2. Priprava dimetil((1-metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (34)



Spoj **34**, pripravljen je iz bromida **31** (1,22 g, 4,84 mmol), dimetil-sulfida (0,43 mL, 5,81 mmol) i srebrvog triflata (1,24 g, 4,84 mmol) u diklormetanu (20 mL) prema općenitom postupku 11 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.4.. Produkt je izoliran *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **34** (1,73 g, 94 %) u obliku bijele krutine.

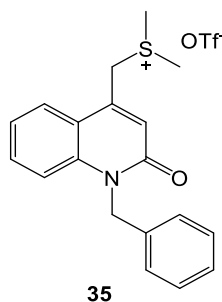
t.t. = 184,2–186,6 °C

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ /ppm: 2,95 (s, 6H); 3,65 (s, 3H); 4,87 (s, 2H); 6,86 (s, 1H); 7,34–7,45 (m, 1H); 7,64 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 1H); 7,69–7,80 (m, 1H); 8,12 (d, $J_1 = 7,9$ Hz, 1H).

¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ /ppm: 24,87 (2C); 29,24; 42,71; 115,49; 118,40; 122,15; 125,13; 125,20; 131,67; 137,29; 140,11; 159,94.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3430; 3020; 2994; 2951; 1647; 1588; 1562; 1506; 1455; 1258; 1154; 1023; 760; 632.

3.1.2.5.1.4.3. Priprava dimetil((1-benzil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (35)



Spoj **35**, pripremljen je iz bromida **32** (0,58 g, 1,76 mmol), dimetil-sulfida (0,132 g, 2,12 mmol) i srebrvog triflata (0,454 g, 1,76 mmol) u diklormetanu (20 mL) prema općenitom postupku 11 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.1.4.. Produkt je izoliran *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **35** (0,78 g; 96 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ /ppm: 3,00 (s, 6H); 4,91 (s, 2H); 5,55 (s, 2H); 6,97 (s, 1H); 7,18–7,40 (m, 6H); 7,47 (d, $J_1 = 8,5$ Hz, 1H); 7,61 (ddd, $J_1 = 1,4$, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 8,5$ Hz, 1H); 8,14 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, 1H).

¹³C (DMSO-*d*₆, 151 MHz) δ /ppm: 25,04 (2C); 42,89; 44,85; 115,91; 118,83; 122,29; 125,10; 125,47; 126,54 (2C); 127,09; 128,59 (2C); 131,56; 136,39; 138,07; 139,35; 160,26.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 3132, 3045, 2956, 2866, 2776, 2467, 2400, 1669, 1651, 1584, 1509, 1473, 1435, 1403, 1260, 1206, 1138, 1131, 956, 856, 750, 555, 433.

3.1.2.5.2. Priprava N-tosil-imina (**36-43**)

Općeniti postupak 12:^{152,153}

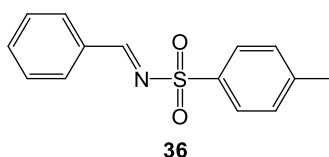
U bezvodnom diklormetanu, pod atmosferom argona, redom su otopljeni toluen-4-sulfonamid (1 ekv.), trietilamin (4 ekv.) i benzaldehid (1 ekv.). Smjesa je ohlađena na 0 °C i dokapana je otopina titanijevog tetraklorida u diklormetanu (1 mol L⁻¹, 1 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 1 h pri 0 °C, a zatim 22 h pri sobnoj temperaturi. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 (nepokretna faza: aloks). Smjesa je filtrirana preko celita, a filtrat je uparen pod vakuumom. Na ostatak nakon uparavanja dodan je toluen. Nastali talog trietilamonijevog klorida je odfiltriran i opran toluenom, a filtrat je uparen pod vakuumom. Sirovi imin pročišćen je prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2.

Općeniti postupak 13:

Reakcijska smjesa sastavljena iz odgovarajućeg aldehida (1 ekv.) i toluen-4-sulfonamida (1,1 ekv.) u toluenu uz katalitičku količinu amberlista-15 ($w = 10$ %) refluksirana je 16 h u Dean-Starkovoj aparaturi uz prisustvo 4 Å molekularskih sita (250 mg mmol⁻¹). Smjesa je ohlađena na

sobnu temperaturu i filtrirana je preko sinter lijevka. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 (nepokretna faza: aloks). Višak otapala (toluena) uparen je pod vakuumom. Sirovi imin pročišćen je prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2.

3.1.2.5.2.1. Priprava N-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida (**36**)



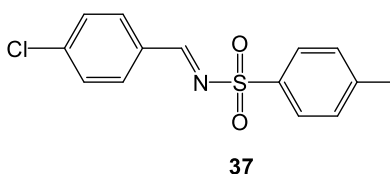
Spoj **36** pripravljen je iz benzaldehida (0,48 mL, 4,71 mmol), toluen-4-sulfonamida (0,81 g, 4,71 mmol), trietilamina (2,63 mL, 18,84 mmol) i titanijevog tetraklorida (4,71 mL, 4,71 mmol) u diklormetanu (20 mL) prema općenitom postupku 12 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2, dobiven je spoj **36** (0,69 g, 57 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 2,45 (s, 3H); 7,36 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 2H); 7,50 (t, $J_1 = 7,6$ Hz, 2H); 7,64 (dd, $J_1 = 6,2$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 7,93 (dd, $J_1 = 7,9$ Hz, $J_2 = 9,9$ Hz, 4H); 9,05 (s, 1H).

¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 24,65; 128,11 (2C); 129,15 (2C); 129,81 (2C); 131,31 (2C); 132,41; 134,93; 135,17; 144,61; 170,13.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3071; 1650; 1596; 1574; 1450; 1317; 1305; 1223; 1155; 1086; 867; 781.

3.1.2.5.2.2. Priprava N-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**37**)



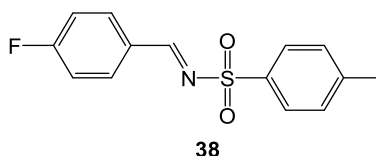
Spoj **37** pripremljen je iz *p*-klorbenzaldehida (0,50 g, 3,56 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,67 g, 3,91 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2 dobiven je spoj **37** (0,92 g, 88 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,45 (s, 3H); 7,36 (d, $J_1 = 8,1$ Hz, 2H); 7,47 (td, $J_1 = 2,3$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 2H); 7,84–7,92 (m, 4H); 8,99 (s, 1H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 21,67; 126,50; 128,16 (2C); 129,62 (2C); 129,86 (2C); 132,35 (2C); 134,93; 141,46; 144,78; 168,60.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3261; 3064; 1656; 1591; 1558; 1487; 1401; 1315; 1303; 1159; 1082; 820; 786.

3.1.2.5.2.3. Priprava N-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**38**)

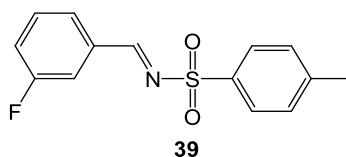


Spoj **38** pripremljen je iz *p*-fluorbenzaldehida (0,42 mL, 4,03 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,76 g, 4,43 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2 dobiven je spoj **38** (1,00 g, 89 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,44 (s, 3H); 7,18 (t, $J_1 = 8,5$ Hz, 2H); 7,35 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 2H); 7,88 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 2H); 7,94–7,98 (m, 2H); 9,00 (s, 1H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 21,66; 116,66 ($^2J_{\text{CF}} = 22,3$ Hz, 2C); 128,11 (2C); 128,79 ($^4J_{\text{CF}} = 2,8$ Hz); 129,83 (2C); 133,79 ($^3J_{\text{CF}} = 9,6$ Hz, 2C); 135,09; 144,68; 166,85 ($J_{\text{CF}} = 258,6$ Hz, CF); 168,50.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3088; 1607; 1595; 1581; 1506; 1412; 1318; 1304; 1231; 1160; 1149; 1086; 807; 768.

3.1.2.5.2.4. Priprava N-(3-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**39**)

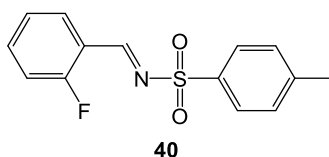
Spoj **39** pripravljen je iz *m*-fluorbenzalhida (0,51 mL, 4,83 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,91 g, 5,32 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2 dobiven je spoj **39** (1,1 g, 81 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 133,7–136,7 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,45 (s, 3H); 7,36 (d, *J*₁ = 8,2 Hz, 2H); 7,48 (td, *J*₁ = 2,6 Hz, *J*₂ = 5,4 Hz, 1H); 7,64–7,70 (m, 2H); 7,80–7,83 (m, 1H); 7,89 (d, *J*₁ = 8,3 Hz, 2H); 9,00 (d, *J*₁ = 0,8 Hz, 1H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 21,68; 116,68 (²*J*_{CF} = 22,5 Hz); 121,95 (²*J*_{CF} = 21,6 Hz); 126,48; 128,21 (2C); 129,90 (2C), 130,85 (³*J*_{CF} = 7,8 Hz); 134,51(³*J*_{CF} = 7,6 Hz), 134,76; 144,91; 162,89 (*J*_{CF} = 249,4 Hz, CF); 168,73.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3261; 3081; 2919; 1596; 1575; 1452; 1315; 1304; 1157; 1086; 819; 793.

3.1.2.5.2.5. Priprava N-(2-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**40**)

Spoj **40** pripravljen je iz *o*-fluorbenzalhida (0,36 mL, 3,4 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,65 g, 3,78 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/*n*-heksan = 1/2 dobiven je spoj **40** (0,94 g, 98 %) u obliku bijele krutine.

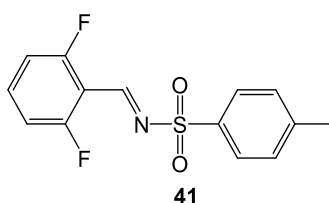
t.t. = 134,4–139,3 °C

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 2,44 (s, 3H); 7,11–7,24 (m, 2H); 7,36 (d, $J_1 = 8,1$ Hz, 2H); 7,55–7,61 (m, 1H); 7,90 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H); 8,03–8,13 (m, 1H); 9,36 (s, 1H).

¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 21,67; 116,38 ($^2J_{CF} = 20,5$ Hz); 120,53 ($^2J_{CF} = 8,7$ Hz); 124,84 ($^3J_{CF} = 3,6$ Hz); 128,24 (2C); 129,38 ($^4J_{CF} = 0,8$ Hz); 129,86 (2C); 134,81; 136,99 ($^3J_{CF} = 9,2$ Hz); 144,80; 163,63 ($^3J_{CF} = 6,2$ Hz); 164,31 ($J_{CF} = 258,3$ Hz, CF).

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3260; 1605; 1572; 148; 1456; 1320; 1305; 1281; 1087; 830; 761.

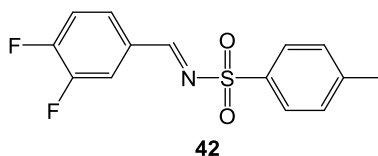
3.1.2.5.2.6. Priprava N-(2,6-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**41**)



Spoj **41** pripravljen je iz 2,6-difluorbenzaldehida (0,56 g, 3,93 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,74 g, 4,32 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Nakon prekrizalizacije u reakcijskoj smjesi zaostaje toluen-4-sulfonamid što je potvrđeno NMR spektroskopijom. Prekrizalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2 dobiven je spoj **41** (0,66 g, 57 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,44 (s, 3H); 7,01 (t, $J_1 = 8,7$ Hz, 2H); 7,36 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H); 7,56 (tt, $J_1 = 6,1$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 7,91 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H); 9,31 (s, 1H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 21,69; 112,44 ($^2J_{CF} = 3,6$ Hz); 112,58 ($^2J_{CF} = 3,8$ Hz); 126,50 (2C); 128,31; 129,74 (2C); 129,86; 134,67; 136,49 ($^2J_{CF} = 11,4$ Hz); 144,26 ($J_{CF} = 178,5$ Hz, 2C, CF); 160,95.

3.1.2.5.2.7. Priprava N-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**42**)

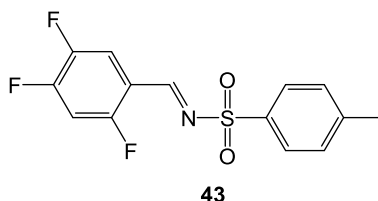
Spoj **42** pripravljen je iz 3,4-difluorbenzalhida (0,47 mL, 4,22 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,80 g, 4,64 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2 dobiven je spoj **42** (1,0 g, 81 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 105,1–106,7 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,45 (s, 3H); 7,25–7,38 (m, 1H); 7,36 (d, *J*₁ = 8,0 Hz, 2H); 7,65–7,69 (m, 1H); 7,73–7,84 (m, 1H); 7,86–7,90 (m, 2H); 8,96 (d, *J*₁ = 1,3 Hz, 1H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 21,69; 118,27 (²*J*_{CF} = 18,2 Hz); 118,86 (³*J*_{CF} = 1,7 Hz, ²*J*_{CF} = 18,1 Hz); 128,19 (2C); 129,15 (⁴*J*_{CF} = 4,3 Hz, ³*J*_{CF} = 7,7 Hz); 129,58 (⁴*J*_{CF} = 3,5 Hz, ³*J*_{CF} = 9,4 Hz); 129,92 (2C); 134,69; 144,97; 150,87 (²*J*_{CF} = 13,4 Hz, *J*_{CF} = 252,6 Hz, CF); 154,66 (²*J*_{CF} = 12,9 Hz, *J*_{CF} = 260,7 Hz, CF); 167,53.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3260; 3059; 1678; 1579; 1520; 1428; 1319; 1300; 1154; 1088; 830; 783.

3.1.2.5.2.8. Priprava N-(2,4,5-trifluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**43**)

Spoj **43** pripravljen je iz 2,4,5-trifluorbenzalhida (0,41 mL, 3,75 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,71 g, 4,12 mmol) uz katalitičku količinu amberlista-15 u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2 dobiven je spoj **43** (0,90 g, 77 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 95,6–99,4 °C

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,45 (s, 3H); 7,05 (td, $J_1 = 6,1$ Hz, $J_2 = 9,4$ Hz, 1H); 7,35–7,39 (m, 2H); 7,87–7,93 (m, 3H); 9,25 (d, $J_1 = 2,2$ Hz, 1H).

¹³C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm: 21,70; 106,64; ($^2J_{CF} = 21,3$ Hz, 26,8 Hz); 116,65 (dt, $^3J_{CF} = 2,5$ Hz, $^2J_{CF} = 20,3$ Hz); 117,78; 128,31 (2C); 129,96 (2C); 134,37; 145,15; 147,57 ($^4J_{CF} = 3,3$ Hz, $^3J_{CF} = 13,2$ Hz, $J_{CF} = 249,8$ Hz, CF); 155,02 ($^3J_{CF} = 12,7$ Hz, $^2J_{CF} = 14,9$ Hz, $J_{CF} = 263,9$ Hz, CF); 160,17 ($^4J_{CF} = 1,9$ Hz, $^3J_{CF} = 10,3$ Hz, $J_{CF} = 259,5$ Hz, CF); 161,50 ($^3J_{CF} = 5,1$ Hz).

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3261; 3071; 1613; 1594; 1506; 1438; 1338; 1322; 1296; 1154; 1087; 888; 786.

3.1.2.5.3. Priprava disupstituiranih derivata marinoaziridina A i B

Općeniti postupak 14:

Schlenk tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je odgovarajuća kinolin-2(1H)-on-sulfonijeva sol **33–35** (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h ($p = 0,008$ mmHg) te je ispunjena argonom. Dodano je nekoliko mililitara suhog tetrahidrofurana (~1 mL na 0,10 g soli). Nastala suspenzija ohlađena je na temperaturu od -78 °C te je potom dokapana fosfazenska baza (1,2 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h pri navedenoj temperaturi prije nego što je dodan odgovarajući *N*-tosil zaštićeni imin **36–43** (1 ekv.). Reakcijska smjesa nastavila se miješati na temperaturi od -50 °C dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Vodeni sloj ekstrahiran je diklormetanom (3 × 20 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama. Omjer *cis* i *trans* izomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Općeniti postupak 15:

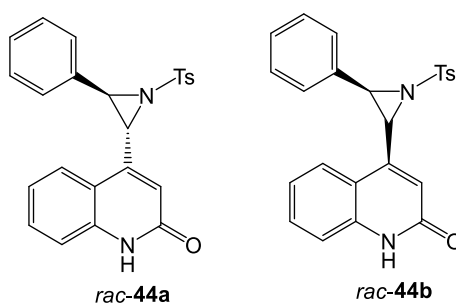
Schlenk tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je odgovarajuća kinolin-2(1H)-on-sulfonijeva sol **33–35** (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h ($p = 0,008$ mmHg) te je ispunjena argonom. Dodano je nekoliko mililitara suhog tetrahidrofurana (~1 mL na 0,10 g soli). Nastala

suspenzija ohlađena je na temperaturu od $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te je potom dokapana baza *tert*-butil-litij (1,2 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h pri navedenoj temperaturi prije nego što je dodan odgovarajući *N*-tosil zaštićeni imin **36–43** (1 ekv.). Reakcijska smjesa nastavila se miješati na temperaturi od $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Vodeni sloj ekstrahiran je diklormetanom ($3 \times 20\text{ mL}$). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama. Omjer *cis* i *trans* izomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

Općeniti postupak 16:

U bezvodnom acetonitrilu, pod atmosferom argona, suspendirana je odgovarajuća kinolin-2(1*H*)-on-sulfonijeva sol **33–35** (1 ekv.) i odgovarajući *N*-tosil-zaštićeni imin **36–43** (1 ekv.). Potom je dodan kalijev hidroksid (2 ekv.) u čvrstom stanju te je reakcijska smjesa miješana dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Vodeni sloj ekstrahiran je diklormetanom ($3 \times 20\text{ mL}$). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama. Omjer *cis* i *trans* izomera određen je NMR spektroskopijom na sirovoj reakcijskoj smjesi prije kromatografije na stupcu silikagela.

3.1.2.5.3.1. Priprava (\pm)-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1*H*)-ona (*rac*-**44**)



Spoj *rac-44* pripravljen je iz kinolin-2(1*H*)-on-sulfonijeve soli **33** (0,08g, 0,22 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **36** (0,056 g, 0,22 mmol) i kalijevog hidroksida (0,029 g, 0,44 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 69/31. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,20$). Dobiven je marinoazirdin *rac-44* (0,052 g, 58 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-44a-trans*

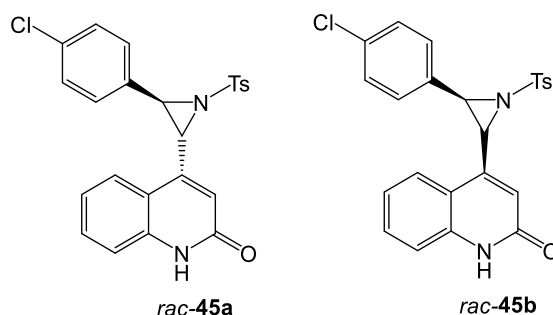
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,39 (s, 3H); 4,08 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 4,65 (dd, $J_1 = 0,7$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, 1H); 6,71 (d, $J_1 = 0,7$ Hz, 1H); 7,18-7,24 (m, 3H); 7,37-7,46 (m, 4H); 7,50-7,57 (m, 3H); 7,62-7,66 (m, 2H); 7,81 (td, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 2,7$ Hz, 1H); 12,49 (s, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,63; 45,37; 50,81; 116,73; 119,04; 119,60; 122,99; 124,09; 127,79 (2C); 128,68 (2C); 128,93 (2C); 129,27; 129,62 (2C); 131,09; 131,27; 136,14; 138,36; 145,02; 144,65; 163,90.

$\text{IR } \tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2993, 2844, 1655, 1558, 1499, 1438, 1382, 1382, 1335, 1304, 1264, 1241, 1183, 1091, 1017, 985, 873, 801, 697, 675, 605, 581, 547, 534, 489, 459.

$\text{HRMS (ESI): } m/z$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ izračunato 417,11946, eksperimentalno određeno 417,12684.

3.1.2.5.3.2. Priprava (\pm)-4-(3-(4-klor-fenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1*H*)-ona (*rac-45*)



Spoj *rac-45* pripravljen je iz kinolin-2(1*H*)-on-sulfonijeve soli **33** (0,140 g, 0,4 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **37** (0,11 g, 0,4 mmol) i kalijevog hidroksida (0,043 g, 0,8 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju

3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 70/30. Aziridin je pročišćen kromatografijom na stupcu *flash* silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,29$). Dobiven je marinoazirdin *rac-45* (0,145 g, 85 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-45a-trans*

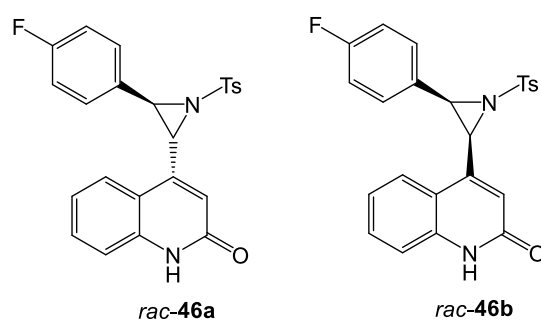
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,42 (s, 3H); 4,01 (d, $J_1 = 4,7$ Hz, 1H); 4,61 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 4,7$ Hz, 1H); 6,63 (d, $J_1 = 1,1$ Hz, 1H); 7,21–7,26 (m, 3H); 7,33–7,37 (m, 1H); 7,38–7,43 (m, 2H); 7,46–7,51 (m, 2H); 7,55 (ddd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,3$ Hz, 1H); 7,65–7,70 (m, 2H); 7,78 (dd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, 1H); 11,30 (s, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,67; 45,40; 50,30; 116,21; 118,97; 119,79; 123,06; 124,15; 127,72 (2C); 128,56; 128,98 (2C); 129,74 (2C); 130,32 (2C); 131,19; 135,43; 136,16; 138,12; 144,71; 144,90, 162,78.

$\text{IR } \tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2847, 1652, 1557, 1493, 1429, 1374, 1331, 1266, 1162, 1086, 1037, 1015, 981, 934, 894, 868, 815, 749, 709, 683, 644, 591, 574, 546, 509, 461.

$\text{HRMS (ESI): } m/z$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$ izračunato 451,08049, eksperimentalno određeno 451,08768.

3.1.2.5.3.3. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac-46*)



Spoj *rac-46* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **33** (0,140 g, 0,4 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **38** (0,105 g, 0,4 mmol) i kalijevog hidroksida (0,043 g, 0,8 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 75/25. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,25$). Dobiven je marinoazirdin *rac-46* (0,132 g, 80 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-46a-trans*

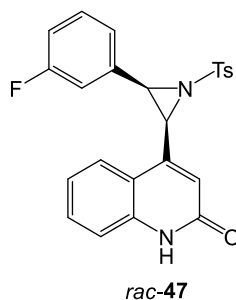
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 2,42 (s, 3H); 4,01 (d, $J_1 = 4,7$ Hz, 1H); 4,63 (d, $J_1 = 4,70$ Hz, 1H); 6,63 (s, 1H); 7,00–7,27 (m, 5H); 7,49–7,57 (m, 4H); 7,67 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 2H); 7,80 (t, $J_1 = 8,4$ Hz, 1H); 10,74 (s, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 21,66; 46,40; 50,40; 115,25; 115,39; 115,73; 115,88; 116,49; 126,47; 127,74 (2C); 128,08; 129,70 (2C); 129,73; 130,16; 136,18; 138,24; 144,82; 144,91; 145,49; 163,25 ($J_{CF} = 249,8$ Hz); 163,32.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2851, 1660, 1600, 1560, 1512, 1433, 1322, 1231, 1187, 1089, 917, 841, 813, 748, 681, 705, 574, 553, 534.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₂₄H₁₉FN₂O₃S izračunato 435,11004, eksperimentalno određeno 435,11752.

3.1.2.5.3.4. Priprava (±)-4-(3-(3-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac-47*)



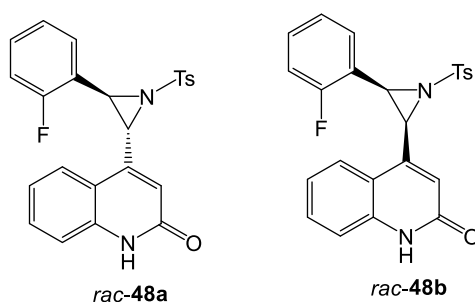
Spoj *rac-47* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **33** (0,140 g, 0,4 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **39** (0,105 g, 0,4 mmol) i kalijevog hidroksida (0,043 g, 0,8 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 0/100. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,38$). Dobiven je marinoazirdin *rac-47* (0,099 g, 60 %) u obliku bijele krutine.

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 2,58 (s, 3H); 4,43 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, 1H); 6,59 (d, $J_1 = 1,1$ Hz, 1H); 7,22–7,28 (m, 3H); 7,39–7,42 (m, 2H); 7,46–7,50 (m, 4H); 7,73 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 2H); 7,96–7,99 (m, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 29,11; 45,22; 46,37; 114,39 ($^2J_{\text{CF}} = 22,9$ Hz); 115,45 ($^2J_{\text{CF}} = 21,1$ Hz); 115,97 (2C); 120,87; 122,58 (2C); 124,67 (2C); 127,88; 128,09; 130,04 (2C); 130,18; 130,98; 136,89; 138,11; 142,14; 145,55; 162,34 ($J_{\text{CF}} = 247,4$ Hz); 162,92.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2995, 2843, 1659, 1617, 1586, 1558, 1494, 1438, 1383, 1335, 1276, 1264, 1221, 1184, 1091, 1023, 986, 964, 918, 865, 781, 762, 755, 689, 675, 610, 582, 545, 514, 453.

3.1.2.5.3.5. Priprava (\pm)-4-(3-(2-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac*-48)



Spoj *rac*-48 pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **33** (0,140 g, 0,4 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **40** (0,105 g, 0,4 mmol) i kalijevog hidroksida (0,043 g, 0,8 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 60/40. Aziridin je pročišćen kromatografijom na stupcu *flash* silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,35$). Dobiven je marinoazirdin *rac*-48 (0,086 g, 52 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac*-48a-*trans*

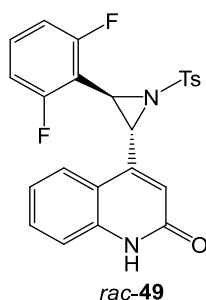
^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 6,69 (s, 1H); 6,73–6,91 (m, 1H); 7,00–7,27 (m, 4H); 7,28–7,61 (m, 3H); 7,66 (d, $J_1 = 7,9$ Hz, 2H); 7,77–7,93 (m, 1H); 7,98 (d, $J_1 = 8,2$ Hz, 1H)

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,50; 46,75 ($^4J_{\text{CF}} = 5,2$ Hz); 47,72; 116,11 ($^2J_{\text{CF}} = 20,3$ Hz); 117,25; 121,07; 121,10; 124,15; 124,65; 125,90 ($^5J_{\text{CF}} = 2,9$ Hz); 126,54 ($^3J_{\text{CF}} = 19,7$ Hz); 128,28 (2C); 128,64 ($^4J_{\text{CF}} = 8,2$ Hz); 128,95 (2C); 129,26 ($^4J_{\text{CF}} = 8,4$ Hz); 130,41; 136,88; 138,79; 139,10; 142,60; 160,85 ($J_{\text{CF}} = 253,4$ Hz); 162,80.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2993, 2843, 1662, 1620, 1586, 1568, 1496, 1439, 1383, 1339, 1277, 1264, 1221, 1184, 1091, 1023, 989, 968, 919, 867, 782, 765, 756, 690, 673, 611, 580, 545, 457.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}$ izračunato 435,11004, eksperimentalno određeno 435,11775.

3.1.2.5.3.6. Priprava (\pm)-4-(3-(2,6-difluorfenyl)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac*-**49**)



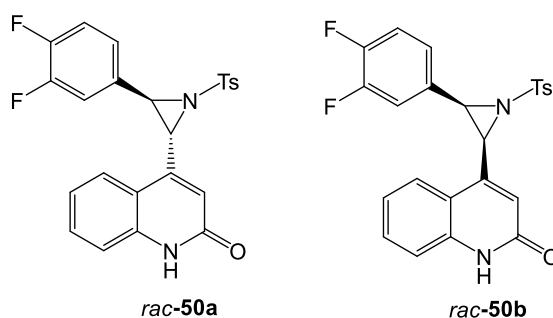
Spoj *rac*-**49** pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **33** (0,06 g, 0,16 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **41** (0,041 g, 0,16 mmol) i kalijevog hidroksida (0,02 g, 0,32 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 100/0. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,31$). Dobiven je marinoazirdin *rac*-**49** (0,033, 45 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac*-**49**-*trans*

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,44 (s, 3H), 4,49 (d, $J_1 = 7,0$, 1H), 5,03 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J_1 = 0,9$ Hz, 1H), 7,03–7,12 (m, 3H), 7,29–7,36 (m, 3H), 7,40–7,49 (m, 2H), 7,67–7,77 (m, 3H), 10,87 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,49; 46,68; 46,74 ($^4J_{\text{CF}} = 2,0$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 2,2$ Hz); 113,49 ($^3J_{\text{CF}} = 3,3$ Hz), 113,65 ($^3J_{\text{CF}} = 3,3$ Hz); 116,94 ($^3J_{\text{CF}} = 20,2$ Hz); 117,29; 121,11; 121,15; 124,19; 124,55; 128,29 (2C); 129,00 (2C); 129,68 ($^4J_{\text{CF}} = 8,1$ Hz); 130,35; 136,48; 138,75; 139,11; 142,68; 160,85 ($J_{\text{CF}} = 252,8$ Hz); 160,79 ($J_{\text{CF}} = 250,8$ Hz); 163,87.

$\text{IR } \tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2850, 1659, 1617, 1566, 1523, 1439, 1326, 1299, 1210, 1160, 1135, 1080, 1040, 947, 919, 884, 820, 738, 722, 689, 659, 591, 515.

3.1.2.5.3.7. Priprava (\pm)-4-(3-(3,4-difluorfenyl)-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-50)

Spoj *rac-50* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **33** (0,140 g, 0,4 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **42** (0,112 g, 0,4 mmol) i kalijevog hidroksida (0,043 g, 0,8 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 79/21. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,30$). Dobiven je marinoazirdin *rac-50* (0,069, 40 %) u obliku bijele krutine.

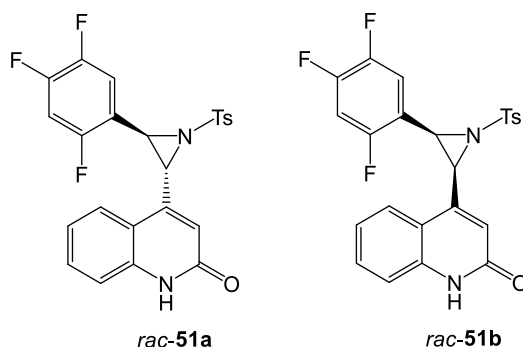
Glavni izomer *rac-50a-trans*

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,42 (s, 3H); 4,02 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 4,53 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, 1H); 6,63 (d, $J_1 = 1,0$ Hz, 1H); 7,21–7,36 (m, 7H); 7,55 (ddd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,3$ Hz, 1H); 7,65–7,69 (m, 1H); 7,76 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 2H); 11,41 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,67; 45,99; 49,20; 116,45; 117,71 ($^2J_{\text{CF}} = 17,1$ Hz); 117,98 ($^2J_{\text{CF}} = 17,9$ Hz); 118,90; 119,89; 123,09; 124,07; 125,24 ($^4J_{\text{CF}} = 3,3$ Hz, $^3J_{\text{CF}} = 5,8$ Hz); 126,48; 127,76 (2C); 129,77 (2C); 131,23; 135,95; 138,21; 144,29; 145,05; 150,32 ($J_{\text{CF}} = 236,3$ Hz); 150,89 ($J_{\text{CF}} = 253,7$ Hz); 163,15.

$\text{IR } \tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2855, 1658, 1611, 1560, 1521, 1436, 1321, 1296, 1212, 1162, 1118, 1087, 1043, 957, 919, 874, 826, 748, 710, 685, 655, 596, 568, 553, 510.

3.1.2.5.3.8. Priprava (\pm)-4-(1-tosil-3-(2,4,5-trifluorfenil)aziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-51)



Spoj *rac-51* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **33** (0,140 g, 0,4 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **43** (0,119 g, 0,4 mmol) i kalijevog hidroksida (0,043 g, 0,8 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 48/52. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,29$). Dobiven je marinoazirdin *rac-51* (0,116 g, 65 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-51b-cis*

^1H (CDCl₃, 600 MHz,) δ /ppm: 2,48 (s, 3H); 4,45 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,5$ Hz, 1H); 4,58 (d, $J_1 = 7,5$ Hz, 1H); 6,50 (s, 1H); 6,69 (td, $J_1 = 6,0$ Hz, $J_2 = 9,2$ Hz, $J_3 = 15,3$ Hz, 1H); 6,91 (q, 1H); 7,23 (t, $J_1 = 9,2$ Hz, 3H); 7,41 (d, $J_1 = 7,7$ Hz, 2H); 7,45–7,51 (m, 1H); 7,97 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H), 10,93 (s, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ /ppm: 21,80; 41,29; 45,16; 105,55; 116,39; 117,98; 120,48; 123,11; 123,42; 126,44 (2C); 128,13; 129,77 (2C); 130,29; 131,30; 133,88; 137,85; 139,12; 142,05; 143,60 (2C); 145,89; 162,63.

*loša topljivost spoja (nisu vidljive konstante sprega s atomom F)

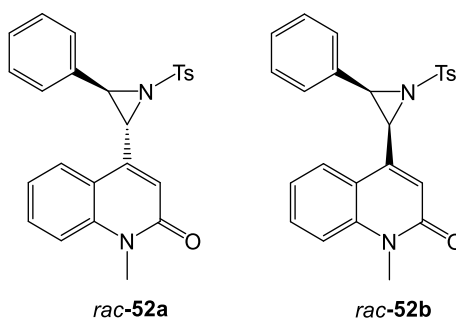
IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 2854, 1658, 1611, 1560, 1521, 1436, 1321, 1296, 1212, 1152, 1128, 1077, 1045, 989, 920, 874, 867, 744, 711, 688, 659, 590, 567, 559, 518, 506.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₂₄H₁₇F₃N₂O₃S izračunato 471,09120, eksperimentalno određeno 471,09886.

Sporedni izomer rac-51a-trans

¹H (600 MHz, CDCl₃): 2,42 (s, 3H); 4,12 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 4,52 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 6,65 (s, 1H); 7,01 (td, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz, $J_3 = 15,9$ Hz, 1H); 7,20–7,29 (m, 3H); 7,34–7,39 (m, 2H); 7,56 (ddd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 7,6$ Hz, $J_3 = 8,4$ Hz, 1H); 7,68 (m, 2H); 7,81 (m, 1H), 11,40 (s, 1H).

3.1.2.5.3.9. Priprava (±)-1-metil-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (rac-52)



Spoj *rac-52* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,18 g, 0,46 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **36** (0,19 g, 0,46 mmol) i kalijevog hidroksida (0,05 g, 0,91 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 86/14. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*cis*) = 0,46; R_f (*trans*) = 0,36). Dobiven je marinoazirdin *rac-52* (0,15 g, 77 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer rac-52a-trans

t.t. = 90,0–91,1 °C (određena na smjesi dvaju izomera)

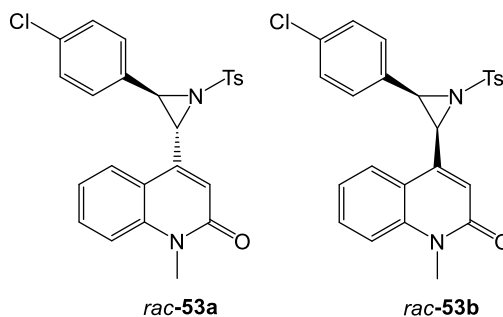
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 2,41 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 4,06 (d, $J_1 = 4,7$ Hz, 1H); 4,60 (dd, $J_1 = 0,6$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, 1H); 6,67 (d, $J_1 = 0,6$ Hz, 1H); 1,18–7,26 (m, 3H); 7,37–7,45 (m, 4H); 7,49–7,56 (m, 2H); 7,57–7,69 (m, 3H); 7,88 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 21,64; 29,48; 45,71; 50,58; 114,65; 119,76; 120,21; 122,34; 125,04; 127,73 (2C); 128,68 (2C); 128,82 (2C); 129,22; 129,61 (2C); 131,08; 131,45; 136,34; 139,90; 142,39; 144,65; 161,63.

IR $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 3062; 1649; 1591; 1499; 1455; 1321; 1158; 1087; 911; 812; 750; 687.

HRMS (ESI): m/z $[M+Na]^+$ za $C_{25}H_{22}N_2O_3S$, izračunato 453,12488, eksperimentalno određeno 453,12602.

3.1.2.5.3.10. Priprava (\pm)-4-(3-(4-klorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-53)



Spoj *rac*-53 pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,18 g, 0,46 mmol), *N*-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **37** (0,13 g, 0,46 mmol) i kalijevog hidroksida (0,05 g, 0,91 mmol) u bezvodnom acetonirilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 79/21. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*trans*) = 0,22). Dobiven je marinoaziridin *rac*-53 (0,18 g, 87 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac*-53a-*trans*

t.t. = 216,3–219,6 °C (određena na smjesi dvaju izomera)

1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 2,41 (s, 3H); 3,69 (s, 3H); 4,02 (d, J_1 = 4,6 Hz, 1H); 4,54 (d, J_1 = 4,4 Hz, 1H); 6,65 (s, 1H); 7,26–7,32 (m, 3H); 7,36–7,44 (m, 3H); 7,45–7,50 (m, 2H); 7,66 (d, J_1 = 8,3 Hz, 2H); 7,82 (t, J_1 = 8,3 Hz, 2H).

^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 21,66; 29,51; 45,96; 49,70; 114,73; 119,67; 120,21; 122,41; 124,92; 126,45; 127,70 (2C); 128,95 (2C); 129,69 (2C); 130,14 (2C); 131,17; 135,29; 136,18; 139,89; 142,10; 144,87; 161,60.

IR $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3050; 1655; 1590; 1493; 1456; 1375; 1319; 1158; 1087; 914; 810; 753; 679.

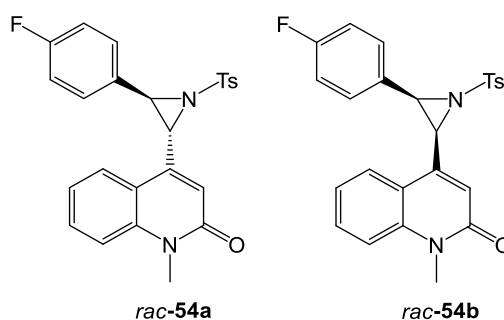
HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{25}H_{21}ClN_2O_3S$, izračunato 465,10397, eksperimentalno određeno 465,10437.

Sporedni izomer *rac-53b-cis*

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,46 (s, 3H); 3,59 (s, 3H); 4,38 (dd, $J_1 = 0,7$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 1H); 4,46 (d, $J_1 = 7,3$ Hz, 1H); 6,59 (d, $J_1 = 0,7$ Hz, 1H); 7,05 (s, 4H); 7,24 (m, 2H); 7,38 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 2H); 7,53 (m, 1H); 7,75 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_1 = 8,0$ Hz, 1H); 7,96 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,76; 29,36; 45,34; 46,17; 114,78; 118,94; 121,21; 122,27; 123,97; 128,03 (2C); 128,46 (2C); 128,58 (2C); 129,62; 130,14 (2C); 130,98; 134,20; 134,36; 139,57; 139,67; 145,51; 161,33.

3.1.2.5.3.11. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (*rac-54*)



Spoj *rac-54* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,05 g, 0,13 mmol), *N*-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **38** (0,04 g, 0,13 mmol) i kalijevog hidroksida (0,01 g, 0,26 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 83/17. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*trans*) = 0,72; R_f (*cis*) = 0,84). Dobiven je marinoaziridin *rac-54* (0,06 g, 95 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-54a-trans*

t.t. = 99,6–102,0 °C (određena na smjesi dvaju izomera)

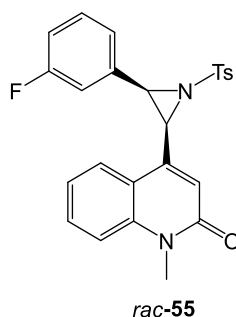
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,42 (s, 3H); 3,71 (s, 3H); 4,00 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 4,59 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 6,63 (s, 1H); 7,12 (t, $J_1 = 8,6$ Hz, 2H); 7,23 (s, 3H); 7,40 (d, $J_1 = 8,5$ Hz, 1H); 7,47–7,57 (m, 2H); 7,58–7,71 (m, 3H); 7,84 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,67; 29,50; 45,62; 50,18; 114,73; 115,82 ($^2J_{\text{CF}} = 21,9$ Hz, 2C); 119,65; 120,11; 122,38; 124,85; 126,50; 127,70 (2C); 129,69 (2C); 130,80 ($^3J_{\text{CF}} = 8,3$ Hz, 2C); 131,15; 136,30; 139,94; 142,29; 144,81; 161,60; 163,21 ($J_{\text{CF}} = 249,6$ Hz, CF).

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3065; 1652; 1592; 1513; 1456; 1371; 1322; 1158; 1087; 940; 814; 751; 685.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}$, izračunato 449,13352, eksperimentalno određeno 449,13412.

3.1.2.5.3.12. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-55)



Spoj *rac*-55 pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(3-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **39** (0,11 g, 0,39 mmol) i kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 100/0. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f = 0,50$). Dobiven je marinoaziridin *rac*-55 (0,09 g, 51 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 215,5–217,9 °C

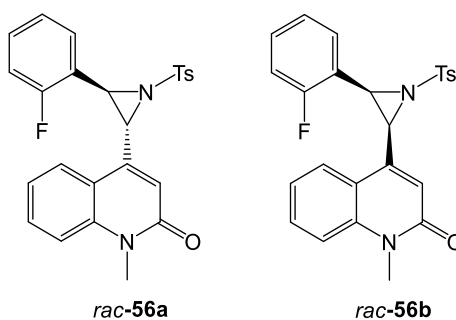
^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,44 (s, 3H); 3,54 (s, 3H); 4,38 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, 1H); 4,47 (d, $J_1 = 7,4$ Hz, 1H); 6,58 (d, $J_1 = 1,1$ Hz, 1H); 6,74 (tdd, $J_1 = 0,8$ Hz, $J_2 = 2,6$ Hz, $J_3 = 16,8$ Hz, 1H); 6,81 (dt, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz, 1H); 6,91 (m, 1H); 7,02 (dt, $J_1 = 5,8$ Hz, $J_2 = 7,9$ Hz, 1H); 7,22 (m, 2H); 7,37 (d, $J_1 = 7,9$ Hz, 2H); 7,50 (m, 1H); 7,76 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, 1H); 7,95 (dt, $J_1 = 1,9$ Hz, $J_2 = 6,6$ Hz, 2H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,74; 29,30; 45,33; 46,23 ($^4J_{\text{CF}} = 2,3$ Hz); 114,57 ($^2J_{\text{CF}} = 22,9$ Hz); 114,70; 115,36 ($^2J_{\text{CF}} = 21,2$ Hz); 118,90; 121,19; 122,28; 123,06 ($^4J_{\text{CF}} = 2,8$ Hz); 124,02; 128,05 (2C); 129,84 ($^3J_{\text{CF}} = 8,3$ Hz); 130,15 (2C); 130,98; 133,61 ($^3J_{\text{CF}} = 7,8$ Hz); 134,30; 139,53; 139,64; 145,54; 161,29; 161,32 ($J_{\text{CF}} = 247,1$ Hz, CF).

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3034; 1656; 1591; 1491; 1451; 1322; 1155; 1088; 954; 869; 749; 675.

HRMS (ESI): m/z . $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}$, izračunato 449,13352, eksperimentalno određeno 449,13452.

3.1.2.5.3.13. Priprava (\pm)-4-(3-(2-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-56)



Spoj *rac*-56 pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(2-fluorobenziliden)-toluen-4-sulfonamida **40** (0,11 g, 0,39 mmol) te kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 79/21. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*trans*) = 0,29; R_f (*cis*) = 0,37). Dobiven je marinoaziridin *rac*-56 (0,12 g, 70 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac*-56a-*trans*

t.t. = 97,3–97,9 °C (određena na smjesi dvaju izomera)

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,41 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 4,15 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 4,63 (d, $J_1 = 4,3$ Hz, 1H); 6,70 (s, 1H); 7,19–7,31 (m, 5H); 7,36–7,43 (m, 2H); 7,62–7,67 (m, 2H); 7,77–7,83 (m, 2H); 7,94 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

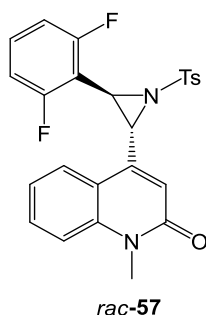
^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,66; 29,51; 44,85 ($^3J_{\text{CF}} = 3,7$ Hz); 44,99 ($^4J_{\text{CF}} = 1,8$ Hz); 114,66; 115,74 ($^2J_{\text{CF}} = 21,3$ Hz); 119,73; 120,28; 122,39; 124,27 ($^2J_{\text{CF}} = 3,5$ Hz); 125,06 ($^4J_{\text{CF}} = 1,0$

Hz); 126,43 (2C); 127,85 (2C); 129,65 ($^3J_{CF} = 1,4$ Hz, 2C); 131,12; 135,81; 139,87; 142,22; 143,43; 144,88; 161,64; 162,16 ($J_{CF} = 247,7$ Hz, CF).

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3355; 3260; 3065; 2923; 1646; 1588; 1495; 1455; 1328; 1305; 1157; 1086; 915; 813; 753; 687.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}$, izračunato 449,13352, eksperimentalno određeno 449,13472.

3.1.2.5.3.14. Priprava (\pm)-4-(3-(2,6-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (rac-57)



Spoj *rac-57* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,10 g, 0,26 mmol), *N*-(2,6-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **41** (0,12 g, 0,31 mmol) i kalijevog hidroksida (0,03 g, 0,52 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 100/0. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*trans*) = 0,35). Dobiven je aziridin *rac-57* (0,08 g, 65 %) u obliku bijele krutine.

t.t. = 91,2–92,0 °C

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 2,43 (s, 3H); 3,69 (s, 3H); 3,78 (d, $J_1 = 4,7$ Hz, 1H); 5,15 (d, $J_1 = 4,4$ Hz, 1H); 6,64 (s, 1H); 7,00 (t, $J_1 = 8,5$ Hz, 1H); 7,25–7,36 (m, 3H); 7,37–7,44 (m, 2H); 7,62 (t, $J_1 = 7,4$ Hz, 1H); 7,76 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H); 8,11 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 1H).

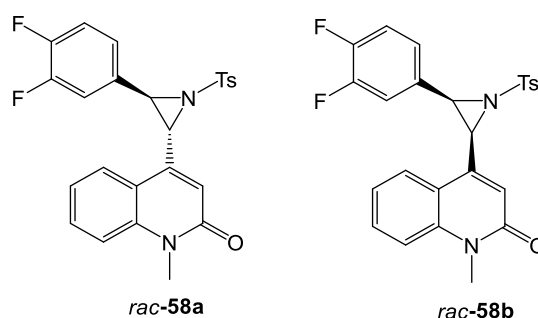
^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 21,70; 29,46; 42,66; 43,02; 107,82; 111,73 ($^3J_{CF} = 3,5$ Hz); 111,87 ($^3J_{CF} = 3,5$ Hz); 114,68; 119,11; 119,48; 122,50; 124,69 ($^4J_{CF} = 3,2$ Hz); 126,44;

127,89 (2C); 129,74 (2C); 131,11; 135,73; 139,92; 143,50; 145,00; 161,78; 162,25 ($J_{CF} = 251,0$ Hz); 162,29 ($J_{CF} = 251,0$ Hz).

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3067; 1648; 1590; 1469; 1455; 1372; 1325; 1160; 1084; 995; 938; 682.

HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ za $C_{25}H_{20}F_2N_2O_3S$, izračunato 467,12410, eksperimentalno određeno 467,12759.

3.1.2.5.3.15. Priprava (\pm)-4-(3-(3,4-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (*rac*-**58**)



Spoj *rac*-**58** pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **42** (0,12 g, 0,39 mmol) te kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 15/85. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*cis*) = 0,50; R_f (*trans*) = 0,41). Dobiven je marinoaziridin *rac*-**58** (0,09 g, 51 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac*-**58a-trans**

t.t. = 217,1–218,8 °C

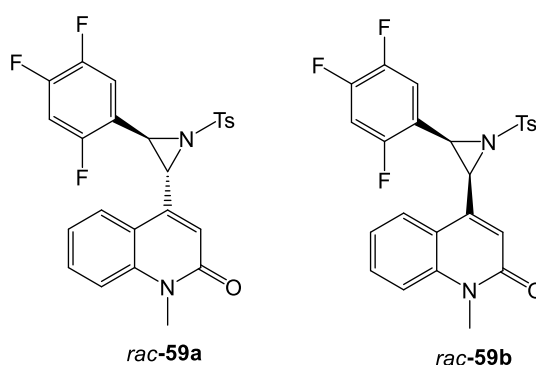
^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 2,42 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 4,04 (d, $J_1 = 4,5$ Hz, 1H); 4,47 (d, $J_1 = 4,5$ Hz, 1H); 6,65 (s, 1H); 7,15–7,40 (m, 6H); 7,57–7,71 (m, 3H); 7,75–7,88 (m, 2H).

^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 21,65; 29,51; 46,53; 48,67; 114,74; 117,75 ($^4J_{CF} = 4,3$ Hz, $^3J_{CF} = 6,4$ Hz); 119,66; 120,39; 122,42; 124,93; 125,09 ($^3J = 5,1$ Hz); 126,43; 127,73 (2C); 128,84 ($^3J_{CF} = 4,9$ Hz); 129,72 (2C); 131,21; 136,01; 139,89; 141,67; 145,02; 148,91 ($^2J_{CF} = 14,1$ Hz, $J_{CF} = 39,7$ Hz, CF); 152,28 ($^2J_{CF} = 14,3$ Hz, $J_{CF} = 41,1$ Hz, CF); 161,53.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3043; 1654; 1590; 1518; 1455; 1317; 1203; 1159; 1086; 938; 898; 753; 686.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, izračunato 467,12410, eksperimentalno određeno 467,12482.

3.1.2.5.3.16. Priprava (\pm)-1-metil-4-(1-tosil-3-(2,4,5-trifluorfenil)aziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac*-59)



Spoj *rac*-59 pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **34** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(2,4,5-trifluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **43** (0,12 g, 0,39 mmol) i kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 67/33. Aziridin je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*cis*) = 0,69; R_f (*trans*) = 0,54). Dobiven je aziridin *rac*-59 (0,05 g, 26 %) u obliku bijele krutine.

Sporedni izomer *rac*-59b-*cis*

t.t. = 182,0–184,8 °C

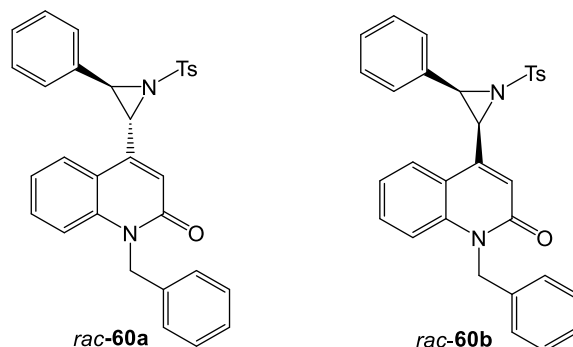
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,48 (s, 3H); 3,60 (s, 3H); 4,41 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 1H); 4,59 (d, $J_1 = 7,2$ Hz, 1H); 6,54 (d, $J_1 = 0,7$ Hz, 1H); 6,68 (td, $J_1 = 3,2$ Hz, $J_2 = 6,3$ Hz, 1H); 6,83–7,01 (m, 1H); 7,22–7,33 (m, 2H); 7,36–7,47 (m, 2H); 7,50–7,61 (m, 1H); 7,75–7,84 (m, 1H); 7,97 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,79; 29,39; 41,12; 45,27; 105,14; 105,42 ($J_1 = 10,4$ Hz); 105,77; 114,69; 116,78 ($J_1 = 6,5$ Hz); 117,12 ($J_1 = 8,8$ Hz); 118,70 (2C); 121,00; 122,34; 124,09 ($J_1 = 3,0$ Hz); 128,11 (2C); 130,27 (2C); 131,18; 133,97; 139,27; 139,67; 145,85; 161,20.

IR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3069; 1652; 1594; 1519; 1456; 1429; 1378; 1337; 1159; 1087; 951; 878; 756; 677.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, izračunato 485,11467, eksperimentalno određeno 485,11589.

3.1.2.5.3.17. Priprava (\pm)-1-benzil-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (*rac*-**60**)

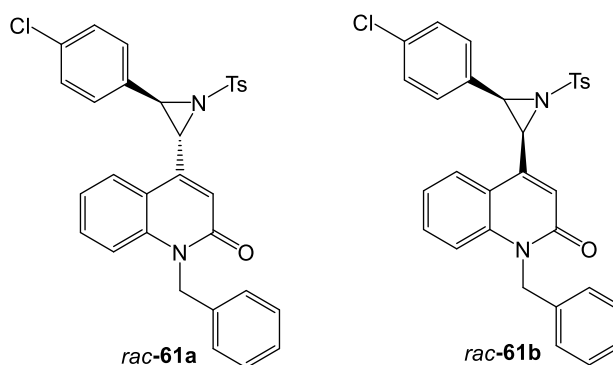


Spoj *rac*-**60** pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **35** (0,070 g, 0,15 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **36** (0,039 g, 0,15 mmol) i kalijevog hidroksida (0,017 g, 0,30 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 75/35. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*cis*) = 0,73; R_f (*trans*) = 0,78). Dobiven je marinoazirdin *rac*-**60** (0,125 g, 75 %) u obliku bijele krutine.

Sporedni izomer *rac*-**60b-cis**

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,47 (s, 3H); 4,45 (d, $J_1 = 7,4$ Hz, 1H); 4,52 (d, $J_1 = 7,3$ Hz, 1H); 5,55 (m, 2H); 6,73 (s, 1H); 6,94-7,43 (m, 15H); 7,79 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 1H); 7,99 (d, $J_1 = 8,4$ Hz, 2H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,77; 45,18; 47,04; 53,43; 115,13; 115,51; 119,36; 121,19; 122,14; 122,24; 124,20; 125,32; 126,28; 126,56; 127,17; 127,22; 127,31; 128,07; 128,08; 128,18; 128,75; 130,01; 130,12; 130,80; 131,03; 134,57; 135,99; 138,96; 140,53; 145,37; 161,52.

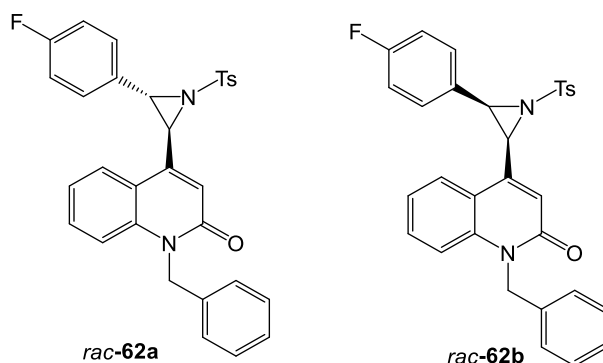
3.1.2.5.3.18. Priprava (\pm)-4-(3-(4-klorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-benzil-kinolin-2(1H)-ona (rac-61)

Spoj *rac-61* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **35** (0,150 g, 0,33 mmol), *N*-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **37** (0,096 g, 0,33 mmol) i fosfazenske baze (0,130 mL, 0,39 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (15 mL) prema općenitom postupku 14 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 72/28. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*cis*) = 0,63; R_f (*trans*) = 0,68). Dobiven je marinoaziridin *rac-61* (0,124 g, 75 and %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-61a-trans*

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 2,42 (s, 3H); 4,02 (m, 1H); 4,61 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 4,7$ Hz, 1H); 5,56 (m, 2H); 6,72 (s, 1H); 7,16-7,32 (m, 10H); 7,38-7,53 (m, 4H); 7,70 (d, $J_1 = 8,5$ Hz, 2H); 7,81 (m, 1H).

3.1.2.5.3.19. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-benzilkinolin-2(1H)-ona (rac-62)



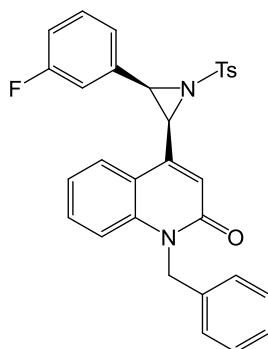
Spoj *rac-62* pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **35** (0,12 g, 0,26 mmol), *N*-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **38** (0,072 g, 0,26 mmol) i fosfazenske baze (0,096 mL, 0,31 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (15 mL) prema općenitom postupku 14 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 15/85. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 (R_f (*trans*) = 0,43; R_f (*cis*) = 0,40). Dobiven je marinoaziridin *rac-62* (0,136 g, 79 %) u obliku bijele krutine.

Glavni izomer *rac-62a-trans*

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 2,42 (s, 3H); 4,03 (d, $J_1 = 4,6$ Hz, 1H); 4,64 (d, $J_1 = 4,3$ Hz, 1H); 5,51 (dd, $J_1 = 11,2$ Hz, $J_2 = 40,0$ Hz, 2H); 6,72 (d, $J_1 = 1,1$ Hz, 1H); 7,12 (t, $J_1 = 8,6$ Hz, $J_2 = 17,2$ Hz, 2H); 7,20 (dd, $J_1 = 0,6$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, 3H); 7,25 (d, $J_1 = 8,0$ Hz, 3H); 7,30 (t, $J_1 = 5,6$ Hz, $J_2 = 13,2$ Hz, 3H); 7,45 (td, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 7,52–7,56 (m, 2H); 7,69 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 2H); 7,82 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 151 MHz) δ /ppm: 21,18; 44,90; 45,47; 49,89; 115,14; 115,23; 115,37; 119,36; 119,48; 121,95; 124,31; 126,05 (2C); 126,88; 127,22 (2C); 128,35 (2C); 129,22 (2C); 130,40; 130,45; 130,58; 135,58; 135,78; 138,84; 142,47; 144,33; 161,26; 161,90; 163,55 ($J_{\text{CF}} = 254,2$ Hz).

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}$, izračunato 525,15699, eksperimentalno određeno 525,16463.

3.1.2.5.3.20. Priprava (\pm)-4-(3-(2-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-benzilkinolin-2(1H)-ona (rac-63)

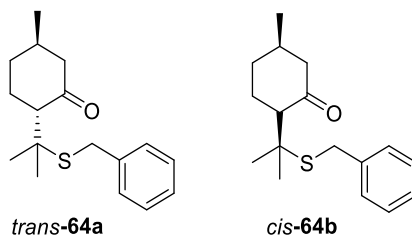
Spoj *rac*-63 pripravljen je iz kinolin-2(1H)-on-sulfonijeve soli **35** (0,070 g, 0,15 mmol), *N*-(2-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **40** (0,042 g, 0,15 mmol) te kalijevog hidroksida (0,017 g, 0,30 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 16 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.3.. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *trans* i *cis* izomera je 0/100. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol, 25/1 ($R_f=0,75$). Dobiven je aziridin *rac*-63 (0,064 g, 80 %) u obliku bijele krutine.

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 2,48 (s, 3H); 4,49 (d, $J_1 = 7,2$ Hz, 1H); 4,70 (d, $J_1 = 7,2$ Hz, 1H); 5,30 (m, 1H); 5,52 (d, $J_1 = 15,7$ Hz, 1H); 6,69 (d, $J_1 = 1,2$ Hz, 1H); 6,79 (ddd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, $J_3 = 10,3$ Hz, 1H); 6,89 (td, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 7,9$ Hz, 1H); 6,99 (m, 2H); 7,10 (m, 3H); 7,22 (m, 4H); 7,36 (m, 1H); 7,41 (m, 2H); 7,86 (dt, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 9,36$ Hz, 1H); 7,99 (m, 2H).

^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 21,79; 42,35 ($^3J_{\text{CF}} = 5,3$ Hz); 45,06; 45,63; 114,85 ($^2J_{\text{CF}} = 19,4$ Hz); 115,37; 118,61 ($^2J_{\text{CF}} = 13,1$ Hz); 119,21; 120,94; 122,32; 123,80 ($^3J_{\text{CF}} = 3,43$ Hz); 124,36; 126,30 (2C); 127,24; 128,12 (2C); 128,74 (2C); 128,96 ($^4J_{\text{CF}} = 2,9$ Hz); 129,81 ($^3J_{\text{CF}} = 8,44$ Hz); 130,17 (2C); 130,91; 134,35; 135,98; 138,91; 140,37; 145,52; 161,28 ($J_{\text{CF}} = 248,8$ Hz); 161,47.

HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ za C₃₁H₂₅FN₂O₃S, izračunato 525,16482, eksperimentalno određeno 525,16566.

3.1.2.6. Stereoselektivna sinteza

3.1.2.6.1. Priprava Elielovog oksatiana¹⁵⁴3.1.2.6.1.1. Priprava 5-metil-2-[1-metil-1-(fenilmetiltio)etil]-cikloheksan-1-on (ili 7-tiomenton) (**64**)

Dvogrla tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je (*R*)-(+)-pulegon (8,97 g, 0,05 mol) i benzil-merkaptan (7,10 mL, 0,055 mol), ispunjena je argonom te je dodan bezvodni tetrahidrofuran (30 mL). U nastalu otopinu dodano je 10 % vodene otopine natrijevog hidroksida (1,15 mL). Reakcijska smjesa miješana je na refluks dok se tankoslojnom kromatografijom (*n*-heksan/dietil-eter = 7/3, $R_f = 0,46$) nije utvrdio završetak reakcije. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa ohlađena je i razrijeđena zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida (30 mL). Vodeni sloj ekstrahiran je dietil-eterom (2 × 30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Izolirano je spoj 7-tiomenton **64**, žućkaste guste tekućine neugodnog mirisa. Produkt je identificiran ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom kao smjesa dva izomera *trans* i *cis* u omjeru 83/17.

Glavni izomer **64a**

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz,) δ /ppm: 0,96 (d, $J_1 = 5,9$ Hz, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,59 (s, 3H); 1,00–2,76 (m, 8H), 3,73 (s, 2H), 7,30 (m, 5H).

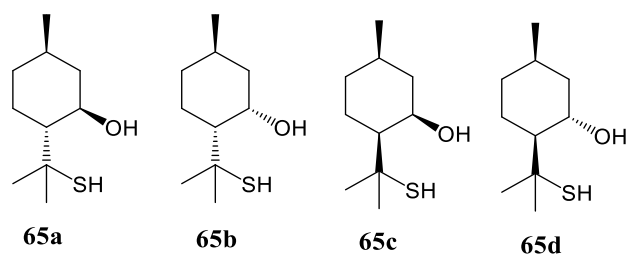
¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 22,27; 23,97; 27,85; 29,68; 33,22; 34,52; 36,65; 48,02; 52,34; 57,79; 126,82; 128,49; 128,98; 138,68; 210,60.

Sporedni izomer **64b**

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz,) δ /ppm: 0,91 (d, $J_1 = 7,0$ Hz, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,57 (s, 3H), 1,00–2,76 (m, 8H), 3,75 (s, 2H), 7,30 (m, 5H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 19,09; 24,58; 25,48; 28,17; 31,29; 32,57; 33,25; 48,11; 50,35; 58,08; 127,00; 128,01; 128,64; 138,56; 211,23.

3.1.2.6.1.2. Priprava 2-(merkapto-1-metiletil)-5-metilcikloheksan-1-ol (ili 7-tiomentol) (65)



U tikvicu opremljenu Dewarovim hladilom i ohlađenu na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ kondenziran je amonijak (167 mL). Uz miješanje dodan je natrij (6,86 g, 298 mmol, 6,1 ekv.) u obrocima, pri čemu dolazi do promjene boje otopine u tamnoplavu. 7-tiomenton **64** (13,34 g, 48 mmol, 1 ekv.) otopljen je u bezvodnom dietil-eteru (33,35 mL) uz dodatak bezvodnog metanola (3,74 mL), a zatim polako dokapavan u reakcijsku smjesu kroz 2 h. Tijekom dokapavanja došlo je do promjene boje reakcijske smjese iz tamnoplave u žutu. Nakon što je sav 7-tiomenton dodan, reakcijska smjesa miješana je još 30 min, prije nego što je dokapan bezvodni etanol (8,31 mL). Reakcijska smjesa ostavljena je na sobnoj temperaturi i miješana preko noći kako bi sav amonijak ispario. Preostala žuta krutina ohlađena je na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ te je potom dodana voda (200 mL). Otopina je ekstrahirana dietil-eterom ($4 \times 30\text{ mL}$). U vodeni sloj dokapavana je konc. klorovodična kiselina (do $\text{pH} = 2$), pri čemu se formiraju dva sloja; gornji sloj (narančasto ulje) i donji sloj (bijeli). Otopina je ekstrahirana dietil-eterom ($4 \times 25\text{ mL}$). Organski slojevi spojeni su te su isprani zasićenom vodenom otopinom natrijevog klorida ($3 \times 30\text{ mL}$), osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiven je 7-tiomentol **65** (9,14 g, 98 %) u obliku narančastog ulja neugodnog mirisa. Produkt je identificiran NMR spektroskopijom kao smjesa četiri diastereomera **65a/65b/65c/65d** u omjeru 63/23/11/3.

Glavni izomer 65a

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 0,91 (d, $J_1 = 6\text{ Hz}$, 3H); 1,49 (s, 3H); 1,51 (s, 3H); 0,81–2,02 (m, 8H); 2,91 (bs, 1H); 3,69 (td, $J_1 = 10,0\text{ Hz}$, $J_2 = 4,5\text{ Hz}$, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,90; 26,85; 28,48; 31,37; 34,67; 34,93; 45,26; 47,13; 54,76; 73,09.

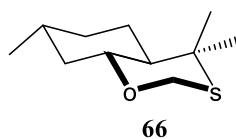
Sporedni izomeri **65b/65c/65d**-karakteristični pomaci:

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 65b, 4,35 (m, 1H)

65c, 3,94 (td, $J_1 = 4,2$ Hz, $J_2 = 9,8$ Hz, 1H)

65d, 3,48 (m, 1H)

3.1.2.6.1.3. Priprava (+)-(R,R,R)-heksahidro-4,4,7-trimetil-4H-1,3-benzoksatian (**66**)



U etanolu (70 mL) otopljeni su redom spoj **65** (9,14 g, 48 mmol), paraformaldehid (3,05 mL, 144 mmol) i *p*-toluensulfonska kiselina (0,28 g, 14 mmol). Reakcijska smjesa refluksirana je 4 h uz izdvajanje vode, u aparaturi po Dean-Starku. Nakon hlađenja, otapalo je upareno i dodana je vodena otopina kalijevog karbonata (150 mL). Potom je reakcijska smjesa ekstrahirana dietil-eterom (40 × 50 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveno narančasto ulje destilirano je primjenom aparata kugelrohr pri sniženom tlaku, pri čemu su sakupljene frakcije vrelišta 110 °C-140 °C (0,15 mmHg). Dobiveno je 8,20 g sirovog produkta, koji je u nastavku pročišćen prekrizacijom iz pentana. Budući da preko noći nije došlo do kristalizacije, otopina je ohlađena na -25 °C i dodana je kristalizacijska klica, pri čemu se inducirala kristalizacija. Dobiven je spoj **66** (4,63 g, 52 %) u enantiomerno čistom obliku.

t.t. = 37–38 °C

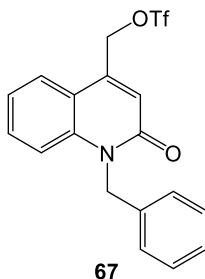
ee = > 99,5 % (GC, program: 100 °C, 3 min, 10 °C min⁻¹ do 250 °C; *t_R* (oksatian) = 7,2 min)

$[\alpha]_D^{22} = +11,7$ (*c* 1 mol L⁻¹; aceton)

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 0,91 (d, $J_1 = 6,5$ Hz, 3H); 1,07 (q, $J_1 = 11,5$ Hz, 1H); 1,26 (s, 3H); 1,43 (s, 3H); 1,44–1,95 (m, 5H); 3,34 (td, $J_1 = 4,5$ Hz, $J_2 = 10,5$ Hz, 1H); 4,67 (d, $J_1 = 11,8$ Hz, 1H); 5,02 (d, $J_1 = 11,4$ Hz, 1H).

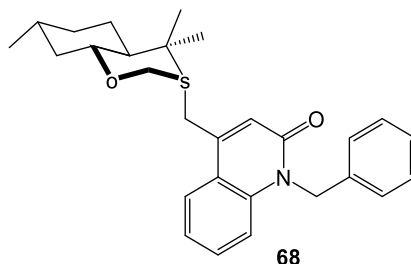
¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 21,82; 22,10; 24,48; 29,49; 31,43; 34,72; 41,72; 41,78; 51,57; 67,23; 76,65.

3.1.2.6.2. Priprava kinolin-2(1H)-on-oksatianske soli

3.1.2.6.2.1. Priprava 1-benzil-4-(metiltrifluormetansulfonyl)kinolin-2(1H)-ona (**67**)

Schlenk tikvica, opremljena s magnatićem za miješanje, u kojoj je spoj **29** (0,1 g, 1 ekv), evakuirana je 0,5 h pod visokim vakuumom ($p = 0,008$ mmHg) te je ispunjena argonom. Dodan je bezvodni diklormetan (4 mL) i trietilamin (0,05 mL, 1 ekv). Reakcijska tikvica ohlađena je na temperaturu od -10 °C te je potom dokapavan anhidrid trifluormetansulfonske kiseline (0,1 mL, 1,5 ekv.). Dolazi do promjene boje reakcijske smjese iz svijetložute u narančastu otopinu. Reakcijska smjesa nastavila se miješati tijekom 20 h dok se tankoslojnom kromatografijom nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode (6 mL). Vodeni sloj ekstrahiran je diklormetanom (2×15 mL). Organski slojevi isprani su 1 mol L^{-1} klorovodičnom kiselinom (2×6 mL), spojeni, osušeni nad magnezijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Dobiven je spoj **67** (0,12 g, 75 %) u obliku žute krutine.

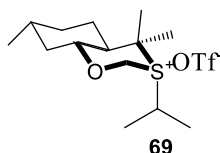
**Napomena: Struktura dobivenog produkta nije potvrđena NMR spektroskopijom jer tijekom snimanja u magnetskom polju dolazi do stvaranja viših vrsta. Kako bi se potvrdila struktura dobivenog produkta provedena je reakcija susptitucije triflatne skupine metilnom, etilnom te je potom provedena analiza – MS (ESI).*

3.1.2.6.2.2. Priprava kinolin-2(1H)-on-oksatianske soli (**68**)**Općeniti postupak 17:**

Schlenk tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je spoj **67** (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h te je ispunjena argonom. Dodan je bezvodni diklormetan (3 mL) i oksatian **66** (1 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 20 min prije dodatka srebrvog triflata ili srebrvog perklorata (1,2 ekv.). Reakcija se nastavila miješati 24 h pri sobnoj temperaturi. Na temelju tankoslojne kromatografije i NMR spektroskopije utvrđeno je da ne nastaje željeni produkt **68**. U reakciji ostaju neizreagirani polazni reaktanti.

Općeniti postupak 18:

Schlenk tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je spoj **32** (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h te je ispunjena argonom. Dodan je bezvodni diklormetan (3 mL) i oksatian **66** (1 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 20 min prije dodatka srebrvog triflata ili srebrvog perklorata (1,2 ekv.). Reakcija se nastavila miješati 24 h pri sobnoj temperaturi. Na temelju tankoslojne kromatografije i NMR spektroskopije utvrđeno je da ne nastaje željeni produkt **68**. U reakciji ostaju neizreagirani polazni reaktanti.

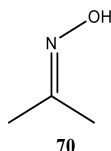
3.1.2.6.3. Priprava izopropil-oksatianske soli (**69**)

Schlenk tikvica, opremljena s povratnim hladilom i magnetičem za miješanje, u kojoj je 2-jodpropan (0,4 g, 2,4 mmol), ispunjena je argonom. Dodan je kloroform (3 mL) te potom

otopina oksatiana **66** (0,24 g, 1,2 mmol u 1 mL kloroforma). Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h pri sobnoj temperaturi prije dodatka srebrovog triflata (0,30 g, 1,2 mmol) u obrocima. Dodatkom srebrovog triflata, dolazi do nastanka žutog taloga (AgI). Reakcija se nastavila miješati na temperaturi od 61 °C tijekom 24 h uz praćenje tijeka reakcije primjenom tankoslojne kromatografije uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Na temelju kromatografske analize i NMR spektroskopije nije utvrđen nastanak željenog produkta **69**.

3.1.2.6.4. Priprava N-tosil zaštićenog imina

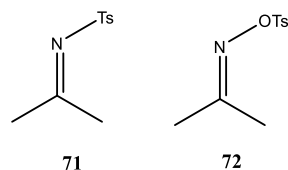
3.1.2.6.4.1. Priprava propan-2-on-oksima (**70**)



U okruglu tikvicu, opremljenu s magnetićem za miješanje, u kojoj je hidroksilamin hidroklorid (2 g, 0,03 mol), dodana je voda (1 mL). Nastala otopina ohlađena je na temperaturu od 0 °C te je potom dodana otopina natrijevog hidroksida (0,7 g/1 mL H₂O). Dodavanjem natrijevog hidroksida, dolazi do zagrijavanja reakcijske smjese na temperaturu od 6 °C. Potom je dodan suhi aceton (0,6 mL) u obrocima, pri čemu dolazi do taloženja bijelog taloga. Otapalo je odfiltrirano, a zaostali bijeli talog prekrizaliziran je iz petrol-etera. Dobiven je spoj **69** (1,97 g 91 %) u obliku bijelih kristala.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ/ppm: 1,73 (s, 3H); 1,77 (s, 3H); 10,15 (s, 1H).

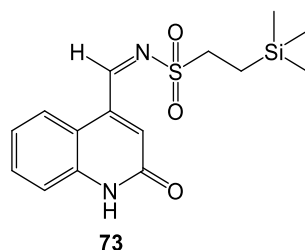
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ/ppm: 21,53 (2C); 152,40.

3.1.2.6.4.2. Priprava 4-metil-N-(propan-2-ilidene)benzenesulfonamida (**71**)

Schlenk tikvica, opremljena s magnetičem za miješanje, u kojoj je acetonoksim **70** (0,1 g, 1,4 mmol), evakuirana je 0,5 h te je ispunjena argonom. Dodan je bezvodni tetraklormetan (5 mL). Nastala otopina ohlađena je na temperaturu od 0 °C, te je dodan trietilamin (0,86 mL, 6,2 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 5 min pri navedenoj temperaturi te je potom dodana otopina *p*-toluensulfonil-klorida (0,65 g, 3,4 mmol) otopljena u tetraklormetanu (0,1 mL). Reakcijska smjesa miješana je 1 h na 0 °C te potom 20 h na 23 °C. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno, a sirova reakcijska smjesa pročišćena je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz pokretnu fazu (dietil-eter/*n*-heksan = 3/2, diklormetan/metanol = 4/1). Dobiven je spoj **72** (0,135 g, 47 %) u obliku bijelog kristalnog produkta.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 1,92 (s, 3H); 1,96 (s, 3H); 2,44 (s, 3H); 7,31 (d, *J*₁ = 9,8 Hz, 2H); 7,86 (d, *J*₁ = 7,9 Hz, 2H).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm: 16,72; 21,99 (2C); 128,86 (2C); 129,94 (2C); 132,34; 144,97; 164,85.

3.1.2.6.4.3. Priprava N-SES zaštićenog kinolin-2(1H)-on-imina (**73**)

Imin **73** pripremljen je iz aldehida **6** (0,1 g, 1,2 mmol) i 2-(trimetilsilil)etansulfonamida (0,230 g, 1,3 mmol) u toluenu (7 mL) uz katalitičku količinu amberlista-15 prema općenitom postupku 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.. Prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/*n*-heksan = 1/2 dobiven je imin **73** (0,10 g, 32 %) u obliku žute krutine.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : -0,10 (s, 9H); 0,88–1,11 (m, 2H); 3,07–3,27 (m, 2H); 7,20 (s, 1H); 7,27 (t, $J_1 = 7,8$ Hz, 1H); 7,36 (d, $J_1 = 8,3$ Hz, 1H); 7,54 (t, $J_1 = 7,7$ Hz, 1H); 8,47 (d, $J_1 = 8,4$ Hz, 1H); 9,24 (s, 1H); 11,61 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : -0,03 (3C); 11,53; 51,15; 118,57; 118,84; 125,90; 127,43; 130,96; 133,90; 140,95; 142,31; 164,32; 172,17.

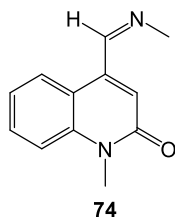
3.1.2.7. Priprava marinociklopropana

3.1.2.7.1. Priprava N-metil-zaštićenih kinolin-2(1H)-on-imina

Općeniti postupak 19

Okrugla tikvica, opremljena s povratnim hladilom i magnetičem za miješanje, u kojoj je odgovarajući aldehid **7,8** (1 ekv.) i magnezijev sulfat (1,5 ekv.), ispunjena je argonom. Dodan je bezvodni etanol te potom metil-amin (4 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je na refluks dok se tankoslojnom kromatografijom (aloks-stacionarna faza) uz pokretnu fazu (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. Prekristalizacijom iz etanola dobiven je produkt. Strukturna analiza produkta provedena je NMR spektroskopijom.

3.1.2.7.1.1. Priprava 4-((metilimin)metil)kinolin-2(1H)-ona (**74**)

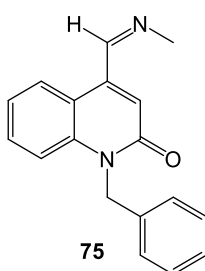


Imin **74** pripremljen je iz aldehida **7** (0,11 g, 0,59 mmol) i metil-amina (0,075 g, 2,4 mmol) u etanolu (7 mL) u prisustvu magnezijevog sulfata (0,11 g, 0,89 mmol) prema općenitom postupku 19 opisanom u poglavlju 3.1.2.7.1.. Prekristalizacijom iz etanola dobiven je imin **74** (0,07 g, 60 %) u obliku žute krutine.

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 3,65 (d, $J_1 = 1,7$ Hz, 3H); 3,75 (s, 3H); 6,92 (s, 1H); 7,27–7,32 (m, 1H); 7,37–7,45 (m, 1H); 7,61 (ddd, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,7$ Hz, 1H); 8,50–8,57 (m, 1H); 8,76 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 29,62; 49,38; 114,41; 118,62; 122,42; 124,24; 126,90; 130,84; 140,40; 141,76; 160,72; 161,97.

3.1.2.7.1.2. Priprava 1-benzil-4-((metilimin)metil)kinolin-2(IH)-ona (**75**)



Imin **75** pripravljen je iz aldehida **7** (0,14 g, 2,7 mmol) i metil-amina (0,066 g, 2,1 mmol) u etanolu (7 mL) u prisustvu magnezijevog sulfata (0,486 g, 4,1 mmol) prema općenitom postupku 19 opisanom u poglavlju 3.1.2.7.1.. Prekristalizacijom iz etanola dobiven je imin **75** (0,120 g, 86 %) u obliku žute krutine.

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 3,67 (d, $J_1 = 1,7$ Hz, 3H); 5,59 (s, 2H); 7,02 (s, 1H); 7,14–7,35 (m, 7H); 7,44 (ddd, $J_1 = 1,7$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,7$ Hz, 1H); 8,58 (q, $J_1 = 1,6$ Hz, 1H); 8,73 (dd, $J_1 = 1,7$ Hz, $J_2 = 8,2$ Hz, 1H).

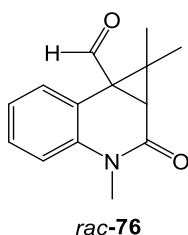
^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ /ppm: 46,03; 49,40; 115,36; 118,89; 122,47; 123,94; 126,53 (2C); 126,87; 127,31; 128,83 (2C); 130,82; 136,16; 139,80; 142,35; 160,59; 162,14.

3.1.2.7.2. Priprava marinociklopropana

Općeniti postupak 20:

Schlenk tikvica, u kojoj je izopropil(difenil)sulfonijev tetrafluorborat (1 ekv.), evakuirana je 0,5 h ($p = 0,008$ mmHg) i ispunjena argonom. Dodano je nekoliko mililitara suhog tetrahidrofurana (~1 mL na 0,10 g soli). Suspenzija je ohlađena na -78 °C i dokapana je otopina *tert*-butil-litija ($1,9$ mol L⁻¹, 1,1 ekv.). Nastaje narančasta otopina. Reakcijska smjesa miješana je 0,5 h prije nego što je dodana otopina odgovarajućeg imina **74,75** (1 ekv.) u suhom tetrahidrofuranu. Nastaje smeđa otopina. Nakon dodatka imina reakcija je miješana 5 h. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Sirova reakcijska smjesa ekstrahirana je diklormetanom (3×30 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad natrijevim sulfatom, filtrirani i upareni pod vakuumom. Dobiveni sirovi talog pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1. Strukturna analiza produkata provedena je spektroskopskim tehnikama.

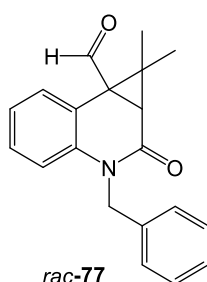
3.1.2.7.2.1. Priprava 1,1,3-trimetil-2-okso-1,1a,2,3-tetrahidro-7bH-cikloprop[c]-kinolin-7b-karbaldehid (rac-76)



Spoj *rac*-76 pripravljen je iz izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9** (0,16 g, 0,5 mmol) i imina **74** (0,10 g, 0,5 mmol), korištenjem baze *tert*-butil-litij (0,29 mL, 0,6 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (5 mL) prema općenitom postupku 20 opisanom u poglavlju 3.1.2.7.2.. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,55$). Dobiven je spoj *rac*-76 (0,05 g, 44 %) u obliku žute krutine.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 0,77 (s, 3H), 1,44 (s, 3H), 3,33 (s, 3H), 2,82 (s, 1H), 6,97 (dd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H), 7,14 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,5$ Hz, $J_3 = 15,1$ Hz, 1H), 7,28 (ddd, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 7,5$ Hz, $J_3 = 8,3$ Hz, 1H), 7,66 (dd, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 7,7$ Hz, 1H), 9,85 (s, 1H).

3.1.2.7.2.2. Priprava 1,1,3-trimetil-2-okso-1,1a,2,3-tetrahidro-7bH-cikloprop[c]-kinolin-7b-karbaldehid (*rac-77*)



Spoj *rac-77* pripravljen je iz izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9** (0,10 g, 0,33 mmol) i imina **75** (0,10 g, 0,33 mmol), korištenjem baze *tert*-butil-litij (0,21 mL, 0,36 mmol) u bezvodnom tetrahidrofuranu (5 mL) prema općenitom postupku 20 opisanom u poglavlju 3.1.2.7.2.. Dobiveni sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol = 25/1 ($R_f = 0,58$). Dobiven je spoj *rac-77* (0,07 g, 64 %) u obliku žute krutine.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 0,94 (s, 3H), 1,55 (s, 3H), 2,99 (s, 1H); 5,21 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,1$ Hz, 1H), 7,06–7,36 (m, 8H), 7,72 (dd, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, 1H), 9,97 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 18,44; 20,53; 31,10; 38,12; 44,15; 46,04; 115,68; 118,69; 123,02; 126,45 (2C); 127,29; 128,16; 128,82 (2C); 129,00; 136,48; 138,34; 165,40; 198,09.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ za $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_2$, izračunato 306,14158, eksperimentalno određeno 306,14924.

3.1.3. Razdvajanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije i superkritične fluidne kromatografije

Enantioselektivna analiza pripremljenih marinoepoksida (*rac*-**11–16**), marinoaziridina B (*rac*-**23**), derivata marinoaziridina A i B (*rac*-**24–25**) provedena je pomoću instrumenta 1260 Infinity II SFC/UHPLC Hybrid (Agilent Technologies, Germany). Instrument za superkritičnu fluidnu kromatografiju 1260 Infinity II SFC/UHPLC Hybrid, proizvod tvrtke Agilent Technologies, Germany, sastavljen od sljedećih dijelova: kvaterna gradijentna pumpa G7111B, binarna gradijentna pumpa G4782A, automatski dodavač uzorka G4767A, grijač odjeljka za kolonu G7116A, skenirajući UV/VIS detektor G7115A, RI detektor G7162A, SFC modul G4301A. Podaci dobiveni kromatografijom prije ispisa obrađeni su računalom uz program OpenLAB CDS ChemStation Edition Rev. C.01.08[210], proizvod tvrtke Agilent Technologies, Germany. Odjeljivanje je provedeno na kolonama silikagela s imobiliziranim kiralnim selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil)celulozom (CHIRAL ART Cellulose-SC), *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoil)celulozom (CHIRAL ART Cellulose-SB) i *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoil)amilozom (CHIRAL ART Amylose-SA) uz *n*-heksan/propan-2-ol (9:1, v/v), *n*-heksan/etanol (80/20, v/v), dimetilkarbonat i dimetilkarbonat/alkohol (v/v), te CO₂/alkohol (v/v) kao nepolarnu pokretnu fazu (kromatografija normalnih faza). Protok pokretne faze u HPLC sustavu bio je 1,0 mL min⁻¹, radna temperatura kolone 35 °C. Mijenjanjem volumnog udjela i vrste alkohola (metanol ili etanol) u CO₂ pokretnoj fazi, određeni su optimalni kromatografski uvjeti za odjeljivanje enantiomera u SFC modulu. Protok pokretne faze bio je 4,0 mL min⁻¹, radna temperatura kolone 35 °C, a povratni tlak 15 MPa. U oba modula snimanje kromatograma provelo se na valnoj duljini 254 nm, te se snimalo UV područje od 190 do 400 nm.

Enantioselektivna analiza pripremljenih disupstituiranih derivata marinoaziridina (*rac*-**52–59**) provedena je pomoću instrumentu Shimadzu 10A VP HPLC sustavu, na imobiliziranim kiralnim nepokretnim fazama CHIRAL ART Amylose-SA, CHIRAL ART Cellulose-SB i CHIRAL ART Cellulose-SC uz UV detekciju. Korištene su sljedeće mobilne faze: tetrahidrofur, kloroform i diklormetan. Mjerenja su provedena pri 27 °C uz protok 1 mL min⁻¹.

Za izolaciju enantiomera pripremljenih marinoepoksida i marinoaziridina korišten je instrument za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti 1260 Infinity II prepHPLC, proizvod tvrtke Agilent Technologies, Germany, sastavljen od sljedećih dijelova: binarna gradijentna preparativna pumpa G7161A, ručni dodavač uzorka G1328C, VWD detektor G7114A i skupljač frakcija G1364E. (engl. *fraction collector*). Podaci dobiveni kromatografijom obrađeni su računalom uz program OpenLAB CDS ChemStation Edition Rev. C.01.08[210], proizvod tvrtke Agilent Technologies, Germany. Za preparativnu HPLC kromatografiju korištene su sljedeće semi-preparativne imobilizirane polisaharidne kiralne nepokretne faze: *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil)celulozna nepokretna faza (CHIRAL ART Cellulose-SC) i *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoil)amilozna nepokretna faza (CHIRAL ART Amylose-SA).

3.1.4. Određivanje apsolutne konfiguracije

UV i ECD spektri snimljeni su pomoću spektropolarimetra Jasco J-1500 u rasponu 185–400 nm. Uzorci su otopljeni u acetonitrilu, pri čemu su dobivene sljedeće koncentracije: marinoaziridin B (**23a**, **23b**, $c = 2 \text{ mmol L}^{-1}$), derivat marinoaziridina A (**25a**, **25b**, $c = 0,3 \text{ mmol L}^{-1}$), marinoepoksid (**14a-trans**, **14b-trans**, $c = 0,35 \text{ mmol L}^{-1}$). Korištene su kvarcne ćelije s duljinom puta između 0,01 i 0,05 cm. Snimljen je spektar otapala koji je oduzet. Instrumentalni parametri bili su sljedeći: brzina skeniranja 100 nm min^{-1} ; vremenska konstanta, 1 s; širina pojasa, 1 nm; 8 nakupina.

IR i VCD spektri snimljeni su pomoću Jasco FVS-6000 VCD spektrometra u rasponu 2000–900 cm^{-1} . Uzorci su otopljeni u CDCl_3 , pri čemu su dobivene sljedeće koncentracije: marinoaziridin B (**23a**, **23b**, $c = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$), derivat marinoaziridina A (**25a**, **25b**, $c = 0,1 \text{ mmol L}^{-1}$), marinoepoksid (**14a-trans**, **14b-trans**, $c = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$). Upotrijebljene su BaF_2 stanice s duljinom puta 60–200 μm . Snimljen je spektar otapala koji je oduzet. Instrumentalni parametri bili su: širina pojasa, 4 cm^{-1} ; PEM vrijednost retardacije, 1400 cm^{-1} ; 2000–4000 nakupljanja, vrijeme mjerenja 25–50 min.

Konformacijska pretraživanja i DFT optimizacije geometrije pokrenute su sa Spartan18 (Irvine, CA, 2019.) koristeći pri tome zadane mreže i kriterije konvergencije. Izračuni frekvencije i TDDFT izvedeni su s Gaussian16¹⁵⁵ koristeći zadane mreže i kriterije konvergencije. Konformacijska pretraživanja provedena su s molekularnom mehanikom (Merck Molecular force field, MMFF) korištenjem Monte Carlo algoritma implementiranog u

Spartan18. Pronađene strukture optimizirane su s DFT na razini ω B97X-D/6-311G+(d,p) korištenjem SMD modela otapala za acetonitril. Za ECD proračune, TDDFT proračuni izvedeni su na svim relevantnim DFT minimumima s B3LYP i CAM-B3LYP funkcionalima, osnovnim skupom def2-TZVP i IEF-PCM modelom otapala za acetonitril. Izračuni su uključivali od 36 do 48 pobuđenih stanja (korijena). Za VCD izračune, optimizacije geometrije i izračuni frekvencije izvedeni su na razini B3LYP/aug-cc-pVTZ korištenjem IEF-PCM za kloroform. Apsorpcijski, ECD, IR i VCD spektri usrednjeni su za sve niskoenergetske konformere prema Boltzmannovoj distribuciji pri 300 K korištenjem unutarnjih energija. Spektri su iscertani pomoću softvera SpecDis (<https://specdis-software.jimdofree.com/>, verzija 1.71).¹⁵⁶ Parametri crtanja navedeni su u opisu slika.

3.1.5. Biološka ispitivanja

3.1.5.1. Ispitivanje antiproliferativnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva

3.1.5.1.1. Stanične linije

Antiproliferativna aktivnost odabranih pripremljenih marinoepoksida, marinoaziridina, marinociklopropana ispitana je u *in vitro* uvjetima pomoću MTT testa¹⁵⁸ na tri stanične linije MCF-7 rak dojke, H-460 rak pluća i HEK293T zdravih stanica embrionalnog bubrega u Laboratoriju za eksperimentalnu terapiju Zavoda za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković (dr. sc. Marijeta Kralj).

3.1.5.1.2. Kultura stanica

Stanice su uzgajane kao monoslojevi i održavane u Dulbeccovom modificiranom Eagleov mediju (DMEM) s dodatkom 10 % fetalnog goveđeg seruma (FBS), 2 mmol L⁻¹ L-glutamina, 100 U mL⁻¹ penicilina i 100 µg mL⁻¹ streptomicina u ovlaženoj atmosferi s 5 % CO₂ na temperaturi od 37 °C.

3.1.5.1.3. Testovi profileracije

Panelne stanične linije uzgojene u monosloju nasađivane su u jažice u koncentraciji $1,5 \times 10^4$ stanica mL^{-1} ili 2×10^4 stanica mL^{-1} (MCF-7) na mikrotitarskoj ploči s ukupno 96 jažica. Potom su dodana testna sredstva uz razrjeđenja (10^{-8} do 10^{-4} mol L^{-1}) te je provedena inkubacija tijekom 72 sata. Radna razrjeđenja su svježe pripremljena na dan testiranja. Maksimalna koncentracija otapala za ispitivane spojeve nikada nije premašila 0,5 %. Nakon 72 sata inkubacije, brzina rasta stanica procijenjena je izvođenjem MTT testa, koji otkriva aktivnost dehidrogenaze u živim stanicama. MTT test stanične proliferacije kolorimetrijski je testni sustav koji mjeri redukciju tetrazolijeve komponente (MTT) u netopljivi produkt formazana uz pomoć mitohondrija živih stanica. U svaku jažicu dodano je 40 μL MTT reagensa u koncentraciji od 0,5 μg μL^{-1} . Nakon četiri sata inkubacije, talog je otopljen u 160 mL DMSO-a. ApSORpcija (A) izmjerena je na čitaču mikropločica pri 570 nm. ApSORbancija je izravno proporcionalna vijabilnosti stanice. Postotak rasta (PG) staničnih linija izračunat je prema jednom ili drugom od sljedeća dva izraza:

Ako je $(A_{\text{test}} - A_{\text{tzero}}) \geq 0$, tada vrijedi:

$$\text{PG} = 100 \times (A_{\text{test}} - A_{\text{tzero}}) / (A_{\text{kont}} - A_{\text{tzero}}) \quad (1)$$

Ako je $(A_{\text{test}} - A_{\text{tzero}}) < 0$, tada vrijedi:

$$\text{PG} = 100 \times ((A_{\text{test}} - A_{\text{tzero}}) / A_{\text{tzero}}) \quad (2)$$

Gdje je:

A_{tzero} = prosječna apSORbancija prije izlaganja stanica ispitivanom spoju

A_{ttest} = prosječna apSORpcija nakon željenog vremenskog razdoblja (72 h)

A_{kont} = prosječna apSORbancija nakon 72 sata bez izlaganja stanica ispitivanom spoju

Svaka ispitna točka izvedena je u četiri primjerka u tri pojedinačna eksperimenta. Rezultati su izraženi grafičkim prikazima koncentracija-odgovor. Negativan postotak ukazuje na citotoksičnost nakon liječenja lijekom, gdje -100 % pokazuje da nijedna stanica nije preživjela tretman pri specifičnoj koncentraciji lijeka. Također, rezultati se izražavaju kao GI_{50} , što označava koncentraciju potrebnu za 50 % inhibiciju. Vrijednosti GI_{50} za svaki spoj izračunate su iz krivulja doza-odgovor korištenjem linearne regresijske analize uklapanjem ispitnih koncentracija koje daju PG vrijednosti iznad i ispod odgovarajuće referentne vrijednosti (npr. 50 za GI_{50}). Međutim, ako za danu staničnu liniju sve ispitane koncentracije daju PG koji

premašuju odgovarajuću referentnu razinu učinka, najniža testirana koncentracija označena je kao zadana vrijednost. U izvješću o podacima probira, zadanoj vrijednosti prethodi znak "<", što znači da je "stvarna" vrijednost nešto "manje od" najniže ispitane koncentracije.

3.1.5.2. *Ispitivanje embriotoksičnosti odabranih nosintetiziranih spojeva upotrebom modelnog organizma *Danio rerio**

3.1.5.2.1. *Materijali i metode*

Ispitivanje embriotoksičnosti provedeno je prema standardiziranom OECD protokolu (236, 2013) koristeći ribe zebrice *Danio rerio* (divlji WIK soj dopremljen iz Europskog resursnog centra, Instituta za tehnologiju Karlsruhe (KIT), Njemačka) u Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi Zavoda za kemiju materijala Instituta Ruđer Bošković (dr. sc. Rozelindra Čož-Rakovac). Uvjeti uzgoja, održavanja i mrijesta zebrice odvijalo se prema uvjetima detaljno opisanim u literaturi.¹⁵⁷ U svrhu ispitivanja embrotoksičnosti testiranih uzoraka na embrionalni razvoj zebrice *Danio rerio* upotrijebljeno je 10 embrija u 3 replike, što ukupno iznosi 30 embrija po ispitivanoj koncentraciji. Uzorci su otopljeni u DMSO otapalu (*p.a.*), nakon čega su razrijeđeni do željene koncentracije pomoću umjetne vode (engl. *artificial water*): 294,0 mg L⁻¹ kalcijevog klorida dihidrata (CaCl₂ × 2H₂O), 123,3 mg L⁻¹ magnezijevog sulfata (MgSO₄ × 7H₂O), 63,0 mg L⁻¹ natrijevog bikarbonata (NaHCO₃) i 5,5 mg L⁻¹ kalijevog klorida (KCl). Embriji su izloženi 1 mL testiranog spoja. Negativna kontrolna grupa izložena je umjetnoj vodi, dok je kao kontrola otapala 30 embrija izloženo 0,1 % DMSO-u. Pločice s embrijima su inkubirane na 27,5 ± 0,5 °C (Phoenix Instrument inkubator TIN-IN35). 96-ti h nakon oplodnje ličinke su pregledane pomoću Olympus CKX41 invertnog mikroskopa s pripadajućom digitalnom kamerom Leica EC3 i LAS EZ 3.2.0 softverom za analizu slike te je zabilježeno preživljavanje, pojava razvojnih abnormalnosti i uspješnost izvaljivanja (napuštanja koriona).

3.1.5.3. Ispitivanje antimikrobnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva

3.1.5.3.1. Materijali i metode

Ispitivanje antimikrobnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva ispitano je na dvije bakterijske kulture (*Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*) prema EUCAST/CLSI smjericama u Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi Zavoda za kemiju materijala Instituta Ruđer Bošković (dr. sc. Rozelindra Čož-Rakovac)

Radni uvjeti bili su sljedeći:

- temperatura inkubacije 35 °C
- Statički uzgoj u aerobnoj atmosferi u Innova inkubatoru
- Početna koncentracija inokuluma $\sim 5 \times 10^5$ CFU mL⁻¹
- Volumen jažice od 100 µL
- TECAN spektrometar: 10 s orbitalnog mućkanja s amplitudom od 3 mm prije skeniranja OD600 s 25 bljeskova nakon 100 ms vremena smirivanja korištenjem poklopca na mikrotitarskoj ploči
- Provjerena sterilnosti ispitnih uzoraka; DMSO kao otapalo za sve ispitne uzorke
- Koncentracija inokuluma i čistoća provjereni izolacijom iz jažica i bojanjem CFU
- Provjere: pozitivna kontrola (rast bez spoja/antimikrobni agens) i negativna kontrola (sterilni bujonski medij)
- Vanjski QC antimikrobni agensi – amoksicilin
- Svi testovi izvedeni su u duplikatima

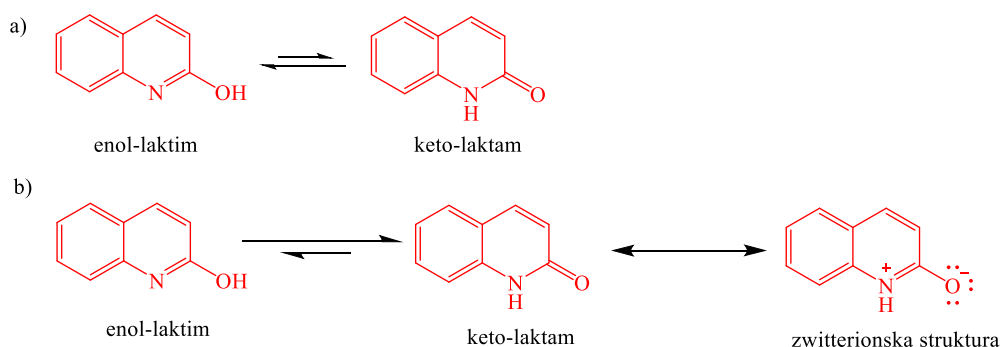
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Molekulsko modeliranje

4.1.1. Kvantno-kemijski izračuni

4.1.1.1. Keto-enolna tautomerija marinoaziridina A i B

Marinoaziridini A i B pripadaju skupini dušikovih heterocikličkih spojeva s jednim kiralnim centrom u molekuli. U svojoj strukturi sadrže aziridinski i kinolin-2(1*H*)-onski prsten. U literaturi je poznato da kinolin-2(1*H*)-oni mogu postojati u dva tautomerna oblika: laktim i laktam (Shema 52).¹²⁷ Vrlo je važno prepoznati potencijal za tautomerizaciju u heteroaromatskim sustavima i procijeniti ulogu pojedinih tautomera u biološkoj aktivnosti jer promjenom strukture dolazi i do promjene kemijskih i bioloških svojstava molekule. U biološkim sustavima uslijed međumolekulskih interakcija može se dogoditi da zastupljeniji tautomer prijeđe u manje zastupljen i biološki manje važan tautomer pri danom pH.¹⁵⁹



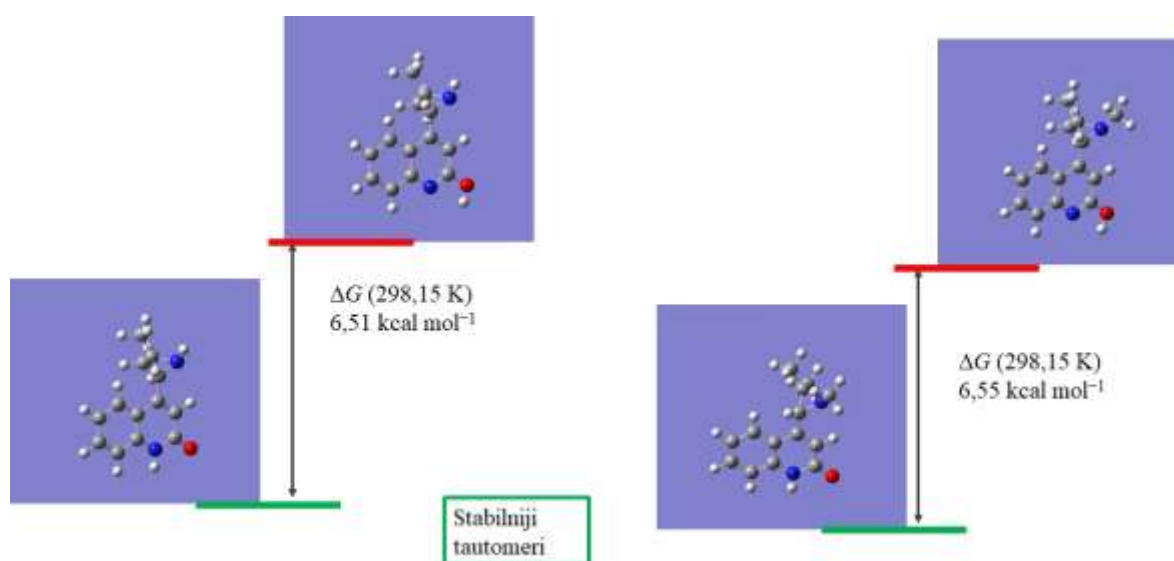
Shema 52. Keto-enolna tautomerija kinolin-2(1*H*)-ona: a) bez utjecaja solvatacije; b) solvatacijski utjecaj.

Na pomak ravnotežnog stanja između tautomera mogu utjecati aromatičnost, stvaranje intra- i intermolekulskih vodikovih veza, interakcije s protičnim i aprotičnim otapalima, odbijanje slobodnih elektronskih parova te dipol–dipol interakcije.¹²⁹ Razumijevanje utjecaja na tautomernu ravnotežu vrlo je važno kako bi se što bolje simulirali biološki procesi i prepoznale promjene konformacije u bioaktivnim molekulama.¹⁵⁹

Tautomerna ravnoteža kinolin-2(1*H*)-ona uključuje intramolekularni proton-transfer između dušikovog atoma i kisikovog atoma amidne skupine. Opisana ravnoteža laktim/laktam predstavlja jedan od klasičnih slučajeva tautomerne ravnoteže ovisne o mediju. Prema

provedenoj studiji utvrđeno je da je u plinovitoj fazi stabilniji enolni tautomer za 0,3 kcal mol⁻¹.¹²⁷ Može se pretpostaviti da su oba tautomerna oblika laktim/laktam podložna jakim intramolekularnim vodikovim vezama. Tautomeri koji se u isto vrijeme ponašaju kao dobri proton-donori i proton-akceptori, uglavnom postoje kao smjese protoniranih i deprotoniranih vrsta. Jakost vodikove veze ovisi o bazičnosti proton-akceptora i kiselosti proton-donora te će utjecati na zastupljenost pojedinih tautomernih oblika. Tautomerni oblik u kojem prevladavaju jače vodikove veze, bit će nestabilniji i manje zastupljen.^{159,160,161} S obzirom na neznatnu razliku u stabilnosti tautomernih oblika u plinovitoj fazi, može se pretpostaviti da slabija vodikova veza u enolnom obliku doprinosi stabilnosti, odnosno zastupljenosti laktima u strukturi kinolin-2(1*H*)-ona. Međutim, solvatirani laktamski oblik stabiliziran je zwitterionskom rezonantnom strukturom. U zwitterionskoj strukturi, dušik nosi pozitivan naboj, a kisik negativan naboj. Polarna otapala trebala bi stabilizirati zwitterionsku rezonantnu strukturu te smanjiti energiju laktama u odnosu na laktim. Ispitivanjem utjecaja vode na pomak tautomerne ravnoteže, utvrđeno je da je keto-oblik stabilniji za 5 kcal mol⁻¹ od enolnog oblika.¹²⁷

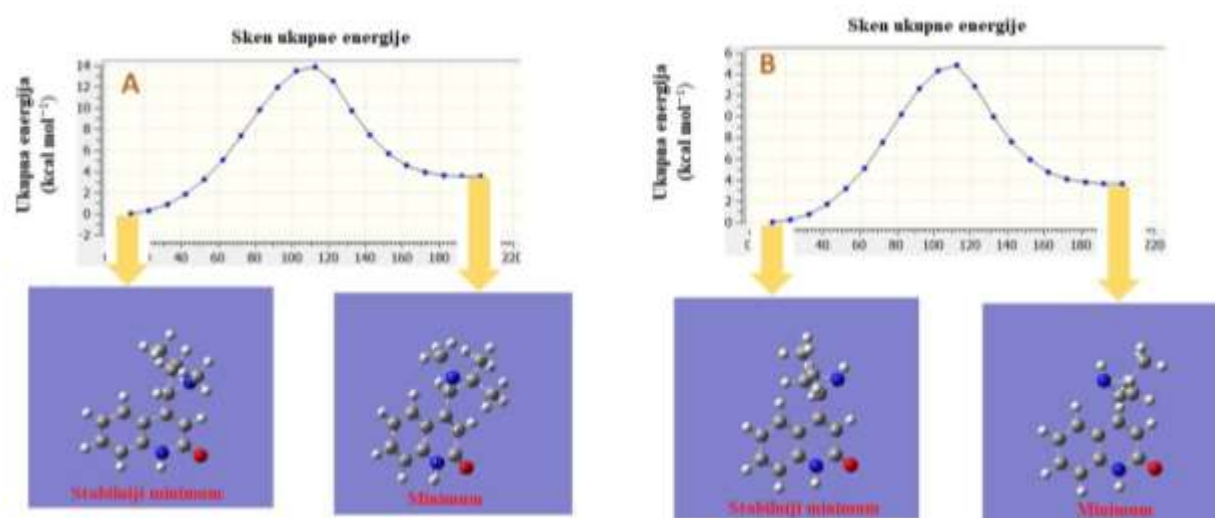
U ovom doktorskom radu kvantno-kemijskim izračunima primjenom DFT funkcionala B3LYP uz korištenje baznog skupa 6-311++G(d,p) optimizirane su strukture marinoaziridina A i B, te je ispitan solvatacijski utjecaj (kloroform) na ravnotežu para tautomera kinolin-2(1*H*)-ona u strukturi marinoaziridina A i B.



Slika 15. Razlike u Gibbsovoj slobodnoj energiji između tautomera laktim/laktam za marinoaziridine A i B predviđene u kloroformu sa pristupom (SMD)/B3LYP/6-31+G(d,p).

Na temelju dobivenih izračuna utvrđeno je da keto-oblik stabilniji za oko $6,5 \text{ kcal mol}^{-1}$ u odnosu na enolni oblik za oba marinoaziridina A i B (Slika 15). Dobiveni rezultati sukladni su s literaturnim saznanjima.¹²⁷ Također, u slučaju marinoaziridina A i B postoji i eksperimentalna potvrda o zastupljenosti keto-oblika u strukturi molekula koju smo dobili primjenom NMR spektroskopije.

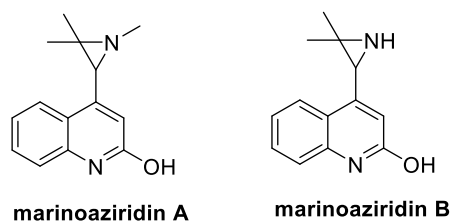
S obzirom na konformacijsku slobodu aziridinskog prstena izračunati su i pripadni energijski profili prikazani na slici 16.



Slika 16. Energijski profili marinoaziridina A i B predviđeni u kloroformu sa pristupom (SMD)/B3LYP/6-31+G(d,p).

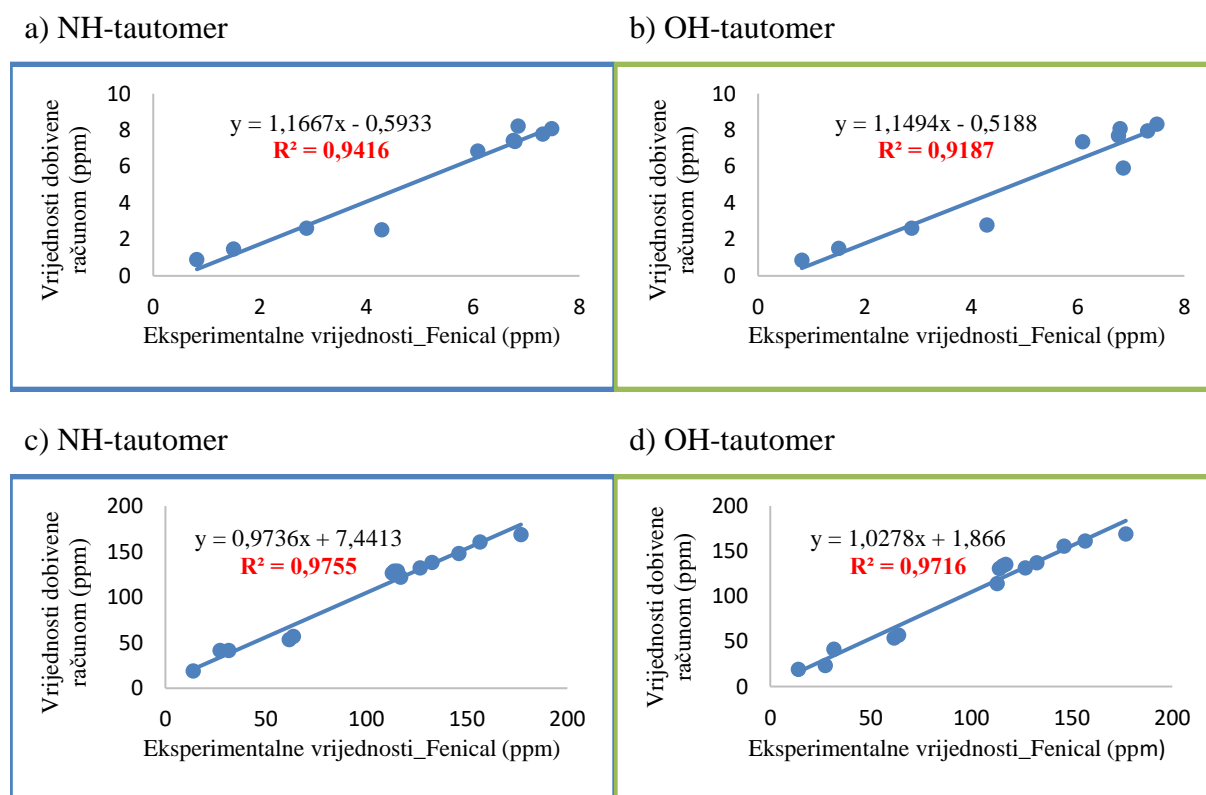
4.1.1.2. NMR-predikcija marinoaziridina A i B primjenom DFT izračuna

Primjena DFT računa za predviđanje spektroskopskih svojstava organskih molekula često se koristi za određivanje i potvrdu strukture prirodnih spojeva.¹⁶²

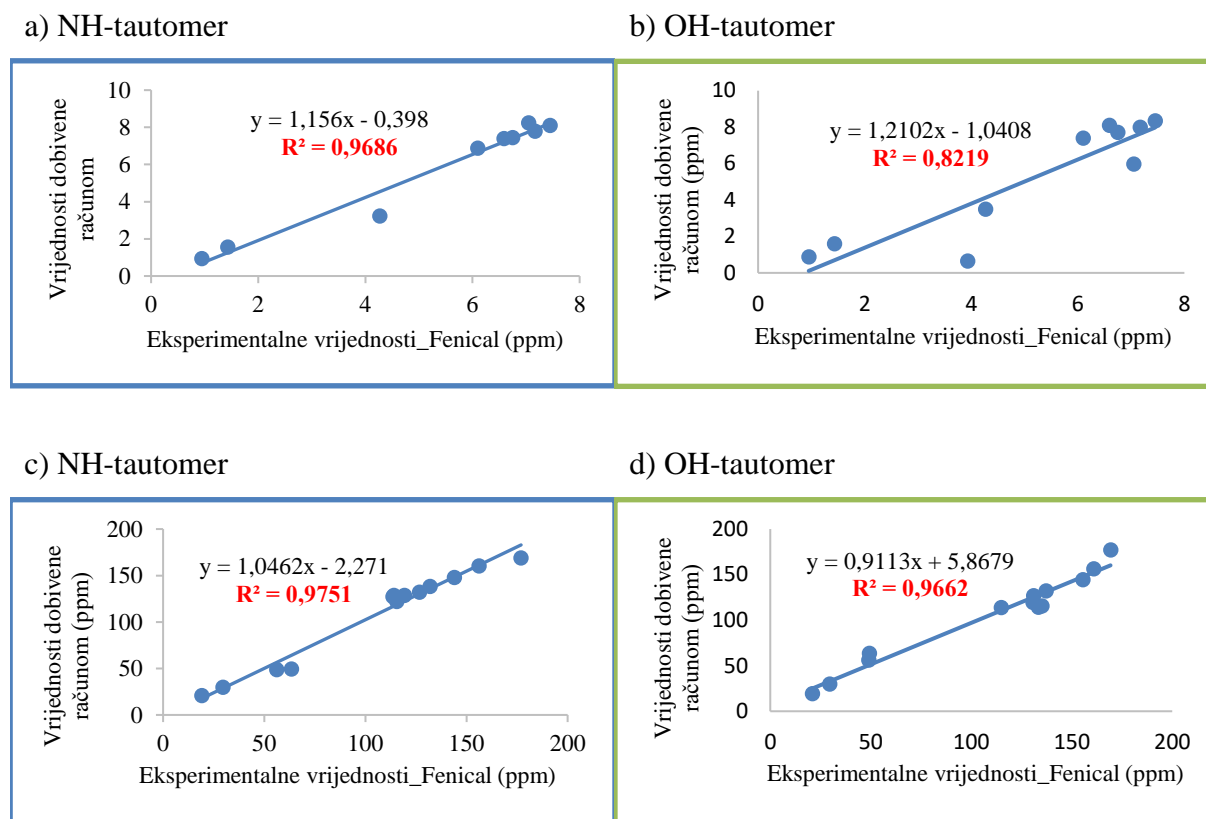


Slika 17. Strukture prirodnih spojeva marinoaziridina A i B predložene u radu Fenical i sur.¹⁶³ na temelju eksperimentalnih podataka dobivenih NMR spektroskopijom izoliranih prirodnih spojeva.

NMR parametri (^1H i ^{13}C kemijski pomaci) za marinoaziridine A i B u ovom doktorskom radu izračunati su s DFT pristupom (SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) uz korištenje GIAO metode. NMR spektri predviđeni su za po dvije moguće ravnotežne konformacije marinoaziridina A i B te njihova dva moguća tautomerna stanja. *In silico* spektri uspoređeni su s dostupnim eksperimentalnim spektrima izoliranih prirodnih spojeva marinoaziridina A i B u radu Fenical i sur..¹⁶³ Izračunati rezultati nisu pokazali dobro slaganje s literaturnim spektrima, što je prosuđeno vizualnom usporedbom linijskih spektara i statističkom analizom (Slika 18, Slika 19). Podrijetlo odstupanja može se pripisati nepotpunom modeliranju konformacijskih i specifičnih učinaka otapala. Također je zanimljivo za primjetiti da su Fenical i sur..¹⁶³ predložili strukture marinoaziridina A i B u kojima je struktura kinolin-2(1*H*)-ona opisana enolnim oblikom (Slika 17). Njihov prikaz nije sukladan literaturnim podacima o laktim/laktam tautomeriji u kinolin-2(1*H*)-onskoj strukturi,¹²⁷ kao ni našim kvantno-kemijskim izračunima i NMR eksperimentima, koji ukazuju na zastupljenost keto-oblika (laktama) kad je riječ o solvatiranoj molekuli.



Slika 18. Linearna korelacija između eksperimentalnih pomaka iz rada Fenical et al i izračunatih GIAO//((SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) ^1H i ^{13}C NMR kemijskih pomaka za marinoaziridin A: a) ^1H NMR za NH-tautomer, b) ^1H NMR za OH-tautomer, c) ^{13}C NMR za NH-tautomer, d) ^{13}C NMR za OH-tautomer.



Slika 19. Linearna korelacija između eksperimentalnih pomaka iz rada Fenical et al i izračunatih GIAO//SMD/B3LYP/6-311++G(d,p) ^1H i ^{13}C NMR kemijskih pomaka za marinoaziridin B: a) ^1H NMR za NH-tautomer, b) ^1H NMR za OH-tautomer, c) ^{13}C NMR za NH-tautomer, d) ^{13}C NMR za OH-tautomer.

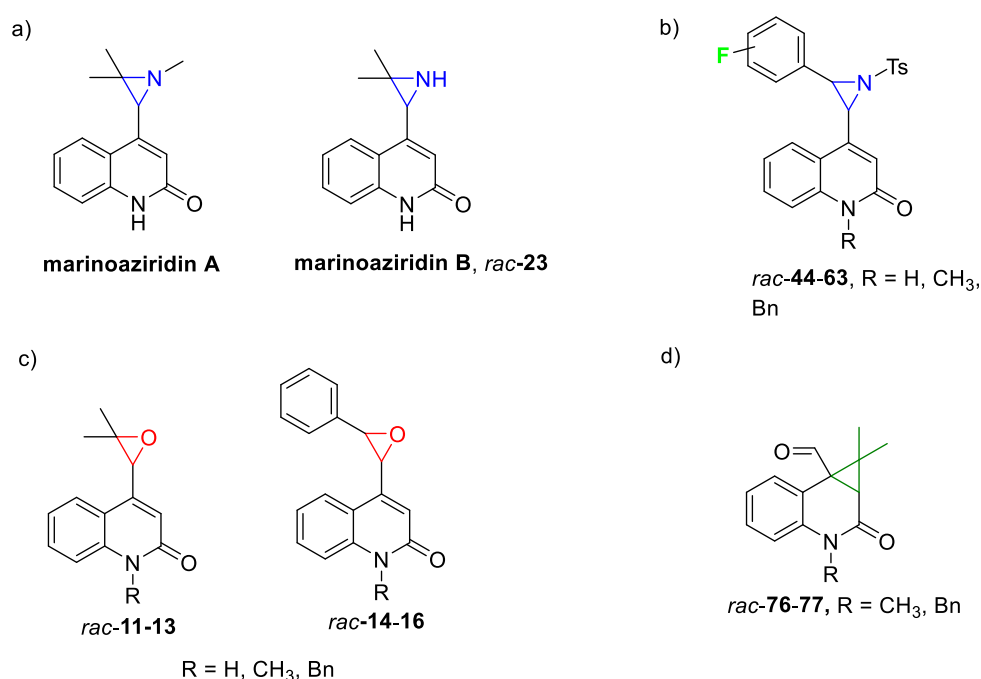
4.1.2. In silico karakterizacija marinoaziridina A i B, njihovih derivata, marinoepoksida, kinolin-2(1H)-onskih derivata

In silico modeliranje ADMET (engl. *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity*) svojstava molekula provodi se u svrhu procjene njihove biološke aktivnosti. *In silico* metode omogućavaju brzu procjenu ključnih parametara što utječe na probir spojeva koji se planira sintetizirati. Također, smanjuje se potreba za velikim brojem *in vitro* i/ili *in vivo* eksperimentima.^{164,165} Svakako treba istaknuti da opisane metode nose i određeni dio rizika u pogledu točnosti, pouzdanosti i preciznosti.¹⁶⁶

Primjenom programa admetPredictor-a TM 9.5¹⁶⁶ i internetskih poslužitelja swissADME-a¹⁶⁷, admet SAR-a^{168,169} i pkCSM-a,¹⁷⁰ u ovom dijelu doktorske disertacije proučavana su

ADMET svojstva spojeva koji se mogu svrstati u četiri skupine s obzirom na neke zajedničke strukturne elemente (Slika 20):

- marinoaziridini A i B (*rac*-**23**)
- disupstituirani derivati marinoaziridina A i B (*rac*-**44–63**)
- trisupstituirani marinoepoksidi (*rac*-**11–13**); disupstituirani marinoepoksidi (*rac*-**14–16**)
- marinociklopropani (*rac*-**76,77**)



Slika 20. Općenite strukturne formule spojeva ispitivanih u ovom dijelu istraživanja: a) marinoaziridini A i B, b) derivati marinoaziridina A i B, c) marinoepoksidi, d) kinolin-2(1*H*)-onski derivati.

Također, predviđene su biološke mete za marinoaziridin A i B koristeći kombinacije 2D i 3D parametara usporedbom sličnosti s bazom podataka koja se sastoji od 280 000 aktivnih spojeva s preko 2 000 meta za 5 različitih organizama primjenom internetskog poslužitelja SwissTarget Prediction-a.¹⁷¹

4.1.2.1. Lipinski pravilo 5

Potencijalni lijek za oralnu primjenu mora posjedovati zadovoljavajuća fizikalno-kemijska svojstva. Kako bi se procijenila bioraspoloživost i tzv. sličnost s lijekovima (engl. *drug-like properties* ili *drug-likeness*) koriste se Lipinskijevo, Veberovo, Eganovo pravilo i druga. U najranijoj fazi razvoja lijeka, eliminiraju se spojevi koji ne zadovoljavaju Lipinskijevo pravilo 5 (engl. *Lipinski's rule of five*).^{172,173} Lipinskijevo pravilo 5 sastoji se od četiri uvjeta i glasi: lijek ne smije imati više od pet donora vodikove veze, ne smije imati zbroj akceptora i donora vodikove veze veći od 10, mora imati molekulska masu manju ili jednaku 500 Da i $\log P$ manji ili jednak pet (ili $M\log P$ manji od 4,15).¹⁷³

Tablica 1. Pregled parametara koji prikazuju da li ispitivani spojevi zadovoljavaju pet pravila.

Spoj	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
Ma-A	+	+	+	+	+
Ma-B	+	+	+	+	+
<i>rac-44</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-45</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-46</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-47</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-48</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-49</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-50</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-51</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-52</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-53</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-54</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-55</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-56</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-57</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-58</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-59</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-60</i>	-	-	+	-	-
<i>rac-61</i>	-	-	+	-	-
<i>rac-62</i>	-	-	+	-	-
<i>rac-63</i>	-	-	+	-	-
<i>rac-11</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-12</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-13</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-14</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-15</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-16</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-76</i>	+	+	+	+	+
<i>rac-77</i>	+	+	+	+	+

*Za predviđanje je korišten internetski poslužitelj SwissADME.

Na temelju provedenog istraživanja procijenjeno je da ispitivani spojevi (*marinoaziridini A i B, rac-44–59, rac-11-16, rac-76,77*) pokazuju dobru bioraspoloživost i sličnost s lijekovima. Dok prepreku dobroj bioraspoloživosti spojeva (*rac-60–63*) predstavlja veličina molekule i visoka

lipofilnost (Tablica 1). Također je uočeno da ti spojevi zadovoljavaju Veberovo pravilo koje nalaže da broj slobodno rotirajućih veza ne smije biti veći od 10, topološka polarna površina (TPSA) mora biti manja od 140 \AA^2 ili zbroj donora i akceptora vodikovih veza manji od 12.¹⁷⁴

4.1.2.2. Apsorpcija

Apsorpcija lijeka predstavlja jedan od ključnih koraka čiji je cilj dolazak lijeka na ciljano mjesto gdje može izvršiti svoju terapeutsku svrhu. Veliki broj čimbenika utječe na brzinu apsorpcije lijeka poput veličine i oblika molekule, polarnosti, lipofilnosti, stupnja ionizacije, topljivosti u različitim medijima, mehanizma transporta (aktivni ili pasivni), primijenjene koncentracije te fizikalno-kemijskih svojstva lijeka.

Primjenom programa admetSAR-a i swissADME-a procijenjeni su sljedeći parametri koji opisuju apsorpciju lijeka:

- **Lipofilnost ($\log P$)** – brojčano izražen afinitet molekule za lipofilni medij dobiven iz logaritma vrijednosti dobivene stavljanjem u omjer koncentracije molekule u nepolarnom (n-oktanol) i polarnom otapalu (voda).
- **Topljivost u vodi ($\log S$)** – mjera topljivosti ispitivanog spoja u vodi
- **Humana intestinalna apsorpcija (HIA)** – vrijednost koja opisuje mogućnost molekule da prijeđe kroz intestinalnu barijeru nakon oralne primjene
- **Caco-2 permeabilnost (CaCo-2)** – vrijednost koja opisuje vjerojatnost prolaska kroz CaCo-2 monosloj stanica.
- **Permeabilnost kože ($\log Kp$)** – logaritam koeficijenta permeabilnosti kroz kožu koji u obzir uzima koncentraciju tvari, raspodjelu između rožnatog sloja i nosača molekule te koeficijent difuzije.
- **P-glikoprotein supstrat / inhibitor** – pozitivno ili negativno procijenjena inhibicija intestinalnog P-glikoproteina koji ima funkciju izbacivanja štetnih tvari iz stanice, pri čemu predstavlja mjeru uspješnosti apsorpcije.
- **Topološko područje polarne površine (TPSA)** – deskriptor koji služi za procjenu pasivnog prijelaza molekule kroz membranu stanice.

Rezultati predviđanja fizikalno-kemijskih svojstava koja utječu na apsorpciju, za ispitivanu seriju spojeva marinoaziridina A i B, derivata (*rac-44–63*), marinoepoksida (*rac-11–16*) i marinociklopropana (*rac-76,77*), prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Pregled vrijednosti molekulskih deskriptora i apsorpcijskih parametara određenih primjenom internetskog poslužitelja admetSAR-a i swissADMET-a za marinoaziridine A i B, derivate, marinoepoksida i marinociklopropane.

Spoj	logP	logS (mol/L)	HIA	CaCO-2	logKp (cm/s)	P-GPI	P-GPS	TPSA (Å) ²
Ma-A	2,35	-2,35	+	+	-6,88	-	+	35,87
Ma-B	2,26	-1,99	+	+	-7,12	-	+	54,80
<i>rac-44</i>	3,48	-4,74	+	-	-6,55	-	-	78,39
<i>rac-45</i>	4,02	-5,33	+	-	-6,31	-	-	78,39
<i>rac-46</i>	3,80	-4,89	+	-	-6,59	-	-	78,39
<i>rac-47</i>	3,91	-4,89	+	-	-6,59	-	-	78,39
<i>rac-48</i>	3,87	-4,89	+	-	-6,59	-	-	78,39
<i>rac-49</i>	4,12	-5,05	+	-	-6,62	-	-	78,39
<i>rac-50</i>	4,11	-5,05	+	-	-6,62	-	-	78,39
<i>rac-51</i>	4,39	-5,21	+	-	-6,66	-	-	78,39
<i>rac-52</i>	3,52	-4,92	+	-	-6,51	-	-	67,53
<i>rac-53</i>	4,15	-5,51	+	-	-6,27	-	-	67,53
<i>rac-54</i>	3,93	-5,08	+	-	-6,54	-	-	67,53
<i>rac-55</i>	3,96	-5,08	+	-	-6,54	-	-	67,53
<i>rac-56</i>	3,95	-5,08	+	-	6,54	-	-	67,53
<i>rac-57</i>	4,21	-5,24	+	-	-6,58	-	-	67,53
<i>rac-58</i>	4,23	-5,24	+	-	-6,58	-	-	67,53
<i>rac-59</i>	4,52	-5,40	+	-	-6,62	-	-	67,53
<i>rac-60</i>	4,72	-6,24	+	-	-5,90	-	-	67,53
<i>rac-61</i>	5,37	-6,83	+	-	-5,67	-	-	67,53
<i>rac-62</i>	5,29	-6,40	+	-	-5,94	-	-	67,53
<i>rac-63</i>	5,18	-6,40	+	-	-5,94	-	-	67,53
<i>rac-11</i>	2,0	-1,99	+	+	-7,12	-	+	54,80
<i>rac-12</i>	2,25	-2,35	+	+	-6,89	-	-	34,53
<i>rac-13</i>	3,51	-3,71	+	+	-6,29	-	+	34,53
<i>rac-14</i>	2,83	-3,11	+	+	-6,58	-	+	45,39
<i>rac-15</i>	2,89	-3,29	+	+	-6,53	-	+	34,53
<i>rac-16</i>	4,12	-4,61	+	+	-5,94	-	+	34,53
<i>rac-76</i>	1,85	-2,24	+	+	-6,82	-	-	37,38
<i>rac-77</i>	3,07	-3,65	+	+	-6,22	+	+	37,38

Dobivene vrijednosti ukazuju da je ispitivana serija spojeva lipofilna ili izrazito lipofilna, odnosno da će imati veći afinitet prema lipofilnom mediju. Procijenjeno je da su marinoaziridini dobro topljivi u vodi, dok su njihovi derivati umjerene do slabe topljivosti.

Predviđa se da će svi spojevi iz serije prijeći intestinalnu barijeru. Marinoaziridini A i B pokazuju dobru CaCo-2 permeabilnost, kao i njihovi prekursori marinoepoksidi (*rac-11–16*) te kinolin-2(1*H*)-onski derivati (*rac-76,77*). Predviđeno je da derivati marinoaziridina (*rac-44–63*) neće prijeći CaCo-2 monosloj stanica. Procijenjene su negativne vrijednosti log*K_p* za sve ispitivane spojeve koje ukazuju na nisku permeabilnost kroz kožu. Rezultati dobiveni za inhibiciju P-glikoproteina su jednoznačni u negiranju inhibicije. Procijenjeno je da su marinoaziridini A i B, marinoepoksidi (*rac-11,13*; *rac-14–16*) i marinociklopropani (*rac-77*) supstrati za P-glikoprotein.

4.1.2.3. Distribucija

Distribucija lijeka u organizmu je korak koji slijedi nakon apsorpcije. Raspodjela lijekova unutar i između različitih tkiva ovisi o svojstvima staničnih membrana, ali i o fizikalno-kemijskim svojstvima molekule lijeka. Ovisno o strukturi i prirodi molekule lijeka, lijek se može vezati na protein plazme koji ima ulogu da prenese lijek u krvotok, ali također može otežati prelazak u ciljano tkivo zbog visokog afiniteta vezanja na protein.¹⁷⁵

Primjenom programa SwissADME-a i admetSAR-a procijenjeni su sljedeći parametri koji opisuju distribuciju lijeka:

- ***Vezanje za protein plazme (PBB)*** – udio lijeka koji se veže za protein plazme
- ***Prolazak kroz krvno-moždane barijere (BBB, logBBB)*** – mjera prolaska lijeka kroz krvno-moždanu barijeru

Na temelju predviđanja dobiveno je da svi ispitivani spojevi pokazuju visoku vjerojatnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru.

4.1.2.4. Metabolizam lijeka

Metabolizam lijeka opisuje eliminaciju, odnosno izlučivanje lijeka iz organizma. Postoje oni lipofilni koji se lakše eliminiraju prevedeni u polarne konjugate, no postoje i oni čiji su metaboliti aktivniji od polaznog lijeka. Upravo to svojstvo iskorišteno je za dizajniranje

prolijekova. Metabolizam lijekova se u najvećoj mjeri odvija u jetri gdje mogu biti metabolizirani različitim kemijskim procesima poput oksidacije, redukcije, konjugacije ili hidrolize. Aktivnost metaboličkih enzima je različit kod svakog pojedinca te stoga svaka osoba različitom brzinom i u različitoj mjeri metabolizira lijekove. Najvažnija skupina enzima jetre je mikrosomalna obitelj izoenzima citokroma P450 (CYP 450). Lijekovi se najčešće metaboliziraju enzimom CYP 450. Lijekovi mogu biti inhibitori i induktori enzima. Najčešće ispitivani izoenzimi su CYP 450 su CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1.¹⁷⁶

Primjenom programa admetSAR-a procijenjeni su sljedeći parametri koji opisuju metabolizam lijeka:

- *Inhibicija citokrom P450 enzima / supstrat za citokrom P450 – vrijednost koja procjenjuje jesu li molekule inhibitori ili supstrati jetrenih CYP enzima. Opisani parametar ključan je za predviđanje metabolizma lijeka*

Rezultati predviđanja metaboličkih parametara za ispitivanu seriju spojeva marinoaziridina A i B, derivata (*rac-44–63*), marinoepoksida (*rac-11–16*) i marinociklopropana (*rac-76,77*), prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Pregled vrijednosti metaboličkih parametara određenih primjenom internetskog poslužitelja admetSAR-a i swissADMET-a za marinoaziridine A i B, derivate, marinoepokside i marinociklopropane.

Spoj	I CYP3A4	I CYP2C9	I CYP2C19	I CYP2D6	I CYP1A2	S CYP2D6	S CYP2C9	S CYP3A4
Ma-A	+	-	-	-	+	-	-	+
Ma-B	-	+	-	-	+	-	-	+
<i>rac-44</i>	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rac-45</i>	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rac-46</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>rac-47</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>rac-48</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>rac-49</i>	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>rac-50</i>	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>rac-51</i>	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>rac-52</i>	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rac-53</i>	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-54</i>	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-55</i>	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-56</i>	+	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-57</i>	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-58</i>	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-59</i>	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>rac-60</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>rac-61</i>	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>rac-62</i>	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>rac-63</i>	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>rac-11</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>rac-12</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>rac-13</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>rac-14</i>	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>rac-15</i>	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>rac-16</i>	-	-	+	+	-	-	-	+
<i>rac-76</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>rac-77</i>	+	-	+	+	-	-	-	+

4.1.2.5. Eliminacija lijeka

Eliminacija lijeka opisuje izlučivanje lijeka iz organizma. Najčešći način eliminacije lijeka uključuje izlučivanje putem jetre ili bubrega. Jedan od ključnih uvjeta za izlučivanje bubrezima nužna je polarnost kemijskih spojeva i njihova dobra topljivosti u vodi. Suprotno tomu,

liposolubilni lijekovi često se nakon sekundarne konjugacije u jetri izlučuju u žuč i tanko crijevo. Također, lijekovi se mogu izlučiti i putem pluća, kože, znoja, kose itd.

Za predviđanje načina eliminacije lijeka iz organizma korišten je pkCSM kojim je određen ukupni klirens CI_{ukup} , parameter koji opisuje izlučivanje lijeka putem bubrega. Iz dobivenih rezultata utvrđeno je da će se svi spojevi kao i njihovi polarni metaboliti izlučivati bubrezima putem urina.

4.1.2.6. Toksičnost

Primjenom računalnog programa ADMET Predictor-a i admetSAR-a predviđeni su sljedeći parametri koji opisuju toksičnosti:

- **Toksičnost za ribe (Fish Toxicity)** – parametar koji opisuje toksičnost u riba
- **Akutna toksičnost (Rat-Acute) ($mg\ kg^{-1}$)** – parameter koji opisuje akutnu toksičnost u štakora, predviđena vrijednost doze LD50 za letalnu akutnu toksičnost u 50 % testiranih štakora bilo kojim mehanizmom (kontinuirani model), $Rat_Acute < [200, 320]$
- **AMES toksičnost** – parametar koji se koristi za procjenu mutagenosti i genotoksičnosti kemijskih spojeva
- **hERG** – parametar koji procjenjuje rizik od aritmije i srčanog udara
- **Hepatoksičnost** – parametar koji procjenjuje štetnost lijeka i njegovih metabolita za jetru
- **Carc.** – (engl. Carcinogenicity)
- **TPT** – (engl. Tetrahymena Pyriformis Toxicity)
- **HBT** – (engl. Honey Bee Toxicity)
- **AOT** – (engl. Acute Oral Toxicity)

Tablica 4. Pregled vrijednosti parametara koji određuju toksičnost određenih primjenom računalnog programa ADMET Predictor-a te internetskog poslužitelja admetSAR-a za marinoaziridine A i B, derivate, marinoepoksidge i marinociklopropane.

Spoj	Fish T. PIC50 (mg/L)	Rat A. T. LD50 (mol/kg)	AMES	Carc.	Fish T.	TPT	HBT	AOT
Ma-A	1,1586	2,6561	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
Ma-B	1,6308	2,6672	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-44</i>	2,1023	2,2635	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-45</i>	1,8539	2,3246	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-46</i>	1,8660	2,4492	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-47</i>	1,8660	2,4492	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-48</i>	1,9072	2,4283	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-49</i>	1,9072	2,4283	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-50</i>	1,9072	2,4283	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-51</i>	1,9072	2,4283	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-52</i>	1,9666	2,3557	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-53</i>	1,7456	2,4077	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-54</i>	1,7657	2,5018	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-55</i>	1,7657	2,5018	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-56</i>	1,7657	2,5018	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-57</i>	1,7657	2,5018	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-58</i>	1,7657	2,5018	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-59</i>	1,7657	2,5018	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-60</i>	1,9261	2,3173	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-61</i>	1,7160	2,3583	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-62</i>	1,7360	2,4604	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-63</i>	1,7360	2,4604	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-11</i>	1,2361	2,5369	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-12</i>	0,8763	2,5764	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-13</i>	0,9207	2,6425	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-14</i>	1,6991	2,5805	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-15</i>	1,3890	2,5991	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-16</i>	1,2507	2,5945	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-76</i>	1,0112	2,3377	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III
<i>rac-77</i>	1,0527	2,4254	-	-	Visoka	Visoka	Niska	III

4.1.2.7. Predviđanje bioloških meta primjenom internetskog poslužitelja SwissTargetPrediction-a

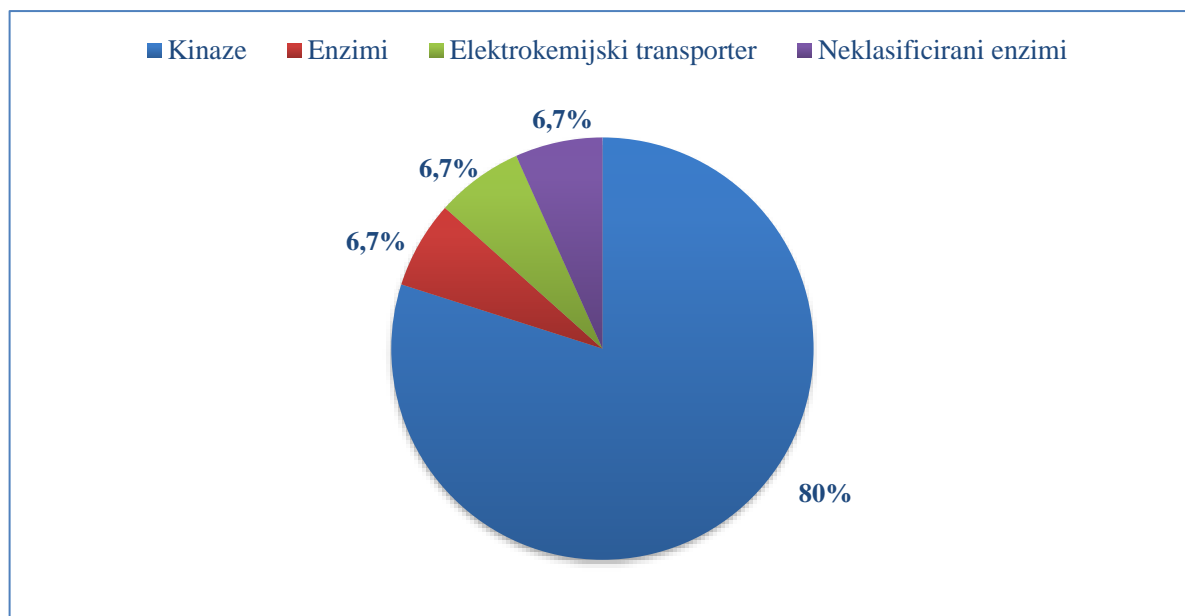
Računalna predviđanja bioloških meta na temelju sličnosti s poznatim ligandima može suziti broj potencijalnih meta i racionalizirati nuspojave poznatih molekula. Korištenjem referentnog seta od 224 412 aktivne molekule na 1 700 ljudskih proteina, omogućava se precizno predviđanje na temelju različitih kombinacija kemijske sličnosti.¹⁷⁷ Primjenom internetskog poslužitelja SwissTargetPrediction-a predviđene su brojne biološke mete koje pripadaju različitim klasama:

- *transkripcijski faktor (TF)*
- *membranski receptor (MR)*
- *transporter (T)*
- *enzim, ostali (E)*
- *neklasificirana meta (N)*
- *serin proteaza (SP)*
- *metaloproteaza (MP)*
- *tkivni antigen (TA)*
- *CYP 450*
- *serin-treonin kinaza (STK)*
- *citosolna, druga meta (CD)*
- *izlučiva meta (I)*
- *serin-treonin-tirozinska fosfataza (STTP)*
- *tirozin fosfataza (TP)*
- *serin-treonin-tirozinska kinaza (STTK)*

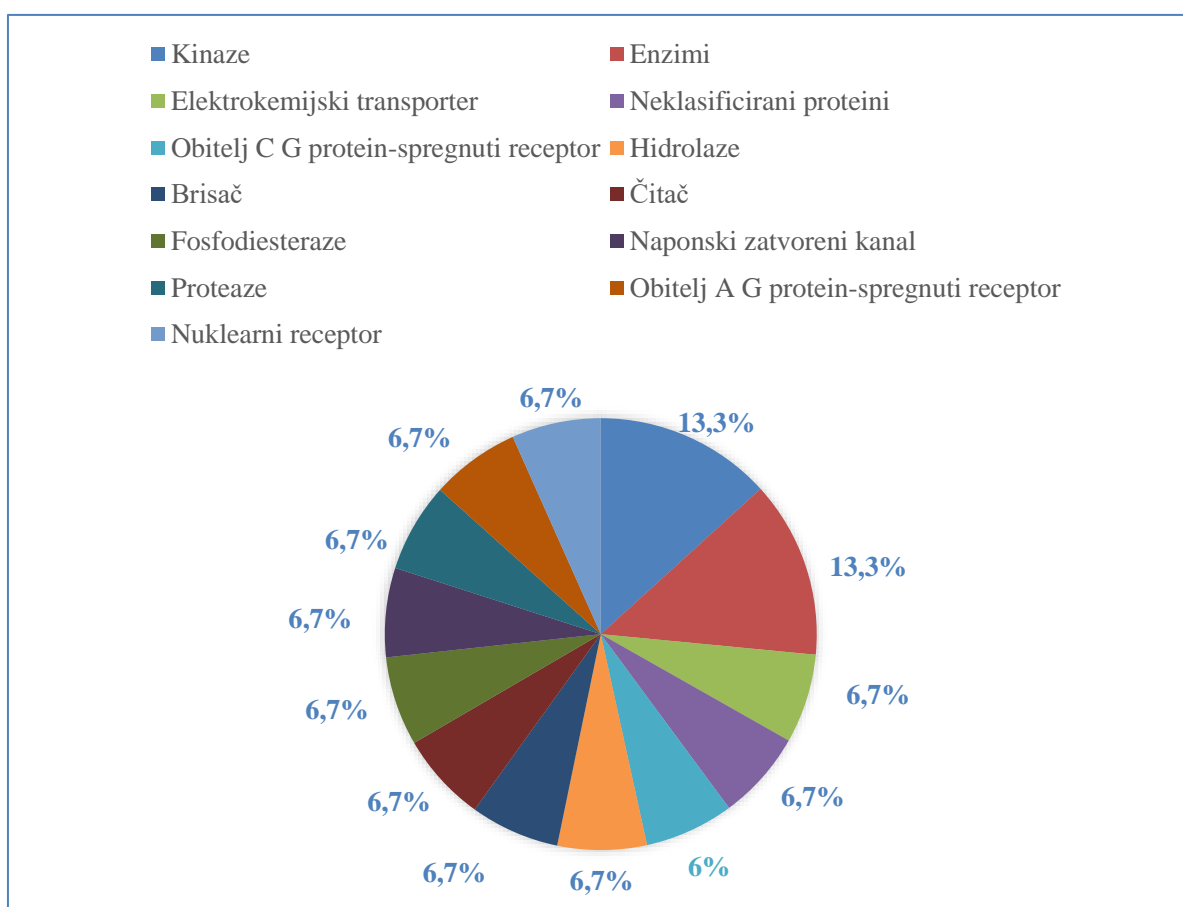
Provedena je analiza predviđenih vjerojatnost bioloških meta (%) u skupini različitih klasa za ispitivane marinoaziridine A i B (Slika 21a, 21b). Kinaze su predviđene kao glavne biološke mete marinoaziridina A (80 %) i marinoaziridina B (13,3 %). Dobiveni rezultati predviđanja bioloških meta usmjerit će biološka ispitivanja sintetiziranih spojeva na testiranje antiproliferativne aktivnosti *in vitro* uvjetima.

a)

a)



b)



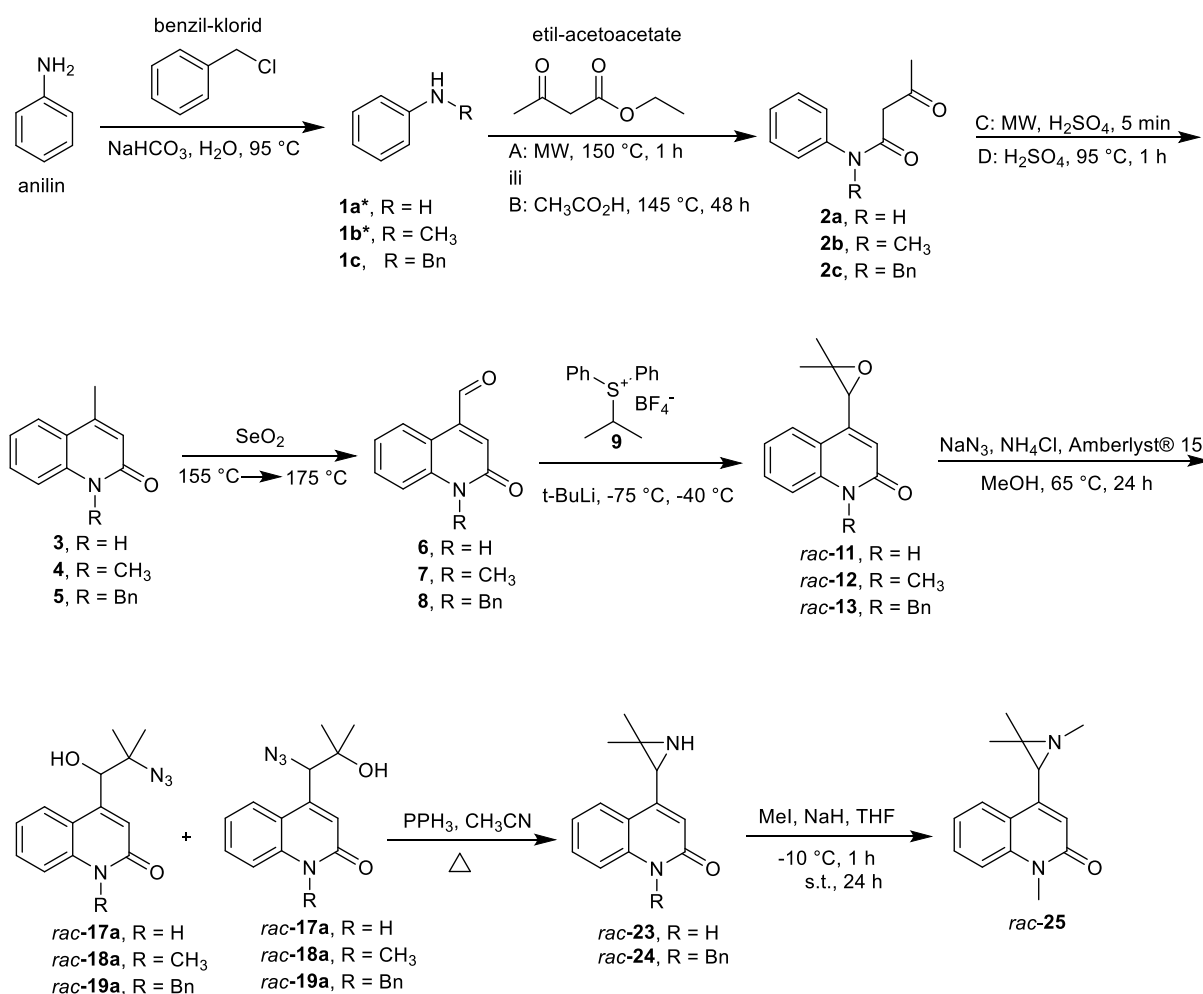
Slika 21. Predviđene vjerojatnosti bioloških meta za: a) marinoaziridin A, b) marinoaziridin B.

4.2. Totalna sinteza marinoaziridina A i B te njihovih derivata

4.2.1. Uvod u totalnu sintezu marinoaziridina A i B

Marinoaziridini A i B su kiralni alkaloidi izolirani iz Gram negativnih bakterija morskog sedimenta.⁶ U svojoj strukturi sadrže zanimljive strukturne elemente aziridinski i kinolin-2(1*H*)-onski prsten. U strukturi marinoaziridina A i B postoji jedno kiralno središte nepoznate apsolutne konfiguracije. Potreba za totalnom sintezom opisanih alkaloida proizašla je iz zanimljivih strukturnih motiva, aziridinskog i kinolin-2(1*H*)-onskog prstena, potencijalne biološke aktivnosti i nepoznate apsolutne konfiguracije.

U Laboratoriju za kiralne tehnologije, u sklopu projekta *Bioprospecting Jadranskog mora*, provedena je retrosintetska analiza marinoaziridina A i B, te je predloženo nekoliko sintetskih protokola među kojima se najuspješnijim pokazao sintetski put prikazan na shemi 53.

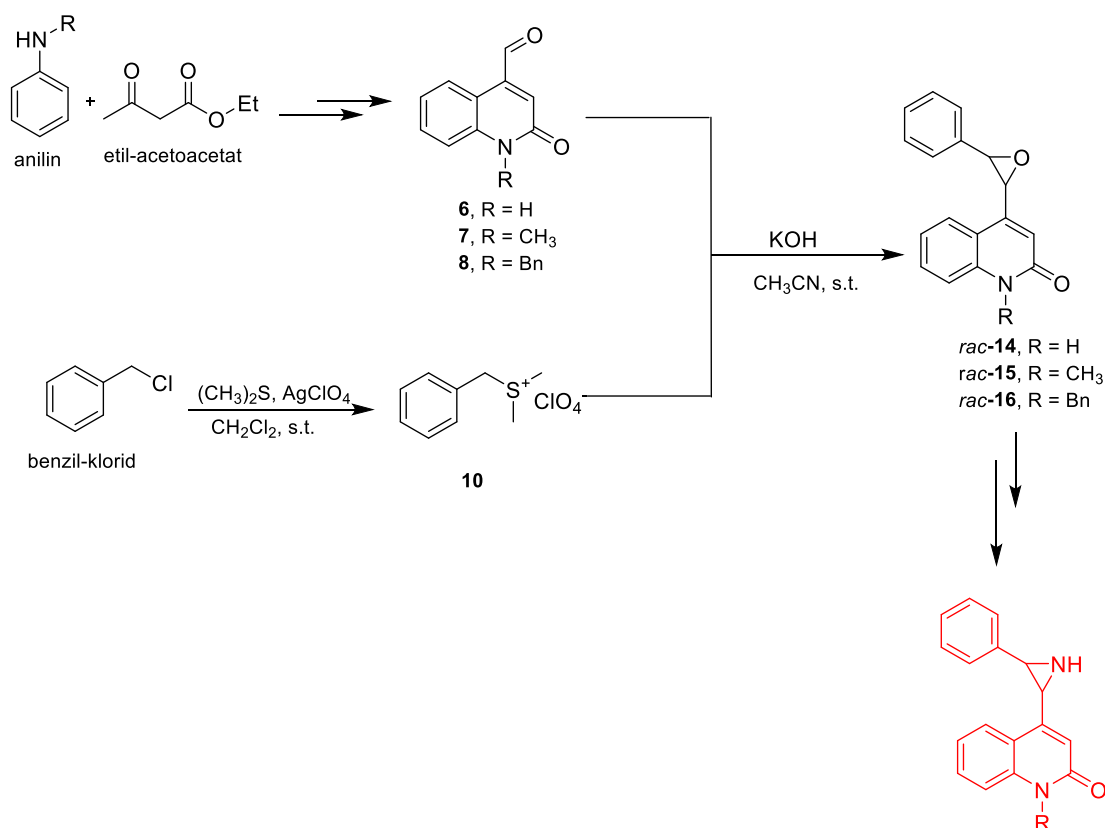


Shema 53. Totalna sinteza marinoaziridina B i metiliranog derivata marinoaziridina A.

Kinolin-2(1*H*)-onski prsten ciljnih molekula posjeduje polarnu internu amidnu vezu, koja doprinosi slaboj topljivosti kinolin-2(1*H*)-onskih derivata u nepolarnim organskim otapalima u kojima se provode kemijske transformacije. Uvođenjem „zaštitnih“ skupina, metilne i benzilne skupine na dušikov atom amidne veze, dobivaju se strukturno izmijenjene molekule, koje pokazuju puno bolju topljivost u većini organskih otapala. Takve izmijenjene molekule korištene su kao modelni spojevi u našim sintetskim studijama.

Polazni spojevi, kinolin-2(1*H*)-oni **3–5**, pripremljeni su u dva sintetska koraka iz komercijalno dostupnih derivata anilina i etil-acetoacetata reakcijom poznatom kao Knorrova sinteza primjenom metoda konvencionalne sinteze i mikrovalno potpomognutog zračenja. U sljedećem sintetskom koraku, pripremljeni spojevi (**3–5**) korišteni su u Rileyjevoj reakciji za pripremu odgovarajućih kinolin-2(1*H*)-onskih aldehida (**6–8**). Nakon uspješno pripremljenih aldehydnih fragmenata, bilo je potrebno pripremiti i drugi fragment, akiralnu sulfonijevu sol (**9**). U reakciji između aldehida (**6–8**) i akiralne sulfonijeve soli (**9**), reakcijom poznatom kao Johnson Corey Chaykovsky, pripremljeni su trisupstituirani epoksidi nazvani marinoepoksidi (*rac*-**11–13**). U nastavku istraživanja, epoksidne strukture (*rac*-**11–13**) podliježu reakciji azidolize, pri čemu nastaju smjese izomera zanimljivih struktura s azidnom funkcionalnom skupinom u β položaju prema kisiku (*rac*-**17–19**). Tako dobiveni azidoalkoholi pokazuju različitu reaktivnost u sljedećem sintetskom koraku. S obzirom na navedeno, provedena je studija u kojoj su se ispitivale različite kombinacije reakcijskih uvjeta (reagens, baza, *t*, otapalo) s ciljem postizanja visoke regioselektivnosti pri otvaranju epoksidnog prstena. U zadnjem sintetskom koraku, pripremljeni tercijarni azidoalkoholi (*rac*-**17a,19a**) prevedeni su u konačne aziridine (*rac*-**23,24**) u prisustvu trifenilfosfina uz zagrijavanje reakcijske smjese. Sekundarne azidoalkohole (*rac*-**17b–19b**) bilo je potrebno aktivirati prevođenjem u mesilatnu funkcijsku skupinu. Iz marinoaziridina B (*rac*-**23**) pripremljen je metilirani derivat marinoaziridina A (*rac*-**25**).

Uz ključne sintonske molekule (*rac*-**11–13**) marinoaziridina A i B, također smo sintetizirali i drugu skupinu njihovih strukturnih analoga *rac*-**14–16-trans** (glavni dijastereoizmer) (Shema 54), budući da su naši preliminarni *in silico* rezultati ukazali na zanimljiva bioaktivna svojstva ove nove klase organskih epoksida kao i njihovih aziridinskih ekvivalenata. Zbog zahtjevnosti cijelog sintetskog postupka i opsega istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji, 2,3-disupstituirani aziridini nisu sintetizirani.

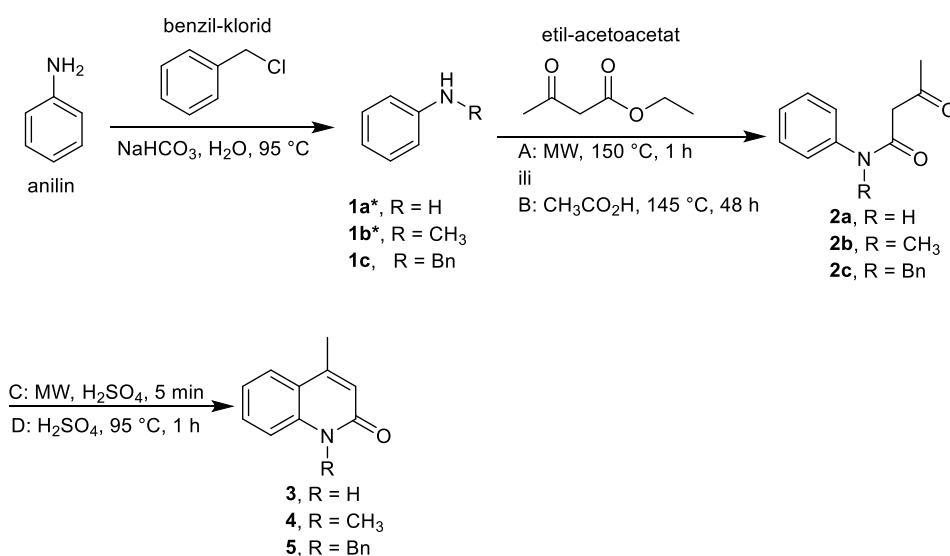


Shema 54. Sinteza 2,3-disupstituiranih marinoepoksida (*rac*-14–16) kao prekursora u sintezi 2,3-disupstituiranih aziridina.

4.2.1.1. Priprava Knorrovih produkata (3-5)

Kemijskom sintezom ciljne molekule iz relativno jednostavnih i jeftinih polaznih kemikalija, dostupnih u laboratoriju, priređuju se potrebni polazni materijali, koji se kasnije kemijskim transformacijama prevode u konačne produkte.

Sintetski put prikazan na shemi 55 opisuje u prvom koraku pripravu *N*-benzilanilina (**1c**) iz komercijalno dostupnog anilina i benzil-klorida u vodi u prisustvu baze natrijevog hidrogen karbonata u iskorištenju reakcije od 86 %. Komercijalno dostupne kemikalije (**1a,b**) i pripremljeni *N*-benzilanilin (**1c**) podvrgnuti su Knorrovoj sintezi, koja uključuje dvo-stupanjski proces: nukleofilni napad amina na estersku funkcijsku skupinu, koji je termodinamički povoljniji i nastaje kada se reakcija provodi pri 180 °C, dok drugi stupanj Knorrove sinteze uključuje ciklizaciju *N*-zaštićenih acetoacetanilida (**2a–c**) uz korištenje jako kiselih reakcijskih uvjeta (70 %-tne sumporne kiseline).¹⁷⁸



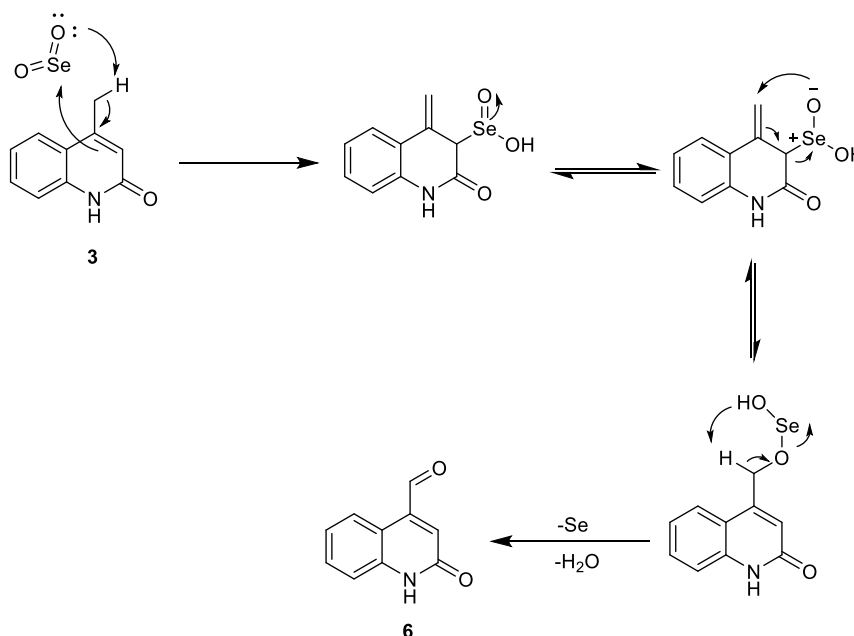
Shema 55. Sintetski put pripreve Knorrovih produkata (3-5).

Kinolin-2(1*H*)-onski produkti (**3,5**) pripravljeni su na temelju gore navedene sekvence uz nizak prinos (7–9 %) unutar dugog reakcijskog vremena (> 24 h) uz neželjene produkte. U nastojanju da se poveća prinos i čistoća produkta, ali i da se reducira vrijeme reakcije, sinteza je provedena u mikrovalnom reaktoru. U odnosu na konvencionalnu sintezu, mikrovalna sinteza značajno skraćuje vrijeme trajanja kemijske reakcije (s nekoliko dana na nekoliko sati), smanjuje broj nusprodukata, pruža bolja iskorištenja te veću čistoću izoliranih produkata.¹⁷⁹ Do zagrijavanja reakcijske smjese tijekom mikrovalne sinteze dolazi zbog direktne interakcije molekula otapala, reagensa ili katalizatora, koji su prisutni u reakcijskom mediju, s MW zračenjem. U našem slučaju provedena je mikrovalna sinteza bez otapala, u suvišku reagensa etil-acetoacetata, koji je omogućio elegantno zagrijavanje reakcijske smjese. Reakcijska smjesa miješala se samo 1 h, pri 150°C , a tijekom reakcije praćen je HPLC metodom. Po završetku reakcije, suvišak etil-acetotaceta uparen je pod visokim vakuumom ($p = 0,01 \text{ mmHg}$, $t = 45\text{--}50^\circ\text{C}$), a nastali produkti **2a,c** ciklizirani su u sljedećem stupnju reakcije. Korištenjem 70 %-tne sumporne kiseline postiže se dovoljno kisela sredina potrebna za potpunu konverziju spoja **2a,c** u reakciji aromatske elektrofilne supstitucije uz eliminaciju vode. Konverzija spoja **2a,c** u Knorrove produkte određena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (65–70 %), a samim time i kraj reakcije. Reakcija je zaustavljena nakon 30 min dodatkom 6 mol L^{-1} otopine NaOH . Sirovi produkt pročišćen je na stupcu silikagela, te su dobiveni Knorrovi produkti **3** (40 %) i **5** (49 %) čije su strukture potvrđene ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

Knorrov produkt **4** sintetiziran je prema publiciranom postupku¹⁸⁰ iz *N*-metilanilina i suviška etil-acetoacetata, uz octenu kiselinu kao katalizator primjenom konvencionalne metode. Reakcija se izvodi tijekom 48 h pri 145 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Po završetku reakcije, suvišak etil-acetotaceta je uparen pod visokim vakuumom ($p = 0,01$ mmHg, $t = 45-50$ °C), a nastali produkt *N*-metil-*N*-fenilacetoacetanilid **1b** cikliziran je u sljedećem stupnju reakcije korištenjem jako kiselih reakcijskih uvjeta, koncentrirane sumporne kiseline. Nakon obrade reakcijske smjese i čišćenja spoja kromatografijom na stupcu silikagela izoliran je Knorrov produkt **4** uz prinos 27 %. Struktura spoja **4** potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom

4.1.2.2. Priprava kinolin-2(1H)-on-karbalhida (**6-8**)

U sljedećem sintetskom koraku provedena je selektivna oksidacija aktivirajuće metilne skupine spojeva **3-5** uz korištenje selenijevog dioksida pri 175 °C bez upotrebe otapala ili uz otapalo pri visokoj temperaturi (155-175 °C). Opisana reakcija literaturno je poznata pod nazivom Rileyeva oksidacija, a mehanizam nastanka spoja **6** prikazan je na shemi 56.¹⁸¹



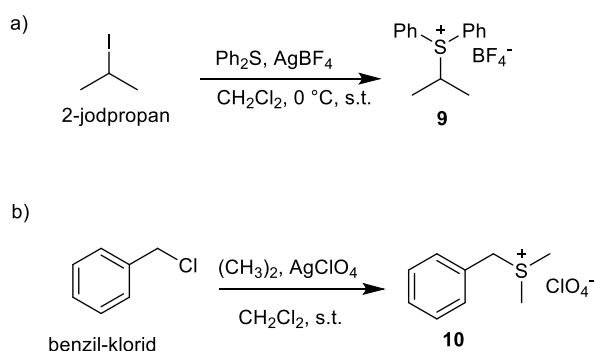
Shema 56. Mehanizam Rileyeve oksidacije prikazan na primjeru spoja **3**.

Reakcija započinje nukleofilnim napadom dvostruke veze na elektrofilni selenijev centar, točnije Alderenovom [4+2] cikloadicijom. Stvaranjem nove σ -veze dolazi do [1,5] sigmatropnog pomaka alilnog vodika čime nastaje alilna selenska kiselina. U sljedećem koraku reakcije dolazi do [2,3] sigmatropne pregradnje, čemu slijede eliminacija vode i selena te nastanak konačnog produkta **6**.¹⁸¹

Priprava spoja **6** provedena je uz upotrebu otapala i u prisustvu molekularnih sita 5 Å uz refluksiranje tijekom 24 h. Nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela i prekrizalizacijom iz metanola, izoliran je aldehid **6** uz dobar prinos od 55 %. Reakcija priprave aldehida **7,8** provedena je bez upotrebe otapala (engl. *solvent free reaction*) u zatvorenoj ampuli. Literaturno je poznato da se najbolji rezultati selektivne oksidacije postižu dodavanjem selenijevog dioksida u reakcijsku smjesu u temperaturnom rasponu 145–175 °C.^{181,182} Spoj **7** pripremljen je u iskorištenju od 63 %, dok je spoj **8** dobiven uz visok prinos od 96 %. Lošija konverzija spoja **4** u odnosu na spoj **5** zapravo i ne čudi s obzirom na njegovu strukturnu prirodu. Naime, amidna veza u kinolin-2(1*H*)-onskom prstenu "zaštićena" je metilnom skupinom koja je također sklona oksidaciji što može smanjiti mogućnost oksidacije ciljane metilne skupine.

4.2.1.2. Priprava akiralnih sulfonijevih soli (**9,10**)

Akiralne sulfonijske soli **9,10** pripravljene su reakcijom nukleofilne supstitucije, iz komercijalno dostupnih reagensa, 2-jodpropana (Shema 57a) i benzil-klorida (Shema 57b), u prisustvu difenil-sulfida, odnosno dimetil-sulfida i srebrnog promotora. Jednostavnom obradom reakcijske smjese, trituiranjem s dietil-eterom, dobivene su soli **9** (50 %) i **10** (79 %) u obliku bijelog kristalnog produkta.



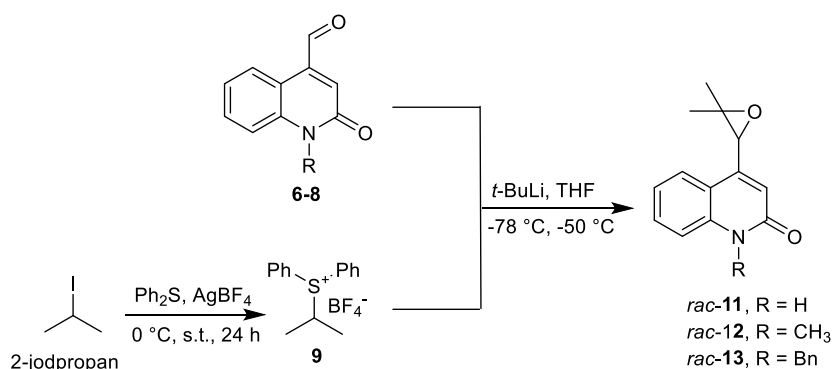
Shema 57. Reakcija priprave akiralnih sulfonijevih soli **9,10**.

4.2.1.4. Priprava marinoepoksida (*rac-11–16*)

Johnson Corey Chaykovsky reakcija jedna je od najpoznatijih sintetskih metoda za pripravu epoksida iz karbonilnih spojeva i sumporovih ilida. Nastanak nove C–C veze tj. formiranje tročlanog heterocikličkog prstena opisano je reakcijom između sumpornog ilida i karbonilnog spoja, točnije aldehida. Generiranje sumpornog ilida provodi se *in situ* korištenjem jake baze koja cijepanjem protona na ugljiku u α položaju od sumpora, čini sumpor formalno pozitivno nabijenim, a ugljik odličnim nukleofilom, spremnim za napad na karbonilni ugljikov atom.^{183,184} U ovom doktorskom radu, korištenjem Johnson Corey Chaykovsky reakcije, sintetizirani su trisupstituirani marinoepoksidi (*rac-11–13*) i disupstituirani marinoepoksidi (*rac-14–16*).

4.2.1.4.1. Priprava trisupstituiranih marinoepoksida (*rac-11–13*)

Trisupstituirani marinoepoksidi (*rac-11–13*) pripremljeni su Johnson Corey Chaykovsky reakcijom iz akiralnog izopropil(trifenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9** i odgovarajućih aldehida **6–8** u prisustvu *tert*-butil-litija u tetrahidrofuranu (Shema 58).



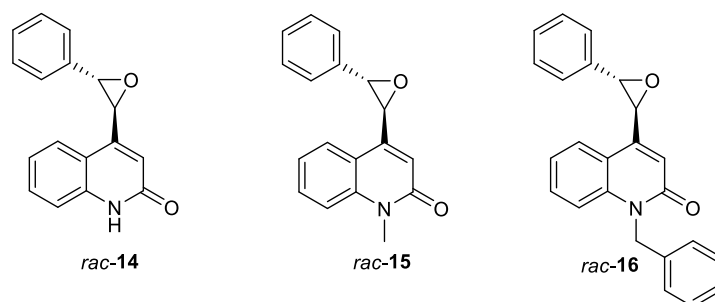
Shema 58. Sintetski put priprave trisupstituiranih marinoepoksida *rac-11–13*.

Reakcije priprave ilida pomoću *tert*-butil-litija provedene su u inertnoj atmosferi u struji argona pri $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Zbog visoke reaktivnosti ove baze, izopropil(difenil)sulfonijev tetrafluorborat **9** suspendiran je u bezvodnom tetrahidrofuranu pod atmosferom argona, a u ohlađenu suspenziju ($-78\text{ }^\circ\text{C}$) dokapavana je baza *tert*-butil-litij. Tijekom provođenja ove reakcije iznimno je važno da temperatura reakcijske smjese bude između $-78\text{ }^\circ\text{C}$ i $-50\text{ }^\circ\text{C}$ kako ne bi došlo do raspada

ilida. Dakle, sulfonijev ilid **9'** generiran iz izopropil(difenil)sulfonijevog tetrafluorborata **9**, zahtjeva ekstremnije uvjete za uspješno provođenje reakcije epoksidacije. Reakcijske smjese miješane su 4 h pri $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tijek reakcija praćen je tankoslojnom tekućinskom kromatografijom u sastavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom. Reakcije su zaustavljene dodatkom vode. Ekstrakcijom u nekoliko vrsta otapala te kromatografijom na stupcu silikagela, izolirani su spojevi *rac*-**11–13** s prinosima od 14,6 %, 35 % i 86 %. Strukture i čistoće izoliranih spojeva *rac*-**11–13** potvrđene su NMR spektroskopijom.

4.2.1.4.2. Priprava disupstituiranih marinoepoksida (*rac*-**14–16**)

Disupstituirani marinoepoksidi *rac*-**14–16** (Slika 22) pripremljeni su kao *cis* i *trans* dijastereoizomeri reakcijom između benzil(dimetil)sulfonijevog perklorata **10** i odgovarajućih aldehida **6–8** u prisustvu baze koja ima ulogu da generira *in situ* benzil(dimetil)sulfonijev ilid **10'**. Nuleofilnim napadom sulfonijevog ilida **10'** na karbonilni ugljikov atom odgovarajućih aldehida **6–8**, dovodi do nastanka kinolin-2(1*H*)-onskih marinoepoksida *rac*-**14–16** (Shema 54).



Slika 22. Strukture sintetiziranih marinoepoksida *rac*-**14–16-trans** (glavni dijastereoizomeri).

Uvjeti provođenja reakcije (otapalo, temperatura, vrijeme) ovisili su o izboru baze pa je prema tome provedeno nekoliko različitih sintetskih metoda pripreme disupstituiranog marinoepoksida *rac*-**15**. Marinoepoksid *rac*-**15** pripremljen je prema općenitim postupcima 4 i 5 opisanim u poglavlju 3.1.2.4.8., a glavna varijabla koja se mijenjala bila je baza. Zbog različite reaktivnosti korištenih baza i njihove kompatibilnosti s različitim otapalima, također je mijenjana i temperatura i otapalo za provođenje reakcije. Prva provedena reakcija epoksidacije započela je

generiranjem sumpornog ilida **10'** pomoću fosfazenske baze pri $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ u tetrahidrofuranu. Baza je dokapavana u otopinu sulfonijeve soli **10**, pri čemu dolazi do promjene boje reakcijske smjese, što je bio glavni pokazatelj za nastanak sumporovog ilida **10'**. Aldehid **7** dodan je u reakcijsku smjesu s malim vremenskim odmakom te je reakcija miješana 4 h pri $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, a nastanak produkta utvrđen je TLC-om i HPLC-om. Reakcija epoksidacije u kojoj je korišten kalijev hidroksid provedena je pri sobnoj temperaturi u bezvodnom acetonitrilu. Kalijev hidroksid omogućio je generiranje sumporovog ilida **10'** kao i fosfazenska baza te također uzrokovao promjenu reakcijske smjese, što je na značilo nastanak ilida. Nakon dodatka otopine aldehida **7**, reakcija je ostavljena da se miješa 24 h kako bi se osigurao pozitivan ishod i nastanak željenog marinoepoksida *rac*-**15**. TLC-om je utvrđen nastanak produkta, a reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Reakcijska smjesa obrađena je prema općenitom postupku 4 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.8.. Najbolji prinos postignut je korištenjem fosfazenske baze pri $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te je iznosio 79 %. U reakciji s kalijevim hidroksidom postignut je neočekivano visok prinos od 75 %. Proces provođenja epoksidacije s fosfazenskom bazom puno je složeniji jer zahtjeva niske temperature tijekom izvođenja reakcije. Usporedivši nabavnu cijenu navedenih baza te neznatnu razliku u iskorištenju, reakcije pripreve preostalih epoksida *rac*-**14,16** provedene su korištenjem kalijevog hidroksida u acetonitrilu. Marinoepoksidi *rac*-**14,16** priređeni su iz aldehida **6,8** i sulfonijeve soli **10** prema općenitom postupku 4 opisanom u poglavlju 3.1.2.4.8..

Dijastereoselektivnost reakcija određena je ^1H NMR spektroskopijom te je uočeno da baza, otapalo i temperatura nemaju bitan utjecaj na dijastereoselektivnost epoksidacije (Tablica 5). Marinoepoksidi *rac*-**14–16** pripremljeni su kao smjese *cis* i *trans* izomera, pri čemu je udio *cis* izomera zanemariv.

Tablica 5. Iskorištenja i dijastereoselektivnosti provedenih reakcija pripreve disupstituiranih marinoepoksida *rac*-**14-16**.

spoj	postupak	$\eta/\%$	<i>cis/trans</i>
<i>rac</i> - 14	OP4	79	12/88
<i>rac</i> - 15	OP5	79	10/90
<i>rac</i> - 15	OP4	75	13/87
<i>rac</i> - 16	OP4	80	4/96

*OP4 = općeniti postupak 4; OP5 = općeniti postupak 5

4.2.1.5. Priprava azidoalkohola (*rac-17–22*)

U ovom dijelu istraživanja bilo je potrebno pronaći najbolje reakcijske uvjete za regioselektivno otvaranje epoksidnih struktura (*rac-11–16*). Literaturnim pregledom dostupnih azidnih reagensa, uočena je iznimna moć natrijevog azida, pa je prema tome upravo on odabran kao prvi reagens za provođenje reakcija azidolize.^{185,186} U obzir je uzeta komercijalna dostupnost reagensa, nabavna cijena, zahtjevnost rukovanja te ekološka prihvatljivost. Reakcije azidolize provedene su pri povišenim temperaturama u kiselim i jako kiselim reakcijskim uvjetima, a kao otapala odabrani su iznimno polarni sustavi budući da je topljivost sintetiziranih marinoepoksida oslabljena polarnom amidnom vezom. Kao drugi azidni reagens odabran je dietilaluminijev azid, kojeg je bilo potrebno generirati prije provođenja same reakcije azidolize.¹⁸⁷

4.2.1.5.1. Priprava trisupstituiranih azidoalkohola (*rac-17–19*)

Regioselektivno otvaranje trisupstituiranih marinoepoksida (*rac-11–13*) predstavljalo je jedan od većih izazova u pripravi marinoaziridina i njihovih derivata. Literaturno je poznato da je reaktivnost višesupstituiranih epoksida smanjena u odnosu na epokside manjih molekulskih masa, pa ih je samim time teže otvoriti.¹⁸⁸ Drugi važan izazov bio je postići visoku regioselektivnost pri otvaranju epoksidnog prstena. Glavni cilj bio je pripremiti tercijarne azidoalkohole koji se direktno mogu prevesti u konačne marinoaziridine. Varijacije otapala, reagensa i kiselih katalizatora prikazane su u tablici 6.

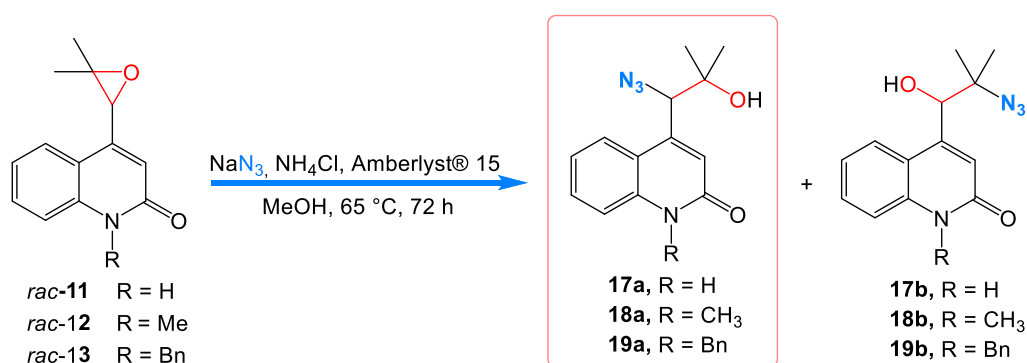
Tablica 6. Prikaz reakcijskih uvjeta i dobivenih rezultata nakon provedenih reakcija azidoliza trisupstituiranih marinoepoksida *rac-11–13*.

Br. r.	Ep.	Azidni reagens	L. K.	Katalizator	Otapalo	T/°C	t/h	η/%	a/b ^b
A1	11	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	MeOH	65	72	63	80/20
A2	12	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH	65	72	80	40/60
A3	12	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH/H ₂ O	65	72	77	42/58
A4	12	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst®	MeOH/H ₂ O	80	72	50	52/48
A5 ^a	12	NaN ₃	SiO ₂	/	/	85	72	23	84/16
A6	12	NaN ₃	NH ₄ Cl	/	H ₂ O	65	72	25	86/14
A7	12	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	MeOH	65	72	60	56/44
A8	12	EtAlN ₃	/	/	toluen	s.t.	24	/	/
A9	13	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	MeOH	65	72	72	54/46

Br. r – broj reakcije, Ep – epoksid, L. K. – Lewisova kiselina ^areakcija provedena mehanokemijski; ^bomjer regioizomera a/b određena je korištenjem NMR spektroskopije.

Dobiveni rezultati ukazuju na to da se trisupstituirani marinoepoksidi *rac*-**11–13** otvaraju u gotovo svim navedenim uvjetima uz dobar prinos i lošu regioselektivnost (Tablica 6). Najbolji prinosi, odnosno najbolje konverzije, postižu se u reakcijama s natrijevim azidom u prisustvu Lewisove kiseline (NH₄Cl) i 18-kruna-6-etera s ulogom katalizatora, a kao otapalo korišten je metanol. Uloga 18-kruna-6-etera jest olakšavanje nukleofilnog napada azidnog iona, na način da privlači atom natrija na sebe. Elegantnije rečeno, atom natrija ulazi u šupljine kruna etera, odnosno ulazi u heterociklički prsten i uz pomoć kisikovih atoma dolazi do koordinacije. Atomi kisika stabiliziraju pozitivan naboj atoma natrija te se smanjuje mogućnost sparivanja azidnog i natrijevog iona. Slobodni azidni ion na taj način ima veću šansu za napad na epoksidni prsten. Zbog loše topljivosti anorganskih soli (Lewisove kiseline i katalizatora) u organskim otapalima, podvrgavanjem reakcijske smjese ultrazvučnoj kupelji tijekom provođenja reakcija bilo je neizbježno. Nadalje, u reakciji provedenoj u vodi (**A6**), dobivena je visoka regiokontrola (**18a/18b**, 86/14), ali uz nizak prinos (25 %). Dok je u reakcijama provedenim u sustavu otapala metanol/voda, 1/1 (**A3**, **A4**), postignuta lošija regio-kontrola uz dobro iskorištenje. Uočeno je da u reakcijama u kojima sudjeluje katalizator 18-kruna-6-eter dolazi do obrnute regioselektivnosti, odnosno sekundarni azidoalkoholi neznatno prevladavaju u smjesi dvaju regioizomera (**A2**, **A3**). Sukladno tome odbačeni su navedeni reakcijski uvjeti. Reakcija provedena u jako kiselom mediju pokazala se definitivno najboljom sintetskom metodom za otvaranje epoksidnog prstena spoja *rac*-**11** (**A1**), pri čemu je u ovom slučaju postignuta najbolja regiokontrola (**17a/17b**, 80/20). Pokušaj otvaranja epoksidnog prstena uz korištenje dietilaluminijevog azida nije pokazao pozitivan ishod. Razlog tome može biti lošija topljivost polaznih epoksida u toluenu. Osim toga, generiranje azidnog reagensa zahtijevalo je ekstremnije uvjete, a reakcija je provedena pri sobnoj temperaturi.

Na temelju 2D NMR spektroskopije utvrđeno je da su glavni izomeri **17a**, **18a**, **19a**, koji nastaju u reakciji pri zadanim reakcijskim uvjetima opisanim na shemi 59. Za nastavak ovog istraživanja to je prihvatljivo jer se radi o tercijarnim azidoalkoholima koji se mogu direktno prevesti u konačne aziridine za razliku od sekundarnih azidoalkohola (**17b**, **18b**, **19b**), koji zahtijevaju prethodnu aktivaciju hidroksilne skupine.



Shema 59. Azidoliza trisupstituiranih marinoepoksida *rac-11–13* u uvjetima najbolje regio-kontrole.

Reakcije azidolize trisupstituiranih marinoepoksida (*rac-11–13*) zahtijevale su duže vrijeme odvijanja što je iznimno nepoželjno. Premda su dobiveni rezultati prihvatljivi u većini slučajeva, ispitivanje regioselektivnog otvaranja pojedinih epoksida valjalo bi ponoviti korištenjem reaktivnijeg i/ili selektivnijeg reagensa u polarnijem sustavu otapala, kao i upotrebom različitih anorganskih soli s ulogom katalizatora

4.2.1.5.2. Priprava disupstituiranih azidoalkohola (*rac-20–22*)

Rezultati otvaranja epoksidnog prstena disupstituiranih marinoepoksida (*rac-14–16*) prikazani su u tablici 7. Dobiveni rezultati ukazuju na to da se disupstituirani epoksidi bez većih problema otvaraju u svim navedenim uvjetima. Najbolji prinosi, i ovdje su postignuti u reakcijama u kojima sudjeluje 18-kruna-6-etera s ulogom katalizatora (**A2**, **A6**, **A10**). Može se primjetiti da se disupstituirani marinoepoksidi otvaraju uz bolju konverziju i regioselektivnost u odnosu na trisupstituirane marinoepoksidi (*rac-11–13*) što je sukladno literaturnim podacima.

Regioselektivnost provedenih reakcija azidoliza, određena je mehanizmom same reakcije te steričkim i induktivnim utjecajem. Otvaranjem epoksidnog prstena dobivena je smjesa regioizomera azidoalkohola s velikim udjelom **a** izomera. Svakako treba istaknuti reakcije provedene u iznimno kiselim uvjetima, u prisustvu Amberlyst® 15, koji nosi ulogu Lewisove kiseline, u kojima se postiže vrlo dobra konverzija (**A9**), kao i regio-kontrola (**A4**, **A5**, **A8**, **A9**, **A12**). Amberlyst® 15 predstavlja heterogeni kiseli katalizator sklon recikliranju pa ga to čini vrlo privlačnim reagensom. Također, otvaranje prstena disupstituiranih marinoepoksida

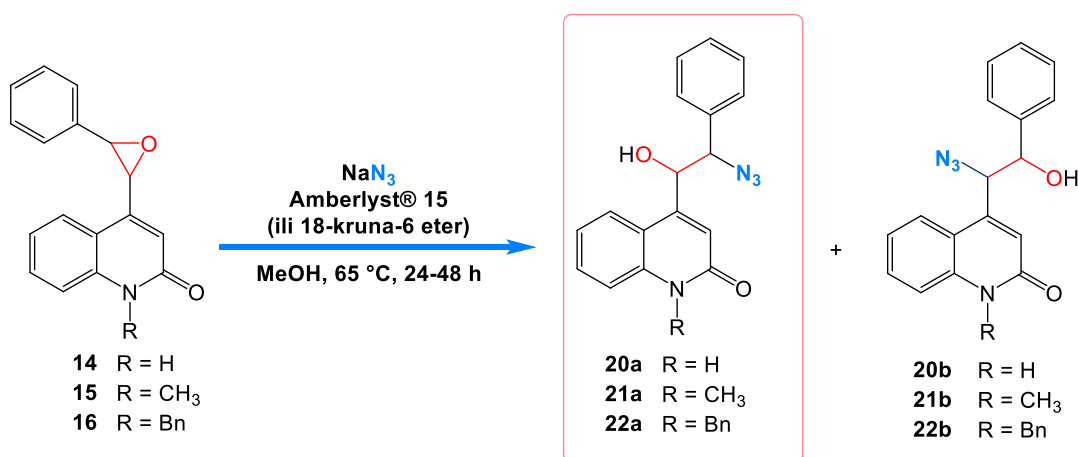
moguće je i u blago kiselim uvjetima neovisno o supstuentu na dušikovom atomu u kinolin-2(1*H*)-onskom prstenu.

Tablica 7. Prikaz reakcijskih uvjeta i dobivenih rezultata nakon provedenih reakcija azidoliza disupstituiranih marinoepoksida (*rac*-**14–16**)

Br. r.	Ep.	Azidni reagens	L. K.	Katalizator	Otapalo	<i>T</i> /°C	<i>t</i> /h	η /%	<i>a/b</i> ^a
A1	14	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	MeOH	65	24	53	90/10
A2	14	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH	65	24	80	75/25
A3	14	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH/H ₂ O	65	24	60	59/41
A4	14	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	H ₂ O	80	24	50	85/15
A5	15	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	MeOH	65	24	69	87/13
A6	15	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH	65	24	88	92/8
A7	15	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH/H ₂ O	65	24	90	54/46
A8	15	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	H ₂ O	80	24	55	83/17
A9	16	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	MeOH	65	24	90	88/12
A10	16	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH	65	24	95	80/20
A11	16	NaN ₃	NH ₄ Cl	18-kruna-6-eter	MeOH/H ₂ O	65	24	79	60/40
A12	16	NaN ₃	NH ₄ Cl	Amberlyst® 15	H ₂ O	80	24	65	86/14

Br. r – broj reakcije, Ep – epoksid, L. K. – Lewisova kiselina, ^bomjer regioizomera **a/b** određena je korištenjem NMR spektroskopije

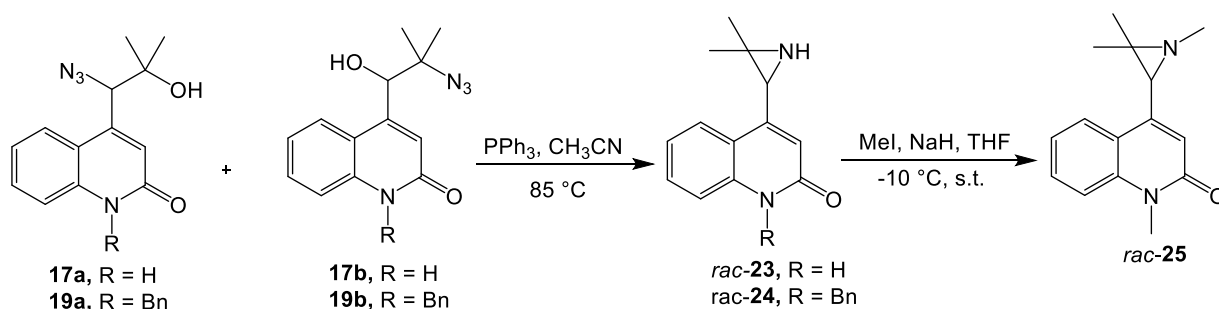
Na temelju 2D NMR spektroskopije utvrđeno je da su glavni izomeri oni koji nastaju u reakciji **20a**, **21a**, **22a** (Shema 60).



Shema 60. Azidoliza disupstituirani marinoepoksida *rac*-**14–16** u uvjetima najbolje regio-kontrole.

4.2.1.6. Priprava marinoaziridina A i B, te njihovih derivata (*rac*-23–25)

U zadnjem sintetskom koraku totalne sinteze marinoaziridina provedena je reakcija u kojoj se tercijarni azidoalkoholi (*rac*-17a,19a) u prisustvu trifenilfosfina preko oksafosfolidinskog međuprodukta termičkom ciklizacijom prevode u konačne aziridine reakcijom poznatom kao Staudingerova reakcija. Ciljna molekula, marinoaziridin B (*rac*-23), pripravljena je iz tercijarnog azidoalkohola *rac*-17a u iskorištenju reakcije od 80 %. Sekundarni azidoalkohol *rac*-17b ostaje neizreagiran u reakcijskoj smjesi. Marinoaziridin *rac*-24 pripremljen je iz azidoalkohola *rac*-19a istom opisanom sintetskom metodologijom u iskorištenju od 91 %. Metilirani marinoaziridin A (*rac*-25) pripremljen je iz marinoaziridina B (*rac*-23) u prisustvu metil-jodida i natrijevog hidrida u iskorištenju od 91 %. Nažalost selektivna metilacija aziridinskog prstena marinoaziridina B (*rac*-23), koja bi dovela do pripreme marinoaziridina A, nije uspješno izvedena. U navedenim reakcijskim uvjetima dolazi prvo do metilacije interne amidne veze zbog veće kiselosti vodikova atoma kinolin-2(1*H*)-ona u odnosu na vodikov atom na dušiku aziridinskog prstena.

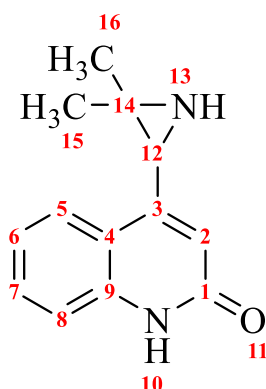


Shema 61. Sintetski put pripreme marinoaziridina *rac*-23–25.

Strukturna karakterizacija nosintetiziranih marinoaziridina provedena je primjenom 1D i 2D NMR spektroskopije i HRMS-a. Marinoaziridinima *rac*-23 i *rac*-25 određena je apsolutna konfiguracija primjenom CD i VCD tehnika. Također, ispitana je i njihova biološka aktivnost.

4.2.1.6.1. Statistička analiza i vizualna usporedba linijskih spektara između eksperimentalnih i računskih vrijednosti ^1H i ^{13}C pomaka za marinoaziridin B (*rac*-**23**)

Novosintetizirani marinoaziridin B (*rac*-**23**, Slika 23) podvrgnut je detaljnoj strukturnoj karakterizaciji primjenom 1D i 2D NMR spektroskopije.



Slika 23. Strukturna formula marinoaziridina B (*rac*-**23**) s pripisanim brojčanim oznakama vodikovih i ugljikovih atoma slučajnim odabirom.

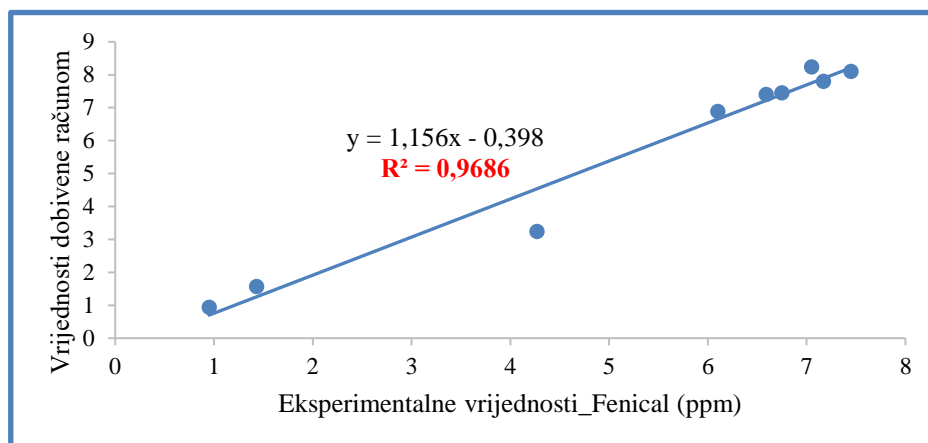
Dobiveni eksperimentalni rezultati uspoređeni su s računalnim vrijednostima i eksperimentalnim vrijednostima biomaterijala iz rada Fenical statističkom analizom (Tablica 8, Tablica 9) i vizualnom usporedbom linijskih spektara (Slika 24, Slika 25).⁶

Tablica 8. Usporedba vrijednosti ^1H kemijskih pomaka (CDCl_3) za marinoaziridin B, (*rac*-**23**) između eksperimentalnih vrijednosti iz rada Fenical et al., izračunatih GIAO// $(\text{SMD})/\text{B3LYP}/6\text{-}311++\text{G}(\text{d},\text{p})$ i eksperimentalnih vrijednosti.

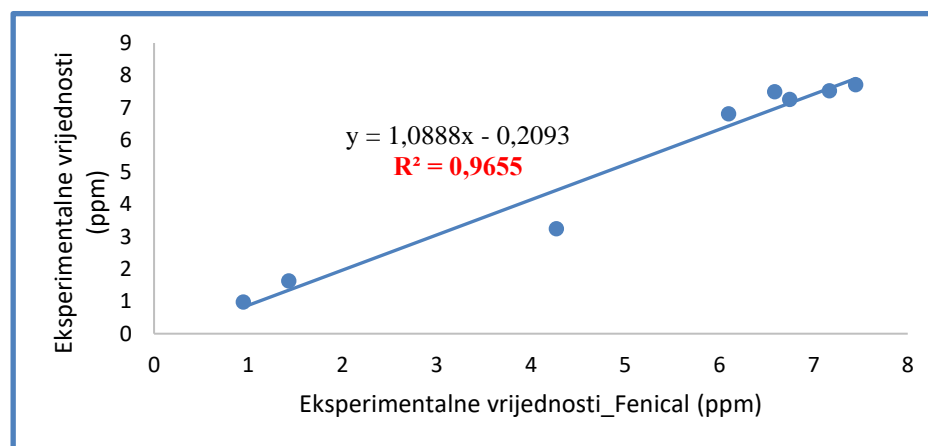
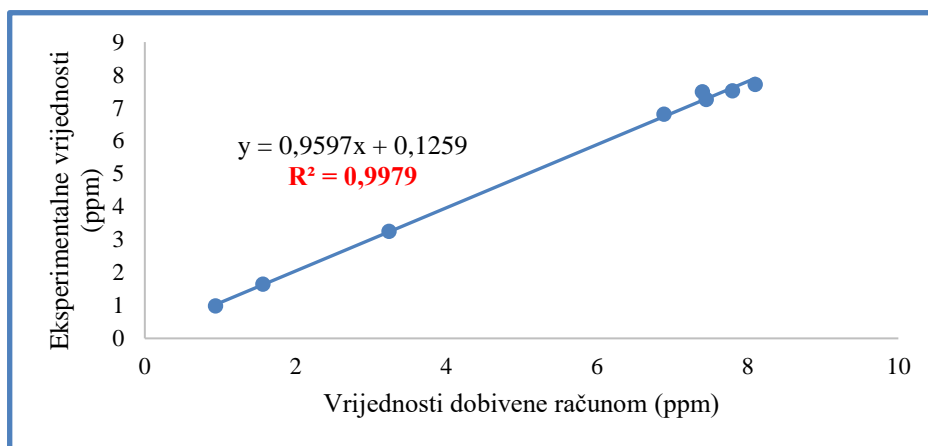
^1H	Eksperimentalne vrijednosti biomaterijala_Fenical (ppm)	Vrijednosti dobivene računom (ppm)	Eksperimentalne vrijednosti (ppm)
15	0,95	0,94	0,98
16	1,43	1,57	1,64
12	4,27	3,24	3,25
2	6,10	6,89	6,81
6	6,75	7,45	7,25
8	6,59	7,40	7,49
7	7,17	7,80	7,52
5	7,45	8,10	7,71
10	7,05	8,24	12,14

*kemijski pomaci dobiveni u deuteriranom kloroformu

a)



b)



c)

Slika 24. Linearna korelacija ^1H NMR kemijskih pomaka (CDCl_3) za marinoaziridin B između: a) eksperimentalnih pomaka iz rada Fenical et al i izračunatih GIAO//(SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) vrijednosti, b) izračunatih GIAO//(SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) vrijednosti i eksperimentalnih vrijednosti sintetskog spoja, c) eksperimentalnih pomaka iz rada Fenical et al i eksperimentalnih vrijednosti sintetskog spoja.

Usporedbom eksperimentalnih vrijednosti ^1H kemijskih pomaka s dobivenim GIAO računima, utvrđena je visoka linearna korelacija ($R = 0,9979$) između eksperimentalnih vrijednosti za sintetski spoj (*rac-23*) i vrijednosti dobivenih GIAO računima (Slika 24b). Ako usporedimo eksperimentalne vrijednosti ^1H pomaka iz rada Fenical⁶ i vrijednosti dobivene GIAO računima (Slika 24a), tada uočavamo neznatno nižu linearnu korelaciju ($R = 0,9696$). U ovom slučaju najveće odstupanje zabilježeno je za vodikov atom smješten na kiralnom ugljikovom atomu (C12), pri čemu njegov kemijski pomak dobiven eksperimentalno u radu Fenical iznosi 4,27 ppm, dok je 3,24 dobiven GIAO računima. Usporedimo li kemijske pomake vodikovih atoma dobivene analizom biomaterijala s našim eksperimentalnim pomacima sintetskog spoja (Slika 24c), tada uočavamo visoku linearnu korelaciju ($R = 0,9655$), pri čemu je i u ovom razmatranju najveće odstupanje zabilježeno za vodikov atom smješten na kiralnom ugljikovom atomu (C12).

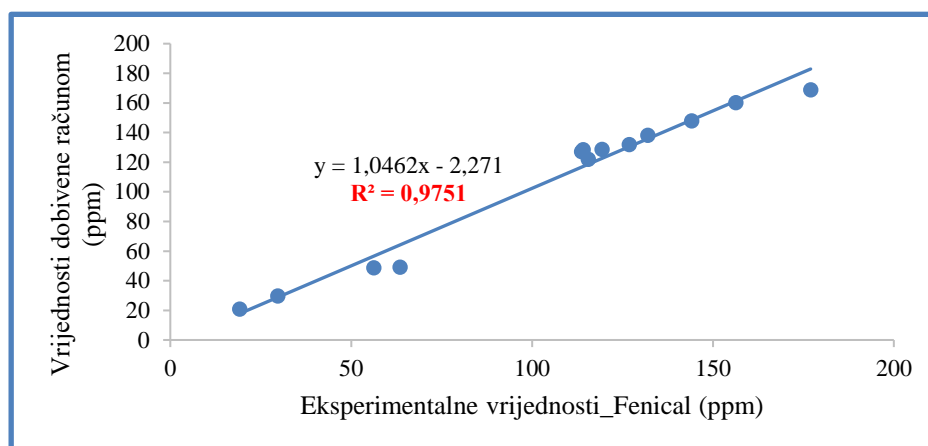
Statistička analiza i vizualna usporedba linijskih spektara ^{13}C NMR kemijskih pomaka ukazuju na visoku linearnu korelaciju u sva tri razmatrana slučaja (Slika 25). Najbolje preklapanje vrijednosti kemijskih pomaka i ovdje je zabilježeno kod usporedbe naših eksperimentalnih vrijednosti sintetskog spoja (*rac-23*) i vrijednosti dobivenih GIAO računima (Slika 25b).

Tablica 9. Usporedba vrijednosti ^{13}C pomaka (CDCl_3) za marinoaziridin B, (*rac-23*) između eksperimentalnih vrijednosti iz rada Fenical et al., izračunatih GIAO//((SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) i eksperimentalnih vrijednosti sintetskog spoja.

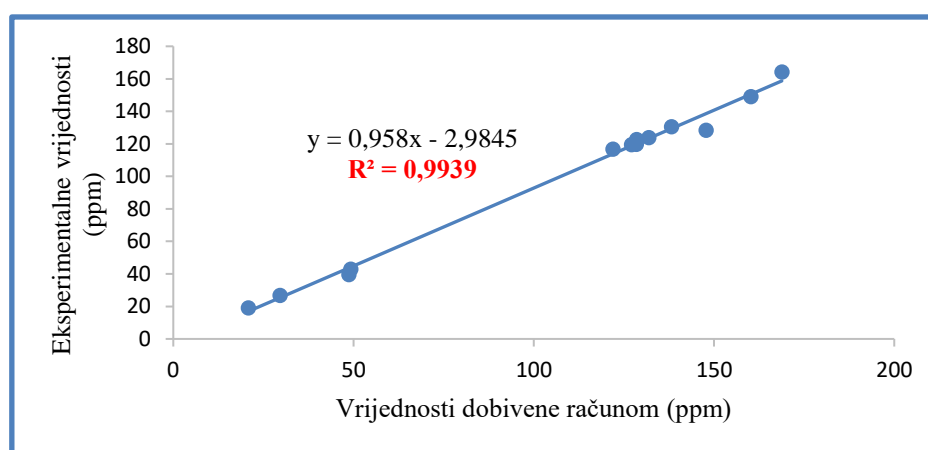
^{13}C	Eksperimentalne vrijednosti biomaterijala_Fenical (ppm)	Vrijednosti dobivene računom (ppm)	Eksperimentalne vrijednosti (ppm)
15	19,2	20,8	19,16
16	29,7	29,6	26,75
14	56,2	48,7	39,67
12	63,5	49,2	43,03
8	115,5	121,9	116,74
2	113,7	127,1	119,58
4	114,1	128,4	119,79
6	119,3	128,5	122,70
5	126,8	131,9	123,83
7	132,0	138,2	130,63
9	144,1	147,8	128,32
3	156,3	160,2	140,03
1	177,0	168,8	164,16

*kemijski pomaci dobiveni u deuteriranom kloroformu

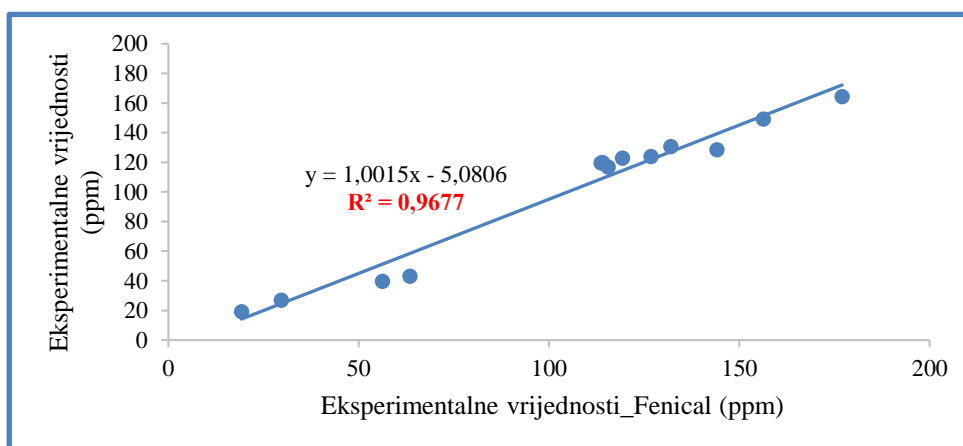
a)



b)



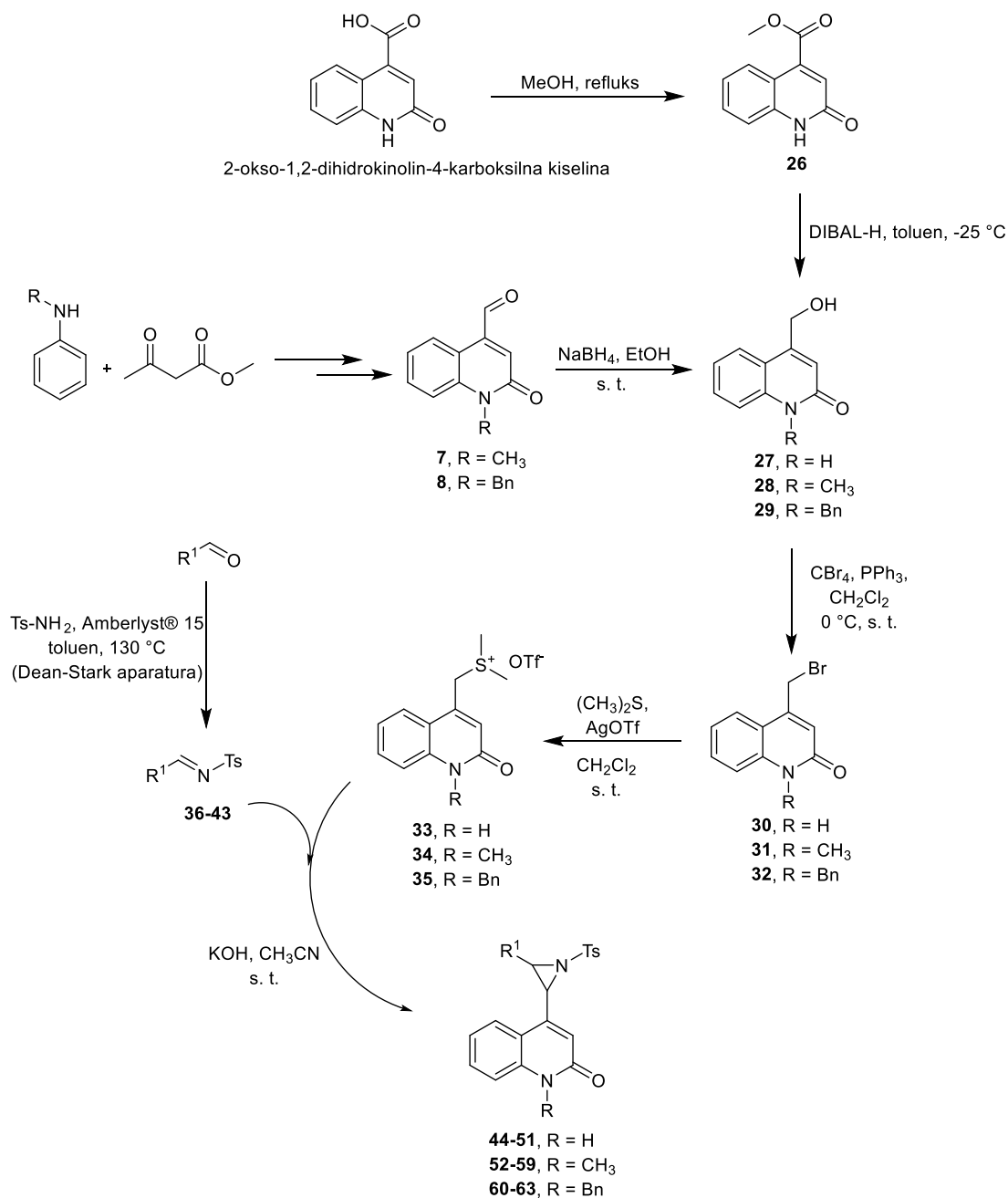
c)



Slika 25. Linearna korelacija ^{13}C NMR kemijskih pomaka (CDCl_3) za marinoaziridin B između: a) eksperimentalnih pomaka iz rada Fenical et al i izračunatih GIAO//(SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) vrijednosti, b) izračunatih GIAO//(SMD)/B3LYP/6-311++G(d,p) vrijednosti i eksperimentalnih vrijednosti sintetskog spoja, c) eksperimentalnih pomaka iz rada Fenical et al i eksperimentalnih vrijednosti sintetskog spoja.

4.2.2. Totalna sinteza disupstituiranih derivata marinoaziridina A i B

Na temelju naše provedene računalne studije (*in silico* pristup) i dobivenih spoznaja o odnosu strukture i ADMET parametara ciljnih molekula marinoaziridina A i B, predloženi su njihovi strukturni derivati *rac*-**44–63** s potencijalno boljim biološkim svojstvima. Sintetski put pripreve prikazan je na shemi 62.



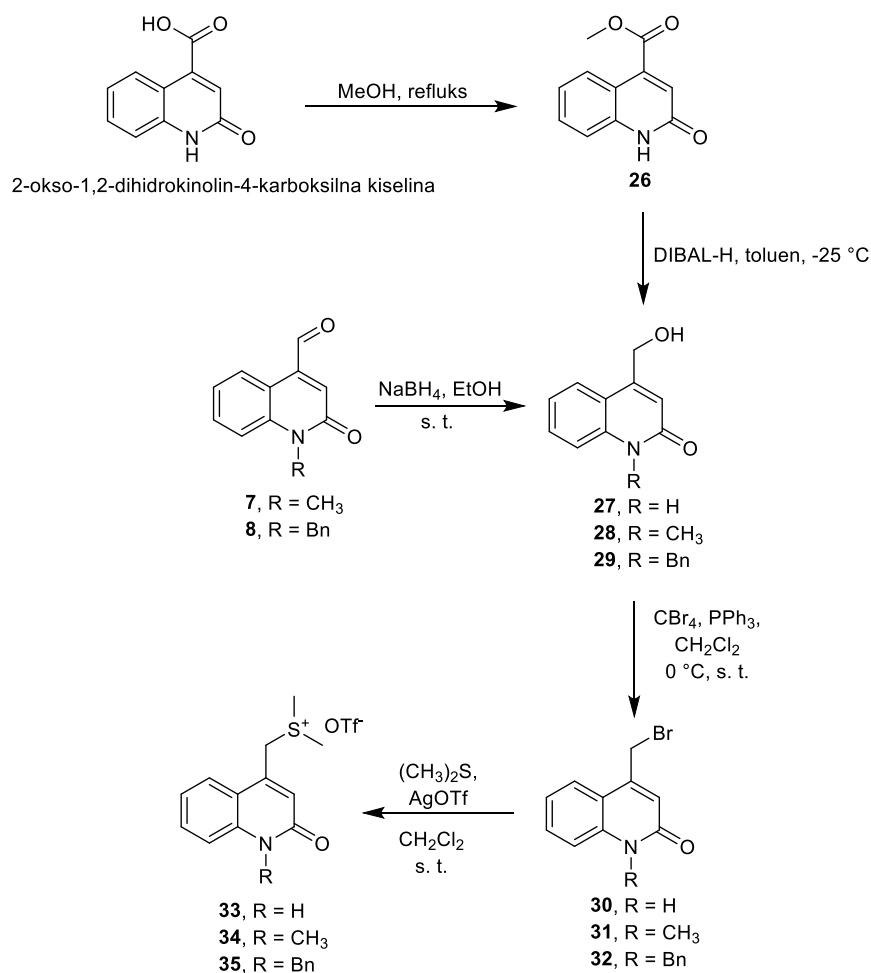
Shema 62. Totalna sinteza strukturnih derivata marinoaziridina *rac*-**44–63**.

Sintetski put pripreve strukturnih derivata marinoaziridina *rac*-**44–63** temelji se na konvergentnoj sintezi i sastoji se od nekoliko sintetskih koraka. Sintetski put uključuje pripremu akiralnih kinolin-2(1*H*)-onskih soli (**33–35**) iz komercijalno dostupnih derivata anilina (**1a–c**) i etil-acetoacetata. Aldehidi **7,8** pripremljeni su istom metodologijom opisanom u prethodnom poglavlju. U nastavku su prevedeni u odgovarajuće alkohole **28,29** uz korištenje natrijevog borhidrida kao reducirajućeg agensa. Priprema alkohola **27** sastoji se od nekoliko koraka i započinje prevođenjem kinolin-2(1*H*)-onske kiseline u metilni ester spoj **26**, koji se u nastavku u prisustvu DIBAL-H reducira u odgovarajući alkohol **27**. U sljedećem sintetskom koraku sintetizirani alkoholi **27–29** prevode se u odgovarajuće bromide **30–32** Appelovom reakcijom. U nastavku bromidi **30–32** prevedeni su u akiralne sulfonijeve soli **33–35** uz pomoć dimetil-sulfida kao reagensa i srebrovog triflata kao promotora u diklormetanu. Osim sulfonijevih soli, u prvoj fazi istraživanja pripremljeni su i iminski supstrati **36–43** za reakcije aziridinacije. Takvi iminski supstrati moraju biti aktivirani tj. dušikov atom mora biti zaštićen pogodnom skupinom. U tu svrhu odabrana je toluensulfonilna (Ts) zaštitna skupina. Nakon uspješne pripreme kinolinonskih sulfonijevih soli **33–35** i imina **36–43**, provedena su preliminarna istraživanja utjecaja baze, otapala i temperature na dijastereoselektivnost i iskorištenje reakcije. Poseban naglasak stavljen je na istraživanje utjecaja iminskog C-supstituenta na dijastereoselektivnost aziridinacije. S obzirom na dobivene rezultate, kao primarna baza u zadnjem sintetskom koraku, odabran je kalijev hidroksid, pri čemu su dobiveni derivati marinoaziridina *rac*-**44–63** uglavnom kao smjese *cis* i *trans* izomera, ali u nekim slučajevima zabilježena je i 100 %-tna *cis*, odnosno *trans* dijastereoselektivnost.

Novosintetizirani spojevi bit će podvrgnuti biološkim testiranjima u nastavku naših istraživanja.

4.2.2.1. Priprava kinolin-2(1H)-onskih soli (33–35)

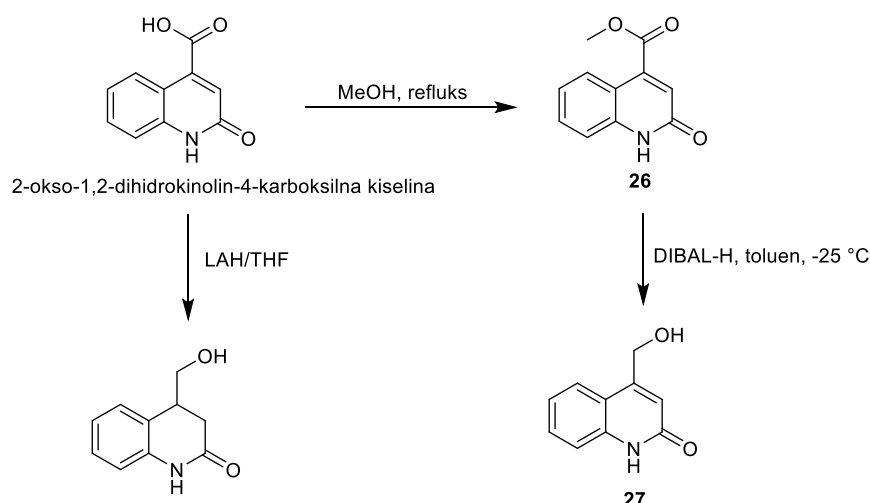
Kinolin-2(1H)-onske soli **33–35** sintetizirane su u nekoliko sintetskih koraka prema prikazanoj shemi 63.



Shema 63. Sintetski put priprave kinolin-2(1H)-onskih soli **33–35**.

Sintetski put priprave bromida **30** započinje iz kinolin-2(1H)-onske kiseline, koja se u prvom sintetskom koraku prevodi u metilni ester **26** u odličnom iskorištenju od 98 %. U nastavku sinteze, fokus je stavljen na redukciju esterske funkcijske skupine spoja **26** kako bi se pripravio alkohol **27** (Shema 64). Kad se kao reducirajući reagens koristio LAH/ester u omjeru 1:1, nije došlo do redukcije. Povećanje broja ekvivalenata LAH/ester (2:1), dovelo je do redukcije estera, ali i polarizirane dvostruke veze u strukturi kinolin-2(1H)-ona. Kao rješenje problema pronašli smo u upotrebi DIBAL–H reagensa. Reakcija zahtjeva korištenje izuzetno suhi i inertnih uvjeta jer u protivnom može dovesti do neželjenih sporednih reakcija. Reakcija odgovarajućeg estera

s DIBAL-H dovodi do nastanka tetraedarskog međuproducta kojeg je potrebno hidrolizirati kako bi se oslobodio produkt reakcije. U tu svrhu koriste se različite metode. U ovom slučaju korištena je Fieserova metoda, koja se temelji na baznoj hidrolizi. Spoj **27** izoliran je prekrizacijom iz metanola u dobrom prinosu (45 %). Zadnja faza sintetskog postupka priprava je spoja **30** Appelovom reakcijom uz korištenje $\text{CBr}_4/\text{PPh}_3$ kao reagensa. Dobiveni produkt izoliran je *flash* kromatografijom uz nizak prinos (33 %). Odabrana metodologija priprave spoja **30** nije kvantitativno zadovoljavajuća. Nizak prinos u zadnja dva koraka može se dovesti u vezu s lošom topljivošću polaznog spoja koja je posljedica prisutnosti interne amidne veze.



Shema 64. Sintetski put priprave alkohola **27**.

Bromidi **31,32** pripravljeni su iz anilina i etil-acetoacetata u nekoliko sintetskih koraka. Priprava aldehida **7,8** opisana je u prethodnom poglavlju. U sljedećem koraku, pripravljeni aldehidi **7,8** podvrgnuti su selektivnoj redukciji. Kao reducens odabran je natrijev borhidrid jer korištenjem drugih reducensa dolazi do redukcije polarizirane dvostruke veze unutar kinolin-2(1H)-ona. Reakcija se izvodi pri sobnoj temperaturi u bezvodnom etanolu, a njen tijek praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. U zadnjem stupnju provodi se hidroliza alkoksida dodatkom 5 %-tne otopine amonijevog klorida. Nakon obrade reakcijske smjese i čišćenja spoja kromatografijom na stupcu *flash* silikagela izolirani su alkoholi **28** (87 %) i **29** (95 %).

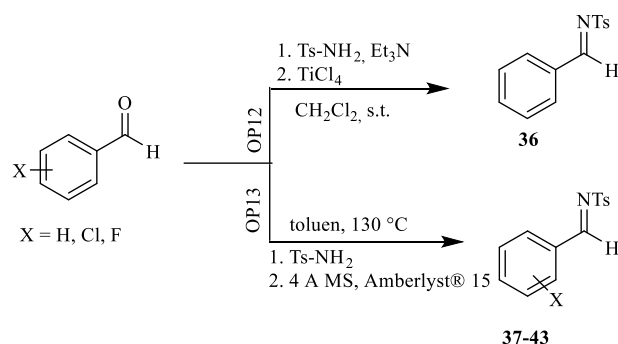
U nastavku alkoholi **31,32** prevedeni su Appelovom reakcijom u odgovarajuće bromide koristeći istu metodologiju kao i za pripravu bromida **30**. Bromidi **31,32** dobiveni su u odličnom iskorištenju u rasponu od 90–93 %.

U sljedećem koraku, kinolin-2(1*H*)-onske sulfonijeve soli **33–35** pripravljene su iz odgovarajućih bromida **31–32** i dimetil-sulfida uz srebrov triflat kao promotor u nukleofilnoj supstitucijskoj reakciji (S_N2). U ovoj nukleofilnoj supstitucijskoj reakciji nukleofil, dimetil-sulfid, napada supstrat-halogenalkan sa strane suprotne od one na kojoj se nalazi izlazna skupina. Na samom početku procesa uočava se taloženje srebrovog bromida. Nakon završetka reakcije, nastalu organsku sol **33–35** bilo je potrebno razdvojiti od anorganske soli, srebrovog bromida. Kinolin-2(1*H*)-onske soli slabo su topljive u većini organskih otapala, pa se kao izbor otapala nametnuo dimetil-sulfoksid. Smjesi soli dodan je dimetil-sulfoksid, pri čemu dolazi do otapanja soli dok srebrov bromid zaostaje kao talog u otopini. Srebrov bromid je odfiltriran, a dimetil-sulfoksid je uparen pod visokim vakuumom ($p = 0,01$ mmHg, $t = 45–50$ °C). Nakon uparavanja dobiveni su produkti **33** (95 %), **34** (94 %) i **35** (96 %) u odličnom iskorištenju.

4.2.2.2. Priprava *N*-tosil zaštićenih imina (**36–43**)

Priprava *N*-tosil zaštićenih imina puno je zahtjevnija u odnosu na sintezu Schiffovih baza s alkilnim ili arilnim supstituentima na dušiku koja se u uglavnom provodi reakcijom između aldehida i odgovarajućeg amida pri sobnoj temperaturi. Za pripravu *N*-tosil-sulfonil imina potrebno je korištenje katalizatora i/ili povišena temperatura. Tosilna skupina jedna je od najčešće korištenih zaštitnih skupina u organskoj kemiji. Uz to što ima zaštitnu ulogu, imini zaštićeni tosilnom skupinom smatraju se aktiviranim zbog prisustva elektron-odvlačeće skupine koja ih čini elektrofilnijim u reakcijama aziridacije.⁷ Ova skupina je vrlo stabilna i otporna na različite reakcijske uvjete što je ujedno prednost, ali i nedostatak jer su za njezino uklanjanje potrebni ili jako kiseli ili reduktivni uvjeti koji nisu kompatibilni s aziridinskim prstenom.

Za pripravu *N*-tosil zaštićenih imina **36–43** u ovom radu korišten je općeniti postupak 12 i 13 opisan u poglavlju 3.1.2.5.2. (Shema 65). Imin **36** pripremljen je prema općenitom postupku 12, dok je za pripravu preostalih imina **37–43** korišten općeniti postupak 13. Općeniti postupak 13 pokazao se boljom metodom te je iz tog razloga i odabran kao glavni protokol za pripravu većine imina u ovom doktorskom radu.



Shema 65. Sintetski put pripreve *N*-tosil zaštićenih imina **36–43** prema općenitom postupku 12 i 13 opisanom u poglavlju 3.1.2.5.2.

Reakcija pripreve imina ravnotežna je reakcija (reverzibilna) s relativno niskom konstantom ravnoteže, pri čemu je potrebno uklanjati jedan od produkata, vodu ili imin, iz reakcijske smjese ili dodati reaktant u suvišku kako bi se ravnoteža pomakla u desno ka nastanku produkta. U ovom slučaju korišten je prvi pristup koji se temelji na uklanjanju vode korištenjem Dean-Starkove aparature, molekulskih sita 4 Å ili Lewisove kiseline.

Za pripravu *N*-tosil zaštićenog imina **36** polazni spojevi su benzaldehid, toluen-4-sulfonamid, trietilamin te titanijev tetraklorid. U ovom sintetskom procesu titanijev tetraklorid ima dvojaku ulogu da koordinira kisikov atom karbonilne skupine, čineći tako karbonilni ugljikov atom elektrofilnijim, i da veže oslobođenu vodu kako ne bi došlo do reverzibilne reakcije hidrolize imina u aldehid. Trietilamin služi kao baza koja odcjepljuje proton na dušiku amino-skupine toluen-4-sulfonamida čineći ga boljim nukleofilom. Sirovi imin **36** pročišćen je prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/*n*-heksan = 1/10 uz prinos 57 %. Struktura spoja **36** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

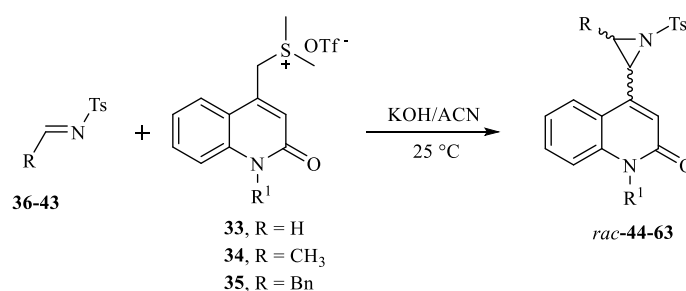
Za pripravu *N*-tosil zaštićenih imina **37–43** polazni spojevi bili su odgovarajući aldehidi i toluen-4-sulfonamid te katalitička količina Amberlyst® 15. Korištena je Dean-Starkova aparatura, koja ima ulogu da uklanja nastalu vodu iz reakcijske smjese kako ne bi došlo do reverzibilne reakcije hidrolize imina u aldehid. Također, u istu svrhu, reakcijskoj smjesi dodana su i 4 Å molekulska sita koja imaju ulogu da apsorbiraju oslobođenu vodu u reakciji. Sirovi imini **37–43** pročišćeni su prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/*n*-heksan = 1/10 uz prinos 57–98 % (Tablica 10). Strukture svih pripremljenih imina **37–43** potvrđene su ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

Tablica 10. Prinosi pripreve *N*-tosil zaštićenih imina **37–43**.

IMIN	η (%)
36	57
37	88
38	89
39	81
40	98
41	57
42	81
43	77

4.2.2.3. Priprava disupstituiranih derivata marinoaziridina (*rac*-**44–63**)

Na samom početku ove studije ispitani su reakcijski uvjeti pripreve disupstituiranih derivata marinoaziridina *rac*-**44–63**. Kao modelnu reakciju odabrali smo kinolin-2(1*H*)-onsku sol **34** i *N*-tosil zaštićeni imin **37**, pri čemu su ispitana tri općenita postupka pripreve. Cilj je bio ispitati kakav je utjecaj baze na diastereoselektivnost i iskorištenje reakcije. Derivat *rac*-**52** pripremljen je prema općenitim postupcima 14, 15 i 16 opisanim u poglavlju 3.1.2.5.3., a glavna mijenjana varijabla bila je baza. Uočeno je da baza nema bitnog utjecaja na diastereoselektivnost reakcije. Najbolja iskorištenja postignuta su korištenjem kalijevog hidroksida, dok upotreba *tert*-butil-litija i fosfazenske baze dovodi do loše konverzije polaznog materijala, odnosno loših prinosa. Kad je u reakciji korišten kalijev hidroksid kao baza, reakcija se provodi pri sobnoj temperaturi, dok uz *tert*-butil-litij i fosfazensku bazu reakcija se provodi na temperaturi od -78 °C. Uočeno je da temperatura reakcije bitno utječe na iskorištenje reakcije jer u reakciji sudjeluje loše topljiva kinolin-2(1*H*)-onska sol **34** čija se topljivost dodatno pogoršava snižavanjem temperature. Zadovoljavajući rezultati postignuti su korištenjem kalijevog hidroksida u acetonitrilu pri sobnoj temperaturi bez gubitka diastereoselektivnosti, što je ujedno i dobar razlog da se isti postupak koristi za pripravu ostalih aziridina u seriji (Shema 66).



Shema 66. Sintetski put priprave disupstituiranih derivata marinoaziridina *rac-44-63*.

Kao što je prikazano u tablici 11, diastereoselektivnost reakcije je poprilično visoka te u većini slučajeva prevladava *trans* izomer. Kod pet derivata *rac-47,49,55,57,63* može se opaziti potpuna diastereoselektivnost. U slučaju derivata *rac-47,55,63* dolazi do nastanka isključivo *cis* izomera, dok je nastanak *trans* izomera opažen kod derivata *rac-49,57*. Korištenjem kromatografije na stupcu silikagela uspješno su odijeljeni neki od *cis* i *trans* izomera.

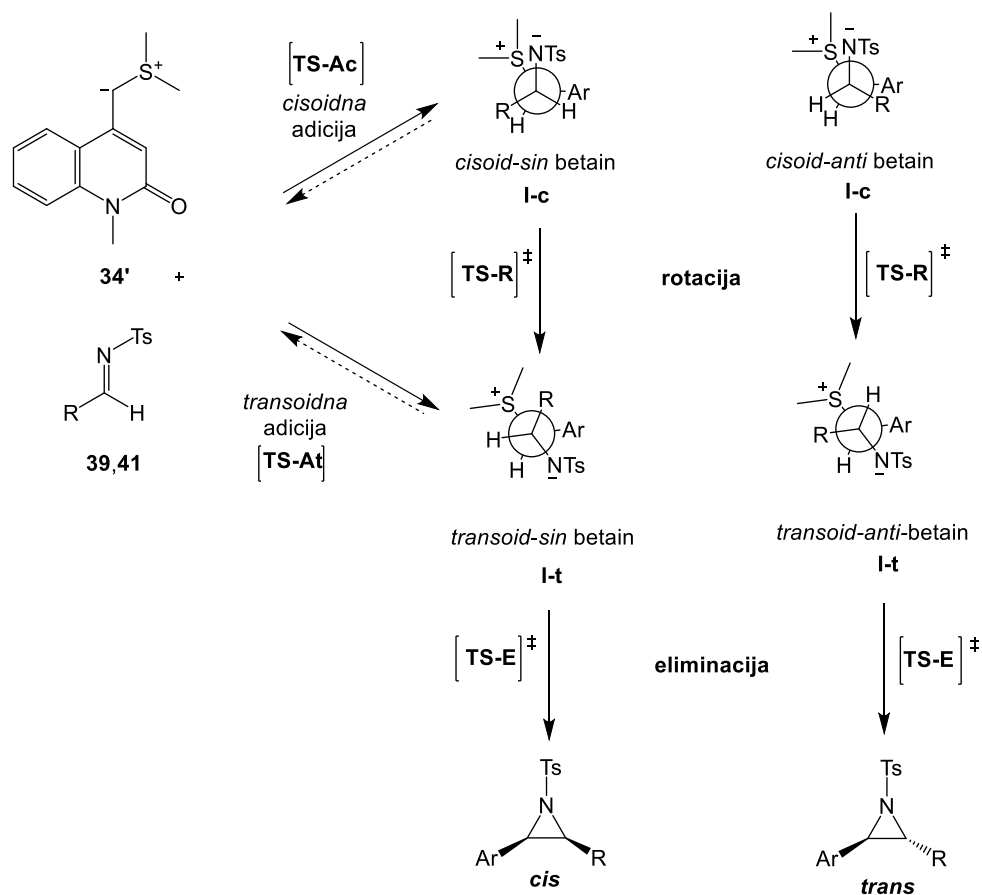
Tablica 11. Dijastereoselektivnost i prinosi reakcija aziridacije.

marinoazirdin	<i>cis/trans</i>	η (%)
<i>rac-44</i>	31/69	58
<i>rac-45</i>	30/70	85
<i>rac-46</i>	25/75	80
<i>rac-47</i>	100/0	60
<i>rac-48</i>	40/60	52
<i>rac-49</i>	0/100	45
<i>rac-50</i>	21/79	40
<i>rac-51</i>	52/48	65
<i>rac-52</i>	14/86	77
<i>rac-53</i>	21/79	87
<i>rac-54</i>	17/83	95
<i>rac-55</i>	100/0	51
<i>rac-56</i>	21/79	70
<i>rac-57</i>	0/100	65
<i>rac-58</i>	15/85	51
<i>rac-59</i>	33/67	26
<i>rac-60</i>	35/75	75
<i>rac-61</i>	28/72	75
<i>rac-62</i>	15/85	79
<i>rac-63</i>	100/0	80

4.2.2.4. Kvantno-kemijski računi

Kako bismo objasnili 100 % *cis* selektivnost, odnosno *trans* selektivnost dobivenu u reakcijama imina **39** i **41** sa sumporovim ilidom **34'** izvedenim iz kinolin-2(1*H*)-onske sulfonijeve soli **34**, provedeno je računalno istraživanje reakcijskih profila dviju reakcija aziridacije u kojima nastaju aziridini suprotne dijastereoselektivnosti (u suradnji dr. sc. Višnje Stepanić, Laboratorij za strojno učenje i reprezentacije znanja, Zavod za elektroniku, Institut Ruđer Bošković).

Općenito prihvaćeni mehanizam aziridacije imina sumpornim ilidima uključuje dva koraka: adiciju sumporovog ilida na dvostruku vezu C=N imina, u nekim slučajevima rotaciju oko novonastale C–C veze betainskog međuprodukta, te eliminaciju sulfida uz zatvaranje prstena (Shema 67).^{189,190,191}



Shema 67. Općenito prihvaćeni mehanizam aziridacije imina sumporovim ilidima.

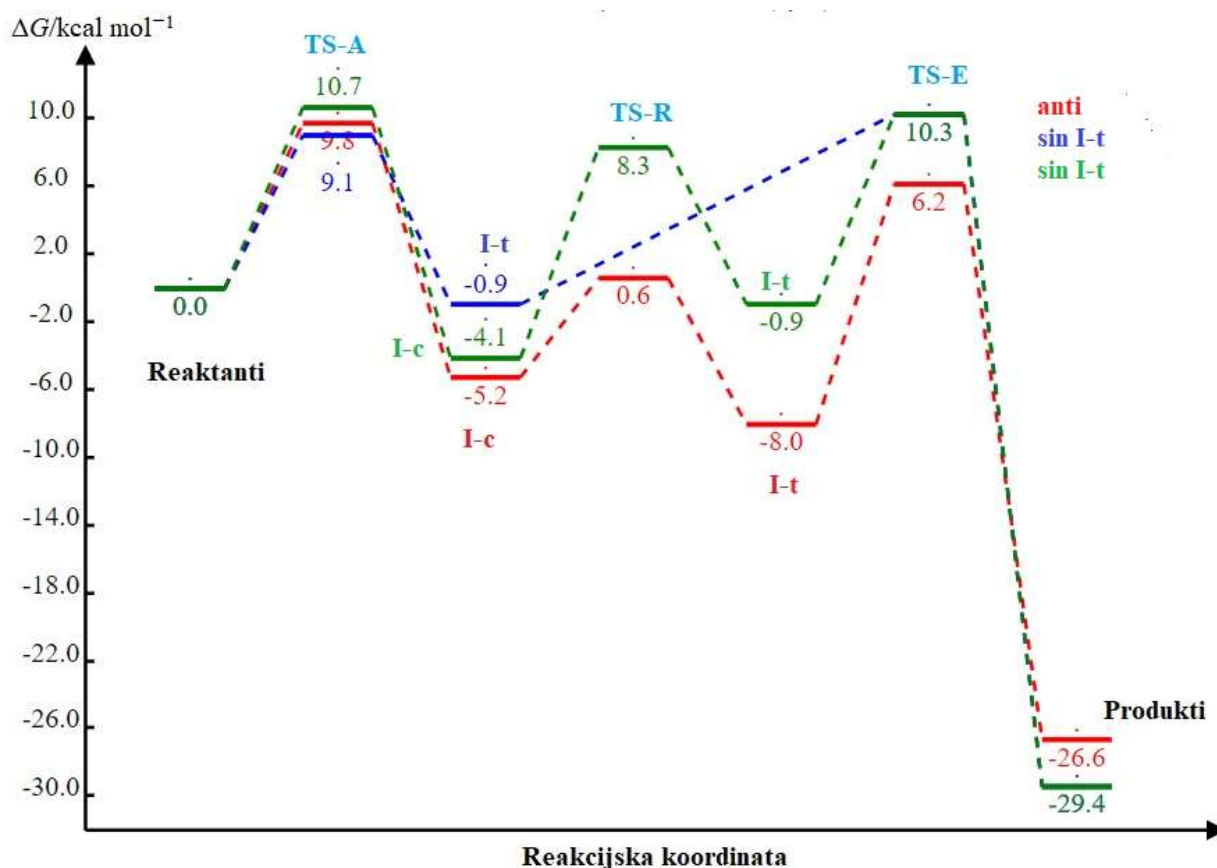
Adicija sumporovog ilida na imin može biti *cisoidna* ili *transoidna* s obzirom na položaj aza i sulfonijeve skupine oko novonastale betainske C–C veze. Prijelazna stanja koja vode do *cisoidnog*, odnosno *transoidnog* betaina označena su ovdje **TS-Ac** i **TS-At**. Osim toga, betaini

su označeni *sin* ili *anti* s obzirom na relativan položaj kinolin-2(1*H*)-onske skupine i iminskog supstituenta oko formirane C–C veze betainskog međuprodukta. Iz *sin* betaina nastat će *cis* aziridin, dok će iz *anti* betaina nastati *trans* aziridin. Stoga, u koraku adicije ilida na imin mogu nastati četiri različita betaina: *cisoid-sin*, *cisoid-anti*, *transoid-sin* i *transoid-anti*. Da bi došlo do eliminacije sulfida uz zatvaranje prstena, sulfonijeva i aza skupina moraju biti međusobno u *anti* položaju. Iz toga slijedi da *cisoidni* betaini moraju prvo rotacijom oko novonastale C–C veze betaina prijeći u *transoidni* betain. Prijelazna stanja za rotaciju označena su ovdje **TS-R**, dok su za eliminaciju korištene oznake **TS-E**.

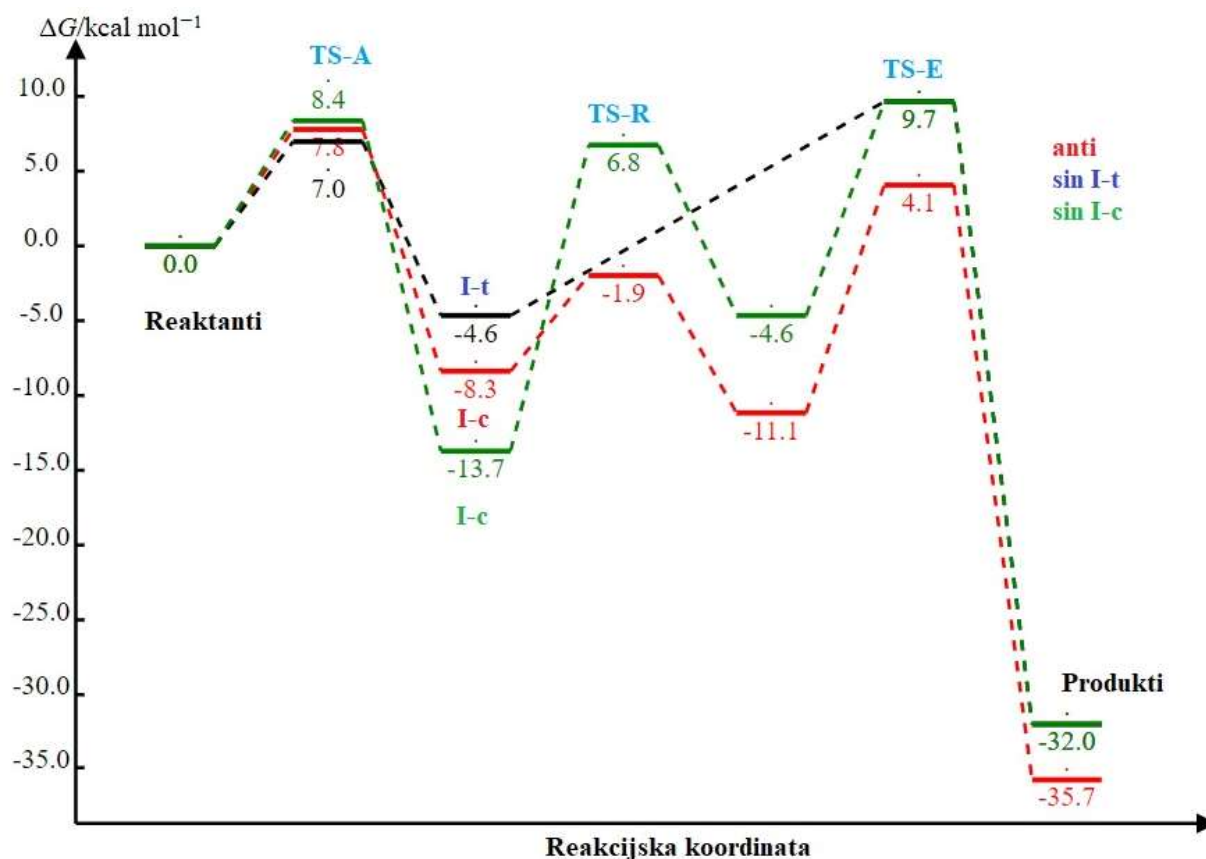
Reakcije kinolin-2(1*H*)-onskog sulfonijevog ilida **34'** izvedenog iz soli **34** s *N*-Ts-iminima **39** i **41** reakcije su aziridinacije kod kojih strukturalna promjena u iminskom supstituentu dovodi do suprotne dijastereoselektivnosti reakcije. Strukturne razlike imina odnose se na broj i položaj atoma fluora. U slučaju aziridinacije imina **39**, koji u *meta* položaju fenilnog prstena posjeduje atom fluora, postignuta je 100 %-tna *cis* selektivnost. U reakciji aziridinacije imina **41**, koji posjeduje dva atoma fluora u di-*orto* položajima fenilnog prstena, dobivena je 100 %-tna *trans* selektivnost. Kako bismo dobili uvid u mehanizam dviju opisanih reakcija aziridinacije, odnosno ispitali utjecaj strukturalnih promjena u iminskom supstituentu na dijastereoselektivnost reakcije, izračunali smo energijske profile reakcija primjenom DFT računa uzimajući u obzir implicitni učinak otapala. Za proučavane fleksibilne molekule, određivanje torzijskih i reakcijskih energijskih profila s pristupom M062X/6-31+G(d,p) omogućilo je kompenzaciju između točnosti rezultata i računalne zahtjevnosti. Energije svih specija (minimума i prijelaznih stanja) na reakcijskim profilima aziridinacije dodatno su procijenjeni izvođenjem takozvanih proračuna energije u jednoj točki korištenjem većih osnovnih skupova.

Na temelju provedene računalne studije, utvrđeno je da u slučaju *anti* puta, u obje reakcije aziridinacije, prevladava isključivo *cisoidno* prijelazno stanje (**TS-Ac**). Svaki pokušaj da se dobije *transoidna* struktura (**TS-At**) *anti* orijentacije završio je u *cisoidnom* prijelaznom stanju. Ovakvi primjeri preferiranosti *cisoidnog* prijelaznog stanja na *anti* putu već su literaturno opisani i pripisani su povoljnim Coulombskim interakcijama između negativno nabijenih kisikovih/dušikovih atoma i pozitivno nabijenog sumpora.^{191,192,193,194,195} Međutim, dodatno važan faktor odgovoran za *cisoidnu* geometriju sterička je opterećenost u *transoidnom* pristupu. Takav način adicije uključivao bi prostornu bliskost sumporovog ilida i sulfonilne skupine iz tosila na dušiku. Steričko odbijanje/privlačenje kinolin-2(1*H*)-ona (ilidnog supstituenta) i iminskog supstituenta u *cisoidnom* prijelaznom stanju je manje što objašnjava dobivene

računalne rezultate (Slika 26, Slika 27). Međutim, na *anti* putu, povoljan raspored *N*-tosil-fenilnog prstena s kinolin-2(1*H*)-onskim prstenom čini *transoidni* betain (**I-t**) stabilnijim od *cisoidnog* (**I-c**) u obje proučavane reakcije. Utvrđeno je da *meta* i di-*ortho* položaji atoma fluora na fenilu iminskog supstituenata utječu na konfiguraciju aziridinskog produkta tj. na relativnu stabilnost betainskog međuprodukata i energetske barijere za rotaciju i eliminaciju.



Slika 26. Profili reakcije aziridacije za *anti* put (crveno) i *sin* put preko *cisoidnih* I-c (zeleni) i *transoidnih* I-t (plavi) betaina izračunati s modelom (SMD)/M062X/6-311++G(d,p)//(SMD)/M062X/6-31+G(d,p) za reakcije ilida s iminom koji sadrži (gore) *meta*-fluorfenil. Razlika slobodne energije izražene su u odnosu na reaktante u kcal mol⁻¹. *Sin* betain I-t prikazan je dva puta zbog jasnijeg razlikovanja dva moguća reakcijska puta.

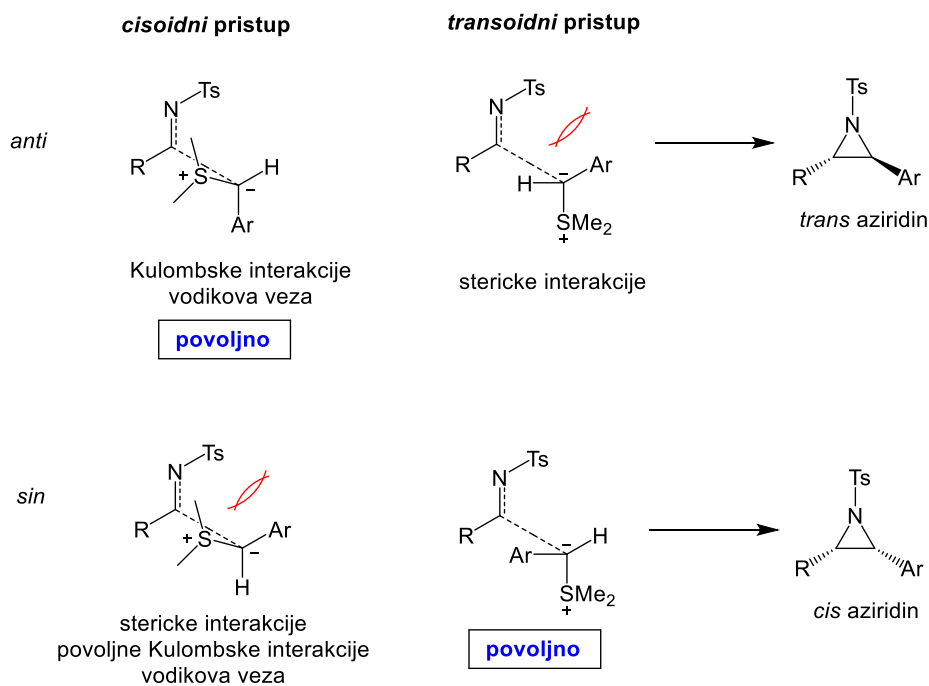


Slika 27. Profili reakcije aziridinacije za *anti* put (crveno) i *sin* put preko *cisoidnih* I-c (zeleni) i *transoidnih* I-t (plavi) betaina izračunati s modelom (SMD)/M062X/6-311++G(d,p)//(SMD)/M062X/6-31+G(d,p) za reakcije ilida s iminom koji sadrži di-*ortho*-fluorfenil. Razlike slobodne energije izražene su u odnosu na reaktante u kcal mol⁻¹. *Sin* betain I-t prikazan je dva puta zbog jasnijeg razlikovanja dva moguća reakcijska puta.

U koraku adicije, u obje reakcije aziridinacije, mogu nastati tri betainska međuprodukta: *cisoid-anti* (I-c), *cisoid-sin* (I-c) i *transoid-sin* (I-t) (Slika 26, 27). Izračunate energije adicijskih prijelaznih stanja za stvaranje triju mogućih betainskih međuprodukata gotovo su jednake. Strukture prijelaznih stanja s pripadajućim energijama prikazane su na slikama 29 i 30.

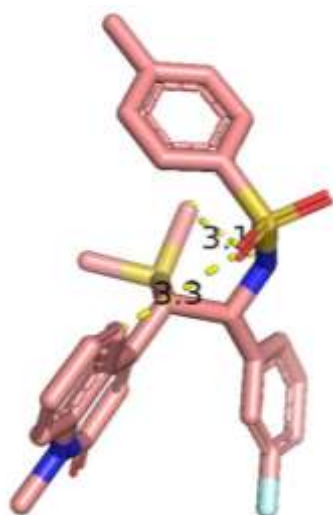
U *sin*- i *anti-cisoidnim* betainima (I-c) postoje stabilizacijske interakcije (Slika 28): elektrostatska interakcija između nabijenih >S⁺ i >N⁻ atoma i vodikova veza između kisika, dušika i fluora *N*-Ts skupine i vodikova atoma dimetil-sulfonijske skupine ili vodikova atoma aromatskog prstena u strukturi ilida. Također prisutne su i π-π interakcije između aromatskih prstenova iminskog supstituenta i kinolin-2(1*H*)-ona. U *sin-cisoidnom* betainu postoji dodatna stabilizacija kao rezultat povoljnog prostornog rasporeda aromatskih prstenova koja je posebno izražena za *sin-cisoidni* betain nastao u reakciji ilida **34'** s di-*ortho*-fluor supstituiranim iminom

41 (Slika 30b). Budući da ta interakcija nedostaje u *sin-transoidnom* betainu (Slika 30a), on je manje stabilan od *sin-cisoidnog* betaína. Međutim, na *anti* putu, povoljan raspored *N*-tosilfenilnog prstena s kinolin-2(1*H*)-onskim prstenom čini *transoidni* betain (**I-t**) stabilnijim (Slika 29d, Slika 30d) od *cisoidnog* (**I-c**) u obje proučavane reakcije.



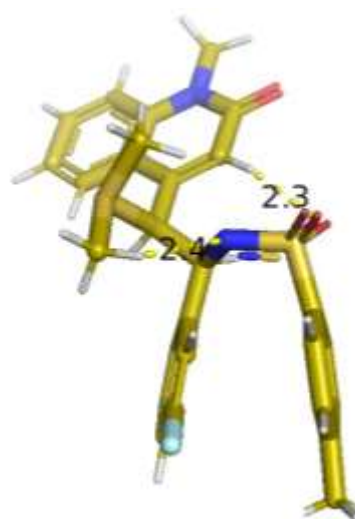
Slika 28. Različiti pristupi ilida iminu i stereokemijski ishodi reakcije.

a)



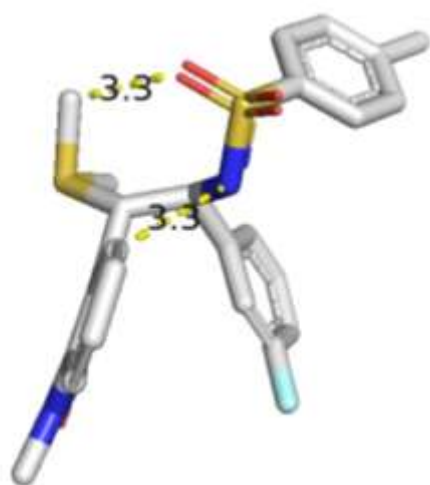
sin-cisoidno **I-c** (-4,1 kcal mol⁻¹)

b)

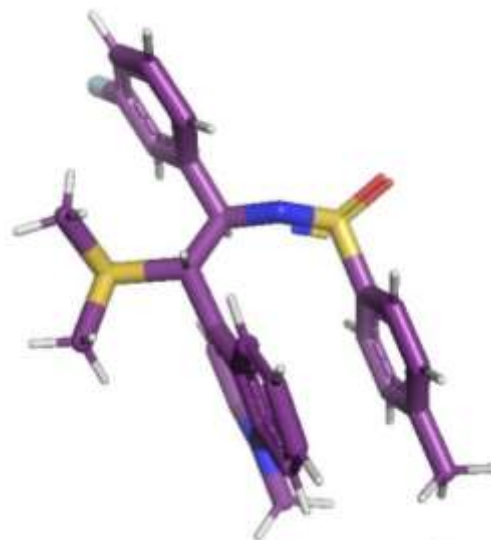


anti-cisoidno **I-c** (-5,2 kcal mol⁻¹)

c)

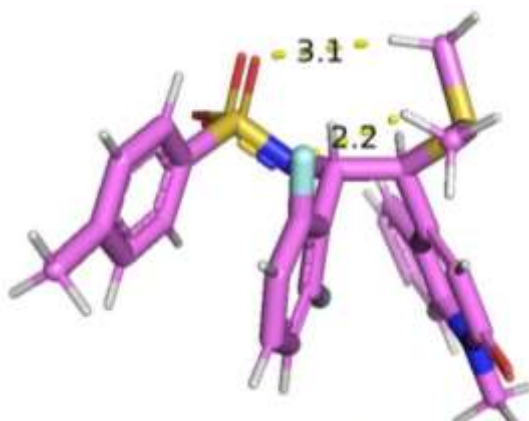
*sin-transoidno I-t* (-0,9 kcal mol⁻¹)

d)

*anti-transoidno I-c* (-5,2 kcal mol⁻¹)

Slika 29. Strukture prijelaznih stanja za adiciju ilida **34'** i *N*-Ts imina **39** dobivene s modelom (SMD)/M062X/6-311++G(d,p)//(SMD)/M062X/6-31+G(d,p).

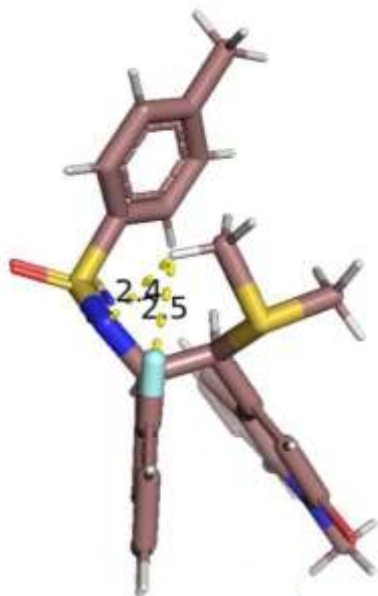
a)

*sin-transoidno I-t* (-4,6 kcal mol⁻¹)

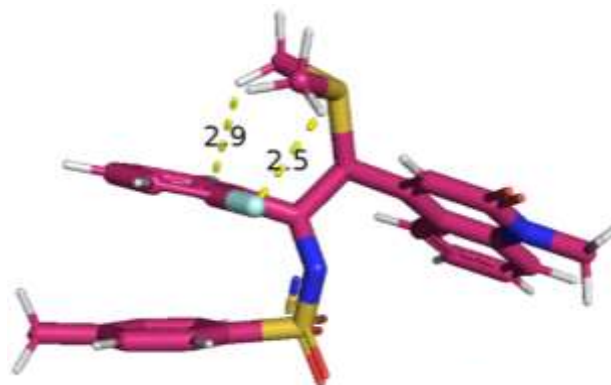
b)

*sin-cisoidno I-c* (-13,7 kcal mol⁻¹)

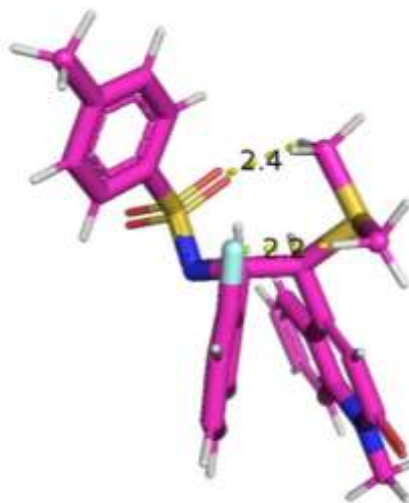
c)

*anti-cisoidno I-c* (-8,3 kcal mol⁻¹)

d)

*anti-transoidno I-t* (-11,1 kcal mol⁻¹)

e)

*sin-transoidno I-t* (-4,6 kcal mol⁻¹)

Slika 30. Strukture prijelaznih stanja za adiciju ilida **34'** i *N*-Ts imina **41** dobivene s modelom (SMD)/M062X/6-311++G(d,p)// (SMD)/M062X/6-31+G(d,p).

Kako bi došlo do eliminacije dimetil-sulfida i nastao aziridinski produkt, *cisoidni* betain (**I-c**) treba rotacijom oko nastale C–C veze prijeći u *transoidnu* konformaciju (**I-t**).^{189,190,192} U slučaju

adicije ilida na imin koji sadrži *meta*-fluorirani fenilni supstituent, povezana *cisoid-transoidna* rotacijska barijera za *sin-cisoid* betain je oko 12,4 kcal mol⁻¹ (Slika 29, 6-311+G(2d,2p) osnovni skup). U slučaju *anti* puta *cisoidni* betain približno je jednake stabilnosti kao *cisoidni-sin* betain (unutar točnosti primijenjene računске metode) i njegova rotacijska barijera za transformaciju u *anti-transoidni* betain (**I-t**) je niža te iznosi oko 5,8 kcal mol⁻¹. Međutim, energetska barijera za eliminaciju dimetil-sulfida za *anti-transoidni* betain je veća te iznosi 14,2 kcal mol⁻¹ (6-31+G(d,p) osnovni skup), što je značajno više od rotacijske i eliminacijske barijere za *sin-transoidni* betain za koji je sulfidna eliminacijska barijera oko 11 kcal mol⁻¹. Osim toga, *sin/cis* aziridin je stabilniji od *anti/trans* produkta. Prema tome, za ovu reakciju aziridinacije u kojoj nastaje isključivo *cis* aziridin i dominira *sin* put, može se pretpostaviti da korak eliminacije sulfida određuje selektivnost aziridinacije.

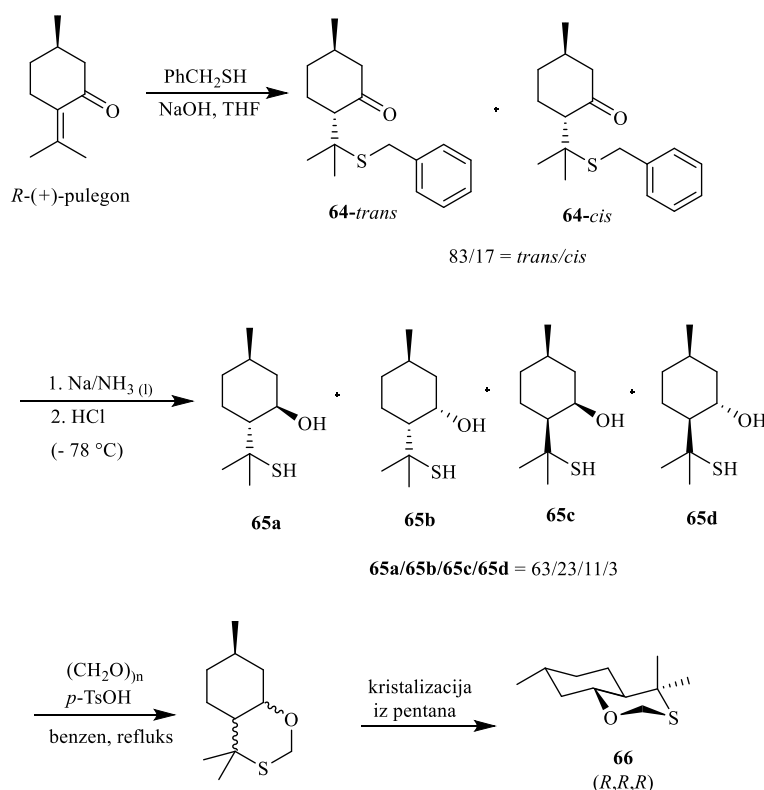
U slučaju reakcije ilida s di-*ortho*-fluor supstituiranim iminom, procjenjuje se da su energetske barijere za stvaranje triju betaina također približno jednake. Međutim, utvrđeno je da je *sin* betain (**I-c**) najstabilniji betain. Kako bi se sulfidna skupina eliminirala, *cisoidni* (**I-c**) betain s diedralnim S–C–C–N kutom od 51,50 trebao bi proći rotaciju oko C–C veze kako bi nastao *transoidni* (**I-t**) betainski međuprodukt s diedralnim S–C–C–N kutom od 146,20. Međutim, predviđena rotacijska barijera veća je od 20 kcal mol⁻¹ što je znatno više nego za *anti-cisoidni* betain (Slika 30). U slučaju *anti* puta, *cisoidni* međuprodukt sa S–C–C–N kutom od 65,1° rotira se u *anti-transoidni* betain u kojem je S–C–C–N diedarski kut blizu 156,8° s rotacijskom barijerom od oko 6,4 kcal mol⁻¹. Predviđene eliminacijske barijere za *anti* i *sin transoidne* betaine su gotovo jednake, oko 15 kcal mol⁻¹. Budući da je osim toga *anti-cisoidni* betain stabilniji od *sin-transoidnog* betaina, a *anti* aziridinski produkt stabilniji je od *sin*-produkta, *anti* put je dominantan što objašnjava 100 % *trans* selektivnost.

Uočene razlike u visinama rotacijske *cisoid-transoidne* barijere i barijere za eliminaciju sulfida, kao i u stabilnosti konačnih aziridinskih produkata, utječu na preferirani put reakcije. Za reakciju ilida s *meta*-fluoriranim iminom, korak koji određuje konfiguraciju produkta je eliminacija sulfida, koja rezultira stvaranjem stabilnijeg *cis* aziridina. U reakciji ilida s di-*ortho*-fluoriranim iminom, energetski profil pokazuje da samo *anti-cisoidni* betain (a ne najstabilniji *sin-cisoidni* betain) može proći dovoljno brzu rotaciju oko nastale C–C veze u *anti-transoidni* oblik, iz kojeg eliminacijom sulfida nastaje stabilniji *trans* aziridin.

4.2.3. Stereoselektivna sinteza aziridina

4.2.3.1. Priprava Elielovog oksatiana

Elielov oksatian (**66**) priređen je u tri koraka iz *R*-(+)-pulegona prema sintetskom putu prikazanom na shemi 68.



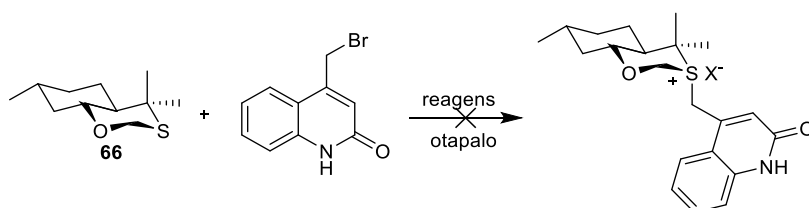
Shema 68. Sintetski put priprave Elielovog oksatiana **66** iz *R*-(+)-pulegona.

U prvom sintetskom koraku reakcijom između *R*-(+)-pulegona i benzil-merkaptana u tetrahidrofuranu uz korištenje natrijevog hidroksida pripremljen je spoj **64**. U sljedećem sintetskom koraku u uvjetima Birchove redukcije (Na/NH₃ pri -78 °C) pripremljen je spoj **65**, u iskorištenju od 98 %, kao smjesa četiri diastereoizomera, pri čemu je udio glavnog izomera **65a** oko 63 %. Dijastereomerni omjer određen je ¹H NMR spektroskopijom. Produkt reakcije je spoj neugodnog mirisa što zahtjeva oprez pri radu. U zadnjem koraku, reakcijom spoja **65** i paraformaldehida uz *para*-toluensulfonsku kiselinu u benzenu pripremljen je spoj **66**. Budući da se radi o ravnotežnoj reakciji (reverzibilna) s relativno niskom konstantom ravnoteže potrebno je uklanjati vodu iz reakcijske smjese kako bi se ravnoteža pomaknula u desno ka nastanku produkta. U tu svrhu korištena je Dean-Starkova aparatura. Spoj je pročišćen “kugelrohr”

destilacijom, pri čemu su skupljene frakcije od 110–140 °C (0,15 mmHg). Enantiomerno čisti produkt konfiguracije (+)-(R,R,R) pripremljen je prekriztalizacijom dobivenog destilata iz *n*-pentana. Temperatura tališta enantiomernog čistog spoja je 37 °C što otežava proces kristalizacije. Provođenjem nekoliko uzastopnih prekriztalizacija izolirano je 4,63 g (52 %) spoja **66**. Čistoća i struktura dobivenog spoja **66** potvrđena je NMR spektroskopijom.

4.2.3.2. Priprava kiralnih sulfonijevih soli za reakcije aziridinicije

Za pripremu kiralnih sumporovih soli, za reakcije aziridinicije, predložen je sintetski put prikazan na shemi 69. U reakciji oksatiana **66**, bromida i reagensa (AgOTf, AgBF₄, LiOTf), uz korištenje širokog izbora polarnih i nepolarnih otapala, nije dovelo do nastanka željene soli. Razlog k tomu može se tražiti u netopljivosti bromida kad se koriste nepolarna otapala, dok izbor polarnih otapala nije bio prikladan budući da se radi o pripravi ionskog para, pa sukladno k tome objašnjava negativan rezultat sinteze.

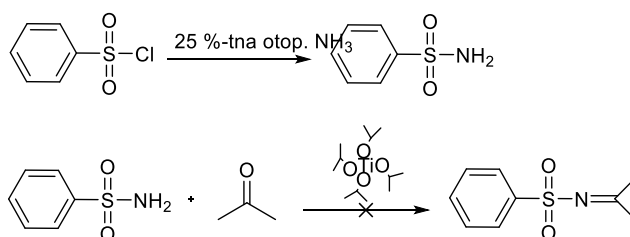


Shema 69. Pokušaji priprava kiralnih sulfonijevih soli za reakcije aziridinicije.

4.2.3.3. Priprava N-tosil zaštićenih imina

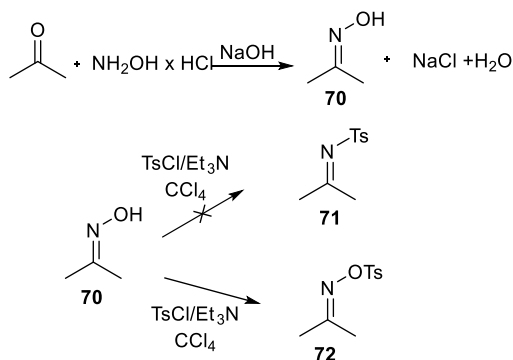
Kod pripreve *N*-tosil imina korištena su dva postupka, označena s **A** i **B**. Postupak **A** sastoji se od dva koraka. U prvom koraku pripremljen je tosil-amid (37 %) iz tosil-klorida i amonijaka prema shemi 70. U drugom koraku, reakcija acetona i tosil-amida uz odgovarajući katalizator nije dovela do nastanka ketimina. Razlog se može tražiti u elektronskoj prirodi ketona, smanjenoj elektrofilnosti karbonilnog ugljikovog atoma u odnosu na karbonilni ugljikov atom aldehida, kod kojih se postupak pripreve i koristi.

Postupak A)

Shema 70. Sintetski put priprave *N*-tosil-imina.

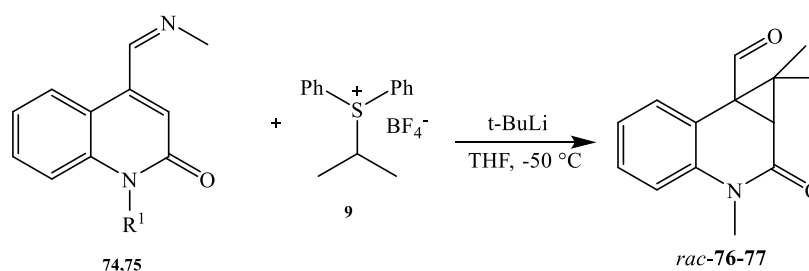
Postupak B, uključuje u prvom koraku pripravu acetonoksima iz acetona i hidroksilamin hidroklorida uz korištenje NaOH prema sintetskom putu prikazanom na shemi 70. Acetonoksim 70 pripravljen je uz visok prinos (91 %). U drugom koraku, reakcijom acetonoksima i tosil-klorida uz prisutnosti trietil-amina u bezvodnom tetraklormetanu nastaje spoj **72** (45 %), koji je uz NMR spektroskopiju potvrđen i spektrometrijom masa. Željeni spoj **71** ne nastaje što je dokazano i literaturno da korištenjem tosil-klorida reakcija ide u smjeru nastanka spoja **72**, dok zamjenom tosil-klorida s tosil-cijanidom nastaje spoj **71** pa nastavak istraživanja vodi k tomu.

Postupak B)

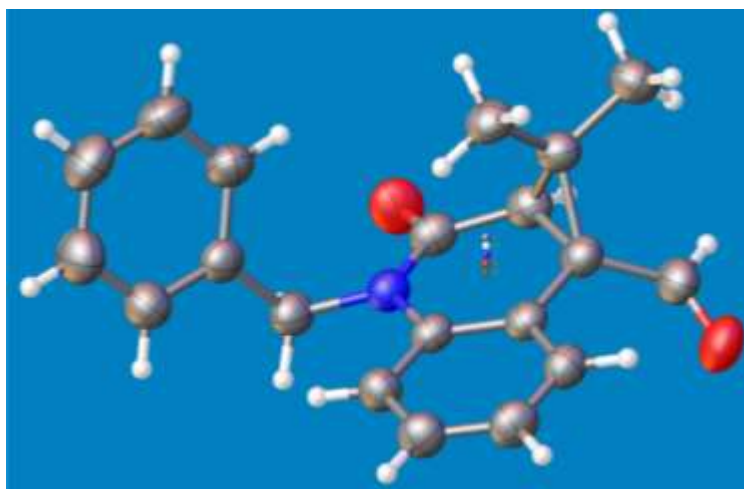
Shema 71. Sintetski put priprave *N*-tosil-imina.

4.2.4. Priprava marinociklopropana *rac-76,77*

Marinociklopropani *rac-76,77* pripremljeni su u reakciji između *N*-metil-imina **74,75** i akiralne sulfonijske soli **9** u prisustvu *tert*-butil-litija u tetrahidrofuranu pri $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Shema 72). Strukture pripremljenih spojeva određene su NMR spektroskopijom, dok je spoj *rac-77* potvrđena struktura rendgenskom strukturnom analizom (XRD) (Slika 31).



Shema 72. Sintetski put priprave marinociklopropana *rac-76,77*.





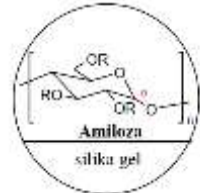
Slika 31. Struktura spoja *rac-77* određena rendgenskom strukturnom analizom (XRD).

4.3. Odijeljivanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije

Kiralno prepoznavanje primjenom polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza temelji se na složenom procesu koji uključuje kiralne i akiralne interakcije između analita, kiralnog selektora i pokretne faze. Na temelju postavljene teze, teško je predvidjeti koji će kiralni selektor pojedine nepokretne faze odijeliti enantiomere nekog spoja, te koja će pokretna faza biti najpovoljnija.¹⁹⁶ Razvoj dobre enantioselektivne kromatografske metode zahtjeva pronalazak najbolje kombinacije procesnih parametara, koji su opisani izborom kiralne nepokretne faze, sastavom i koncentracijom pokretne faze, temperaturom kolone i povratnim tlakom (uglavnom kod SFC).¹⁹⁷ Potreba za razvojem novih metoda odjeljivanja enantiomera zasnovana je na činjenici da su gotovo svi prirodni spojevi koji nose biološku aktivnost, kiralne molekule.¹⁹⁸ Iako se enantiomeri nekog spoja ne razlikuju po fizikalno-kemijskim svojstvima u akiralnoj okolini, njihova biološka aktivnost često je vrlo različita. Pri istraživanju i razvoju novog kiralnog lijeka, enantioselektivne metode koriste se za kontrolu enantiomerne čistoće, provjeru procesa racemizacije te za stereoselektivna farmakološka ispitivanja. Kod kontrole kvalitete već postojećeg kiralnog lijeka na tržištu, potrebna je provjera optičke čistoće i određivanje količine manje aktivnog, inaktivnog ili toksičnog enantiomera, koji se smatra onečišćenjem.¹⁹⁸

U ovom dijelu doktorskog rada, ispitani su kromatografski uvjeti za odjeljivanje enantiomera marinoepoksida (*rac-11–13*, *rac-13–16*), marinoaziridina (*rac-23*, *rac-25*) i derivata marinoaziridina (*rac-52–59*) na imobiliziranim kiralnim nepokretnim fazama primjenom superkritične fluidne kromatografije (engl. *Supercritical fluid chromatography*, SFC) i/ili tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. *High-performance liquid chromatography*, HPLC). U istraživanju su ispitane tri dostupne imobilizirane kiralne kolone CHIRAL ART Cellulose-SC, CHIRAL ART Cellulose-SB i CHIRAL ART Amylose-SA (Tablica 12).

Tablica 12. Prikaz imobiliziranih polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza utemeljenih na derivatima celuloze i amiloze

Kiralni selektor	Struktura kiralnog selektora	Komercijalni naziv kolone
Celuloza <i>tris</i> -(3,5-diklorfenilkarbamat)		CHIRAL ART Cellulose-SC
Celuloza <i>tris</i> -(3,5-dimetilfenilkarbamat)		CHIRAL ART Cellulose-SB
Amiloza <i>tris</i> -(3,5-dimetilfenilkarbamat)		CHIRAL ART Amylose-SA

U svrhu ostvarivanja cilja istraživanja, razvijena je enantioselektivna HPLC i SFC metoda za odjeljivanje enantiomera novosintetizirane serije marinoepoksida (*rac*-**11–13**, *rac*-**13–16**) i marinoaziridina (*rac*-**23**, *rac*-**25**) te enantioselektivna HPLC metoda za odjeljivanje enantiomera derivata marinoaziridina (*rac*-**52–59**) na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama utemeljenim na derivatima amiloze i celuloze. Ispitivanjem niza kromatografskih kiralnih nepokretnih i pokretnih faza određeni su procesni parametri s kojima se postiže najbolje odjeljivanje enantiomera. Razvijene enantioselektivne analitičke metode bit će korištene za kontrolu enantiomerne čistoće u stereoselektivnoj sintezi ciljnih molekula, te će se primjeniti na preparativnoj skali u svrhu izolacije enantiomerno čistih spojeva.

Za svaki analizirani enantiomerni par, navedene su vrijednosti faktora zadržavanja k_1 i k_2 , separacijskog faktora (faktora odjeljivanja) α te razlučivanja R_s enantiomera dobivene na pojedinoj kiralnoj nepokretnoj fazi uz određeni sastav pokretne faze. Faktori zadržavanja k_1 i k_2 pojedinih enantiomera izračunati su prema jednadžbama:¹⁹⁹

$$k_1 = \frac{t_{R1} - t_0}{t_0} \quad (3)$$

$$k_2 = \frac{t_{R2} - t_0}{t_0} \quad (4)$$

U HPLC modulu, vrijeme zadržavanja mobilne faze (t_0) određeno je kao vrijeme zadržavanja 1,3,5-tri-*terc*-butilbenzena, spoja koji kroz kolonu prolazi bez ikakvog nekovalentnog međudjelovanja s kiralnom nepokretnom fazom. U SFC modulu, fronta otapala uzeta je kao vrijeme zadržavanja pokretne faze (t_0). Separacijski faktor α izračunat je prema jednadžbi:¹⁹⁹

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (5)$$

Faktor razlučivanja R_s izračunat je prema jednadžbi:¹⁹⁹

$$R_s = 2 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{b1} - w_{b2}}, \quad (6)$$

gdje w_b označava širinu kromatografskog pika, a w_h širinu pika na polovici visine pika.

4.3.1. Odjeljivanje enantiomera (\pm)-2,3,3-trisupstituiranih marinoepoksida (*rac-11–13*) i (\pm)-*trans*-2,3-disupstituiranih marinoepoksida (*rac-14–16-trans*) primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije

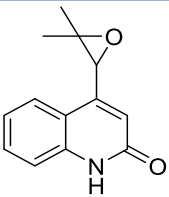
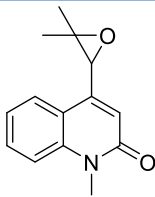
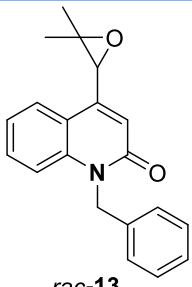
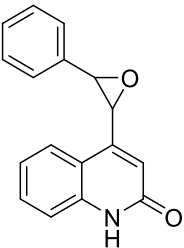
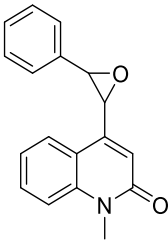
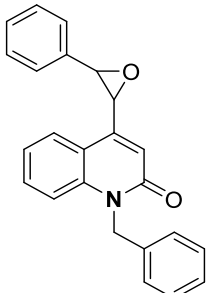
Odjeljivanje enantiomera (\pm)-2,3,3-trisupstituiranih marinoepoksida *rac-11–13* i (\pm)-*trans*-2,3-disupstituiranih marinoepoksida *rac-14–16-trans* ispitano je na imobiliziranim polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama: *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil) celuloznoj nepokretnoj fazi (CHIRAL ART Cellulose-SC) i *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoil) amiloznoj nepokretnoj fazi (CHIRAL ART Amylose-SA). Ispitivanja su provedena primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti uz *n*-heksan/etanol (80/20, v/v), dimetilkarbonat i dimetilkarbonat/alkohol (v/v), te primjenom superkritične fluidne kromatografije uz CO₂/alkohol (v/v) kao nepolarnu pokretnu fazu (kromatografija normalnih faza). U heksanskom binarnom sustavu korišten je isključivo etanol kao alkoholni modifikator. Uz propan-2-ol zabilježeno je dugo vrijeme zadržavanja enantiomera ($t_R > 110$ min) na odabranim kiralnim nepokretnim fazama, dok metanol nije korišten u istraživanju zbog loše mješljivosti s heksanom. U dimetilkarbonatnom binarnom sustavu ispitan je utjecaj dodatka alkoholnog modifikatora (metanol ili etanol) na enantioselektivnost i zadržavanje enantiomera analita. U HPLC modulu, ispitana je mogućnost primjene dimetilkarbonata kao pokretne faze. Dimetilkarbonat ($T_v = 90,3$ °C, $\rho = 1,069$ g mL⁻¹) je nepolarno aprotično otapalo koje se relativno dobro miješa s organskim otapalima (alkoholi, esteri, ketoni), te ima dobru topljivost u vodi (139 g L⁻¹). Literaturno je poznata njegova upotreba u tekućinskoj kromatografiji u

analizi specija primjenom HPLC–ICP–MS tehnike,²⁰⁰ ali ne i upotreba u kiralnoj kromatografiji. Zbog svojih poželjnih svojstava upotrebljava se kao: otapalo u organskim reakcijama, reagens u kemijskim transformacijama i elektrolit u ionskim baterijama.²⁰¹ U SFC modulu, optimizirani su uvjeti odjeljivanja enantiomera marinoepoksida uključujući sastav i volumni udio alkohola u CO₂ pokretnoj fazi. U HPLC modulu, protok pokretne faze bio je 1,0 mL min⁻¹, radna temperatura kolone 35 °C. Mijenjanjem volumnog udjela i vrste alkohola (metanol ili etanol) u CO₂ pokretnoj fazi, određeni su optimalni kromatografski uvjeti za odjeljivanje enantiomera u SFC modulu. Protok pokretne faze bio je 4,0 mL min⁻¹, radna temperatura kolone 35 °C, a povratni tlak 15 MPa. U oba modula snimanje kromatograma provelo se na valnoj duljini 254 nm, te se snimalo UV područje od 190 do 400 nm.

Marinoepoksidi 1. skupine sintetizirani su adicijom sumpornih ilida na C=O vezu odgovarajućih prokiralnih aldehida u prisustvu baze. Sintetizirani epoksidi podijeljeni su, s obzirom na strukturne značajke, u dvije podskupine 1A i 1B što je prikazano u tablici 13. Zajedničko svojstvo spojeva unutar pojedine podskupine je alifatsko-aromska priroda, odnosno di- / tri- supstituiranost epoksidnog prstena. Strukturno najjednostavniji spoj imenovan je kao predstavnik skupine *rac*-**11** i *rac*-**14**, dok su preostala dva spoja *rac*-**12,13** i *rac*-**15,16** njegovi strukturno složeniji analozi. (±)-2,3,3-trisupstituirani marinoepoksidi *rac*-**11–13** podskupine 1A, opisani su jednim enantiomernim parom, dok su (±)-2,3-disupstituirani marinoepoksidi *rac*-**14–16** podskupine 1B zapravo smjese dijastereoizomera, od čega je udio *cis* izomera gotovo zanemariv. *Cis* i *trans* izomeri (±)-2,3-disupstituiranih marinoepoksida nisu uspješno odijeljeni akiralnom kromatografijom na stupcu silikagela, stoga je mogućnost odjeljivanja njihovih enantiomera istražena na uzorcima dijastereomernih smjesa.

U podskupinu 1A pripadaju trisupstituirani marinoepoksidi *rac*-**11–13**, koji sadrže dvije metilne skupine na C3 atomu, pri čemu će se ispitati utjecaj manje voluminoznih skupina na mehanizam kiralnog prepoznavanja. Spojevi *rac*-**14–16** podskupine 1B umjesto dvije metilne skupine sadrže fenilni prsten na C3 atomu, pri čemu je važno odrediti je li za kiralno prepoznavanje odlučujuća voluminoznost fenilnog prstena na C3 ugljikovom atomu epoksidnog prstena [(ne) mogućnost pristajanja u kiralnu šupljinu] ili π–π interakcije sa selektorom nepokretne faze. Spojevi obje opisane podskupine 1A i 1B, na dušikovom atomu interne amidne veze, posjeduju različitu prostornu usmjerenost i voluminoznost, zbog čega posjeduju različit afinitet prema selektoru kiralne nepokretne faze.

Tablica 13. Podjela marinoepoksida 1. skupine u podskupine 1A i 1B

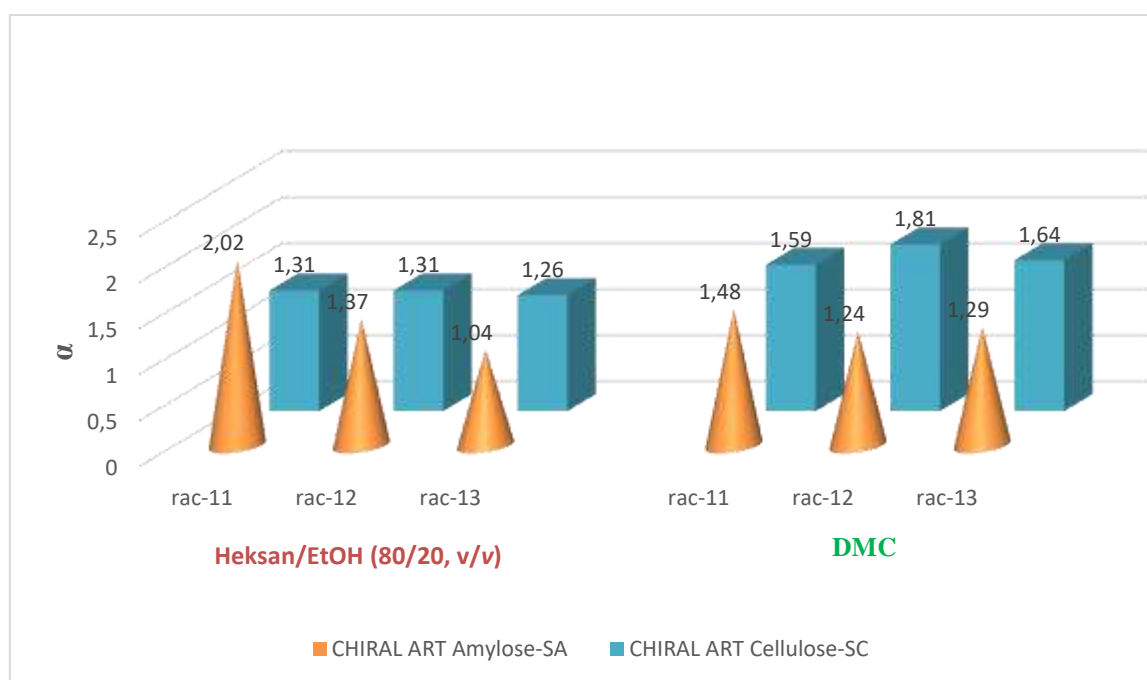
		1. SKUPINA		
Podskupina 1A	 <i>rac-11</i>	 <i>rac-12</i>	 <i>rac-13</i>	
Podskupina 1B	 <i>rac-14</i>	 <i>rac-15</i>	 <i>rac-16</i>	

4.3.1.1. Odijeljivanje enantiomera (\pm)-2,3,3-trisupstituiranih marinoepoksida (*rac-11–13*) podskupine 1A

Marinoepoksidi podskupine A su (\pm)-2,3,3-trisupstituirani marinoepoksidi *rac-11–13*, koji sadrže jedno kiralno središte. Strukturna razlika spojeva podskupine 1A u odnosu na spojeve podskupine 1B, broj je i vrsta supstituenata na C3 ugljikovom atomu epoksidnog prstena. Na C3 ugljikov atom spojeva podskupine 1A, vezane su dvije metilne skupine. Strukturna razlika spojeva unutar podskupine 1A supstituiranost je vodikova atoma interne amidne veze kinolin-2(1*H*)-ona; spoj *rac-11* sadrži atom vodika, *rac-12* sadrži metilnu skupinu, dok spoj *rac-13* sadrži benzilnu skupinu.

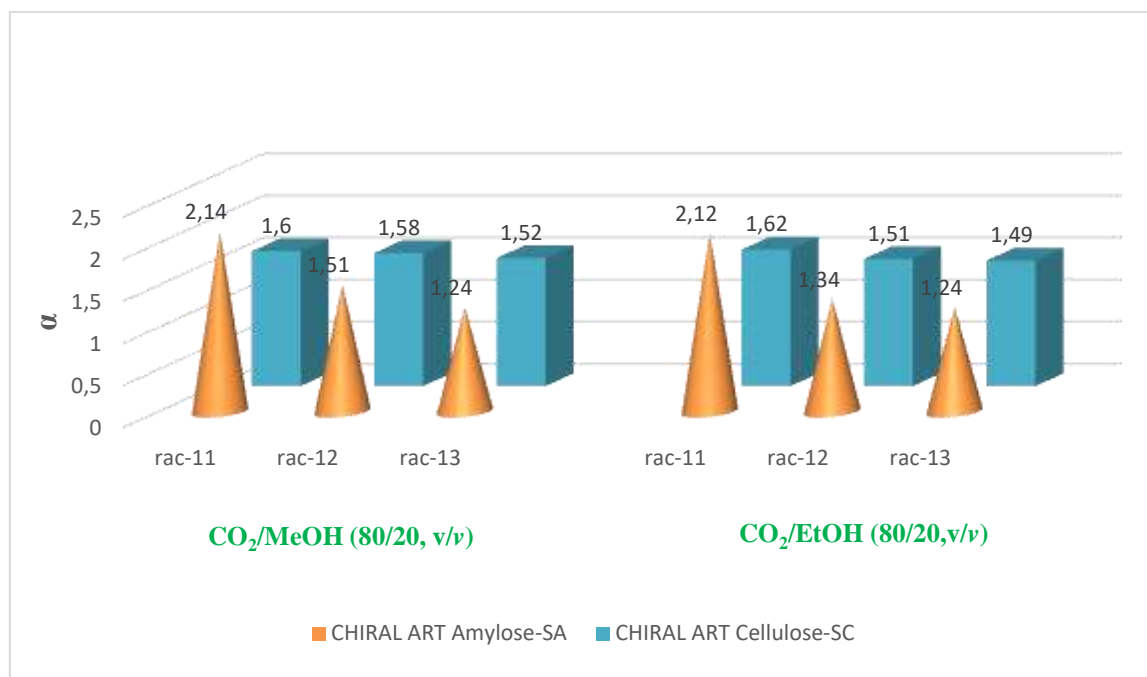
Enantioselektivna analiza spojeva podskupine 1A, provedena je na celuloznoj CHIRAL ART Cellulose-SC i amiloznoj CHIRAL ART Amylose-SA koloni kako bi se ispitaio utjecaj prostorne usmjerenosti i voluminoznosti dviju metilnih skupina na C3 ugljikovom atomu epoksidnog prstena u odnosu na vezanu fenilnu skupinu na istom C3 položaju spojeva *rac-11–13* podskupine 1A u HPLC i SFC modulu. Rezultati enantioselektivne analize spojeva podskupine 1A na celuloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Cellulose-SC i amiloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Amylose-SA prikazani su u tablici D2.1, u Dodatku 2.

Usporedbom rezultata ispitivanja odjeljivanja enantiomera spojeva *rac-11–13* podskupine 1A na celuloznoj i amiloznoj nepokretnoj fazi u HPLC modulu (Slika 32), uočeno je da enantiomeri spojeva *rac-11,12* pokazuju viši stupanj enantioselektivnosti na koloni CHIRAL ART Amylose-SA, dok spoj *rac-13* postiže bolju enantioselektivnost na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC. Zamjenom *n*-heksan/EtOH (80/20, v/v) pokretne faze s dimetilkarbonatom, svi enantiomeri spojeva *rac-11–13* podskupine 1A pokazuju viši stupanj enantioselektivnosti na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC nego na koloni CHIRAL ART Amylose-SA.



Slika 32. Usporedba vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva *rac-11–13* podskupine 1A na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama: CHIRAL ART Cellulose-SC i CHIRAL ART Amylose-SA u HPLC modulu.

Ako usporedimo enantioselektivnost enantiomera spojeva *rac-11–13* na celuloznoj i amiloznoj koloni primjenom superkritične fluidne kromatografije, onda enantiomeri spoja *rac-11* pokazuju bolju enantioselektivnost na koloni CHIRAL ART Amylose-SA, dok enantiomeri sterički zahtjevnijih spojeva *rac-12–13* pokazuju bolju enantioselektivnost na celuloznoj koloni (Slika 33). Različito kiralno prepoznavanje posljedica je nastajanja različitih oblika/veličina kiralnih šupljina koje izgrađuju karbamatne skupine na susjednim glukoznim jedinicama amiloze i celuloze u ovisnosti o pokretnoj fazi.²⁰²



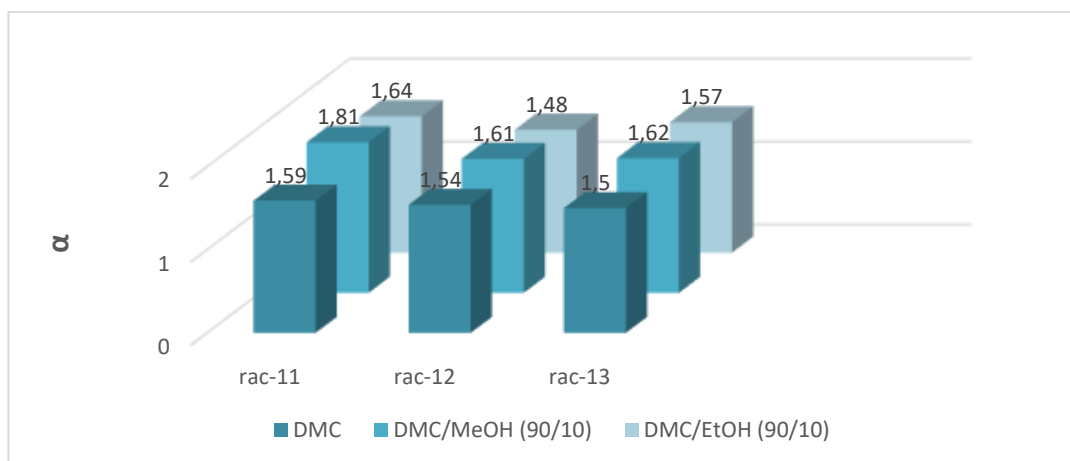
Slika 33. Usporedba vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva *rac-11–13* podskupine 1A na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama: CHIRAL ART Cellulose-SC i CHIRAL ART Amylose-SA u SFC modulu.

Kiralni selektor nepokretne faze CHIRAL ART Cellulose-SC sadrži dvije elektron-odvlačeće skupine koje smanjuju elektronsku gustoću benzenskog sustava i C=O skupine, te povećavaju kiselost vodikova atoma fenilkarbamatne skupine.²⁰³ S obzirom na navedene činjenice, može se pretpostaviti da se kiralno prepoznavanje enantiomera spojeva *rac-11–13* sa selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil)celulozom temelji na vodikovim vezama i dipol–dipol interakcijama, te odbojnim steričkim interakcijama. Povećana kiselost vodikova atoma čini fenilkarbamatnu skupinu kiralnog selektora boljim donorem vodikove veze koja se može ostvariti s C=O skupinom ili kisikovim atomom u epoksidnoj strukturi analita. Smanjena gustoća C=O skupine kiralnog selektora, čini C=O skupinu lošijim akceptorom vodikove veze koja se može ostvariti s vodikovim atomom interne amidne veze u strukturi heterocikličkog prstena kinolin-2(1*H*)-ona spoja *rac-11*. U slučaju ispitivanih spojeva *rac-11–13*, dipol–dipol interakcije mogu se ostvariti preko polarnih C=O---C=O i C–Cl---C=O skupina kiralnog selektora i analita.

Iz prikazanih rezultata, uočava se izvrsno odjeljivanje enantiomera do osnovne linije svih spojeva *rac-11–13* podskupine 1A na odabranoj celuloznoj koloni u HPLC modulu. Usporedbom separacijskih faktora enantiomera svih triju spojeva *rac-11–13* uz *n*-heksan/etanol (80/20, v/v), uočava se da je stupanj enantioselektivnosti gotovo neovisan o supstituentu (H,

CH₃, Bn) na dušikovom atomu interne amidne veze kinolin-2(1*H*)-ona, što ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja ne dominiraju steričke interakcije. Najvjerojatnije su zastupljene vodikove veze i dipol–dipol interakcije. Usporedbom faktora zadržavanja, može se uočiti da enantiomeri spoja *rac*-**12** pokazuju najduže vrijeme zadržavanja na ispitivanoj celuloznoj koloni. Zadržavanje enantiomera proces je u dva koraka. Prvenstveno postoje interakcije između vanjskog dijela helikalne šupljine kiralnog selektora i neke funkcionalne skupine analita. Ta početna interakcija najčešće je vodikova veza. Nakon toga, u drugom koraku, dolazi do konformacijske prilagodbe i steričkih interakcija, te stabilizacije dijastereomernog kompleksa preko preostalih vodikovih veza.²⁰⁴ Metilna skupina zbog kuglaste prostorne strukture sterički ne ometa smještanje kompleksa u kiralnu šupljinu. Stoga, dulje zadržavanje enantiomera spoja *rac*-**12** na koloni u odnosu na preostala dva spoja *rac*-**11** i *rac*-**13**, može biti posljedica jakih dipol–dipol interakcija ili vodikovih veza koje mogu dodatno stabilizirati dijastereomerni kompleks. Elektron-donirajuća metilna skupina na atomu dušika u strukturi analita, čini C=O skupinu boljim akceptorom vodikove veze koja se može ostvariti s vodikovim atomom u fenilkarbamatoj skupini kiralnog selektora. Duže vrijeme zadržavanja enantiomera spoja *rac*-**12** ($R_s = 2,67$) dovelo je do više vrijednosti faktora razlučivanja u odnosu na enantiomere spojeva *rac*-**11** ($R_s = 2,12$) i *rac*-**13** ($R_s = 2,13$). Vrijednosti faktora razlučivanja proporcionalne su s vrijednostima faktora zadržavanja k_1 i k_2 enantiomera.

Primjenom dimetilkarbonata kao pokretne faze, smanjuje se vrijeme zadržavanja enantiomera i povećava se faktor razlučivanja svih spojeva podskupine 1A u nizu: k_1 (20,34; *rac*-**11**) > k_1 (19,15; *rac*-**12**) > k_1 (10,96; *rac*-**13**), odnosno R_s (4,70; *rac*-**12**) > R_s (3,31; *rac*-**11**) > R_s (3,19; *rac*-**13**). Kraće zadržavanje enantiomera i više vrijednosti faktora razlučivanja R_s spojeva *rac*-**11**–**13** može biti rezultat dipol–dipol interakcija otapala i nepokretne faze, pri čemu te interakcije doprinose značajnijem enantioprepoznavanju analita s nepokretnom fazom. Takav rezultat potvrđuje tezu da je doprinos π – π interakcija u procesu kiralne diskriminacije vrlo mali. Dodatkom metanola ili etanola volumnog udjela 10 % u dimetilkarbonatnu pokretnu fazu, povećava se polarnost pokretne faze i smanjuje faktor zadržavanja analita na nepokretnoj fazi u nizu $k_H > k_{CH_3} > k_{Bz}$. To ukazuje na jaku kompeticiju alkohola i analita za interakcijska mjesta na kiralnoj nepokretnoj fazi. Pri volumnom udjelu 10 % metanola ili etanola, α vrijednosti i faktor razlučivanja se smanjuju (Slika 34). Zbog razlike u polarnosti metanola i etanola, enantiomeri spojeva se neznatno duže zadržavaju na nepokretnoj fazi uz etanol kao alkoholni modifikator.

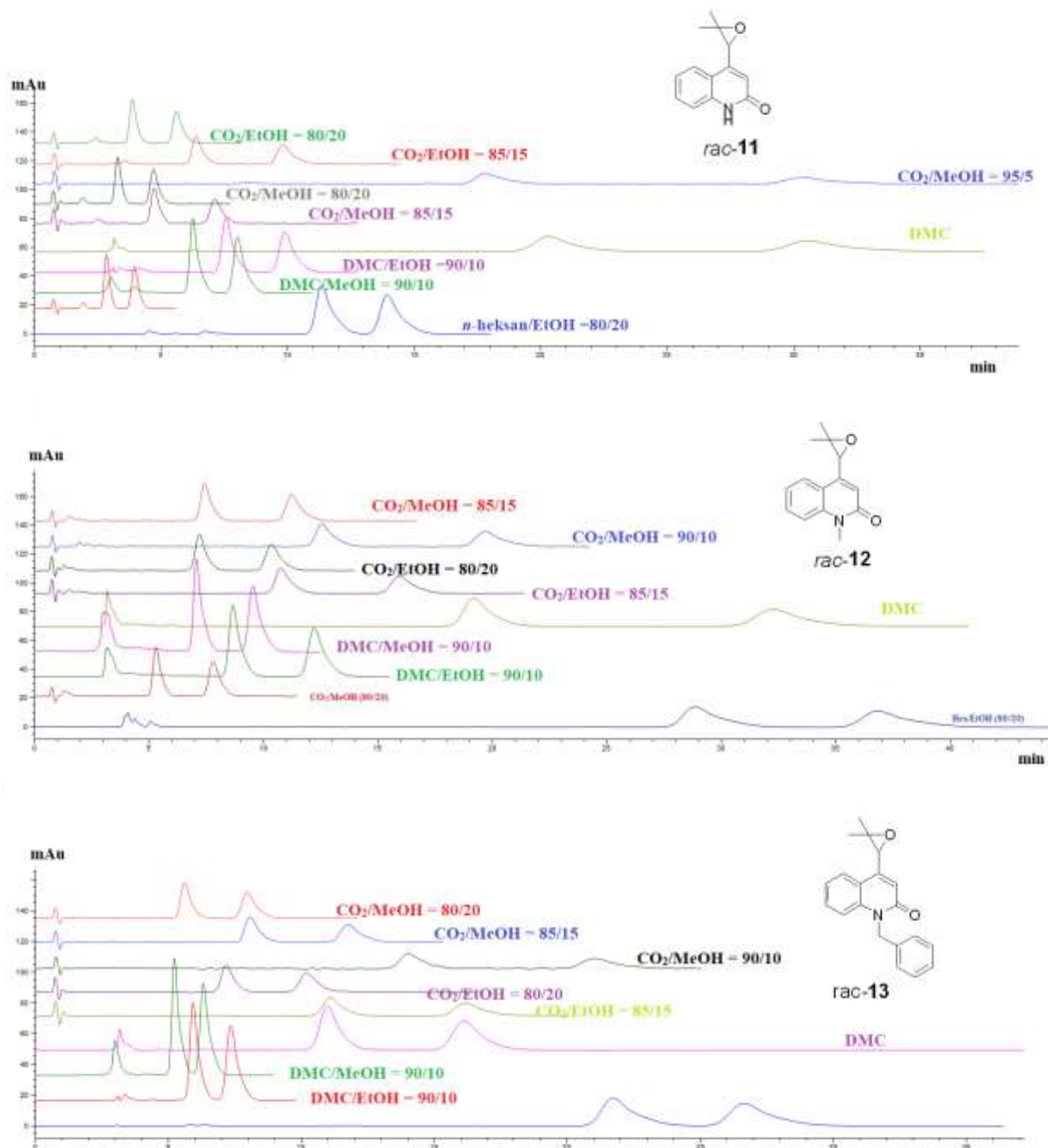


Slika 34. Utjecaj alkoholnih modifikatora u dimetilkarbonatnoj pokretnoj fazi na separacijski faktor α enantiomera spojeva *rac-11–13* na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC.

Primjenom superkritične fluidne kromatografije u odjeljivanju enantiomera spojeva *rac-11–13* podskupine 1A na odabranoj celuloznoj koloni, uočava se izvrsno kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze, neovisno o vrsti i volumnom udjelu alkoholnog modifikatora u CO₂ binarnom sustavu. Svi enantiomeri spojeva *rac-11–13* odjeljuju se do osnovne linije, neovisno o sastavu pokretne faze. Usporedbom faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera *rac-11–13* na celuloznoj koloni, uočava se da se enantiomeri duže zadržavaju uz etanol kao alkoholni modifikator u nizu $k_H > k_{CH_3} > k_{Bz}$. Separacijski faktori enantiomera spojeva *rac-11–13* gotovo su konstanti promjenom vrste i volumnog udjela alkoholnog modifikatora. Najbolju enantioselektivnost pokazuje spoj *rac-11* ($\alpha = 1,62$) uz CO₂/EtOH (80/20, v/v), dok spojevi *rac-12* ($\alpha = 1,58$) i *rac-13* ($\alpha = 1,51$) pokazuju uz CO₂/MeOH (80/20, v/v). Vrijednosti separacijskih faktora neznatno se razlikuju promjenom alkoholnog modifikatora. Usporedbom separacijskih faktora u HPLC i SFC modulu, uočava se da spojevi *rac-12* i *rac-13*, pokazuju bolju enantioselektivnost uz dimetilkarbonat u odnosu na enantioselektivnost dobivenu primjenom CO₂/alkohol (v/v) binarne pokretne faze. Spoj *rac-11* pokazuje bolju enantioselektivnost primjenom superkritične fluidne kromatografije, neovisno o sastavu i volumnom udjelu alkohola u CO₂ pokretnoj fazi. Usporedbom faktora razlučivanja enantiomera spojeva *rac-11–13*, uočava se izvrsno razlučivanje ($R_s > 2,06$) u cijelom ispitivanom području od 20 % do 5 % volumnog udjela alkohola u CO₂ binarnom sustavu. Prikazani rezultati ukazuju da smanjenje volumnog udjela alkohola u CO₂ binarnom sustavu, dovodi do dužeg zadržavanja enantiomera na koloni i boljeg razlučivanja, odnosno boljeg enantioprepoznavanja analita sa selektorom nepokretne faze. Na slici 35 prikazani su kromatogrami enantiomera spojeva

podskupine 1A odijeljenih na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC uz različite sastave pokretne faze u HPLC i SFC modulu.

Slika 35. Odjeljivanje enantiomera marinoepoksida *rac-11–13* na koloni CHIRAL ART



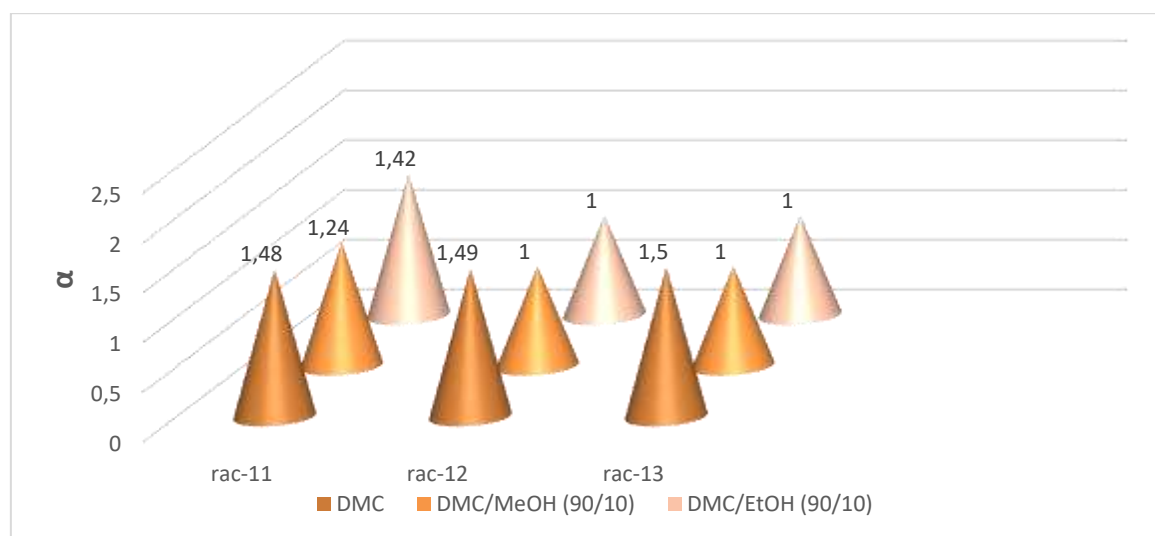
Cellulose-SC. Kromatografski uvjeti: temperatura kolone 35 °C, UV detekcija 254 nm, volumen injektiranja 10 μ L, masena koncentracija analita 0,5 mg mL⁻¹.

Za razliku od vrlo dobrog enantioprepoznavanja spojeva *rac-11–13* primjenom celulozne nepokretne faze, na amiloznoj koloni CHIRAL ART Amylose-SA enantiomeri spojeva *rac-*

12,13 pokazuju nešto lošiju sliku kiralnog prepoznavanja u HPLC i SFC modulu. U slučaju spoja *rac-12*, postignuta je nešto bolja enantioselektivnost uz *n*-heksan/etanol (80/20, v/v) na amiloznoj koloni. Enantiomeri spoja *rac-11* pokazuju bolju enantioselektivnost na odabranoj amiloznoj koloni nego na celuloznoj koloni u oba modula, izuzev jednog slučaja odjeljivanja enantiomera spoja *rac-11* gdje je postignuta bolja enantioselektivnost sa selektorom celulozne kolone uz dimetilkarbonat kao pokretnu fazu.

Kiralni selektor amilozne nepokretne faze CHIRAL ART Amylose-SA sadrži dvije elektron-donirajuće metilne skupine na fenilnom prstenu koje povećavaju elektronsku gustoću benzenskog prstena i C=O skupine, te smanjuju kiselost vodikova atoma fenilkarbamate skupine kiralnog selektora. S obzirom na opisana elektronska svojstva amilozne nepokretne faze, enantioprepoznavanje (\pm)-2,3,3-trisupstituiranih marinoepoksida *rac-11-13* temelji se na stvaranju π - π interakcija i dipol-dipol interakcija, te odbojnim interakcijama koje su uglavnom steričke. U slučaju spoja *rac-11*, može se ostvariti i vodikova veza preko C=O skupine kiralnog selektora i vodikova atoma interne amidne veze u strukturi ispitivanog analita. Ukoliko je spoj *rac-11* u enolnom obliku, utoliko dolazi do mogućnosti stvaranja vodikove veze preko C=O skupine kiralnog selektora i vodikova atoma hidroksilne skupine u strukturi analita. U tom slučaju ne dolazi do stvaranja dipol-dipol interakcija preko C=O skupina kiralnog selektora i analita. Usporedbom separacijskih faktora u HPLC modulu podskupine 1A, uočava se da su veći separacijski faktori spojeva *rac-11,12* postignuti uz binarnu heksansku pokretnu fazu u odnosu na dimetilkarbonat kao pokretnu fazu. Spoj *rac-13* pokazuje bolju enantioselektivnost uz dimetilkarbonat. Usporedbom faktora zadržavanja, uočeno je da se spojevi *rac-12,13*, duže zadržavaju uz *n*-heksan/etanol (80/20, v/v) u odnosu na dimetilkarbonat kao pokretnu fazu, dok spoj *rac-11* pokazuje veći faktor zadržavanja uz dimetilkarbonat. Usporedbom faktora razlučivanja, enantiomeri spoja *rac-11* ($R_s = 4,34$) pokazuju izvrsno kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze u odnosu na spojeve *rac-12,13* ($R_s = 2,24; 1,72$) uz *n*-heksan/EtOH (80/20, v/v) kao pokretnu fazu. Spoj *rac-11* je sterički manje zahtjevan u odnosu na preostala dva spoja *rac-12,13* podskupine 1A te stoga može lakše ući u kiralne šupljine amilozne jedinice. Nastali dijastereomerni kompleksi mogu se dodatno stabilizirati jakom vodikovom vezom, koja nastaje preko vodikova atoma interne amidne veze i C=O skupine kiralnog selektora. Potencijalna vodikova veza može stabilizirati nastali dijastereomerni kompleks, te pri tome poboljšati enantioselektivnost. 20 % volumni udio etanola u heksanskoj binarnoj fazi može također stabilizirati nastalu vodikovu vezu, ali također utjecati na veličinu i oblik kiralne

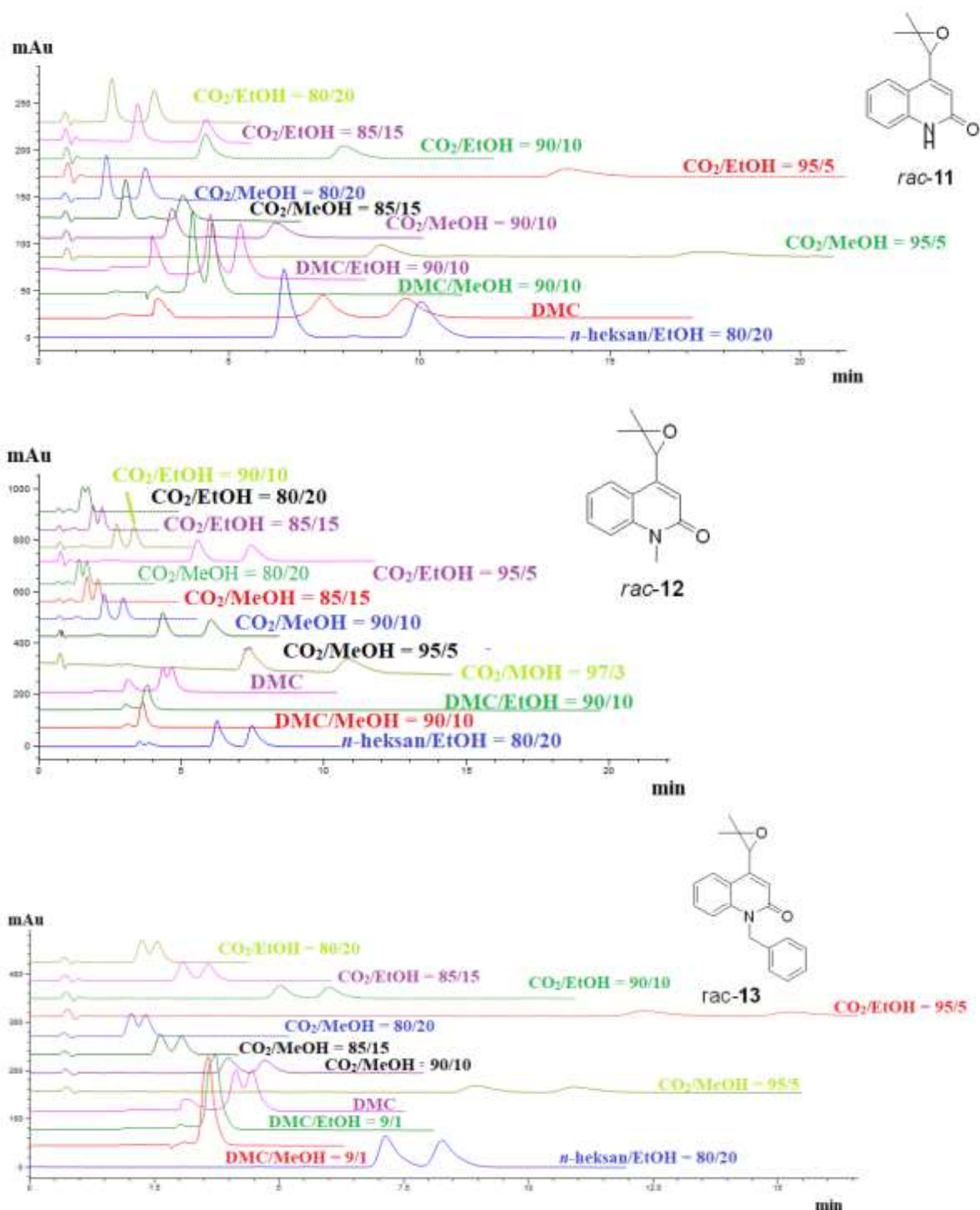
šupljine kojoj više odgovara ulazak sterički manje zahtjevnog spoja *rac-11*. Promjenom pokretne faze iz *n*-heksan/etanol (80/20, v/v) u dimetilkarbonat, enantiomeri spojeva *rac-11,12* pokazuju lošiju enantioselektivnost. To ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju vodikove veze koje se uz 20 % etanol dodatno stabiliziraju i dovode do bolje enantioselektivnosti. Nakon što se ostvare interakcije, dolazi do inkluzije dijastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu.²⁰⁵ U takvom sustavu sterička odbijanja manje su izražena. Enantiomeri spoja *rac-13* pokazuju bolju enantioselektivnost uz dimetilkarbonat kao pokretnu fazu. Ispitan je utjecaj dodatka 10 % volumnog udjela alkohola u dimetilkarbonatnoj pokretnoj fazi (Slika 36). Dodatkom alkohola, uočen je izostanak enantioselektivnosti enantiomera spojeva *rac-12,13*. To može ukazati da postoji velika kompeticija analita i pokretne faze za interakcijska mjesta na nepokretnoj fazi. S obzirom na prethodno postavljene teze, može doći do promjene oblika kiralne šupljine, pri čemu sterički zahtjevniji spojevi nisu prikladni za ulazak u šupljine kiralne nepokretne faze. Također postoji vjerojatnost da pokretna faza stvara intezivnije vodikove veze sa selektorom nepokretne faze, pri čemu nastanak vodikove veze između kiralnog selektora i analita izostaje.



Slika 36. Utjecaj alkoholnih modifikatora u dimetilkarbonatnoj pokretnoj fazi na separacijski faktor α enantiomera spojeva *rac-11–13* na koloni CHIRAL ART Amylose-SA.

Primjenom superkritične fluidne kromatografije u odjeljivanju enantiomera spojeva *rac-11–13* podskupine 1A, uočava se izvrsno odjeljivanje enantiomera spoja *rac-11* do osnovne linije.

Enantiomeri spojeva *rac-11* kraće se zadržavaju uz bolje razlučivanje u SFC modulu u odnosu na HPLC modul. Enantiomeri spoja *rac-12* pokazuju izvrsno odjeljivanje enantiomera u rasponu od 10 % do 3 % volumnog udjela alkohola (metanol ili etanol) do osnovne linije. Usporedbom faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera *rac-11–13* na amiloznoj koloni, uočava se da se enantiomeri duže zadržavaju uz etanol kao alkoholni modifikator u nizu $k_{Bn} > k_H < k_{CH_3}$. Separacijski faktori enantiomera spojeva *rac-11–13* gotovo su konstanti promjenom vrste i volumnog udjela alkoholnog modifikatora. Najbolje vrijednosti separacijskih faktora enantiomera spojeva *rac-11–13* postignute su: spoj *rac-11* ($\alpha = 2,12$) uz CO₂/EtOH (80/20, v/v), spoj *rac-12* ($\alpha = 1,55$) uz CO₂/MeOH (97/3, v/v) i spoj *rac-13* ($\alpha = 1,25$) uz CO₂/EtOH (95/5, v/v). Usporedbom vrijednosti faktora razlučivanja u HPLC i SFC modulu, uočavaju se veće vrijednosti R_s u SFC modulu uz kraće vrijeme zadržavanja enantiomera na kiralnoj nepokretnoj fazi. Najbolje vrijednosti faktora razlučivanja u SFC modulu postignute su: spoj *rac-11* ($R_s = 4,83$) uz CO₂/EtOH (95/5, v/v), spoj *rac-12* ($R_s = 3,01$) uz CO₂/MeOH (97/3, v/v) i spoj *rac-13* ($R_s = 2,04$) uz CO₂/EtOH (95/5, v/v). Prikazani rezultati ukazuju da smanjenje volumnog udjela alkohola u CO₂ u binarnom sustavu, dovodi do dužeg zadržavanja enantiomera na koloni i boljeg razlučivanja, odnosno boljeg enantioprepoznavanja analita sa selektorom nepokretne faze. Na slici 37 prikazani su kromatogrami enantiomera spojeva podskupine 1A odijeljenih na koloni CHIRAL ART Amylose-SA, uz različite sastave pokretne faze u HPLC i SFC modulu.

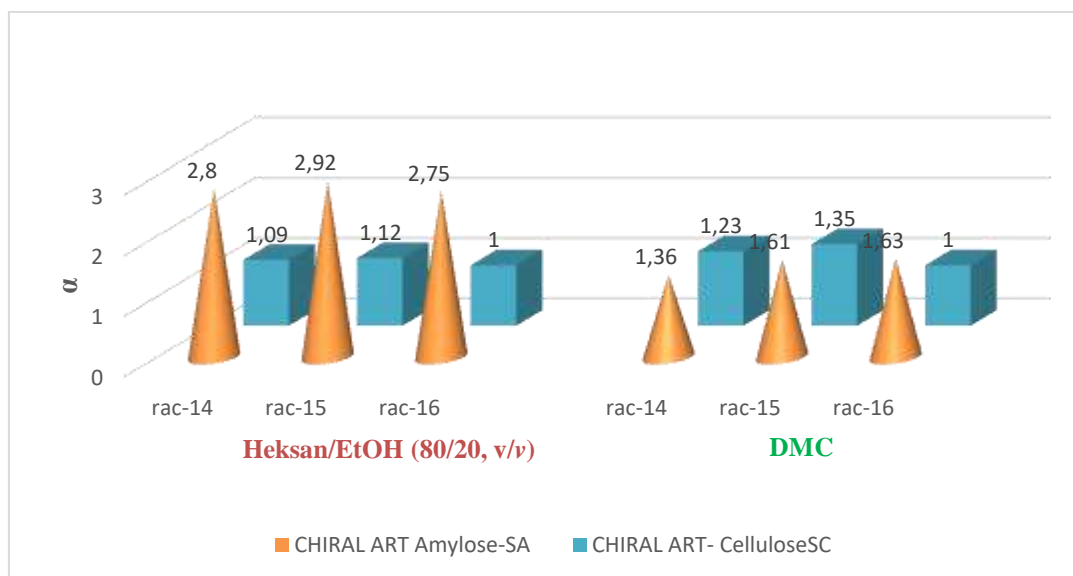


Slika 37. Odjeljivanje enantiomera marinoepoksida *rac-11–13* na koloni CHIRAL ART Amylose-SA primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije. Kromatografski uvjeti: temperatura kolone 35 °C, UV detekcija 254 nm, povratni tlak 15 mPa, volumen injektiranja 10 μ L, masena koncentracija analita 0,5 mg mL⁻¹.

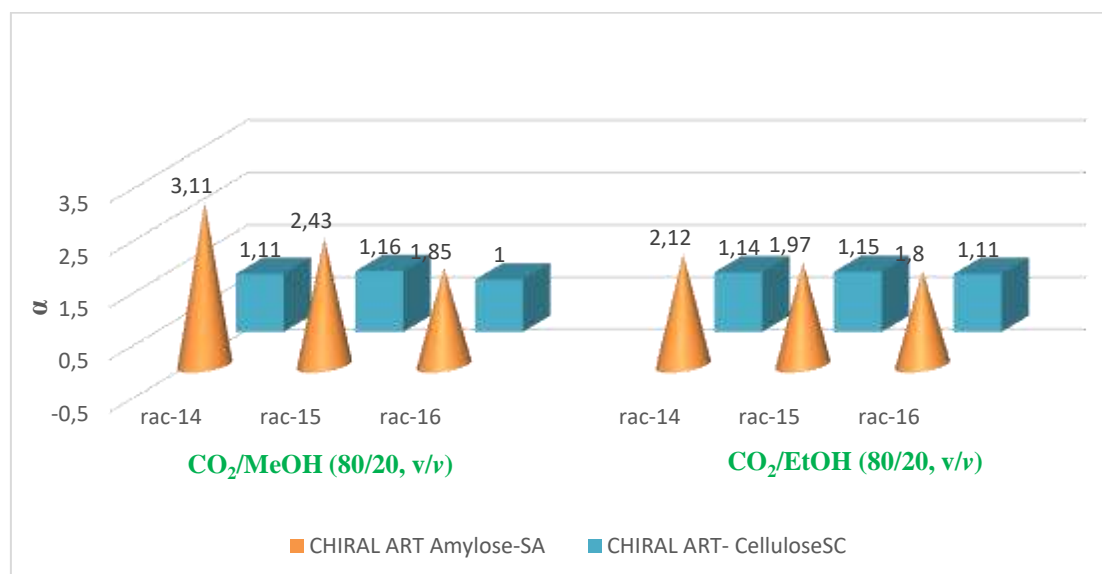
4.3.1.2. Odijeljivanje enantiomera (\pm)-*trans*-2,3-disupstituiranih marinoepoksida *rac*-14–16 podskupine 1B primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije

Enantioprepoznavanje (\pm)-*trans*-2,3-disupstituiranih marinoepoksida *rac*-14–16 temelji se na privlačnim interakcijama poput π - π interakcija, dipol–dipol interakcija i vodikove veze, te odbojnim interakcijama koje su obično steričke. Polarne i π - π interakcije između fenilnih skupina kiralne nepokretne faze i analita mogu imati važnu ulogu u mehanizmu kiralnog prepoznavanja.^{206,207,208} Na sposobnost kiralnog prepoznavanja polisaharidnih nepokretnih faza značajno utječu supstituenti na fenilu ugljikohidratnog polimera. Oni mijenjaju kiselost vodikova atoma u N–H skupini i polarnost C=O karbamatne skupine. Uvođenje elektron-donirajuće metilne skupine ili elektron-odvlačećeg halogena u *meta*- ili *para*- položaju fenilnog prstena, poboljšava se sposobnost kiralnog prepoznavanja kiralne nepokretne faze. Također, skupine imaju ulogu kontroliranja inkluzije analita u kiralnu šuplinu nepokretne faze. Nekovalentna intermolekulska interakcija vodikova veza značajno utječe na strukturu tj. konformaciju molekule o kojoj ovisi inkluzija analita u kiralnu šuplinu nepokretne faze. Postavljena je hipoteza da povećanje polarnosti pokretne faze dovodi do slabije izaženih vodikovih veza između kiralne nepokretne faze i analita. Štoviše, alkoholne molekule udružuju se sa kiralnom nepokretnom fazom i uzrokuju bubrenje kolone (*engl.* swelling), što neposredno utječe na veličinu i oblik kiralne šupljine. Ukoliko dođe do otvaranja kiralnih šupljina, utoliko su inkluzijske interakcije analita umanjene i vrijeme zadržavanja analita se smanjuje.^{208,209,210,211}

Rezultati enantioselektivne analize spojeva podskupine 1B na celuloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Cellulose-SC i amiloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Amylose-SA prikazani su u D2.2., u Dodatku 2.



Slika 38. Usporedba vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva **14–16** podskupine 1B na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama: CHIRAL ART Cellulose-SC i CHIRAL ART Amylose-SA u HPLC modulu.



Slika 39. Usporedba vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva **14–16** podskupine 1B na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama: CHIRAL ART Cellulose-SC i CHIRAL ART Amylose-SA u SFC modulu.

Usporedbom rezultata ispitivanja odjeljivanja enantiomera podskupine 1B na celuloznoj i amiloznoj nepokretnoj fazi, uočeno je da analiti u seriji *rac-14–16* pokazuju viši stupanj

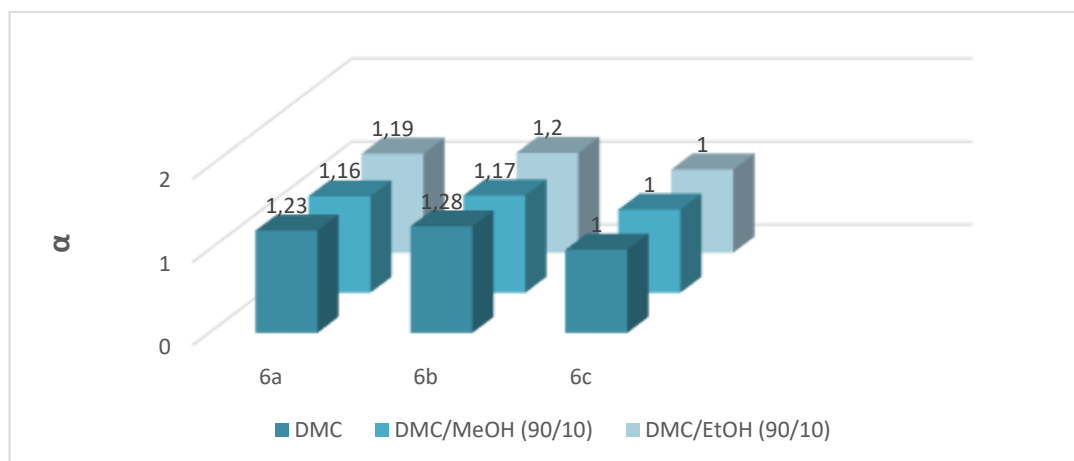
enantioselektivnosti na koloni CHIRAL ART Amylose-SA nego na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC, neovisno o sastavu pokretne faze (Slika 38, Slika 39).

Literaturno je poznato da su najčešće interakcije kiralnog selektora kolone CHIRAL ART Cellulose-SC s analitom dipol–dipol interakcija i vodikova veza.²⁰³ U slučaju ispitivanih spojeva *rac-14–16*, dipol–dipol interakcije mogu se ostvariti preko polarnih C=O---C=O i C-Cl---C=O skupina kiralnog selektora i analita. Zbog mogućnosti uključenosti najmanje četiri pola u tim interakcijama, dovelo je do pretpostavke da su takve interakcije prvenstveno dipolarne.^{212,213} Prema postavljenoj tezi, funkcijska skupina u povoljnoj interakciji s karbonilnom skupinom mora imati dipol. Ukoliko ne dolazi do stvaranja dipola uslijed nepovoljnog položaja dviju skupina, utoliko se može govoriti o intimnim interakcijama tj. kratkom kontaktu ili $n \rightarrow \pi^*$ interakcijama.²¹⁴ Nekovalentna intermolekulska vodikova veza može se ostvariti interakcijom preko NH skupine kiralnog selektora s C=O skupinom ili s kisikom epoksidnog prstena u strukturi analita. U slučaju spoja *rac-14* postoje još dodatne dvije mogućnosti s obzirom na literaturni podatak da se kinolin-2(1*H*)-oni mogu javljati u dva tautomerna oblika.²¹⁵ Ukoliko se molekula nalazi u keto-obliku, utoliko možemo govoriti o vodikovoj vezi preko NH skupine interne amidne veze u strukturi analita i C=O skupine kiralnog selektora. Ako se molekula nalazi u enolnom obliku, tada vodikovu vezu može ostvariti preko OH skupine u strukturi analita s C=O skupinom kiralnog selektora.

Rezultati enantioselektivne analize spojeva *rac-14–16* podskupine 1B, na celuloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Cellulose-SC, pokazuju bolje kiralno prepoznavanje spojeva *rac-14* i *rac-15* sa selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil) celulozom u odnosu na njihov strukturni analog *rac-16* kod kojeg je uočen izostanak enantioselektivnosti primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti, neovisno o sastavu pokretne faze. Strukturna razlika među spojevima samo je u veličini skupine vezane na internu amidnu vezu. Možemo pretpostaviti da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja, izuzev velikog doprinosa dipol–dipol interakcija i vodikove veze, značajan doprinos imaju i odbojne, odnosno steričke interakcije. Moguće je da su manje skupine poput atoma vodika i metilne skupine vezane na amidnoj vezi sterički povoljnije za ostvarivanje vodikove veze slobodnog elektronskog para na kisikovu atomu i odgovarajućeg vodikova atoma na selektoru nepokretne faze. Nastala vodikova veza uzrok je dodatnoj stabilizaciji dijastereomernog kompleksa i boljeg kiralnog prepoznavanja enantiomera spoja *rac-14* i *rac-15* nego spoja *rac-16* sa selektorom kolone.

Primjenom *n*-heksan/etanol (80/20, v/v) pokretne faze, postiže se djelomično odjeljivanje enantiomera spojeva *rac*-**14,15**, uz dugo zadržavanje enantiomera spoja *rac*-**15** ($k_1 = 36,26$, $k_2 = 40,36$) na ispitivanoj celuloznoj koloni. Usporedbom faktora razlučivanja spojeva *rac*-**14** i *rac*-**15**, uočava se da njihove R_s vrijednosti slijede niz: R_s (*rac*-**15**) > R_s (*rac*-**14**). Takvi rezultati doprinose tezi da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju dipol–dipol interakcije i vodikova veza. S obzirom na strukturnu razliku među spojevima podskupine 1B, može se pretpostaviti da su dominantne interakcije koje utječu na mehanizam kiralnog prepoznavanja ostvaruju preko C=O skupine u strukturi analita. Budući da spoj *rac*-**15** pokazuje najbolju enantioselektivnost, neovisno o sastavu pokretne faze u HPLC modulu, može se zaključiti da veliki utjecaj ima elektron-donirajuća metilna skupina koja povećava elektronsku gustoću interne amidne veze, te time doprinosi stvaranju jačih interakcija: dipol–dipol interakcija preko C=O skupine u strukturi analita sa C=O ili C–Cl skupinama kiralnog selektora, te vodikove veze preko C=O skupine analita s NH skupinom fenilkarbamate jedinice kiralnog selektora.

Primjenom dimetilkarbonata kao pokretne faze, postignuti su najbolji rezultati odjeljivanja enantiomera, te enantiomeri dvaju spojeva *rac*-**14** ($\alpha = 1,23$; $R_s = 1,49$) i *rac*-**15** ($\alpha = 1,28$; $R_s = 1,85$) pokazuju sličnu enantioselektivnost. Dodatkom 10 % metanola ili 10 % etanola pokretnoj fazi, smanjuje se stupanj kiralnog prepoznavanja sa selektorom nepokretne faze CHIRAL ART Cellulose-SC (Slika 40). Također treba primjetiti da su vremena zadržavanja analita na koloni, što se može vidjeti promatrajući podatke k_1 i k_2 , puno kraća u odnosu na vremena zadržavanja enantiomera uz dimetilkarbonat kao pokretnu fazu. Planarna karbonilna skupina spojeva podskupine 1A, posjeduje relativno veliki dipolni moment i stoga ima veliku solvacijsku moć. Polarnije molekule metanola ili etanola okružuju karbonilnu skupinu analita i ona postaje sterički ometena, što može utjecati na slabije interakcije sa selektorom kiralne nepokretne faze.



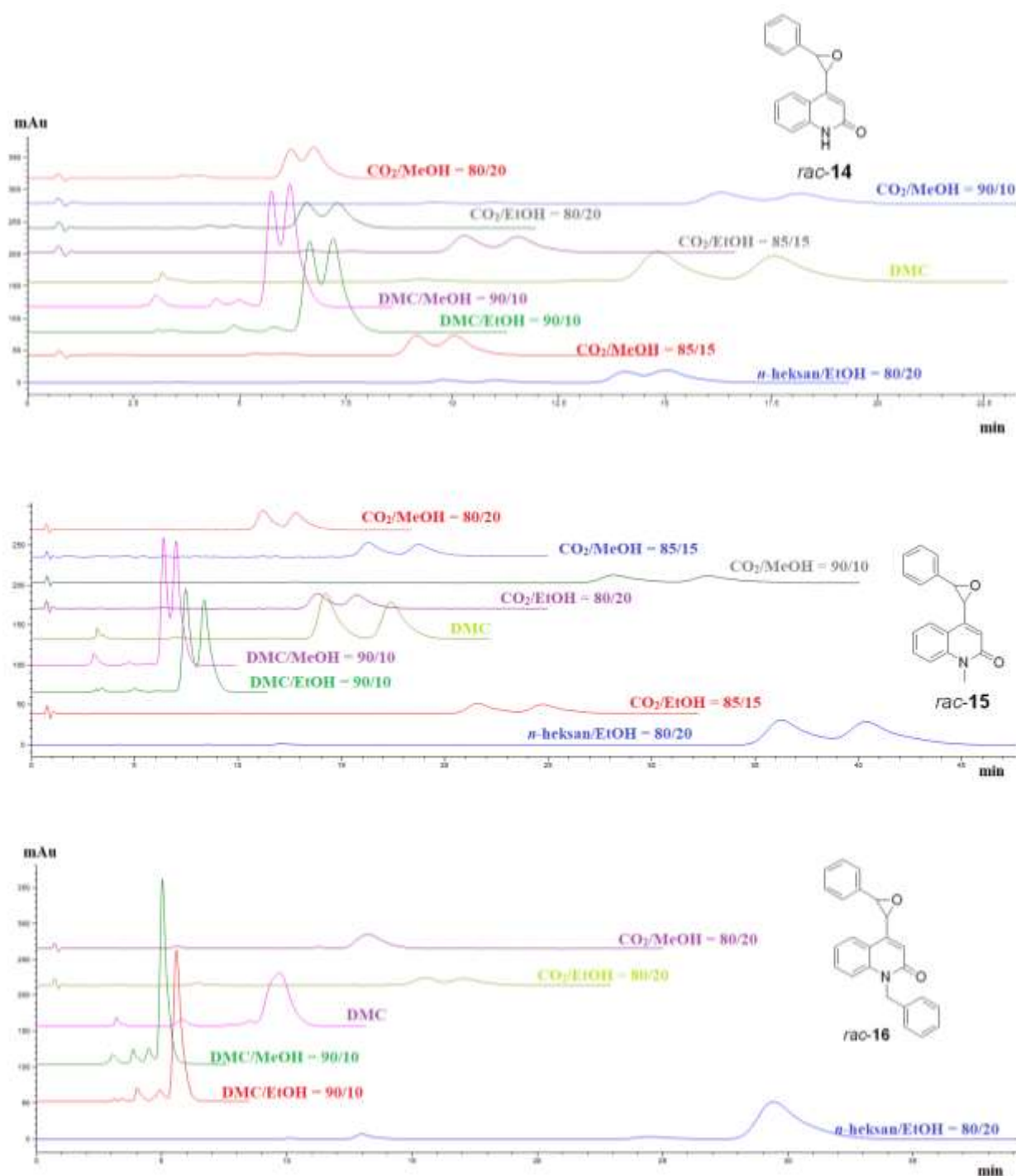
Slika 40. Utjecaj alkoholnog modifikatora u dimetilkarbonatnoj pokretnoj fazi na separacijski faktor α enantiomera spojeva *rac*-**14–16** na CHIRAL ART Cellulose-SC.

Pirkle i Welch proučavali su utjecaj alkoholnog modifikatora na enantioselektivnost i utvrdili su da utjecaj modifikatora ovisi o strukturi analita.^{216,217,218} Grinberg i sur. su na temelju VCD uočili konformacijske promjene kiralne nepokretne faze u prisutnosti polarnih otapala. Konformacije se drastično mijenjaju ovisno o koncentraciji i utječu na oblik i veličinu kiralnih šupljina, odnosno na mehanizam kiralnog prepoznavanja.²¹⁹ Primjenom etanola ($R_s = 0,98$; $k_1 = 2,10$; $k_2 = 2,49$) postignuto je bolje kiralno prepoznavanje i neznatno duže vrijeme zadržavanja enantiomera analita na koloni nego s metanolom ($R_s = 0,69$; $k_1 = 0,93$; $k_2 = 1,08$). Apsorptivnost analita na kiralnoj nepokretnoj fazi zajedno s faktorom zadržavanja, povećava se smanjenjem volumnog udjela alkoholnog modifikatora. Smanjenjem polarosti pokretne faze, značajno se povećava interakcija između enantiomera analita i nepokretne faze, što uzrokuje duža vremena zadržavanja enantiomera i njihovo bolje odjeljivanje.^{220,221} Duža vremena zadržavanja mogu posljedično dovesti do pojave kružne i longitudinalne difuzije.²⁰⁹

Primjenom superkritične fluidne kromatografije nije postignuto bolje kiralno prepoznavanje spojeva *rac*-**14** i *rac*-**15** s kiralnim selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil)celulozom, neovisno o vrsti i volumnom udjelu alkohola u CO₂ binarnom sustavu. Prema dobivenim rezultatima, uočeno je da najbolju enantioselektivnost pokazuje spoj *rac*-**15** koji ima vezanu metilnu skupinu na internoj amidnoj vezi. Usporedbom faktora zadržavanja prvo izlazećih enantiomera spojeva *rac*-**14–16** na odabranoj celuloznoj nepokretnoj fazi, uočava se najdulje zadržavanje enantiomera spoja *rac*-**16** s benzilnom skupinom vezanom na internu amidnu vezu unutar strukture kinolin-2(1*H*)-ona, dok se enantiomeri spoja *rac*-**14** s nezaštićenom amidnom skupinom najkraće zadržavaju na navedenoj nepokretnoj fazi. Ispitivanjem utjecaja dodatka

alkoholnog modifikatora u CO₂ pokretnoj fazi, utvrđeno je da spojevi *rac-14,15* pokazuju bolju enantioselektivnost dodatkom etanola u odnosu na više polaran metanol. Smanjenje volumnog udjela etanola u CO₂ binarnom sustavu dovodi do lošije enantioselektivnosti spojeva *rac-14,15*. Enantiomeri spoja *rac-16*, kod kojeg je zabilježen izostanak enantioselektivnosti u HPLC modulu, djelomično se odjeljuju isključivo korištenjem CO₂/EtOH (80/20, v/v) kao pokretne faze uz faktor razlučivanja $R_s = 0,75$ i faktor zadržavanja $k_1 = 15,50$ prvoizlazećeg enantiomera. Također je uočeno da smanjenjem volumnog udjela alkohola u CO₂ binarnom sustavu, dovodi do duljeg zadržavanja analita, a pri tome i do većih vrijednosti faktora razlučivanja R_s .²⁰⁹ Enantiomeri spoja *rac-16* uz CO₂/EtOH (85/15, v/v) pokazuju neznatno bolju enantioselektivnost uz faktor razlučivanja $R_s = 1,20$ i faktor zadržavanja $k_1 = 25,26$ prvoizlazećeg enantiomera u odnosu na CO₂/EtOH (80/20, v/v) kao pokretnu fazu. Zanimljivo je uočiti da uz CO₂/MeOH (80/20, v/v) dolazi do izostanka enantioselektivnosti. Promjena polarnosti i volumnog udjela alkohola dovoljna je za promjenu geometrije i/ili veličine kiralnih šupljina, što može utjecati na mehanizam kiralnog prepoznavanja.^{206,207,222,223,224} Polarniji alkoholi, stvarat će jače vodikove veze s kiralnom nepokretnom fazom, uslijed činjenice da mogu lakše difundirati u dobro definiranu kiralnu šupljinu nepokretne faze.^{206,218} Stoga će manje stabilni kompleksi nastati, što će dovesti do nižih R_s i α . Sukladno dobivenim rezultatima u HPLC modulu, uočeno je da se enantiomeri analita kraće zadržavaju uz metanol u CO₂ binarnom sustavu, nego uz etanol na odabranoj celuloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi.

Usporedbom dobivenih rezultata enantioselektivne analize, uočeno je da enantiomeri spoja *rac-15* s metilnom skupinom vezanom na internu amidnu vezu kinolin-2(1*H*)-ona, pokazuju najbolje kiralno prepoznavanje sa kiralnim selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil) celulozom u HPLC i SFC modulu. U HPLC modulu, enantiomeri spoja *rac-15* najduže se zadržavaju uz najbolju enantioselektivnost, dok je najduže vrijeme zadržavanja u SFC modulu zabilježeno kod enantiomera spoja *rac-16* uz najlošiju enantioselektivnost. Usporedbom rezultata oba modula, uočeno je da spoj *rac-15* pokazuje najbolje rezultate odjeljivanja ($\alpha = 1,28$, $R_s = 1,85$) uz dimetilkarbonat kao pokretnu fazu.



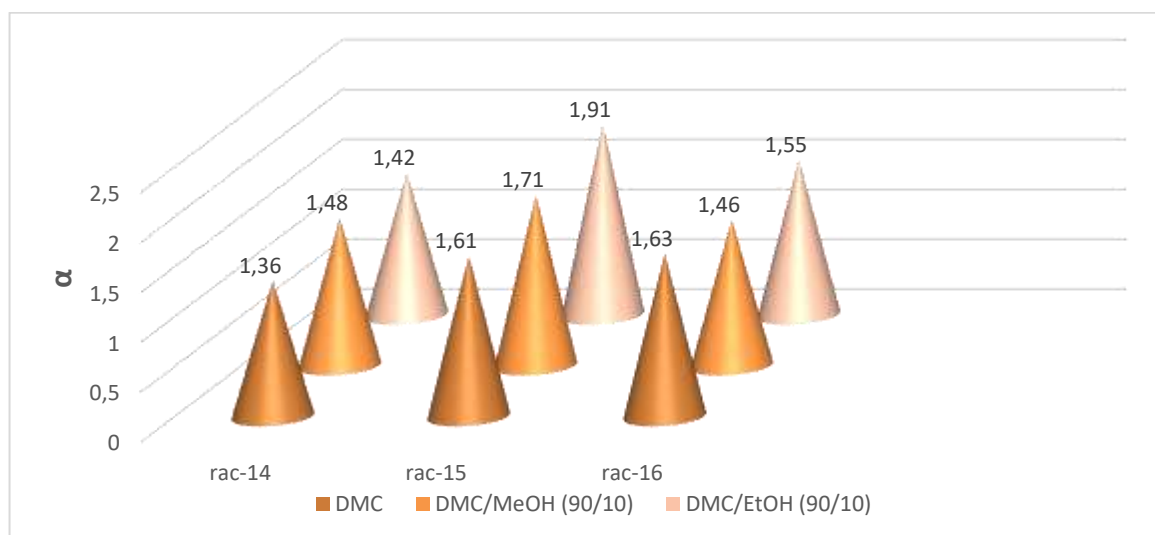
Slika 41. Odjeljivanje enantiomera marinoepoksida *rac-14–16* na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkrične fluidne kromatografije. Kromatografski uvjeti: temperatura kolone 35 °C, UV detekcija 254 nm, povratni tlak 15 mPa, volumen injektiranja 10 μ L, masena koncentracija analita 0,5 mg mL⁻¹.

Kada se u enantioselektivnom sustavu promjeni tip kiralne nepokretne faze, iz celulozne CHIRAL ART Cellulose-SC u amiloznu kolonu CHIRAL ART Amylose-SA, mijenja se mehanizam kiralnog prepoznavanja. U amilozi, geometrija α -1,4-glikozidne veze između *D*-(+)-glukočnih jedinica uzrokuje prirodno savijanje povezanih glukopiranoza u šuplju spiralnu zavojnicu. Takvom prostornom organiziranošću, glukozne jedinice pravilno su raspoređene i prave dobro definirane kiralne šupljine.²²⁵ Literaturno je poznato da su najčešće interakcije kiralnog selektora kolone CHIRAL ART Amylose-SA s analitom dipol–dipol, π – π interakcije, vodikova veza i steričke interakcije-inkluzija.²²⁶ U slučaju ispitivanih spojeva *rac*-**14–16**, dipol–dipol interakcije mogu se ostvariti preko polarnih C=O---C=O skupina kiralnog selektora i analita. Vezanje dvije elektron-donirajuće metilne skupine na fenilkarbamatnu skupinu kiralnog selektora dovodi do povećane elektronske gustoće fenilnog prstena, što za posljedicu može dati intenzivnije stvaranje π – π interakcija. π – π interakcije mogu se ostvariti preko fenilnog prstena kiralnog selektora i fenilnog prstena vezanog na C3 ugljikov atom epoksidnog prstena ili kinolin-2(1*H*)-ona u strukturi analita. Također, metilne skupine uzrokuju smanjenje kiselosti vodikova atoma polarne karbamatne skupine, što dovodi do stvaranja potencijalno slabije vodikove veze. Potencijalno jača vodikova veza može se jedino ostvariti u slučaju spoja *rac*-**14** preko C=O skupine kiralnog selektora i vodika amidne skupine u strukturi analita kada se on nalazi u keto-obliku. Ukoliko se spoj *rac*-**14** nalazi u enolnom obliku, utoliko postoji mogućnost za stvaranjem vodikove veze preko C=O skupine kiralnog selektora i atoma vodika hidroksilne skupine u strukturi analita. Osim što utječu na kiselost vodikova atoma fenilkarbamatne skupine, metilne skupine također imaju ulogu da kontroliraju ulazak enantiomera u kiralnu šupljinu amilozne kiralne nepokretne faze.²²⁷

Na temelju prikazanih rezultata uočava se izvrsno enantioprepoznavanje spojeva *rac*-**14–16** sa selektorom *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoi)amiloza primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije. Svi analiti u seriji *rac*-**14–16** podskupine 1B pokazuju bolju sliku kiralnog prepoznavanja i kraće vrijeme zadržavanja enantiomera, neovisno o sastavu pokretne faze u HPLC i SFC modulu u odnosu na CHIRAL ART cellulose-SC. Rezultati odjeljivanja spojeva *rac*-**14–16** na amiloznoj nepokretnoj fazi, ukazuju da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja spojeva osim nekovalentnih dipol–dipol i π – π interakcija, značajan doprinos ima i smještanje diastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu selektora, odnosno prostorna sukladnost enantiomera s kiralnom nepokretnom fazom. Primjenom *n*-heksan/etanol (80/20, v/v) binarne pokretne faze, enantiomeri svih spojeva *rac*-

14–16 pokazuju izvrsnu enantioselektivnost, te njihove α vrijednosti slijede niz: α (2,92; *rac-15*) > α (2,80; *rac-14*) > α (2,75; *rac-16*). Uspoređivane su vrijednosti faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera *rac-14–16*, kao mjere različitih doprinosa selektivnih i neselektivnih zadržavanja enantiomera na nepokretnoj fazi. Rezultati pokazuju da zadržavanje enantiomera slijedi niz: k_1 (8,65; *rac-15*) > k_1 (8,59; *rac-14*) > k_1 (8,45; *rac-16*). Iz toga se može zaključiti da se mehanizam kiralnog prepoznavanja spojeva podskupine 1B sa selektorom amilozne nepokretne faze temelji na jakim π – π i dipol–dipol interakcijama. Najbolje kiralno prepoznavanje pokazao je spoj *rac-15* sa metilnom skupinom vezanom na internu amidnu vezu kinolin-2(1*H*)-ona uz faktor razlučivanja $R_s = 8,74$. Manje sterički zahtjevan spoj *rac-14* pokazuje lošije kiralno prepoznavanje uz faktor razlučivanja $R_s = 6,30$, dok sterički zahtjevniji spoj *rac-16* pokazuje veći faktor razlučivanja $R_s = 7,23$, odnosno bolje kiralno prepoznavanje. Kako je tercijarna struktura amiloze drugačija od celulozne, za očekivati je da će i mehanizam kiralnog prepoznavanja biti različit. Pritom viša struktura amilozne uzvojnice u ovom slučaju više pogoduje ulasku enantiomera spoja u odnosu na manje sterički zahtjevan spoj.²²² Primjenom dimetilkarbonata kao pokretne faze, dobiveni su lošiji rezultati odjeljivanja enantiomera uz kraće zadržavanje svih analita podskupine 1B na amiloznoj nepokretnoj fazi. Najviša opažena vrijednost separacijskog faktora iznosi $\alpha = 1,63$ za spoj *rac-16*, dok spoj *rac-15* pokazuje neznatno lošiju enantioselektivnost $\alpha = 1,61$. Takav rezultat ukazuje da su u mehanizmu kiralnog prepoznavanja π – π interakcije dominantan proces nego smještanje dijastereomernog kompleksa u šupljinu kiralne nepokretne faze ili dipol–dipol interakcije. Ispitivanjem utjecaja različitih volumnih udjela alkohola u dimetilkarbonatnoj pokretnoj fazi na odjeljivanje enantiomera spoja *rac-14–16*, uočava se ovisnost kiralnog prepoznavanja analita i nepokretne faze o udjelu i tipu alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Dodatkom 10 % metanola, odnosno 10 % etanola, smanjuje se faktor zadržavanja i faktor razlučivanja spojeva *rac-14–16*. Vrijednosti separacijskih faktora spojeva *rac-14* i *rac-15* više su uz dodatak alkoholnog modifikatora u dimetilkarbonatnu pokretnu fazu (Slika 42). Veliki udio alkohola u pokretnoj fazi mijenja oblik i veličinu kiralne šupljine polisaharidne nepokretne faze. Spoj *rac-14* pokazuje neznatno bolju enantioselektivnost dodatkom metanola, uz duže vrijeme zadržavanja enantiomera nego s etanolom. S druge strane, enantiomeri spojeva *rac-15* i *rac-16* pokazuju neznatno bolje enantioprepoznavanje uz dodatak etanola nego dodatkom metanola. Alkohol sjeda blizu ili unutar same kiralne šupljine na nepokretnoj fazi mijenjajući steričku okolinu šupljine, pa prema tome i stereoselektivnost. Dobiveni rezultati ukazuju da kiralno

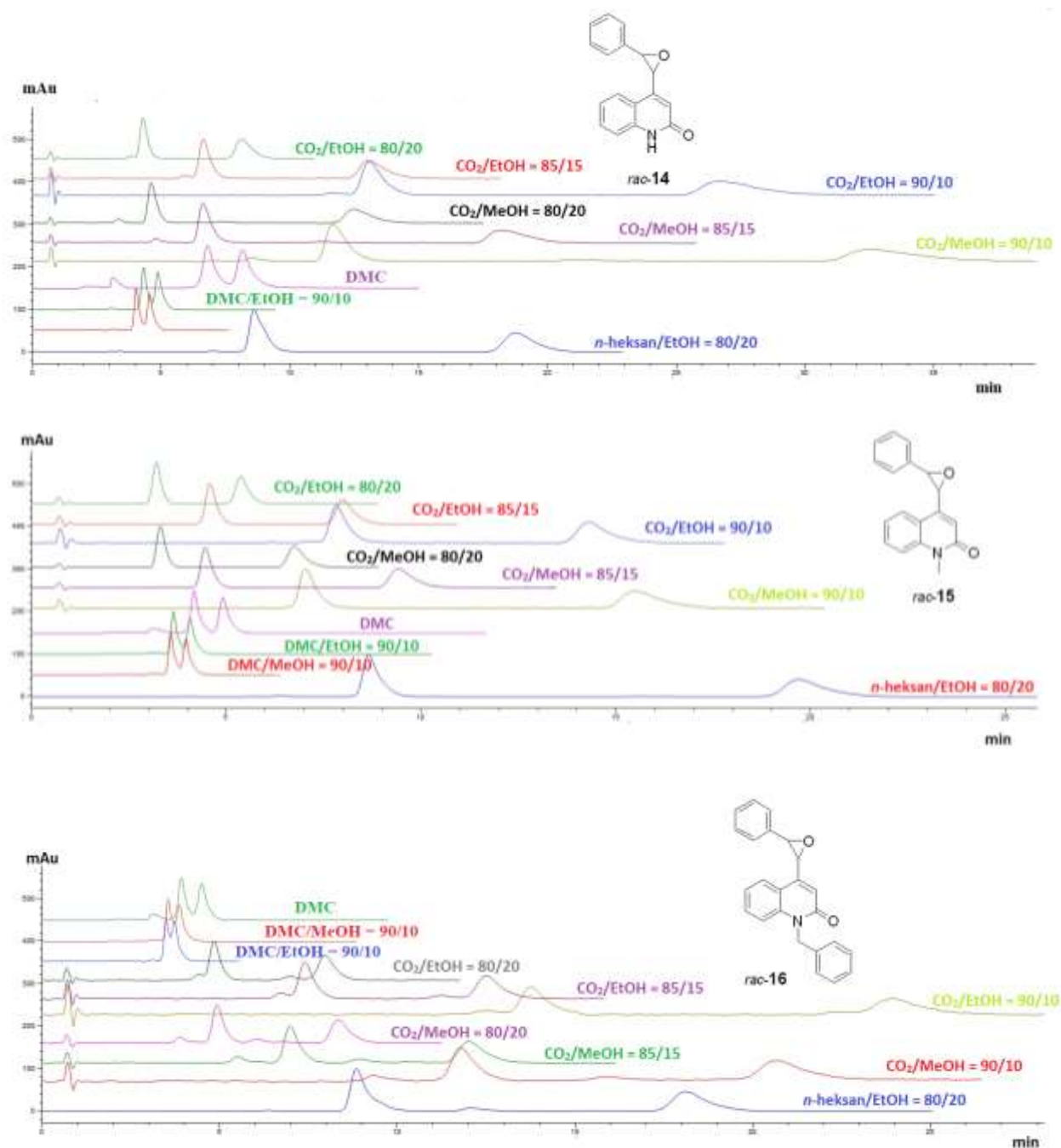
prepoznavanje enantiomera spojeva *rac*-**14**–**16** sa selektorom ispitivane amilozne nepokretne faze ovisi o supstituentima na dušikovom atomu interne amidne veze, pokretnoj fazi, ali isto tako i o supramolekularnoj strukturi nepokretne faze.



Slika 42. Utjecaj alkoholnih modifikatora u dimetilkarbonatnoj pokretnoj fazi na separacijski faktor α enantiomera spojeva **14**, **15** i **16** na koloni CHIRAL ART Amylose-SA.

U SFC modulu postignuta je bolja enantioselektivnost u odnosu na HPLC modul na odabranoj amiloznoj nepokretnoj fazi. Kao što je prikazano u tablici D2.2., Dodatak 2, svi spojevi iz serije podskupine 1B, izvrsno se odjeljuju do osnovne linije uz visoku selektivnost i razlučivanje, te kraće vrijeme zadržavanja enantiomera analita na amiloznoj koloni uz CO₂ binarnu pokretnu fazu. Ako se uspoređi enantioprepoznavanje spojeva *rac*-**14**–**16** podskupine 1B, tada se može reći da najbolje kiralno prepoznavanje sa selektorom *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoil)amiloza pokazuje spoj *rac*-**14** koji ima slobodnu amidnu vezu u kinolin-2(1*H*)-onu, neovisno o sastavu i volumnom udjelu alkoholnog modifikatora u CO₂ binarnom sustavu. Dok najlošije enantioprepoznavanje ostvaruje sterički zahtjevniji spoj *rac*-**16** koji ima vezanu benzilnu skupinu na dušiku interne amidne veze. Rezultat ukazuje da promjena oblika kiralne šupljine manje pogoduje sterički zahtjevnijem spoju *rac*-**16**. Usporedbom faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera spojeva *rac*-**14**–**16** na odabranoj amiloznoj nepokretnoj fazi, uočava se najdulje zadržavanje enantiomera spoja *rac*-**16** s nezaštićenom internom amidnom vezom, dok se enantiomeri spoja *rac*-**16** sa benzilnom skupinom na dušiku interne amidne veze najkraće zadržavaju na opisanoj amiloznoj nepokretnoj fazi. Različito kiralno prepoznavanje

posljedica je nastajanja različitih oblika/veličina kiralnih šupljina koje izgrađuju karbamatne skupine na susjednim glukoznim jedinicama amiloze i celuloze.²⁰² To se događa u slučajevima kada se kiralno prepoznavanje analita događa preko karbamatnih skupina dviju ili više susjednih glukoznih jedinica duž polisaharidnog lanca. Ispitivanjem utjecaja dodatka alkoholnog modifikatora u CO₂ pokretnu fazu, utvrđeno je da svi spojevi *rac-14–16* podskupine 1B pokazuju bolju enantioselektivnost dodatkom metanola u odnosu na manje polaran etanol. Enantioselektivni kromatografski sustav s metanolom kao alkoholnim modifikatorom djelotvorniji je za odjeljivanje enantiomera svih triju spojeva. Usporedbom separacijskih faktora i faktora razlučivanja uz CO₂/MeOH (80/20, v/v) kao pokretnu fazu, spoj *rac-14* pokazuje najbolju enantioselektivnost $\alpha = 3,11$ uz najviši faktor razlučivanja $R_s = 6,33$. Vezanjem metilne i benzilne skupine na dušikov atom interne amidne veze spojeva *rac-15,16*, opada enantioselektivnost. Sterički zahtjevniji spoj *rac-16* pokazuje najlošiju enantioselektivnost unutar podskupine 1B na ispitivanoj amiloznoj koloni. Također je uočeno da smanjenje volumnog udjela alkohola u binarnom sustavu, uzrokuje duže zadržavanje enantiomera spojeva *rac-14–16* na koloni, uz povećanje faktora razlučivanja. Najbolja selektivnost i razlučivanje postignuto je uz CO₂/MeOH (90/10, v/v) za sve spojeve u seriji podskupine 1B. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da je u mehanizmu kiralnog prepoznavanja stereoselektivno smještanje dijastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu dominantniji proces nego π - π ili dipol-dipol interakcije. Voluminozan planarni benzilni supstituent spoja *rac-16* sterički je manje prikladan za postojeći oblik ili veličinu kiralne šupljine dok je manje sterički zahtjevan spoj *rac-14* prikladniji za smještaj u utore selektora. Također treba istaknuti da spoj *rac-14* može ostvariti intezivno jaku vodikovu vezu preko NH skupine interne amidne veze s C=O skupinom u fenilkarbamatnoj jedinici kiralnog selektora, što može doprinijeti dodatnoj stabilizaciji nastalog dijastereomernog kompleksa, odnosno boljem kiralnom prepoznavanju u odnosu na preostala dva spoja *rac-15,16* podskupine 1B.

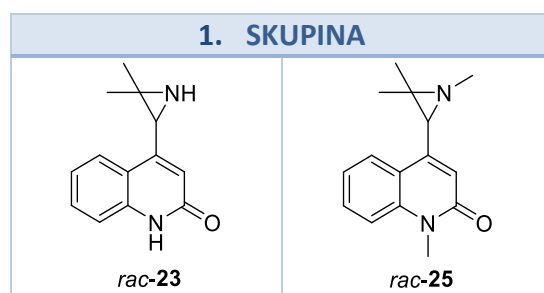


Slika 43. Odjeljivanje enantiomera marinoepoksida *rac-14–16* na koloni CHIRAL ART Amylose-SA primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije. Kromatografski uvjeti: temperatura kolone 35 °C, UV detekcija 254 nm, povratni tlak 15 mPa, volumen injektiranja 10 μL , masena koncentracija analita 0,5 mg mL^{-1} .

4.3.2. Odjeljivanje enantiomera marinoaziridina B (*rac*-23) i metiliranog derivata marinoaziridina A (*rac*-25) primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti i superkritične fluidne kromatografije

Marinoaziridin B (*rac*-23) i derivat marinoaziridina A (*rac*-25) su (\pm)-2,3,3-trisupstituirani aziridini, koji sadrže jedno kiralno središte. Strukturna razlika među njima je supstituiranost vodikova atoma interne amidne veze kinolin-2(1*H*)-ona i dušikova atoma aziridinskog prstena (Tablica 14). Derivat marinoaziridina A (*rac*-25) sadrži vezanu metilnu skupinu na dušikovim atomu aziridinskog prstenu, kao i na dušikovim atomu interne amidne veze kinolin-2(1*H*)-ona.

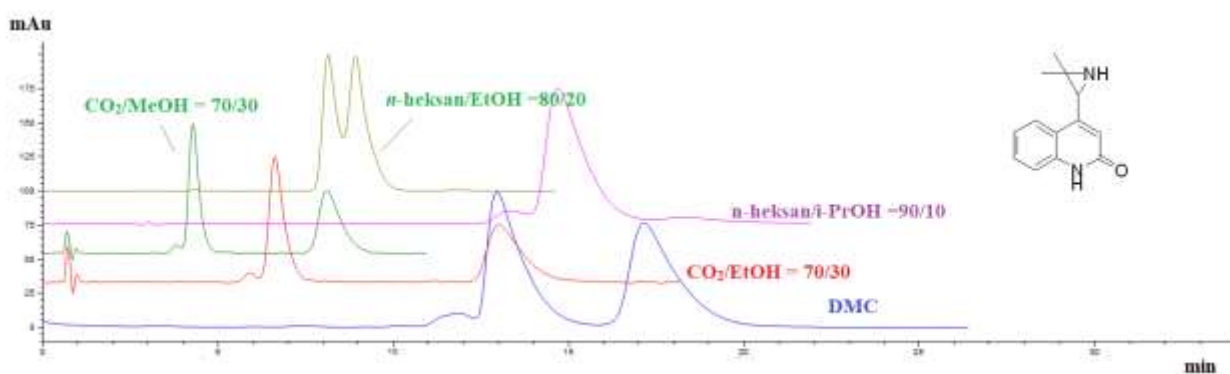
Tablica 14. Strukturne formule marinoaziridina 2. skupine.



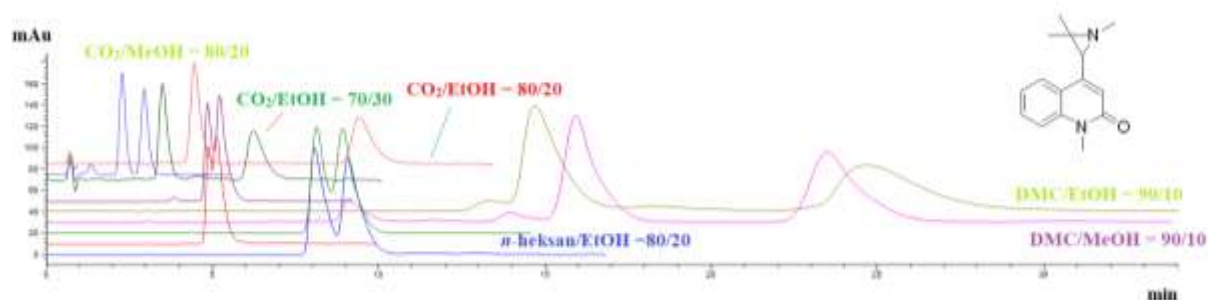
Odjeljivanje enantiomera marinoaziridina B (*rac*-23) i metiliranog derivata marinoaziridina A (*rac*-25) ispitano je na imobiliziranim polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama: *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamoil) celuloznoj nepokretnoj fazi (CHIRAL ART Cellulose-SC) i *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamoil) amiloznoj nepokretnoj fazi (CHIRAL ART Amylose-SA). Ispitivanja su provedena primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti uz *n*-heksan/etanol (80/20, v/v), *n*-heksan/*i*-propanol (90/10, v/v), dimetilkarbonat i dimetilkarbonat/alkohol (v/v), te primjenom superkritične fluidne kromatografije uz CO₂/alkohol (v/v) kao nepolarnu pokretnu fazu (kromatografija normalnih faza). U heksanskom binarnom sustavu korišten je etanol i propan-2-ol kao alkoholni modifikator. Uz propan-2-ol zabilježeno je dugo vrijeme zadržavanja enantiomera ($t_R > 70$ min) marinoaziridina B (*rac*-23) i derivata marinoaziridna A (*rac*-25) na CHIRAL ART Cellulose-SC, dok metanol nije korišten u istraživanju zbog loše mješljivosti s *n*-heksanom kao što je navedeno i prije. U dimetilkarbonatnom binarnom sustavu ispitan je utjecaj dodatka alkoholnog modifikatora (metanol ili etanol) na enantioselektivnost i zadržavanje enantiomera analita. Rezultati enantioselektivne analize spojeva 2. skupine na

celuloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Cellulose-SC i amiloznoj kiralnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Amylose-SA prikazani su u tablici D2.3., u dodatku 2. Usporedbom rezultata ispitivanja odjeljivanja enantiomera spojeva *rac-23* i *rac-25* na celuloznoj i amiloznoj nepokretnoj fazi u HPLC i SFC modulu uočeno je da enantiomeri spojeva pokazuju viši stupanj enantioselektivnosti na koloni CHIRAL ART Amylose-SA (Slika 44).

a)

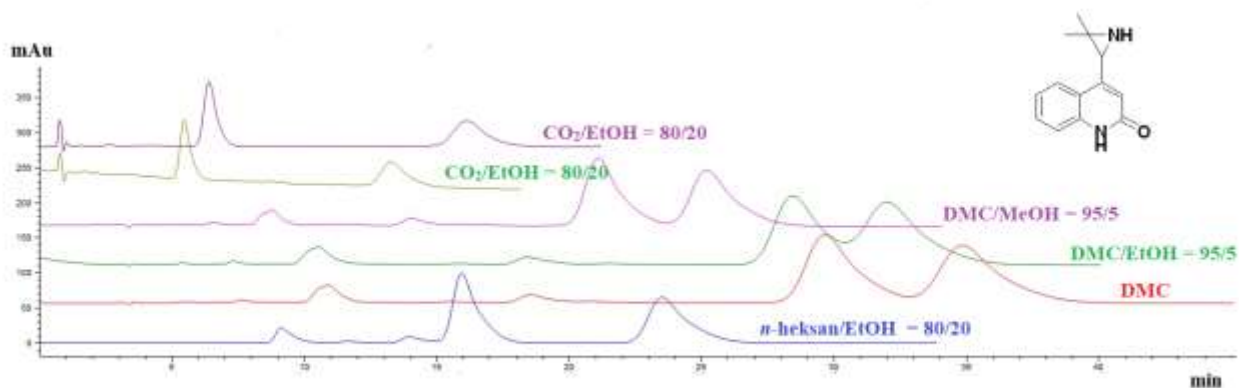


b)

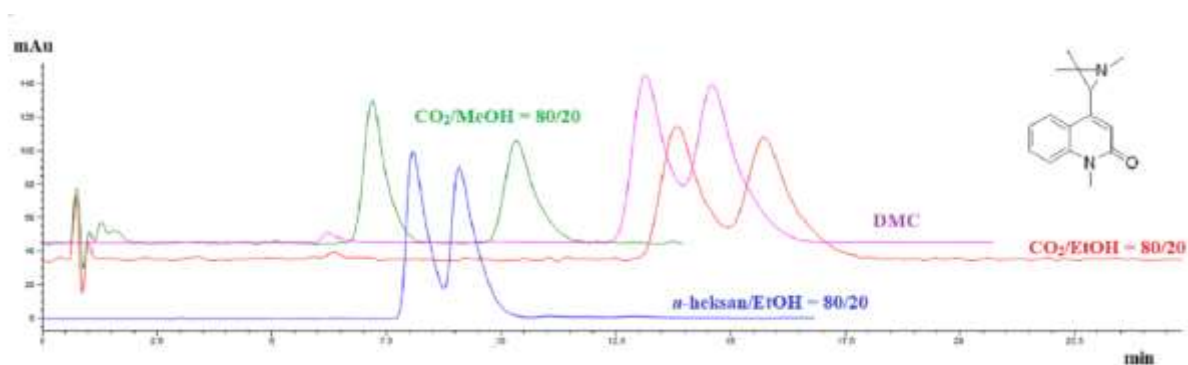


Slika 44. Odjeljivanje enantiomera na koloni CHIRAL ART Amylose-SA: marinoaziridin B (*rac-23*), b) derivat marinoaziridina A (*rac-25*). Kromatografski uvjeti: temperatura kolone 35 °C, UV detekcija 254 nm, volumen injektiranja 10 μ L, masena koncentracija analita 0,5 mg mL⁻¹.

a)



b)



Slika 45. Odjeljivanje enantiomera na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC: marinoaziridin B (*rac*-23), b) derivat marinoaziridina A (*rac*-25). Kromatografski uvjeti: temperatura kolone 35 °C, UV detekcija 254 nm, volumen injektiranja 10 μ L, masena koncentracija analita 0,5 mg mL⁻¹.

4.3.3. Odjeljivanje enantiomera derivata marinoaziridina *rac-52–59* primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti

Derivati marinoaziridina 3. skupine su (\pm)-2,3-disupstituirani marinoaziridini (*rac-52–59*), koji sadrže dva kiralna središta u strukturi molekule. Strukturna razlika među njima je broj i vrsta supstituenata na fenilnom prstenu. Enantioselektivna analiza spojeva *rac-52–59* provedena je na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama utemeljenim na derivatima amiloze i celuloze primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije. Neki od sintetiziranih dijastereoizomera *rac-52–59* 3. skupine uspješno su odijeljeni primjenom akiralne kromatografije na stupcu silikagela (*rac-53*, *rac-54* i *rac-58*), dok je spoj *rac-55* sintetiziran kao *cis* izomer, a spoj *rac-57* kao *trans* izomer. *Cis* i *trans* izomeri preostalih analita u seriji (*rac-52*, *rac-56* i *rac-59*) nisu uspješno odijeljeni akiralnom kromatografijom na stupcu silikagela, stoga je mogućnost odjeljivanja njihovih enantiomera istražena na uzorcima dijastereomernih smjesa (Tablica 15).

Tablica 15. Dijastereomerni sastav marinoaziridina *rac-52–59* određen spektroskopijom NMR.

derivat	dijastereoizomer
52	<i>cis/trans</i>
53	<i>trans</i>
54	<i>trans</i>
55	<i>cis</i>
56	<i>cis/trans</i>
57	<i>trans</i>
58	<i>trans</i>
59	<i>cis/trans</i>

Tijekom provođenja istraživanja, utvrdili smo da pripremljeni derivati marinoaziridina *rac-52–59* imaju poprilično slabu topljivost u nepolarnim otapalima te da ih je potrebno otopiti u smjesama koje sadrže visoke udjele diklormetana, kloroforma ili tetrahidrofurana. Zbog toga, polisaharidne nepokretne faze japanske tvrtke *Daicel Chemical Industries*, tržišnih imena Chiralpak AD, Chiralpak AS, Chiralpak OJ i Chiralpak OD nisu bile dobar izbor za odjeljivanje enantiomera novosintetiziranih spojeva, budući da nisu opstojne uz navedena otapala. U odnosu na njih, imobilizirane polisaharidne nepokretne faze imaju nekoliko prednosti poput kemijske inertnosti, kompatibilnosti s različitim pokretnim fazama te primjene na širok spektar analita.²³¹

Potaknuti time, odlučili smo ispitati tri nama dostupne imobilizirane kolone CHIRAL ART Amylose-SA, CHIRAL ART Cellulose-SB i CHIRAL ART Cellulose-SC.

U prvoj fazi provedena su preliminarna istraživanja utjecaja pokretne faze na odjeljivanje enantiomera na nepokretnoj fazi CHIRAL ART Amylose-SA. Glavna kiralna adsorbirajuća mjesta kiralne nepokretne faze su karbamatne polarne skupine koje stupaju u interakciju s analitom stvarajući vodikove veze preko NH i C=O skupina, dipol–dipol interakcije preko C=O skupina te aromatske skupine koje omogućuju π – π interakcije s analitom. Prisutnost dviju metilnih skupina na fenilkarbamatnoj jedinici kiralnog selektora povećava elektronsku gustoću na kisiku karbonilne skupine, što za posljedicu može dati snažnije vodikove veze. Potencijalna vodikova veza između kiralnog selektora i serije analita derivata *rac*-**52–59** može se ostvariti interakcijom preko NH skupine kiralnog selektora s C=O skupinom ili atomima klora ili fluora u strukturi analita. Nekovalentna intermolekulska interakcija vodikova veza značajno utječe na strukturu tj. konformaciju molekule o kojoj ovisi inkluzija analita u kiralnu šupljinu nepokretne faze. Uz vodikovu vezu, funkciju kontroliranja inkluzije analita u kiralne šupljine nepokretne faze imaju i dvije metilne skupine na fenilkarbamatnoj jedinici, kao i fizikalno-kemijska svojstva pokretne faze, budući da derivati polisaharida uz različita otapala pokazuju različit stupanj bubrenja (*engl.* swelling), a to neposredno utječe na veličinu i oblik kiralne šupljine.^{232,233}

Svi analiti u seriji vrlo brzo izlaze iz kolone CHIRAL ART Amylose-SA, gotovo bez zadržavanja, stoga dobiveni rezultati ukazuju na jaku kompeticiju analita i pokretne faze za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Uočeno je odjeljivanje jedino tri analita iz serije *rac*-**53**, *rac*-**54**, i *rac*-**59** uz diklormetan kao pokretnu fazu. Spoj *rac*-**53** koji u svojoj strukturi sadrži klor u *para* položaju na fenilnoj skupini C-iminskog supstituenta, slabije se odjeljuje od spoja *rac*-**54** koji u svojoj strukturi umjesto atoma klora sadrži fluor. Fluor je manji i elektronegativniji od atoma klora te se stoga pretpostavlja da su manja sterička ometanja pri ulasku u šupljinu kiralnog selektora i jače su dipol–dipol interakcije što ujedno dovodi do boljeg kiralnog prepoznavanja.

Primjenom kloroforma kao pokretne faze uočava se odjeljivanje jedino analita *rac*-**58**, dok uz tetrahidrofuran dolazi do potpunog izostanka enantioselektivnosti. Primjenom halogeniranih otapala povećavaju se vrijednosti faktora zadržavanja, separacijskih faktora i razlučivanja enantiomera spoja *rac*-**58**. α vrijednosti naglo se povećavaju što ukazuje da pokretna faza značajno utječe na svojstva interakcijske okoline i kiralno prepoznavanje. Uz diklormetan nešto

je bolje enantioprepoznavanje spoja *rac-58* ($\alpha = 2,85$) nego li uz kloroform *rac-58* ($\alpha = 1,59$), pri čemu uzrok može biti razlika u polarnosti dvaju otapala. Isto tako literaturno je poznato da se neka otapala udružuju s kiralnom nepokretnom fazom i uzrokuju bubrenje kolone, što dovodi do otvaranja kiralnih šupljina. Pri tome, inkluzijske interakcije enantiomera slabe, a vremena zadržavanja enantiomera se smanjuju.²³³

Tablica 16. Utjecaj pokretne faze na odjeljivanje enantiomera strukturnog derivata *rac-58*.

<i>kolona</i> ^a	<i>otapalo</i>	k_1	k_2	α	R_s
<i>KNF-1</i>	tetrahidrofuran	0,03	0,03	1,00	0,00
	kloroform	0,26	0,41	1,59	0,65
	diklormetan	0,14	0,41	2,85	1,18

^a*KNF-1*-Chiral Art Amylose SA.

U nastavku istraživanja kromatografskog odjeljivanja enantiomera novosintetizirane serije spojeva *rac-52–59* primijenjene su preostale dvije polisaharidne kiralne nepokretne faze, koje su utemeljene na imobiliziranim derivatima celuloze na silikagelu.

Uz diklormetan kao pokretnu fazu, na koloni CHIRAL ART Cellulose-SB nije zabilježeno odjeljivanje enantiomera niti jednog analita u seriji, spojevi vrlo brzo izlaze s kolone, gotovo bez zadržavanja. Možemo pretpostaviti da su uzrok tomu sterička ometanja koja onemogućavaju da analit i kiralni selektor nepokretne faze dođu u povoljnu konformaciju kako bi se ostvarile maksimalne interakcije koje bi dovele do enantioselektivnosti. Primjenom druge celulozne nepokretne faze CHIRAL ART Cellulose-SC uz diklormetan kao pokretnu fazu, utvrđeno je da analiti iz serije *rac-52–59* pokazuju drugačiju sliku odvajanja enantiomera. Svi pripremljeni racemični derivati vrlo se dobro razdvajaju na nepokretnoj fazi sa selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamatom)celulozom. Jedino je zabilježen slabiji rezultat u odjeljivanju *cis* izomera derivata *rac-59*, dok je kod *trans* izomera zabilježeno zadovoljavajuće odjeljivanje do bazne linije. Također treba primjetiti da su vremena zadržavanja analita na koloni, što se može vidjeti promatrajući podatke k_1 i k_2 , puno duža u odnosu na vremena zadržavanja na kolonama **KNF-1** i **KNF-2**. Iz toga se može zaključiti kako su nekovalentne interakcije koje analiti stvaraju s 3,5-diklorfenilkarbamatomnom skupinom snažnije nego s 3,5-dimetilfenilkarbamatomnom skupinom. Zanimljivo je primjetiti da se jedino *trans* izomer spoja *rac-58* iz serije odjeljuje na svim kolonama. U svojoj strukturi sadrži dva atoma fluora u *meta* i *para* položaju C-iminskog supstituenta. *Cis* izomer spoja *rac-59* s tri atoma fluora ne odjeljuje se niti na jednoj

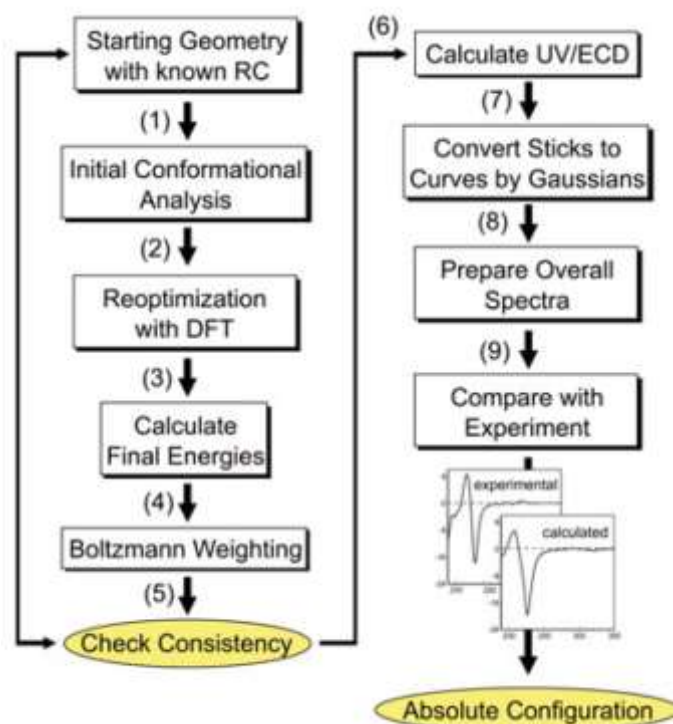
polisaharidnoj nepokretnoj fazi. Rezultati odjeljivanja enantiomera derivata marinoaziridina *rac*-**52–59** na kolonama **KNF-1 – KNF-3** prikazani su u tablici D2.4., Dodatak 2.

Analizom svih dobivenih rezultata može se zaključiti da se najbolje kiralno prepoznavanje novosintetizirane serije derivata *rac*-**52–59** postiže na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC koja sadrži *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamatni) celulozni kiralni selektor uz diklormetan kao pokretnu fazu.

4.4. Određivanje apsolutne konfiguracije

U ovom dijelu doktorskog rada, u suradnji s istraživačkom grupom prof. dr. sc. Gennaro Pescitelli sa Sveučilišta u Pisi, dodijeljena je apsolutna konfiguracija trima kiralnim spojevima (marinoepoksid **14a**, **14b**; marinoaziridin B, **23a**, **23b**; derivat marinoaziridina A, **25a**, **25b**) primjenom kombiniranog eksperimentalnog i računalnog postupka temeljenog na elektroničkom kružnom dikroizmu (ECD) i vibracijskom kružnom dikroizmu (VCD).^{234,235,236} Ta tehnika temelji se na izračunima koji se izvode na razini teorije funkcionala gustoće (DFT) kako bi se optimizirala struktura te izračunala frekvencija vibracija atoma unutar molekule, ali i vremenski ovisni DFT (TDDFT) za pobuđena stanja. Izračunati frekvencijski računi daju VCD spektre, dok TDDFT daje ECD spektre.^{237,238}

Izračuni ECD sastoje se od nekoliko koraka (shema 73) te započinju generiranjem ulazne strukture, čija je relativna konfiguracija već poznata (ako sadrži više stereogenih elemenata), dok se AC inicijalno proizvoljno pretpostavlja za izgrađeni model.²³⁴



Shema 73. Prikaz koraka u određivanju apsolutne konfiguracije primjenom ECD tehnike.

1. Detaljno konformacijsko pretraživanje provodi se pomoću molekularne mehanike (MM) s dobrim poljem sile (FF) kao što je MMFF (engl. *Merck Molecular FF*). U ovom koraku,

konformacija molekule temeljito se pretražuje: sve rotirajuće veze se mijenjaju i svi endociklički atomi se nabiru.

2. Sve strukture pronađene u prethodnom koraku geometrijski su optimizirane s DFT-om. Odabir funkcionala je ovdje ključan. Unatoč stalnoj upotrebi kombinacije B3LYP/6-31G(d), preporuča se učinkovitija funkcija za strukturu i energetiku^{239,240} uključujući korekciju disperzije (kao što je ω B97X-D ili B3LYP-D3), u kombinaciji s velikim osnovnim skupom najmanje dvostruke ζ kvalitete. Nakon odabira ograničenog broja niskoenergetskih konformacija koje padaju u energetske prozor unutar određenog praga, tj. 5 ili 10 kcal mol⁻¹, može se pokrenuti druga optimizacija s većim osnovnim skupom i uključujući implicitni model solvatacije za otapalo korišteno u mjerenju.²⁴¹ U našem pristupu, izravno izvodimo optimizacije geometrije na razini ω B97X-D/6-311G+(d,p)²⁴² koristeći SMD model otapala za acetonitril.
3. Ukoliko je riječ o vrlo fleksibilnim molekulama, utoliko se skup niskoenergetskih struktura pronađen u koraku (2) može podvrgnuti proračunima energije u jednoj točki na višoj razini (na primjer, korištenjem većeg osnovnog skupa). Budući da je za ispitivane molekule pronađen ograničen broj niskoenergetskih konformera (1–4), ovaj korak nije bilo potrebno provoditi.
4. Optimizacijom geometrije koja se provodi u koraku (2) dobije se popis unutarnjih energija koje se koriste za izračunavanje populacije konformera na 300 K ili sobnoj temperaturi prema Boltzmannovoj formuli. Konformeri s populacijom iznad određenog praga (oko 1 %) potrebno je razmotriti u sljedećim koracima.
5. Konzistentnost izračunatog konformacijskog skupa provjerava se prema dostupnim NMR podacima ovisnim o konformaciji (konstante sprega J /Hz, NOE kontakti, pomaci prstena). Za ispitivane spojeve, ovaj korak također je bio nepotreban.
6. Za svaki postojani konformer pronađen u koraku (4), izračunava se apsorpcijski i ECD spektar. Ovaj korak predstavlja najzahtjevniji računski korak u cijeloj proceduri, a posebno je bitan izbor razine izračuna: za TDDFT treba mudro odabrati funkcionalni i bazni skup. Općenito, nikada se ne smije koristiti samo jedna kombinacija funkcionalnog/osnovnog skupa, a različite kombinacije uvijek treba testirati, tražeći pri tome najprecizniju kombinaciju tj. onu koja dovodi do najboljeg slaganja s eksperimentalnim spektrom. Što se tiče funkcionalnosti, potrebno je ispitati barem jednu "hibridnu" funkcionalnost kao što je B3LYP (ili alternativno PBE0, BH&HLYP, M06-2X...) i jednu "odvojenu rasponom" (kao

što je CAM-B3LYP ili ω B97X). Koristili smo B3LYP i CAM-B3^{243,244} Što se tiče osnovnog skupa, trebala bi se koristiti trostruka ζ kvaliteta s dovoljno širokim skupom polarizacijskih funkcija. Koristili smo Ahlrichsov def2-TZVP.²⁴⁵ Konačno, treba uključiti implicitni model otapala za otapalo korišteno u eksperimentu; koristili smo IEF-PCM model otapala.

7. ECD izračun koji se izvodi u koraku (6) daje popis rotacijskih jakosti kao funkcije valne duljine (engl. *stick plot*), koji se pretvara u pravi ECD spektar primjenom band-shape na svaku rotacijsku snagu i zbrajanjem cijelog spektralnog raspona. Gaussov band-shape obično se koristi za ECD. Propusnost ili standardna devijacija često se odabiru empirijski na temelju najboljeg pristajanja. Ostale empirijske korekcije koje se obično koriste za poboljšanje usporedbe s eksperimentalnim spektrom su: a) korekcija valne duljine, jer primjerice funkcija CAM-B3LYP ima tendenciju precijeniti apsolutnu energiju prijelaza; b) skaliranje izračunatih spektara za faktor 0,2–0,5, budući da je njihov intenzitet često precijenjen. Tri parametra propusnost (σ), korekcija valne duljine ($\Delta\lambda$) i skaliranje navedeni su u naslovu za svaki konačni izračunati spektar.
8. Konačni Boltzmannov prosječni spektar izračunava se procijenjivanjem svakog spektra dobivenog u koraku (7) s konformerskom Boltzmannovom težinom procijenjenom u koraku (4), a zatim zbrajanjem svih izračunatih spektara jedan s drugim.
9. Eksperimentalni apsorpcijski/ECD spektar uspoređuje se s konačnim izračunatim spektrom dobivenim u koraku (8). Ispravci opisani u koraku (7) primjenjuju se u ovom koraku. Ako se postigne dobro podudaranje između ECD spektara, pretpostavljeni AC je točan; ako postoji dobar odnos zrcalne slike između ECD spektara, suprotni AC je točan. Budući da su ECD spektri dvaju enantiomera zrcalne slike, dovoljno je izvršiti izračun samo na jednom enantiomeru.

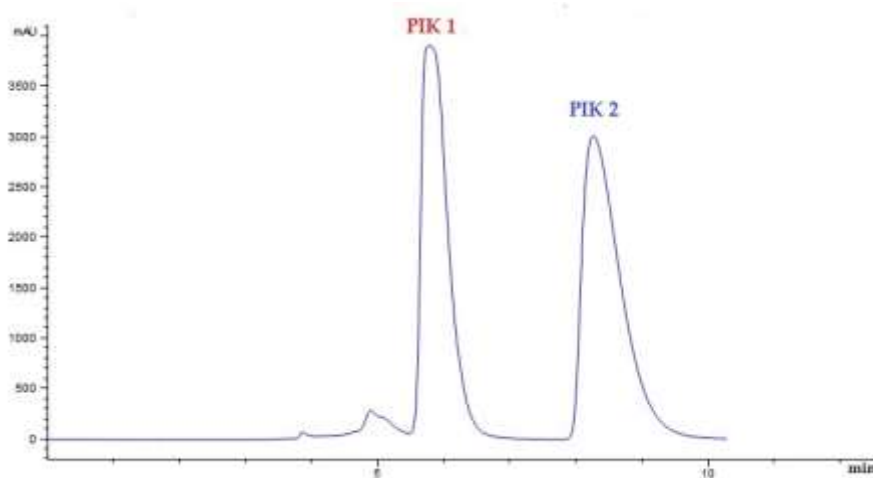
Za VCD izračune, redoslijed koraka je sličan. U koraku (6), umjesto proračuna pobuđenog stanja, izvodi se proračun frekvencije na istoj razini proračuna koji se koristi u optimizaciji geometrije. Za VCD, B3LYP obično ima vrlo dobre rezultate, dok je osnovni skup važniji i trebao bi biti najveći mogući.^{246,247} Koristili smo razinu B3LYP/aug-cc-pVTZ uključujući PCM model otapala za kloroform (mjerjenja su provedena u CDCl_3). U koraku (7), Lorentzian band-shape primjenjuje se za IR i VCD spektre, čija se širina γ određuje na temelju najboljeg pristajanja (obično 4–8 cm^{-1}). Umjesto pomaka valne duljine, u ovom se slučaju primjenjuje

skaliranje frekvencije (obično 0,97–0,99), što djelomično zamjenjuje tekuće izračune s harmoničkim aproksimacijama (tj. anharmoničnost se zanemaruje).

4.4.1. Određivanje apsolutne konfiguracije marinoepoksida (**14a**, **14b**)

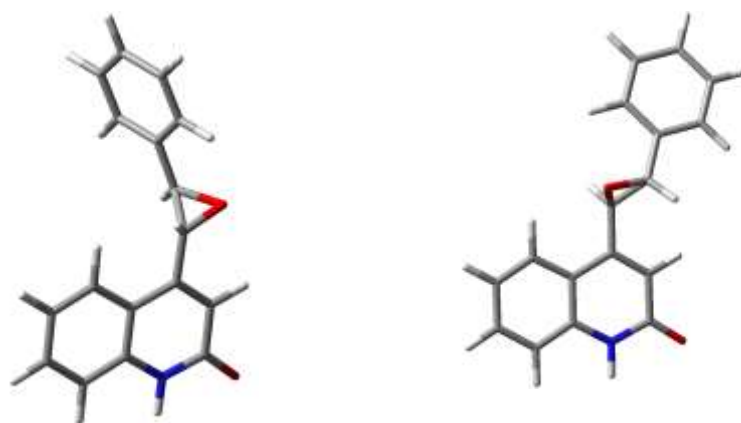
Marinoapoksid **14a,b** sintetiziran je u racemičnom obliku kao smjesa dva diastereoizomera, pri čemu je udio *cis* izomera zanemariv. U svrhu određivanja apsolutne konfiguracije glavnog **14a,b-trans** diastereoizomera razvijena je HPLC metoda za odjeljivanje enantiomera na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama. Najbolji postignuti kromatografski parametri primjenjeni su na preparativnoj skali kako bi se izolirali enantiomeri **14a,b**, koji će biti podvrgnuti određivanju apsolutne konfiguracije primjenom ECD i VCD tehnika.

Na slici 46 prikazano je razdvajanje enantiomera na semi-preparativnoj koloni CHIRAL ART Amylose-SA uz korištenje pokretne faze acetonitril/voda (9/1), protok 3 mL min⁻¹ i UV detekciju 254 nm. Prvi eluirani enantiomer izlazi u 6,29 minuti (PIK 1, ee 99,9 %), dok drugi eluirani enantiomer izlazi u 9,19 minuti (PIK 2, ee 95 %).



Slika 46. Razdvajanje enantiomera marinoepoksida *rac*-**14** na polisaharidnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Amylose-SA uz korištenje pokretne faze acetonitrile/voda (9/1), protok 3 mL min⁻¹, UV detekcija 254 nm.

Za enantiomerno čiste marinoepoksidge **14a,b**, čija *trans* konfiguracija dodijeljena na temelju NMR spektroskopije, pronađene su dvije niskoenergetske strukture koje se razlikuju po rotamerizmu oko C4–C1' veze (Slika 47). Konformer s kisikom usmjerenim prema H3 izbjegava prostorni kontakt s peri H5 i stoga je mnogo stabilniji.

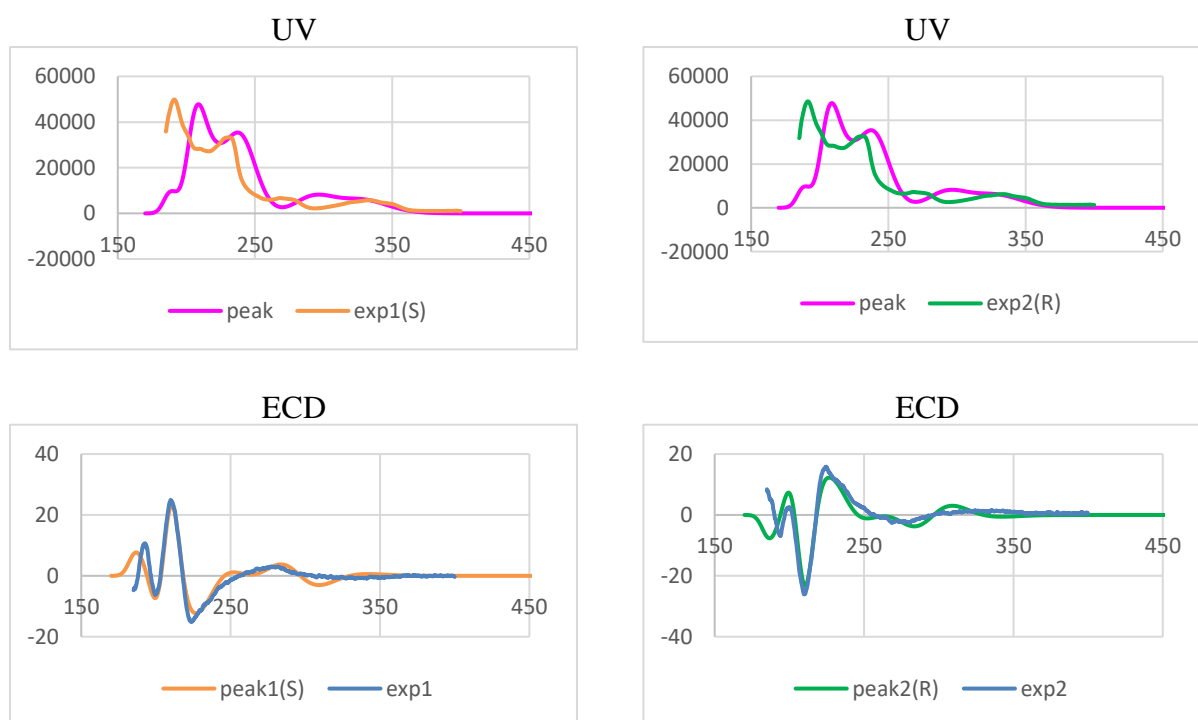


Apsolutni minimum
96,7 %

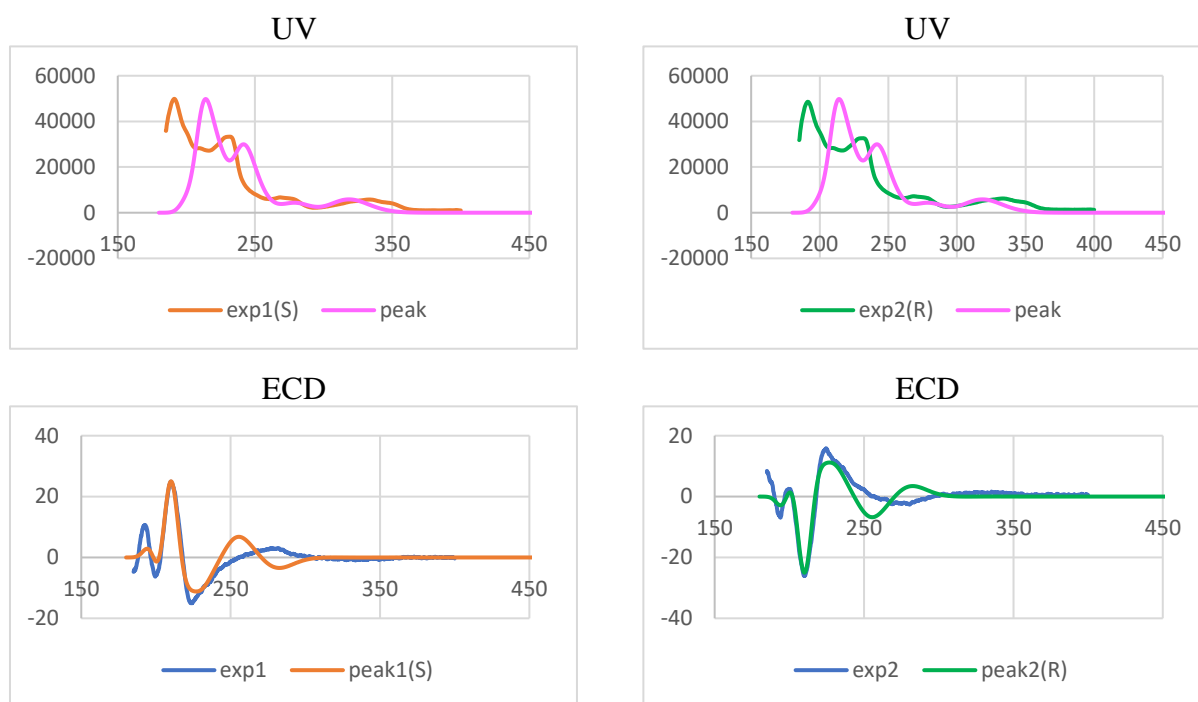
Relativna energija +2,01 kcal mol⁻¹
3,3 %

Slika 47. DFT geometrije, energije i populacije (*R,R*)-marinoepoksida izračunate na razini ω B97X-D/6-311G+(d,p)/SMD(ACN).

Na slici 48 i 49 prikazani su UV i ECD spektri marinoepoksida **14a,b** snimljeni u acetonitrilu.

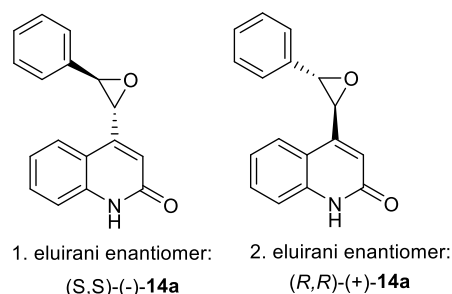


Slika 48. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih UV (gore) i ECD (dolje) spektara marinoepoksida **14a,b**; B3LYP/def2-TZVP/PCM// ω B97X-D/6-311+G(d,p)/SMD razini u acetonitrilu.



Slika 49. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih UV (gore) i ECD (dolje) spektara za marinoepoksida **14a,b**; CAM-B3LYP/def2-TZVP/PCM// ω B97X-D/6-311+G(d,p)/SMD razini u acetonitrilu.

ECD spektri izračunati za (*R,R*) enantiomer, korištenjem B3LYP i CAM-B3LYP funkcionala, vrlo dobro odgovaraju eksperimentalnim ECD spektrima izmjerenim za 2. eluirani enantiomer. Također isto vrijedi za njihove zrcalne slike i 1. eluirani enantiomer. Kvaliteta slaganja između izračunatih i eksperimentalnih podataka slična je za obe funkcionalnosti (B3LYP i CAM-B3LYP). Eksperimentalni VCD spektri za dva enantiomera marinoepoksida **14a,b** nisu bili dovoljno kvalitetni zbog manjih količina uzorka. Na temelju dobivenih računa i eksperimentalnih podataka, dodijeljena je apsolutna konfiguracija (Slika 50):

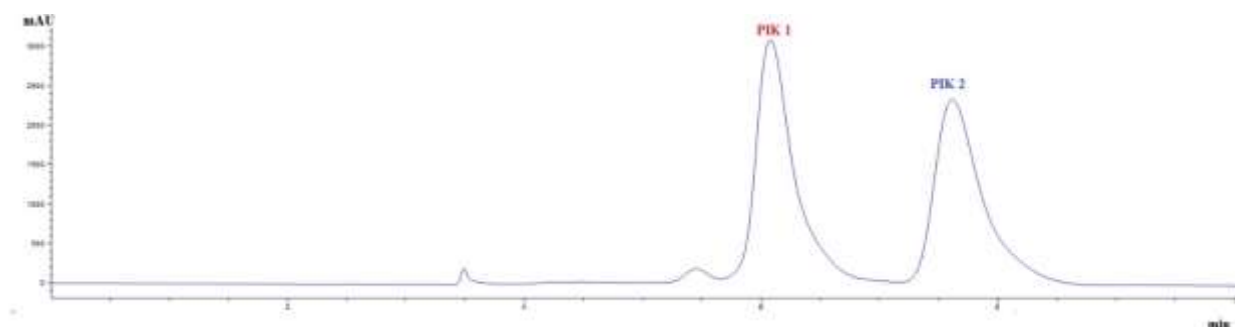


Slika 50. Strukturne formule eluiranih enantiomera **14a** i **14b**, kojima je dodijeljena apsolutna konfiguracija na temelju ECD tehnike.

4.4.2. Određivanje apsolutne konfiguracije marinoaziridina B (**23a**, **23b**)

Marinoaziridin B (*rac*-**23**) također je pripremljen u racemičnom obliku te je za svrhu određivanja apsolutne konfiguracije razvijena enantioselektivna kromatografska metoda za razdvajanje enantiomera na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama. Najbolji postignuti kromatografski parametri primjenjeni su na preparativnoj skali kako bi se izolirali enantiomeri **23a,b**, koji će biti podvrgnuti određivanju apsolutne konfiguracije primjenom ECD i VCD tehnika.

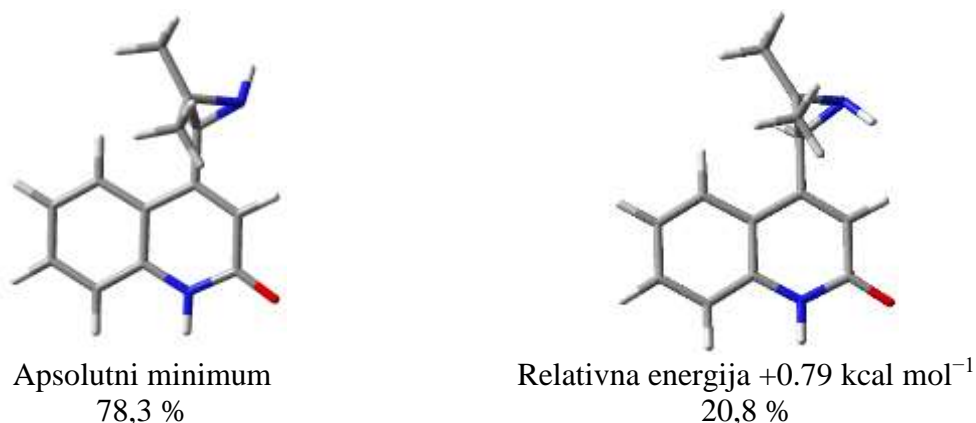
Na slici 51 prikazano je razdvajanje enantiomera na semi-preparativnoj koloni CHIRAL ART Cellulose-SC uz korištenje pokretne diklormetan/metanol (9/1), protok 3 mL min⁻¹ i UV detekciju 254 nm. Prvi eluirani enantiomer izlazi u 6,92 minuti (PIK 1, ee 98 %), dok drugi eluirani enantiomer izlazi u 8,69 minuti (PIK 2, ee 97 %).



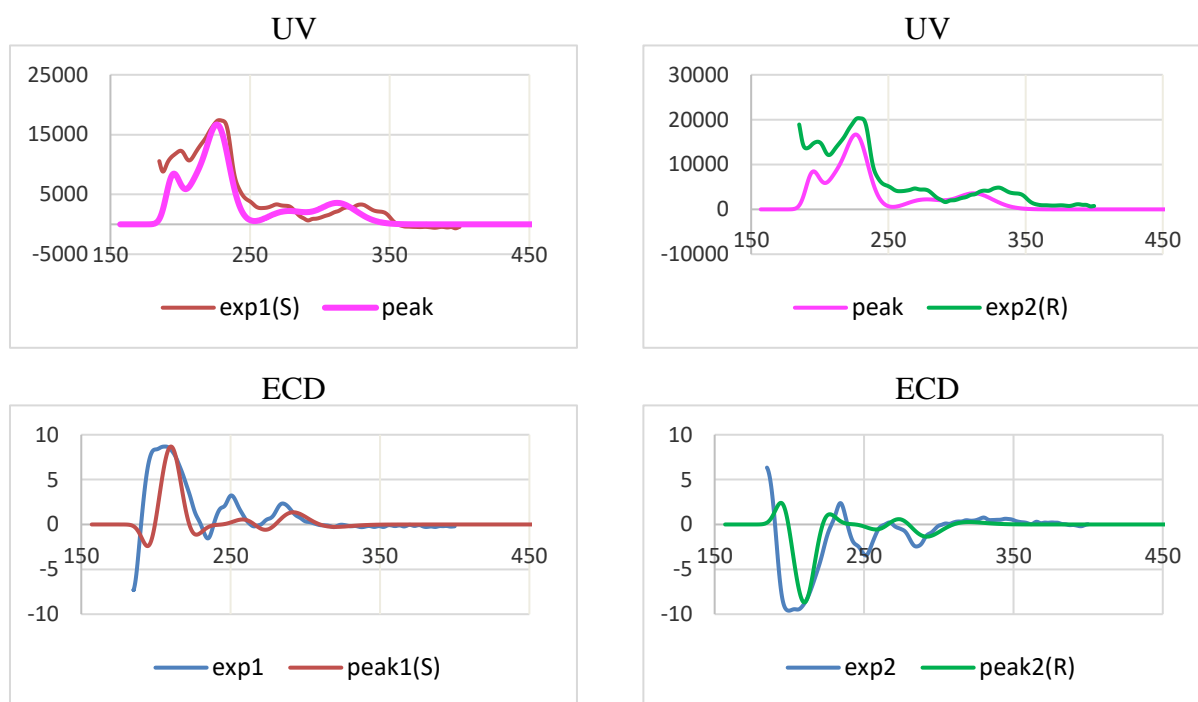
Slika 51. Razdvajanje enantiomera marinoaziridina B, **23a,b** na polisaharidnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Cellulose-SC uz korištenje pokretne faze diklormetan/metanol (9/1), protok 3 mL, UV detekcija 254 nm.

Za enantiomerno čiste marinoaziridine B, **23a** i **23b**, pronađene su dvije niskoenergetske strukture koje se razlikuju po naboranosti atoma dušika (Slika 52). Preostala dva konformera imala su populaciju < 0,1 % na 300 K. Iz dobivenih prikaza može se zaključiti da dvije strukture na slici 55 su dijastereoizomeri budući da smo utvrdili da je atom dušika stereogeni centar. Za (1'*S*) konfiguraciju, dijastereoizomer (*S*) konfiguracije na dušikovu atomu vjerojatno je stabilniji zbog steričkih razloga NH je usmjeren dalje od H3, što je energetski povoljnije.

ECD spektri izračunati za (*S*)-enantiomer, korištenjem B3LYP i CAM-B3LYP funkcionala, dobro odgovaraju eksperimentalnom ECD spektru izmjerenom za 1. eluirani enantiomer (Slika 53, Slika 54).

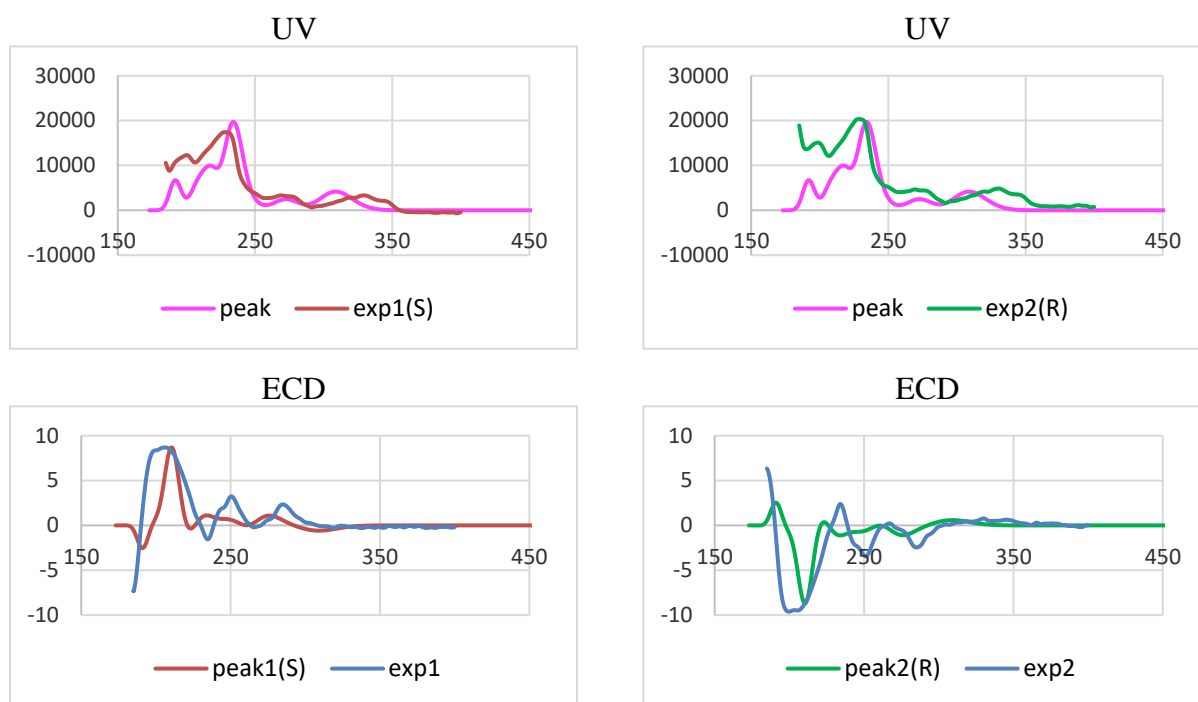


Slika 52. DFT geometrije, energije i populacije (*S*)-marinoazidirina B, **23a** izračunate na razini ω B97X-D/6-311G+(d,p)/SMD(ACN).

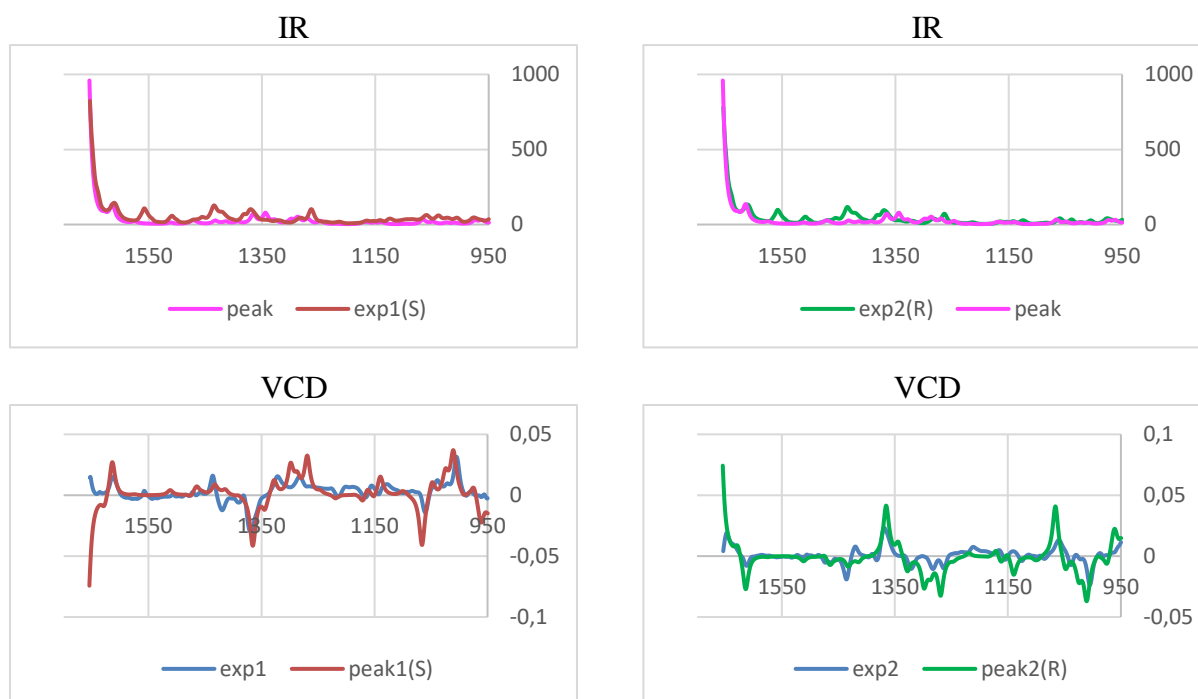


Slika 53. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih UV (gore) i ECD (dolje) spektara za marinoaziridin B, **23a,b**; B3LYP/def2-TZVP/PCM// ω B97X-D/6-311+G(d,p)/SMD razini u acetonitrilu.

Isto vrijedi za njihove zrcalne slike i drugi eluirani enantiomer. Slaganje primijećeno za B3LYP nešto je bolje od onog primijećenog za CAM-B3LYP. Izračunati VCD spektri (Slika 55) vrlo dobro odgovaraju eksperimentalnim spektrima, potvrđujući istu dodjelu kao ECD.

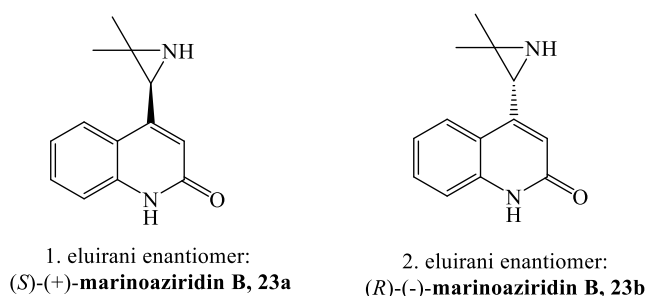


Slika 54. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih UV (gore) i ECD (dolje) spektara za marinoaziridin B, **23a,b**; CAM-B3LYP/def2-TZVP/PCM// ω B97X-D/6-311+G(d,p)/SMD razini u acetonitrilu.



Slika 55. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih IR i VCD spektara za marinoaziridin B, **23a,b**; B3LYP/aug-cc-pVTZ/PCM razini u acetonitrilu.

Na temelju dobivenih računa i eksperimentalnih podataka, dodijeljena je apsolutna konfiguracija (Slika 56):

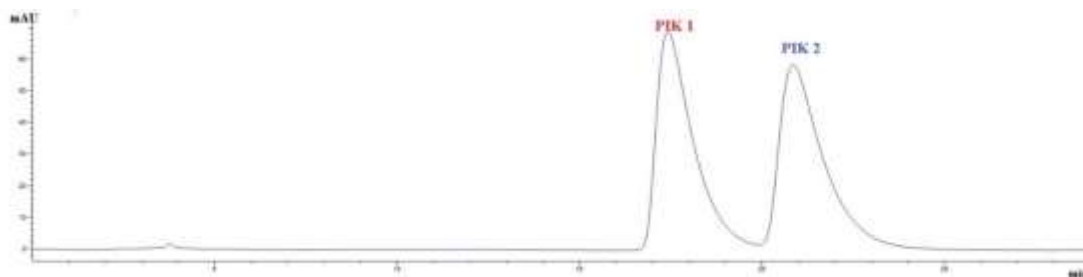


Slika 56. Strukturne formule eluiranih enantiomera **23a** i **23b**, kojima dodijeljena apsolutna konfiguracija na temelju ECD i VCD tehnika.

4.4.3. Određivanje apsolutne konfiguracije derivata marinoaziridina A (**25a**, **25b**)

Derivat marinoaziridina A (*rac*-**25**) također je pripremljen u racemičnom obliku te je za svrhu određivanja apsolutne konfiguracije razvijena enantioselektivna kromatografska metoda za razdvajanje enantiomera na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama. Najbolji postignuti kromatografski parametri primjenjeni su na preparativnoj skali kako bi se izolirali enantiomeri **25a,b**, koji će biti podvrgnuti određivanju apsolutne konfiguracije primjenom ECD i VCD tehnika.

Na slici 57 prikazano je razdvajanje enantiomera na koloni CHIRAL ART Cellulose-SC uz korištenje pokretne *n*-heksan/propan-2-ol (95/5), protok 1 mL min⁻¹ i UV detekciju 254 nm. Prvi eluirani enantiomer izlazi u 17,41 minuti (PIK 1, ee 98 %), dok drugi eluirani enantiomer izlazi u 20,84 minuti (PIK 2, ee 97 %).

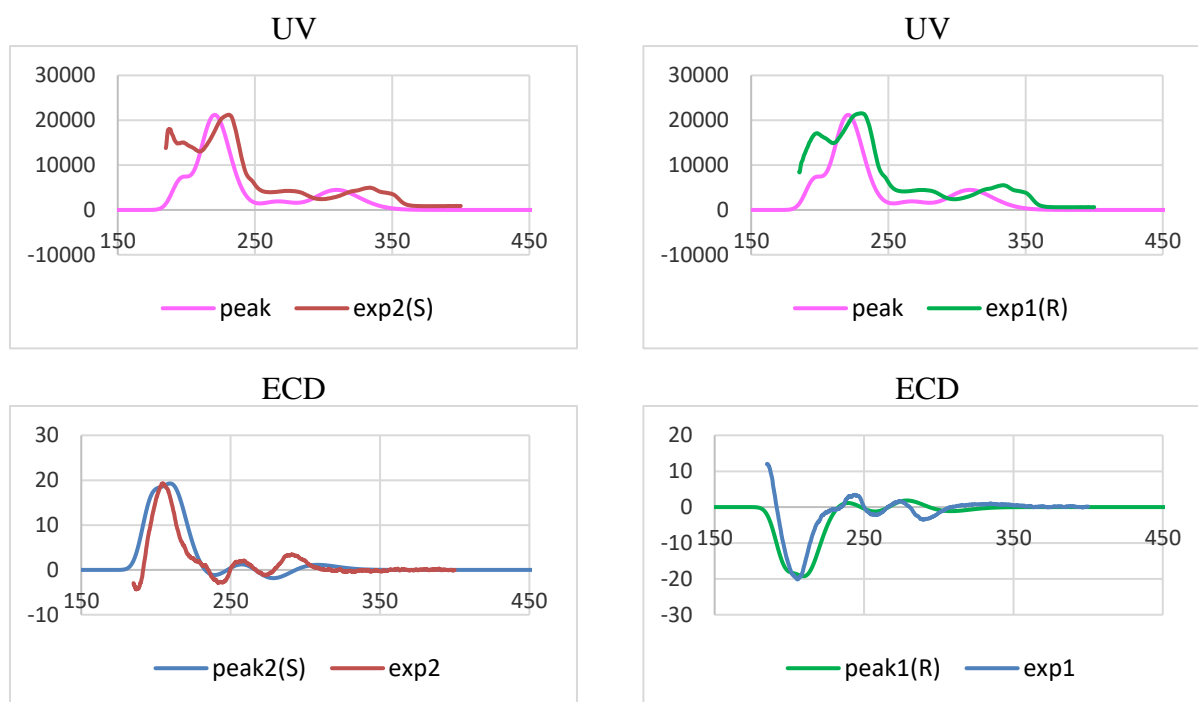


Slika 57. Razdvajanje enantiomera derivata marinoaziridina A, **25a,b** na polisaharidnoj nepokretnoj fazi CHIRAL ART Cellulose-SC uz korištenje pokretne faze *n*-heksan/propan-2-ol (95/5), protok 1 mL min⁻¹, UV detekcija 254 nm.

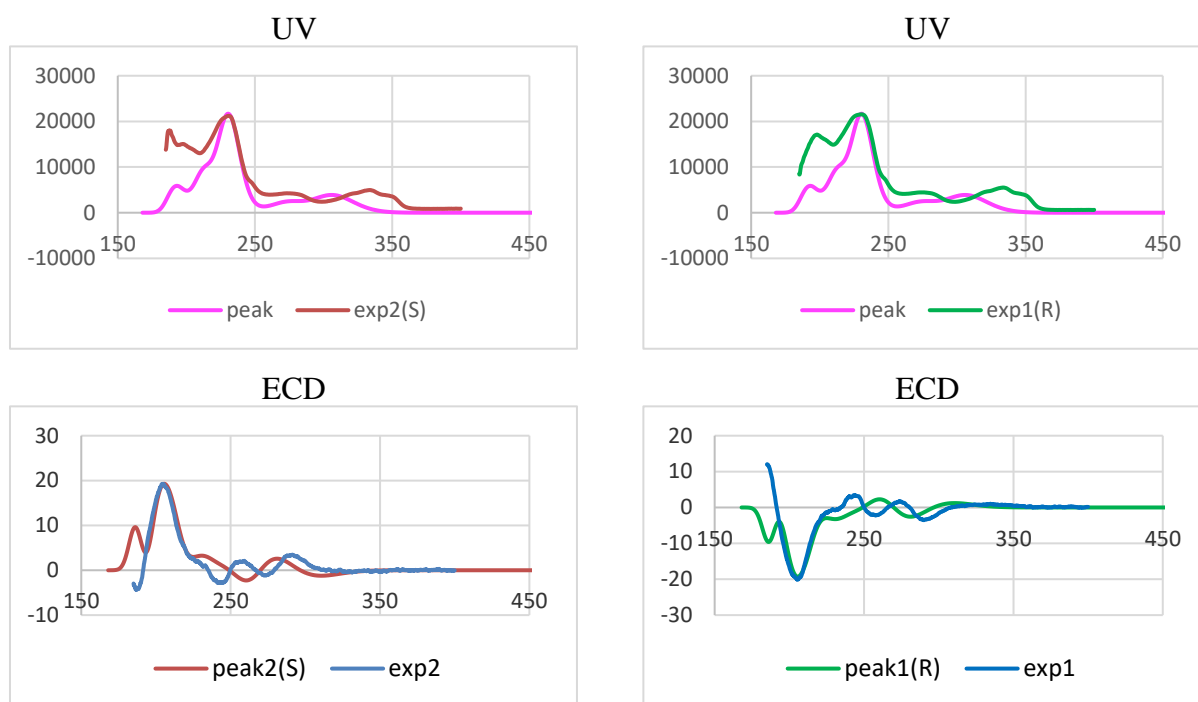
Za enantiomerno čisti derivat marinoaziridina A, **25a** i **25b**, pronađena je samo jedna niskoenergetska struktura (Slika 58) jer se iz prostornih razloga *N*-metilne skupine nalaze daleko od kinolonskog prstena, prisiljavajući dušik da preuzme (*S*) konfiguraciju za (1'*S*) konfiguraciju.



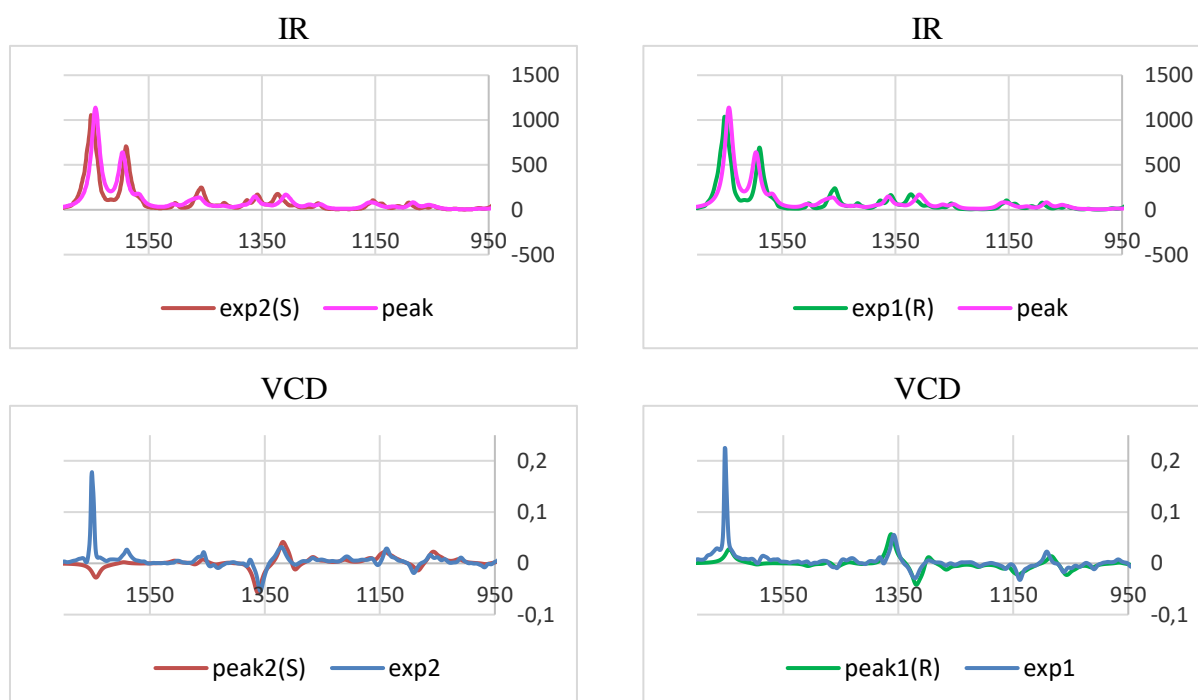
Slika 58. DFT geometrija (*S*)-derivata marinoaziridina A izračunata na razini ω B97X-D/6-311G+(d,p)/SMD(ACN).



Slika 59. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih UV (gore) i ECD (dolje) spektara za derivat marinoaziridina A, **25a,b**; **B3LYP/def2-TZVP/PCM// ω B97X-D/6-311+G(d,p)/SMD** razini u acetonitrilu.



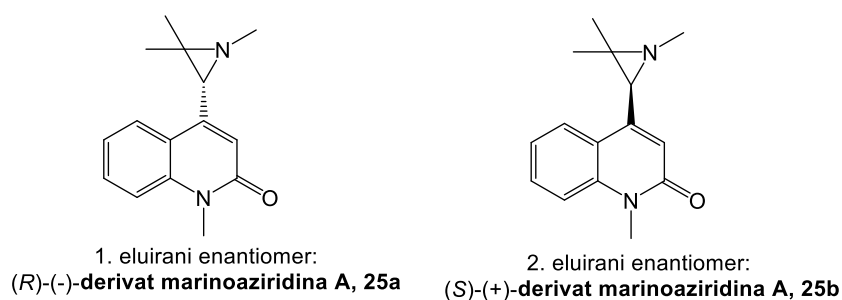
Slika 60. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih UV (gore) i ECD (dolje) spektara za derivat marinoaziridin A, **25a,b**; CAM-B3LYP/def2-TZVP/PCM// ω B97X-D/6-311+G(d,p)/SMD razini u acetonitrile.



Slika 61. Usporedba eksperimentalnih i izračunatih IR i VCD spektara za derivate marinoaziridina A, **25a,b**; B3LYP/aug-cc-pVTZ/PCM razini u acetonitrilu.

ECD spektri izračunati za (*S*)-enantiomer, korištenjem B3LYP i CAM-B3LYP funkcionala, dobro odgovaraju eksperimentalnom ECD spektru izmjerenom za 2. eluirani enantiomer (Slika 59, Slika 60). Isto vrijedi za njihove zrcalne slike i 1. eluirani enantiomer. Uočeno je da je slaganje za B3LYP nešto bolje u odnosu na slaganje izračunato CAM-B3LYP pristupom, slično kao i za marinoaziridin B. Izračunati VCD spektri vrlo dobro se uklapaju u eksperimentalne spektre, potvrđujući istu dodjelu kao ECD (Slika 61).

Na temelju dobivenih računa i eksperimentalnih podataka, dodijeljena je apsolutna konfiguracija (Slika 62):



Slika 62. Strukturne formule eluiranih enantiomera **25a** i **25b**, kojima dodijeljena apsolutna konfiguracija na temelju ECD i VCD tehnika.

4.5. Biološka testiranja

4.5.1. Ispitivanje antiproliferativnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva

Na temelju dobivenih rezultata *in silico* predviđanja biološke aktivnosti odabrani su neki od novosintetiziranih spojeva marinoepoksida, marinoaziridina i marinociklopropana, koje smo podvrgnuli biološkim testovima. Ispitivanja su provedena u suradnji dr. sc. Marijete Kralj (Laboratorij za eksperimentalnu terapiju, Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković).

Antiproliferativno djelovanje ispitano je u *in vitro* uvjetima pomoću MTT testa na staničnim linijama MCF-7 rak dojke, H-460 rak pluća i HEK293T zdravih stanica embrionalnog bubrega. Rezultati ispitivanja prikazani su pomoću vrijednosti IC_{50} koja predstavlja koncentraciju koja uzrokuje inhibiciju rasta stanica za 50 % odnosno 50 %-tnu smrtnost stanica.

Procjena antiproliferativnih učinaka spojeva pokazala je da većina testiranih spojeva pokazuje umjereno do jakog antiproliferativnog i/ili citotoksičnog učinka (Tablica 17).

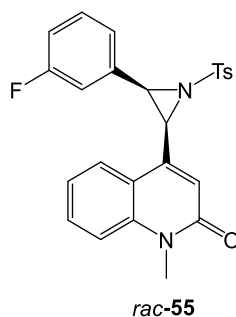
Tablica 17. IC_{50} (μ M) vrijednosti uslijed djelovanja ispitivanih spojeva.

Ispitivani spoj	GI_{50}^a (μ M)			
	Osnovna otopina/otapalo	MCF-7	H-460	HEK2937
<i>rac-23</i>	4×10^{-2} M/DMSO	5 \pm 1	16 \pm 0,2	13 \pm 0,1
<i>rac-25</i>	4×10^{-2} M/DMSO	7 \pm 5	33 \pm 1	15 \pm 4
<i>rac-24</i>	4×10^{-2} M/DMSO	25 \pm 8	74 \pm 2	33 \pm 14
<i>rac-11</i>	4×10^{-2} M/DMSO	>100	>100	>100
<i>rac-15</i> ^b	4×10^{-2} M/DMSO	1 \pm 0,1	77 \pm 22	21 \pm 4
<i>rac-45</i> ^b	4×10^{-2} M/DMSO	4 \pm 1	5 \pm 2	2 \pm 1
<i>rac-46</i>	4×10^{-2} M/DMSO	22 \pm 14	26 \pm 9	30 \pm 22
<i>rac-77</i> ^b	2×10^{-2} M/DMSO	14 \pm 6	\geq 100	39 \pm 8
<i>rac-51</i>	4×10^{-2} M/DMSO	12 \pm 2	15 \pm 2	15 \pm 5
<i>rac-52</i>	4×10^{-2} M/DMSO	6 \pm 5	14 \pm 1	7 \pm 1
<i>rac-53</i>	2×10^{-2} M/DMSO	3 \pm 2	13 \pm 2	5 \pm 0,3
<i>rac-54</i>	4×10^{-2} M/DMSO	11 \pm 0,3	20 \pm 2	10 \pm 4
<i>rac-55</i> ^b	4×10^{-2} M/DMSO	3 \pm 2	>100	>100
<i>rac-58</i>	4×10^{-2} M/DMSO	2 \pm 1	8 \pm 1	4 \pm 0,1
<i>rac-59</i>	4×10^{-2} M/DMSO	2 \pm 0,4	13 \pm 1	4 \pm 1
<i>rac-13</i>	4×10^{-2} M/DMSO	20 \pm 8	91 \pm 5	27 \pm 6
<i>rac-16</i>	4×10^{-2} M/DMSO	12 \pm 3	46 \pm 14	15 \pm 4

^akoncentracija koja uzrokuje 50 % inhibiciju rasta

^bzabilježeno taloženje u mediju pri maksimalnoj koncentraciji

Spoj *rac-11* bio je inaktivan, dok je *rac-55* (Slika 63) pokazao značajnu selektivnost prema staničnoj liniji MCF-7, međutim, treba napomenuti da se ovaj spoj taložio u staničnom mediju u višim koncentracijama, što može značajno doprinijeti citotoksičnosti. Selektivnost prema staničnoj liniji HEK293T nije zabilježena.



Slika 63. Strukturna formula spoja *rac-55* koji je pokazao značajnu selektivnost prema staničnoj liniji MCF-7.

4.5.2. Ispitivanje embriotoksičnosti odabranih nosintetiziranih spojeva upotrebom modelnog organizma zebrice *Danio rerio*

U suradnji dr. sc. Rozelindre Čož-Rakovac (Laboratorij za biotehnologiju u akvakulturi, Zavod za kemiju materijala, Institut Ruđer Bošković) provedeno je ispitivanje embriotoksičnosti odabranih nosintetiziranih spojeva upotrebom modelnog organizma zebrice *Danio rerio*.

Prilikom izlaganja embrija *Danio rerio* ispitivanim spojevima, primjećen je negativan utjecaj na rani razvojni ciklus (Tablica 18). Uzorci *rac-23*, *rac-15*, *rac-58*, *rac-59*, *rac-13* uzrokovali su apsolutnu smrtnost zebrica izloženih testiranim koncentracijama od 0,4–0,1 mmol L⁻¹, kao i uzorak *rac-52* u rasponu od 0,2–0,05 mmol L⁻¹, *rac-16* od 0,4–0,2 mmol L⁻¹ i *rac-24* od 0,4–0,2 mmol L⁻¹. Smanjivanjem koncentracije pojedinih uzoraka primjećen je pad smrtnosti, ali visoka stopa razvojnih abnormalnosti koja se prilikom izlaganja uzorcima *rac-25*, *rac-11*, *rac-53*, *rac-54*, *rac-55*, *rac-16* očitovala u pojavi perikardijalnog edema (Slika 65b,c), u području žumanjčane vrećice (Slika 65d), skolioze (Slika 65b), krvarenja u području žumanjčane vrećice (Slika 65d). Poneki uzorci onemogućili su/odgodili izvaljivanje ličinaka iz koriona (Slika 65c,d).

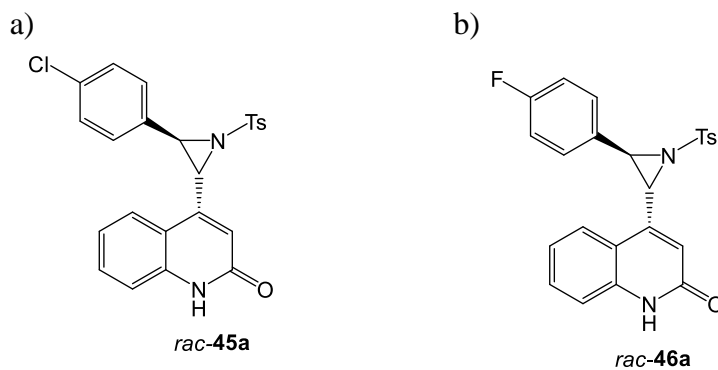
Tablica 18. Stopa (%) smrtnosti, razvojnih abnormalnosti i stope izvaljivanja zebrice *Danio rerio* ($N = 30$) nakon 96 h izlaganja različitim koncentracijama testiranih uzoraka. Rezultati su predstavljeni kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija (SD).

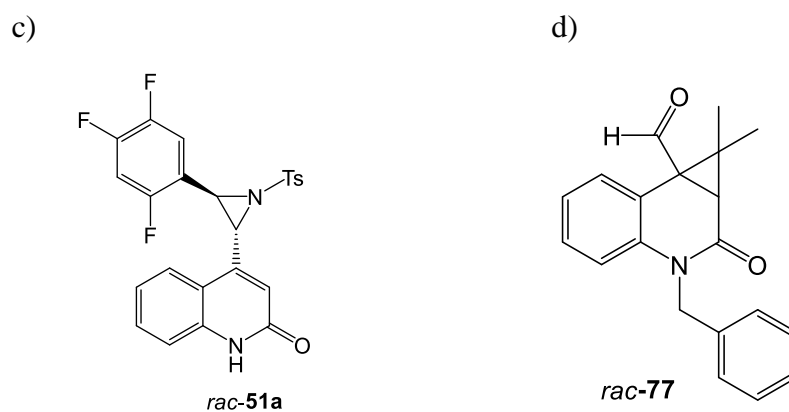
rac-23	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	-
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	-
rac-25	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	76,67 \pm 5,77	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	100,00 \pm 0,00	6,67 \pm 11,55	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	0,00 \pm 0,00	23,33 \pm 5,77	100,00 \pm 0,00
rac-24	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	16,67 \pm 5,77
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	100,00 \pm 0,00
rac-11	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	3,33 \pm 5,77	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	100,00 \pm 0,00	13,33 \pm 5,77	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
rac-15	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	-
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	-
rac-45	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
rac-46	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
rac-77	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
rac-51	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Stopa izvaljivanja (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
rac-52	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	-
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	-
rac-53	0,2 mM	0,1 mM	0,05 mM
Stopa mortaliteta (%)	96,67 \pm 5,77	3,33 \pm 5,77	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	100,00	100,00 \pm 0,00	23,33 \pm 11,55
Stopa izvaljivanja (%)	100,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
rac-54	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	16,67 \pm 11,55	3,33 \pm 5,77	0,00 \pm 0,00
Stopa abnormalnosti (%)	100,00 \pm 0,00	45,19 \pm 8,98	3,33 \pm 5,77
Stopa izvaljivanja (%)	100,00 \pm 0,00	35,00 \pm 8,66	100,00 \pm 0,00
rac-55	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00

Stopa abnormalnosti (%)	100,00±0,00	70,00±17,32	33,33±11,55
Stopa izvaljivanja (%)	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
<i>rac-58</i>	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	-
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	-
<i>rac-59</i>	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	-
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	-
<i>rac-13</i>	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	-
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	-
<i>rac-16</i>	0,4 mM	0,2 mM	0,1 mM
Stopa mortaliteta (%)	100,00±0,00	100,00±0,00	66,67±11,55
Stopa abnormalnosti (%)	-	-	100,00±0,00
Stopa izvaljivanja (%)	-	-	0,00±0,00
Negativna kontrola (artificial water)			
Stopa mortaliteta (%)	0,00±0,00		
Stopa abnormalnosti (%)	0,00±0,00		
Stopa izvaljivanja (%)	100,00±0,00		
Kontrola otapala (1% DMSO)			
Stopa mortaliteta (%)	0,00±0,00		
Stopa abnormalnosti (%)	0,00±0,00		
Stopa izvaljivanja (%)	100,00±0,00		

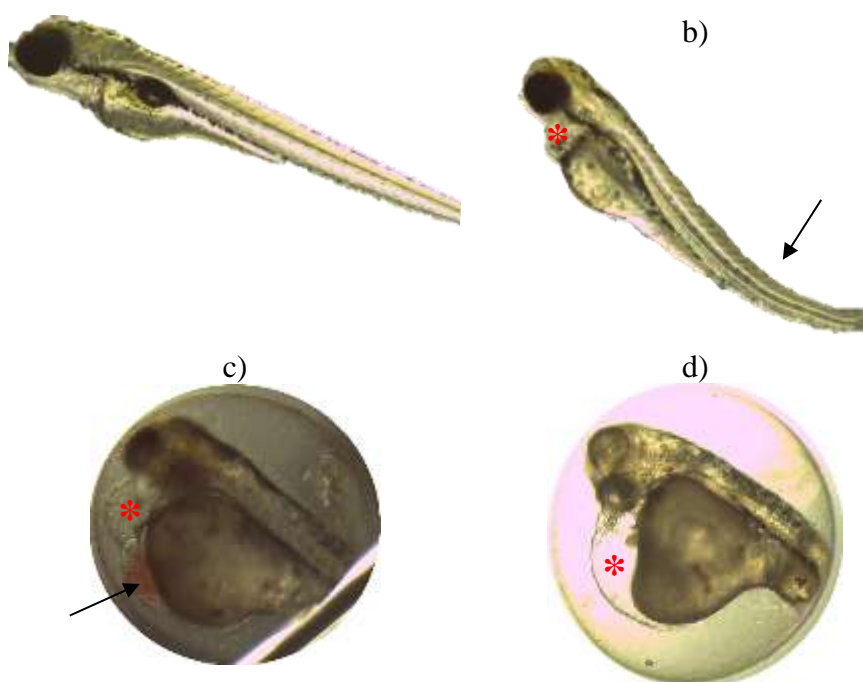
Uzorci *rac-45*, *rac-46*, *rac-77*, *rac-51* (Slika 64) nisu pokazali negativan utjecaj na preživljavanje i razvoj zebrice u rasponu koncentracija od 0,2–0,05 mmol L⁻¹. Kod kontrolnih grupa (negativna kontrola, kontrola otapala) nije zabilježen negativan utjecaj na razvoj zebrice (Tablica 18).

S obzirom na visoku smrtnost, predlaže se dodatno razrijeđivanje uzoraka i testiranje nižih koncentracija kako bi se detaljnije utvrdila razina toksičnosti.





Slika 64. Strukturne formule spojeva koji nisu pokazali negativan utjecaj na preživljavanje i razvoj zebrice.



Slika 65. Prikaz razvojnih abnormalnosti kod zebrice *Danio rerio* izlagane 96 sati testiranim uzorcima: a) normalno razvijena ličinka u kontrolnim skupinama, b) skolioza (strelica), perikardijalni edem (zvjezdica), c) krvarenje u području žumanjčane vreće (strelica), perikardijalni edem (zvjezdica); d) edem u području žumanjčane vreće (zvjezdica).

4.5.3. Ispitivanje antimikrobnog djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva

U suradnji dr. sc. Rozelindre Čož-Rakovac (Laboratorij za biotehnologiju u akvakulturi, Zavod za kemiju materijala, Institut Ruđer Bošković) provedeno je ispitivanje djelovanja odabranih novosintetiziranih spojeva na bakterijskim kulturama *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Rezultati ispitivanja prikazani su pomoću minimalne inhibitorne koncentracije (engl. *minimum inhibitory concentration*, MIC), koja predstavlja minimalnu koncentraciju pri kojoj se inhibira vidljiva proliferacija mikroorganizama nakon inkubacije. MIC vrijednosti određene su vizualno i spektrofotometrijskim očitavanjem apsorbancije pri valnoj duljini 600 nm nakon 0 i 18 h (Tablica 19).

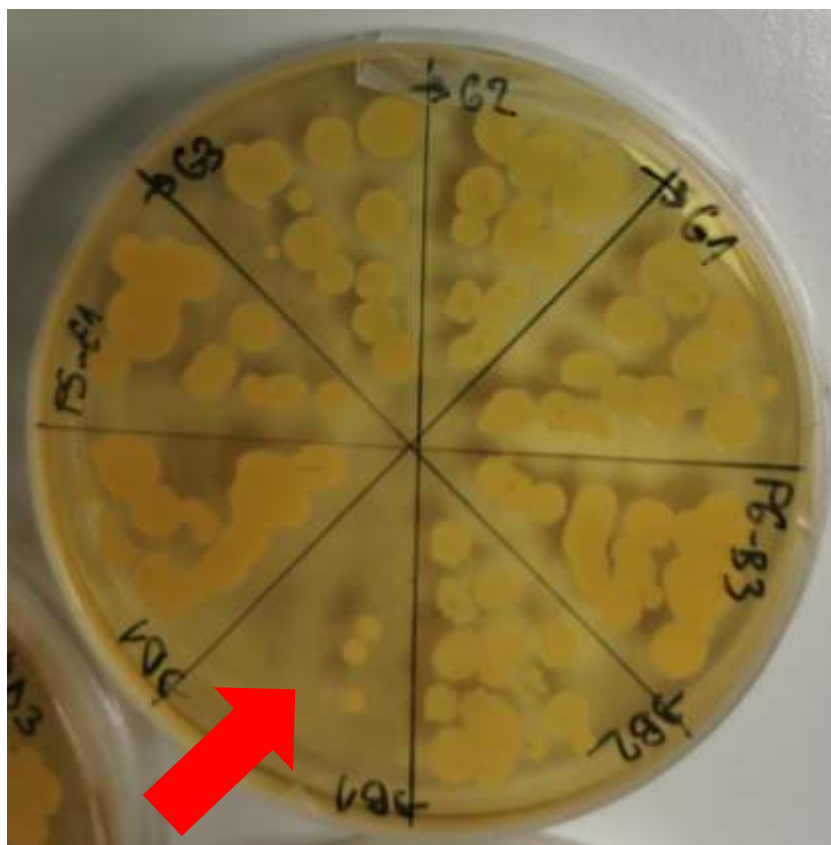
Tablica 19. MIC vrijednosti uslijed djelovanja ispitivanih spojeva.

Ispitivani spoj	MIC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		Ispitivani raspon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Komentari	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>rac-23</i>	>100	50	0,09765625–100	I	II
<i>rac-25</i>	>280	>280	0,2734375–280	I	I
<i>rac-24</i>	>100	>100	0,09765625–100	I	I
<i>rac-11</i>	>100	>100	0,09765625–100	I	I
<i>rac-15</i>	>100	>100	0,09765625–100	I	I
<i>rac-45</i>	>100	100	0,09765625–100	I	II
<i>rac-46</i>	>100	100	0,09765625–100	I	II
<i>rac-77</i>	>50	>50	0,083007813–50	I	I
<i>rac-51</i>	>100	50	0,166015625–100	I	II
<i>rac-52</i>	>100	50	0,166015625–100	I	II
<i>rac-53</i>	>50	50	0,09765625–50	I	II
<i>rac-54</i>	>100	100	0,09765625–100	I	II
<i>rac-55</i>	>100	50	0,09765625–100	I	II
<i>rac-58</i>	>100	100	0,09765625–100	I	II
<i>rac-59</i>	>100	100	0,09765625–100	I	II
<i>rac-16</i>	>100	50	0,09765625–100	I	II
<i>rac-13</i>	580	145	0,56640625–580	II	II

I – djelomična inhibicija na način ovisan o dozi (> MIC); II – inhibicija (MIC)

Ispitivana serija spojeva pokazala je djelomičnu inhibiciju rasta bakterije *Escherichia coli*, dok je spoj *rac-13* pokazao potpunu inhibiciju pri koncentraciji $580 \mu\text{g mL}^{-1}$. Ispitivana serija spojeva pokazala je bolje djelovanje prema *Staphylococcus aureus*, pri čemu spojevi *rac-25*, *rac-24*, *rac-11*, *rac-15* pokazuju djelomičnu inhibiciju rasta bakterije, dok ostali ispitivani spojevi pokazuju potpunu inhibiciju rasta bakterije.

Nakon određivanja MIC vrijednosti za ispitivanu seriju spojeva, određena je brojnost preživjelih bakterijskih stanica serijom razrjeđenja. Za ovu analizu je korišten sadržaj iz mikrotitarskih jažica koji je odgovarao MIC vrijednostima te dvije neposredno veće koncentracije. Minimalne bakteriocidne koncentracije (engl. *minimum bactericidal concentration*, MBK) novosintetizirane serije spojeva utvrđene su metodom dvostrukog serijskog mikrorazrjeđenja u tekućem Müller-Hinton mediju, nakon čega su odgovarajuće suspenzije bakterija i ispitivanih spojeva serijski razrijeđene i precijepljene na neselektivni BHI agar. Nakon inkubacije određen je postotak preživjelih bakterijskih stanica. Najmanja koncentracija koja je reducirala bakterijsku brojnost za > 99,0 % predstavlja minimalnu bakteriocidnu koncentraciju (engl. *minimum bactericidal concentration*, MBC). Od svih ispitivanih spojeva jedino marinoaziridin B (*rac-23*) pokazuje bakteriocidno djelovanje, pri čemu je MBC iznosila $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ (D3.1.)



Slika 65. Određivanje MBC marinoaziridina B, *rac-23*.

§ 5. ZAKLJUČAK

- * U okviru doktorske disertacije, sukladno iznesenim ciljevima, razvijena je prva totalna sinteza marinoaziridina B (*rac*-**23**), metiliranog derivata marinoaziridina A (*rac*-**25**) te njihovih strukturnih derivata (*rac*-**44-63**). Razvijena je enantioselektivna kromatografska metoda za razdvajanje enantiomera prekursora prirodnih spojeva, marinoaziridina i njihovih derivata na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije i superkritične fluidne kromatografije. Određena je apsolutna konfiguracija odabranih spojeva (**14a,14b; 23a,23b; 25a,25b**) primjenom CD i VCD tehnika. Na temelju *in silico* predviđanja biološke aktivnosti, odabrani su neki od novosintetiziranih spojeva za biološko ispitivanje na tri stanične linije (MCF-7 rak dojke, H-460 rak pluća, HEK293T zdravih stanica embrionalnog bubrega) te na bakterijskim kulturama *Escherichia Coli* i *Staphylococcus aureus*. Ispitana je embriotoksičnost upotrebom modelnog organizma zebrice *Danio rerio*.
- * Kvantno-kemijskim izračunima primjenom DFT funkcionala B3LYP uz korištenje baznog skupa 6-311++G(d,p) optimizirane su strukture marinoaziridina A i B, te je ispitan solvatacijski utjecaj (kloroform) na ravnotežu para tautomera kinolin-2(1*H*)-ona u strukturi marinoaziridina A i B. Na temelju dobivenih izračuna utvrđeno je da keto-oblik stabilniji za oko 6,5 kcal mol⁻¹ u odnosu na enolni oblik za oba marinoaziridina A i B. Primjenjeni su i DFT računi za predviđanje spektroskopskih svojstava organskih molekula u svrhu određivanja i potvrde strukture izoliranih spojeva. Usporedbom eksperimentalnih vrijednosti ¹H kemijskih pomaka s dobivenim GIAO računima, utvrđena je visoka linearna korelacija (R = 0,9979) između eksperimentalnih vrijednosti za sintetski spoj (*rac*-**23**) i vrijednosti dobivenih GIAO računima. Neznatno niža linearna korelacija (R = 0,9696) dobivena je usporedbom eksperimentalnih vrijednosti ¹H pomaka iz rada Fenical i vrijednosti dobivene GIAO. *In silico* predviđanjem bioloških svojstava marinoaziridina procijenjena je kinazna aktivnost. Predloženi su strukturni derivati s potencijalno boljim biološkim svojstvima koji u svojoj strukturi sadrže halogene elemente.
- * Razvijena je prva totalna sinteza marinoaziridina i strukturnih derivata polazeći iz komercijalno dostupnih kemikalija anilina i etil-acetoacetata. Marinoaziridin B

pripremljen je u 6 sintetskih koraka, preko epoksidnog prekursora (*rac-11*), koji je podvrgnut otvaranju prstena u prisustvu azidnog reagensa. Pripremljeni azidoalkohol (*rac-17a*) preveden je u aziridin u prisustvu trifenilfosfina i acetonitrila. Ukupno iskorištenje totalne sinteze marinoaziridina B (*rac-23*) iznosi 2 %. Derivat marinoaziridina A (*rac-25*) pripremljen je iz marinoaziridina B u prisustvu metil-jodida i natrijevog hidrida u tetrahidrofuranu u iskorištenju od 91 %. Strukturna analiza pripremljenih spojeva potvrđena je 1D i 2D NMR spektroskopijom. Također pripremljen je derivat marinoaziridina B (*rac-24*) u sedam sintetskih koraka iz *N*-benzilnilina i etil-acetoacetata, preko epoksidnog prekursora (*rac-13*), u ukupnom iskorištenju reakcije od 6,2 %. Bolje iskorištenje u ovom slučaju postignuto je zbog bolje topljivosti derivata kinolin-2(1*H*)-ona u organskim otapalima u kojima se provode kemijske transformacije. Bolja topljivost rezultat je uvođenja benzilne skupine na internu amidnu vezu kinolin-2(1*H*)-ona. Strukturni derivati (*rac-44-63*) pripremljeni su Johnson Corey Chaykovsky reakcijom, kao ključnim korakom totalne sinteze, u racemičnom obliku kao smjese *cis* i *trans* izomera u rasponu iskorištenja 26–96 %. U slučaju 5 novosintetiziranih spojeva (*rac-47*, *rac-49*, *rac-55*, *rac-57*, *rac-63*) postignuta je 100 % *cis*, odnosno *trans* selektivnost. 100 % selektivnost kod dvaju spojeva (*rac-55,57*) obrnute selektivnosti objašnjena je kvantno-kemijskim izračunima na DFT razini uzimajući u obzir implicitni učinak otapala. Za reakciju ilida s *meta*-fluoriranim iminom, korak koji određuje konfiguraciju produkta je eliminacija sulfida, koja rezultira stvaranjem stabilnijeg *cis* aziridina. U reakciji ilida s di-*ortho*-fluoriranim iminom, energetski profil pokazuje da samo *anti-cisoidni* betain (a ne najstabilniji *sin-cisoidni* betain) može proći dovoljno brzu rotaciju oko nastale C–C veze u *anti-transoidni* oblik, iz kojeg eliminacijom sulfida nastaje stabilniji *trans* aziridin.

- * Pripremljeni su marinociklopropani *rac-76,77*, iz *N*-alkilnih kinolin-2(1*H*)-onskih imina **74,75** i akiralne sulfonijeve soli **9**, u prisustvu *tert*-butil-litija, u rasponu iskorištenja 44–64 %.
- * Razvijena je enantioselektivna metoda za razdvajanje enantiomera iz racemične smjese novosintetiziranih spojeva primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije i superkritične fluidne kromatografije. Po prvi puta opisana je upotreba dimetilkarbonata u kiralnoj kromatografiji primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije.

Najbolji postignuti kromatografski uvjeti primjenjeni su na preparativnoj skali u svrhu izolacije triju enantiomerno čistih spojeva (**14a,14b; 23a,23b; 25a,25b**).

- * Izoliranim enantiomerno čistim spojevima određena je apsolutna konfiguracija primjenom CD i VCD tehnika. Dodijeljene apsolutne konfiguracije su: (*S,S*)-(-)-**14a**, (*R,R*)-(+)-**14b**; (*S*)-(+)-**23a**, (*R*)-(-)-**23b**; (*R*)-(-)-**25a**, (*R*)-(+)-**25b**.
- * Biološka ispitivanja marinoaziridina A i B te odabranih derivata provedena su na tri stanične linije (MCF-7 rak dojke, H-460 rak pluća, HEK293T zdravih stanica embrionalnog bubrega). Procjena antiproliferativnih učinaka spojeva pokazala je da većina testiranih spojeva pokazuje umjereno do jakog antiproliferativnog i/ili citotoksičnog učinka. Spoj *rac*-**11** bio je inaktivan, dok je *rac*-**55** pokazao značajnu selektivnost prema staničnoj liniji MCF-7. Ispitana je embriotoksičnost upotrebom modelnog organizma zebrice *Danio rerio*. Ispitivana serija spojeva pokazala je djelomičnu inhibiciju rasta bakterije *Escherichia coli*, dok je spoj *rac*-**13** pokazao potpunu inhibiciju pri koncentraciji 580 µg mL⁻¹. Ispitivana serija spojeva pokazala je bolje djelovanje prema *Staphylococcus aureus*, pri čemu spojevi *rac*-**25**, *rac*-**24**, *rac*-**11**, *rac*-**15** pokazuju djelomičnu inhibiciju rasta bakterije, dok ostali ispitivani spojevi pokazuju potpunu inhibiciju rasta bakterije.

§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ

α = selektivnost

4 Å MS = 4 Å molekulska sita

ADMET = apsorpcija, distribucija, metabolizam, eliminacija, toksičnost

AgOTf = srebrov triflat

B = baza

CBr₄ = ugljikov tetrabromid

CHCl₃ = kloroform

CH₃CN = acetonitril

CH₃COOH = octena kiselina

COOMe = metil-formijat

CO₂NEt₂ = *N,N*-dietilmetanamid

d = dublet

dd = dublet dubleta

ddd = dublet dublet dubleta

DCM = diklormetan

DIS = diskonekcija

DMC = dimetilkarbonat

DNA = deoksiribonukleinska kiselina

E⁺ = elektrofil

ee = enantiomerna čistoća

EA = enantiomerni par analita

ECD = elektronski cirkularni dikroizam

EtOH = etanol

EtP₂ = fosfazenska baza

H₂SO₄ = sumporna kiselina

HPLC = tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

HRMS = spektrometrija masa visoke djelotvornosti

IFS = interkonverzija funkcijske skupine

IR = infracrvena spektroskopija

J = konstanta sprege

KNF = kiralna nepokretna faza
KOH = kalijev hidroksid
 K_2CO_3 = kalijev karbonat
KS = kiralni selektor
LAH = Litijev aluminijev hidrid
LG = izlazna skupina
MBC = minimalna bakteriocidna koncentracija
MIC = minimalna inhibitorna koncentracija
m = multiplet
MeOH = metanol
 Me_2S = dimetil-sulfid
 $NaBH_4$ = natrijev borhidrid
NaH = natrijev hidrid
 NaN_3 = natrijev azid
NaOAc = natrijev acetat
NMR = nuklearna magnetska rezonancija
Nu = nukleofil
rac = racemična smjesa
RNA = ribonukleinska kiselina
 R_s = faktor razlučivanja
s = singlet
SFC = superkrična fluidna kromatografija
 SeO_2 = selenijev dioksid
 $SOCl_2$ = tionil klorid
s. t. = sobna temperatura
t = triplet
 t_t = točka taljenja
TLC = tankoslojna kromatografija
THF = tetrahidrofur
 $TiCl_4$ = titanijev tetraklorid
VCD = vibracijski cirkularni dikroizam

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. H. Malve, *J. Pharm. Bioallied Sci.* **8** (2020) 83–91.
2. S. I. Paul, B. C. Majumdar, R. Ehsan, M. Hasan, A. Baidya, M. A. H. Bakky, *J. Appl Biotechnol. Rep.* **2** (2021) 96–108.
3. D. K. Button, F. Schut, P. Quang, R. Martin, B. R. Robertson, *Appl. Environ Microbiol.* **3** (1993) 881–891.
4. P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **14** (2018) 4751–4755.
5. V. Šunjić, V. Petrović Peroković, *Organic Chemistry from Retrosynthesis to Asymmetric Synthesis*, Springer, Zagreb, str. 1–13.
6. E. J. Choi, S.-J. Nam, L. Paul, D. Beatty, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *Chem. Biol.* **22** (2015) 1270–1279.
7. J. B. Sweeney, *Chem. Soc. Rev.* **31** (2002) 247–258.
8. S. Heeb, M. P. Fletcher, S. R. Chhabra, S. P. Diggle, P. Williams, M. Cámara, *FEMS Microbiol. Rev.* **35** (2011) 247–274.
9. D. Tanner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **33** (1994) 599–619.
10. S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **21** (1888) 1049–1057.
11. F. Salimi, A. Karbakhshzadeh, N. Salehi *J. Chem. Lett.* **2** (2020) 56–63.
12. I. Alkorta, J. Elguero, K. Zborowski, *J. Phys. Chem.* **108** (2004) 7691–7701.
13. A. von Baeyer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **18** (1885) 2278.
14. A. Mukherjee, N.C. Ghosal, G.V. Zyryanov, A. Majee, S. Santra. *Current Green Chemistry* **3** (2019) 226–41.
15. P. Muller, P. Nury, *Helv. Chim. Acta* **84** (2001) 662–677.
16. S. Chandrasekhar, C. Narsihmulu, S. S. Sultana, *Tetrahedron Lett.* **43** (2002) 7361–7363.
17. T. K. Chakraborty, A. Ghosh, T. V. Raju, *Chem. Lett.* **32** (2003) 82–83.
18. J. Luginina, M. Turks, *Synlett.* **28** (2017) 939–943.
19. J. A. Kalow, A. G. Doyle, *Tetrahedron* **xxx** (2013) 1–8.
20. R. Akhtar, S. A. R. Naqvi, A. F. Zahoor, S. Saleem, *Mol. Divers.* **22** (2018) 447–501.
21. G. J. Buist, H. J. Lucas, *J. Amer. Chem. Soc.* **79** (1957) 6157–6160.
22. A.T. Bottini, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **80** (1958) 5203–5208.
23. G. Park, S. C. Kim, H. Y. Kang, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **26** (2005) 1339–1343.

24. L. Antollini, M. Bucciarelli, A. Forni, I. Moretti, F. Prati, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1991) 538–539.
25. I. D. G. Watson, L. Yu, A. K. Yudin, *Acc. Chem. Res.* **39** (2006) 194.
26. Helene Pellissier, *Adv. Synth. Catal.* 0000, 000, 0–0.
27. N. C. Ghosal, S. Santra, S. Das, A. Hajra, G. V. Zyryanovb, A. Majee, *J. Name.* **00** (2013) 1–3
28. X. E. Hu, *Tetrahedron* **60** (2004) 2701–2743.
29. S. Sabir, G. Kumar, V. P. Verma, J. L. Jat, *ChemistrySelect* **3** (2018) 3702–3711.
30. S. Hongnan, Y. Chao, L. Run, X. Wujiong, *Adv. Synth. Catal.* **356** (2014) 2775–2780.
31. G. E. Ham, *J. Am. Chem. Soc.* **29** (1964) 3052–3055.
32. D. R. Hartshorn, *Aliphatic Nucleophilic Substitution*, Cambridge University Press, London, 1973., str 1–6.
33. E. V. Anslyn, D. A. Dougherty, *Modern physical organic chemistry*, University Science Books, Sausalito, 2006.
34. A. M. Abdella, A. M. Abdelmoniem, I. A. Abdelhamid, A. H. M. Elwahy, *J. Heterocyclic Chem.* (2020) 1–48.
35. N. Kerru, L. Gummidi, S. Maddila, K. K. Gangu, S. B. Jonnalagadda, *Molecules*, **25** (2020) 1909.
36. E. Vitaku, D. T. Smith, J. T. Njardarson, *J. Med. Chem.* **54** (2014) 10257–10274.
37. F. M. D. Ismail, D. O. Levitsky, V. M. Dembitsky, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 3373–3387.
38. M. Kasai, M. Kono, *Synlett.* **10** (1992) 778–790.
39. J. Verweij, H. M. Pinedo, *Anti-Cancer Drugs* **1** (1990) 5–13.
40. K. Yokoi, K. Nagaoka, T. Nakashima, *Chem. Pharm. Bull.* **34** (1986) 4554–4461.
41. K. Nagaoka, M. Matsumoto, J. Oono, K. Yokoi, S. Ishizeki, T. Nakashima, T., *J. Antibiot.* **39** (1986) 1527–1532.
42. M. S. Kuo, D. A. Yurek, S. A. Mizensak, *J. Antibiot.* **29** (1976) 357–360.
43. T. Tsuchida, R. Saea, Y. Takahashi, H. Iinuma, T. Sawa, H. Naganawa, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **48** (1995) 1148–1152.
44. H. Konno, K. Kubo, H. Makabe, E. Toshiro, N. Hinoda, K. Nosaka, K. Akaji, *Tetrahedron* **63** (2007) 9502–9513.

45. K. I. Harada, K. Tomita, K. Fujii, K. Masuda, Y. Mikami, K. Yazava, H. Komaki, *J. Antibiot.* **57** (2004) 125–135.
46. S. Komano, M. Shimamura, M. Inoue, M. Hirama, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 14184–14186.
47. D. Tanner, *Pure & Appl. Chem.* **65** (1993) 1319.
48. D. Janardanan, R. B. Sunoj, *J. Org. Chem.* **73** (2008) 8163–8174.
49. A. K. Yudin, *Aziridines and Epoxides in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
50. L. Degennaro, P. Trinchera, R. Luisi, *Chem. Rev.* **114** (2014) 7881–7929.
51. B. Strumfs, R. Uljanovs, K. Velikijs, P. Trapencieris, I. Strumfa, *Int. J. Mol. Sci.* **22** (2021) 9861.
52. M. Marckwald, O. Frobenius, *Chem. Ber.* **34** (1901) 3544–3558.
53. P. E. Fanta, “Chemistry of Heterocyclic Compounds: Heterocyclic Compounds with Three and Four-Membered Rings” Vol. 19, p 524–575.
54. H. Wenker, *J. Am. Chem. Soc.*, **57** (1935) 2328–2328.
55. G. Alvaro, R. D. Fabio, A. Gualandi, D. Savoia, *Eur. J. Org. Chem.* (2007) 5573–5582.
56. O. O. Fadeyi, C. W. Lindsley, *Org. Lett.* **11** (2009) 943.
57. O. O. Fadeyi, M. L. Schulte, C. W. Lindsley, *Org. Lett.* **12** (2010) 3276–3278.
58. J. Wei, Z. Chen, Y. Gao, P. Zhang, C. Wang, P. Zhao, Y. Wang, X. Shi, *Chin. J. Chem.* **30** (2012) 391–399.
59. A. R. da Silva, D.A. dos Santos, M.W Paixão, A.G. Corrêa, *Molecules* **24** (2019) 2–11.
60. C. Wang, *Synthesis* **49** (2017) 5307–5319.
61. H. Staudinger, J. Mcycr., *Helv. Chem. Acta.* **2** (1919) 635.
62. A. Hassner, J. E. Galle., *J. Am. Chem. Soc.* **92** (1970) 3733.
63. Y. Ittah, Y. Sasson, I. Shahak, S. Tsaroom, J. Blum, *J. Org. Chem.* **43** (1978) 4271.
64. Y. G. Gololobov, I. N. Zhmurova, L. F. Kasukhin, *Tetrahedron* **37** (1981) 437–472.
65. J. Legters, L. Thijs, B. Zwanenburg, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas.*, **111** (1992) 1–15.
66. S. K. K. Kim, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43** (2004) 3952–3954.
67. G. Bartoli, M. Bosco, A. Carlone, M. Locatelli, P. Melchiorre, L. Sambri, *Org. Lett.* **6** (2004) 3973–3975.
68. F. A. Davis, R. E. Reddy, J. M. Szewczyk, G. V. Reddy, P. S. Portonova, H. Zhang, D. Fanelli, R. T. Reddy, P. Zhou, P. J. Carroll, *J. Org. Chem.* **62** (1997) 2555.
69. J. A. Ellman, *Pure Appl. Chem.* **75** (2003) 39.

70. B. Denolf, S. Mangelinckx, K. W. Tornroos, N. De Kimpe, *Org. Lett.* **8** (2006) 3129–3132.
71. B. Denolf, E. Leemans, N. De Kimpe, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 3211–3217.
72. H. Pellissier, *Tetrahedron* **66** (2010) 1509–1555.
73. L. Maestre, W. M. C. Sameera, M. M. Diaz-Requejo, F. Maseras, P. J. Perez, *J. Am. Chem. Soc.* **135** (2013) 1338–1348.
74. D. A. Evans, M. M. Faul, M. T. Bilodeau, B. A. Anderson, D. M. Barnes, *J. Am. Chem. Soc.* **115** (1993) 5328–5329.
75. Z. Li, K. R. Konser, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **115** (1993) 5326–5327.
76. H. Suga, A. Kakehi, S. Ito, T. Ibata, T. Fudo, Y. Watanabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **76** (2003) 189–199.
77. L. Saniere, L. Leman, J.-J. Bourguignon, P. Dauban, R. H. Dodd, *Tetrahedron* **60** (2004) 5889–5897.
78. Z. Li, R.-W. Quan, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 5889.
79. P. Muller, C. Baud, Y. Jacquier, M. Moran, I. Nageli, *J. Phys. Org. Chem.* **9** (1996) 341.
80. P. Muller, C. Baud, Y. Jacquier, *Can. J. Chem.* **76** (1998) 738.
81. K. Omura, M. Murakami, T. Uchida, R. Irie, T. Katsuki, *Chem. Lett.* **32** (2003) 354.
82. R. S. Atkinson, M. J. Grimshire, B. J. Kelly, *Tetrahedron* **45** (1989) 2875.
83. R. S. Atkinson, D. W. Jones, B. J. Kelly, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1** (1991) 1344.
84. J. Li, J.-L. Liang, P. W. H. Chan, C.-M. Che, *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 2685.
85. I. D. G. Watson, L. Yu, A. K. Yudin, *Acc. Chem. Res.* **39** (2006) 194.
86. K. B. Hansen, N. S. Finney, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34** (1995) 676.
87. K. G. Rasmussen, K. A. Jorgensen, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1995) 1401.
88. M. Moran, G. Bernardinelli, P. Muller, *Helv. Chem. Acta* **78** (1996) 2048.
89. J. R. Krumper, M. Gerisch, J. M. Suh, R. G. Bergman, T. D. Tilley, *J. Org. Chem.* **68** (2003) 9705–9710.
90. X.-J. Zhang, M. Yan, D. Huang, *Org. Biomol. Chem.* **7** (2009) 187–192.
91. B. List, *Chemical Reviews* **107** (2007) 5413–5415.
92. M. C. Holland, R. Gilmour, *Angewandte Chemie-International Edition* **54** (2015) 3862–3871.
93. J. C. Antilla, W. D. Wulf, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 5099.
94. J. C. Antilla, W. D. Wulf, *Angew. Chem. Int. Ed.* **39** (2000) 4518.
95. M. J. Vetticatt, A. A. Desai, W. D. Wulf, *J. Org. Chem.* **78** (2013) 5142–5152.

96. A. K. Gupta, M. Mukherjee, W. D. Wulf, *Org. Lett.* **13** (2011) 5866–5869.
97. A. K. Gupta, M. Mukherjee, G. Hu, W. D. Wulf, *J. Org. Chem.* **77** (2012) 7932–7944.
98. L. Huang, Y. Zhang, R. J. Staples, R. H. Huang, W. D. Wulff, *Chem. - Eur. J.* (2012) 5302–5313.
99. J. J. Li, *Name Reactions*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2006.
100. J. Sweeney, *Eur. J. Org. Chem.* (2009) 4911–4919.
101. Yadav, L. D. S.; Kapoor, G. R. *Tetrahedron Lett.* 2009, 5420–5423.
102. Davis, F. A.; Wu, Y.; Yan, H.; McCoull, W.; Prasad, K. R. *J. Org. Chem.* **68** (2003) 2410–2419.
103. Davis, F. A.; Ramachandar, T.; Wu, Y. *J. Org. Chem.* **68** (2003) 6894–6898.
104. Sweeney, J. B.; Cantrill, A. A.; MaLaren, A. B.; Thobhani, S. *Tetrahedron* **62** (2006) 3681–3693.
105. A. W. Johnson, R. B. LaCount, *J. Am. Chem. Soc.* **83** (1961) 417.
106. E. J. Corey, M. Chaykovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **84** (1962) 867.
107. R. Robiette, *J. Org. Chem.* **71** (2006) 2726–2734.
108. D. Janardanan, R. B. Sunoj, *J. Org. Chem.* **73** (2008) 8163–8174.
109. J. L. Garcia-Ruano, I. Fernandez, C. Hamdouchi, *Tetrahedron Lett.* **36** (1995) 295–298.
110. F. A. Davis, P. Zhou, C.-H. Liang, R. E. Reddy, *Tetrahedron: Asymmetry* **6** (1995) 1511–1514.
111. D. Morton, D. Pearson, R. A. Field, R. A. Stockman, *Synlett.* **13** (2003) 1985–1988.
112. D. Morton, D. Pearson, R. A. Field, R. A. Stockman, *Org. Lett.* **6** (2004) 2377.
113. D. Morton, D. Pearson, R. A. Field, R. A. Stockman, *Chem. Commun.* (2006) 1833–1835.
114. A.-H. Li, L.-X. Dai, V. K. Aggarwal, *Chem. Rev.* **97** (1997) 2341–2372.
115. V. K. Aggarwal, A. Thompson, R. V. H. Jones, M. C. H. Standen, *J. Org. Chem.* **61** (1996) 8368.
116. A.-H. Li, L.-X. Dai, X.-L. Hou, *Chem. Commun.* (1996) 491.
117. L.-X. Dai, X.-L. Hou, Y.-G. Zhou, *Pure Appl. Chem.* **71** (1999) 369–376.
118. A. Solladie-Cavallo, M. Roje, R. Welter, V. Šunjić, *J. Org. Chem.* **69** (2004) 1409–1412.
119. I. Stipetić, M. Roje, Z. Hameršak, *Synlett.* **20** (2008) 3149–3152.
120. I. Dokli, I. Matanović, Z. Hameršak, *Chem. Eur. J.* **16** (2010) 11744–11752.

121. Y. Gui, S. Shen, H.-Y. Wang, Z.-Y. Li, Z.-Z. Huang, *Chem. Lett.* **36** (2007) 1436.
122. S. A. Kavanagh, A. Piccinini, S. Connon, *J. Org. Biomol. Chem* **11** (2013) 3535–3540.
123. C. G. Kokotos, E. M. McGarrigle, V. K. Aggarwal, *Synlett.* (2008) 2191–2195.
124. V. L. M. Silva, A. M. S. Silva, *Molecules* **24** (2019) 228.
125. J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **8** (1991) 53–68.
126. J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **25** (2008) 166–187.
127. M. R. Nimlos, D. F. Kelley, E. R. Bernstein, *J. Phys. Chem.* **91** (1987) 6610–6614.
128. M. M. Abdou, *Arabian Journal of Chemistry* **12** (2019) 88–121.
129. S. H. Pine, *Organska kemija, Školska knjiga*, 1994., 1203 str.
130. J. P. Michael, *Nat. Prod. Rep.* **25** (2008) 166–187.
131. M. I. Andersson, A. P. MacGowan, *J. Antimicrob. Chemother.* **51** (2003) 1–11.
132. G. Y. Leshner, E. J. Froelich, M. D. Gruett, J. H. Bailey, R. P. Brundage, *J. Med. Chem.* **5** (1962) 1063–1065.
133. H. Huse, M. Whiteley, *Chem. Rev.* **111** (2011) 152–159.
134. X.-F. Shang, S. L. Morris-Natschke, Y. – Q. Liu, X. Guo, X. S. Xu, M. Goto, J. –C. Li, G. – Z. Yang, K. - H. Lee, *Med. Res. Rev.*, **38** (2017) 775–828.
135. J. A. Joule, K. Mills, In *Heterocyclic chemistry*, 4th ed.; Blackwell Science: Oxford, MA, USA, 2000; Volume 6, pp. 1–589.
136. R. C. Fuson, D. N. Burness, *J. Am. Chem. Soc.* **68** (1946) 1270–1272.
137. A. A. Boteva, O. P. Krasnykh, *Chem. Heterocycl. Comp.* **45** (2009) 757–785.
138. L. Knorr, *Justus Liebig's Annalen der Chemie* **236** (1886) 69–115.
139. M. Marull, O. Lefebvre, M. Schlosser, *Eur. J. Org. Chem.* **1** (2004) 54–63.
140. B. Palakshi Reddy, P. Iniyavan, S. Sarveswari, V. Vijayakumar, *Chin. Chem. Lett.* **25** (2014) 1595–1600.
141. G. Battistuzzi, R. Bernini, S. Cacchi, I. De Salve, G. Fabrizi, *Adv. Synth. Catal.* **349** (2007) 297–302.
142. N. A. Cortese, C. B. J. Ziegler, B. J. Hrnjez, R. F. Heck, *J. Org. Chem.* **43** (1978) 2952–2958.
143. A. Arcadi, S. Cacchi, G. Fabrizi, F. Manna, P. Pace, *Synlett* (1998) 446–448.
144. X. Zhang, H. Liu, Y. A. Jia, *Chem. Commun.* **52** (2016) 7665–7667.
145. M. Mori, K. Chiba, N. Ohta, Y. A. Ban, *Heterocycles* **13** (1979) 329–332.
146. K. Okuro, H. Kai, H. Alper, *Tetrahedron Asymm.* **8** (1997) 2307–2309.

147. M. G. Banwell, D. W. Lupton, X. Ma, J. Renner, M. O. Sydnes, *Org. Lett.* **6** (2004) 2741–2744.
148. L. Porosa, R. D. Viirre, *Tetrahedron Lett.* **50** (2009) 4170–4173.
149. K. Wolinski, J. F. Hinton, P. Pulay, *J. Am. Chem. Soc.* **112** (1990) 8251–8260.
150. https://en.wikipedia.org/wiki/Simplified_molecular-input_line-entry_system
151. <http://www.simulations-plus.com/assets/ADMET-Predictor-Nov2016.pdf> [10. rujna, 2022].
152. W. B. Jennings, C. J. Lovely, *Tetrahedron* **47** (1991) 5561–5568.
153. E. Vedejs, D. A. Engler, M. J. Mullins, *J. Org. Chem.* **42** (1977) 3109–3113.
154. E. L. Eliel, J. E. Lynch, F. Kume, S. V. Frye, *Org. Synth.* **65** (1987) 215–223.
155. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, Jr. Montgomery, J. A., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, D. J. Fox. Gaussian 16, Revision C.01. Wallingford CT: Gaussian, Inc.; 2016.
156. T. Bruhn, A. Schaumlöffel, Y. Hemberger, G. Bringmann, *Chirality*, **25** (2013) 243–249.
157. S. Babić, J. Barišić, H. Višić, R. Klobučar Sauerborn Klobučar, N. Topić Popović, I. P. Strunjak-Perović, R. Čož-Rakovac, G. Klobučar G. *Water Research* **115** (2017) 9–21.
158. T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **65** (1983) 55–63.
159. A. R. Katritzky, C. D. Hall, B. El-Dien, M. El-Gendy, B. Draghici, *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **24** (2010) 475–484.
160. S. Zilberg, B. Dick, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19** (2017) 25086–25094.
161. I. Alkorta, J. Elguero, *J. Org. Chem.*, **67** (2002) 1515–1519.

162. B. S. Dyson, J. W. Burton, T. Sohn, B. Kim, H. Bae, D. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **134** (2012) 11781–11790.
163. E. J. Choi, S.-J. Nam, L. Paul, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *Chemistry & Biology*, **22** (2015) 1270–1279.
164. S. Ekins, J. Mestres, B. Testa, *British Journal of Pharmacology* **152** (2007) 9–20.
165. F. Cheng, W. Li, Y. Zhou, J. Shen, Z. Wu, G. Liu, P. W. Lee, Y. Tang, *J. Chem. Inf. Model* **52** (2012) 3099–3105.
166. S. Kar, J. Leszczynski, *Expert Opin. Drug Discov.* (2020) 1473–1487.
167. M. S. Lowless, M. Waldman, R. Franczkiewicz, R. D. Clark Vol. 232. Switzerland: Springer International Publishing AG; 2016, str. 139–170.
168. H. Yang, C. Lou, L. Sun, J. Li, Y. Cai, Z. Wang, W. Li, G. Liu, Y. Tang, *Bioinformatics* **35** (2018) 1067–1069.
169. F. Cheng, W. Li, Y. Zhou, J. Shen, Z. Wu, G. Liu, P. W. Lee, Y. Tang, *J. Chem. Inf. Model.* **52** (2012) 3099–3105.
170. D. E. V. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher, *J Med Chem.* **58** (2015) 4066–4072.
171. D. Gfeller, A. Grosdidier, M. Wirth, A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Nucleic. Acids Res.* **42** (2014) 32–38.
172. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv Drug Deliv Rev* **46** (2001) 3–26.
173. C. A. Lipinski, *Drug Discov Today*, **1** (2004) 337–341.
174. D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple, *J. Med. Chem.* **45** (2002) 2615–2623.
175. M. S. Alavijeh, M. Chishty, M. Z. Qaiser, A. M. Palmer, *NeuroRX* **2** (2005) 554–571.
176. K. I. Block, C. Gyllenhael, *Integrative cancer therapies* **1** (2002) 83–89.
177. D. Gfeller, O. Michielin, V. Zoete, *Bioinformatics* **29** (2013) 3073–3079.
178. Z. Wang, *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, John Wiley & Sons, 2010, str. 692–695.
179. C. O. Kappe, D. Dallinger, S. S. Murphree, *Practical microwave synthesis for organic chemists*, Wiley-WCH, Weinheim, 2009.
180. A. S. C. Fonseca, M. S. T. Gonçalves, S. P. G. Costa, *Amino Acids* **39** (2010) 699–712.
181. G. R. Waltkins, C. W. Clark, *Chem. Rev.* **36** (1945) 235.

182. Cook, Stampar, *J. Am. Chem. Soc.* **69** (1947) 1467–1467.
183. V. K. Aggarwal, C. L. Winn, *Acc. Chem. Res.* **37** (2004) 611–620.
184. A. W. Johnson, R. B. La Count, *Chem. Ind.* (1958) 1440–1441.
185. F. Fringuelli, O. Piermatti, F. Pizzo, L. Vaccaro, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 6094–6096.
186. A. Fallah-Mehrjadi, A. Reza Kiasct, K. N. Knam, *J. Iran. Chem. Soc.* **15** (2018) 2033–2081.
187. C. H. Davis, J. L. Bailey, J. W. Lockner, R. M. Coates, *J. Org. Chem.* **68** (2003) 75–82.
188. F. Kazemi, A. R. Kiasat, S. Ebrahimi, *Synth. Commun.* **33** (2003) 999–1004.
189. V. K. Aggarwal, J. P. H. Charment, C. Ciampi, J. M. Hornby, C. J. O’Brian, G. Hynd, R. J. Parsons, *Chem. Soc., Perkin Trans.* **1** (2001) 3159–3166.
190. D.-K. Wang, L.-X. Hou, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **13** (1997) 1231.
191. I. Dokli, I. Matanović, Z. Hameršak, *Chem. Eur. J.* **16** (2010) 11744–11752.
192. R. Robiette, *J. Org. Chem.* **71** (2006) 2726–2734.
193. D. Janardanan, R. B. Sunoj, *Chem. Eur. J.* **13** (2007) 4805–4815.
194. D. Janardanan, R. B. Sunoj, *J. Org. Chem.* **73** (2008) 8163–8174.
195. C.V. K. Aggarwal, J. N. Harvey, J. Richardson, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 5757–5856.
196. S. Abu-Lafi, M. Sterin, S. Levin, *J. Chromatogr. A* **69** (1994) 47–58.
197. A. Tarafder, L. Miller, *Journal of Chromatography A* **1638** (2021) 461878.
198. D. Mangelings, S. Eeltink, Y. Vander Heyden, *Separation methods in drug synthesis and purification*, Volume 8, 2020, 453–521.
199. N. Galić, V. Drevenkar, *Kromatografija*, Zavod za analitičku kemiju, Kemijski odsjek, PMF, Zagreb, 2006.
200. B. Lajin, W. Goesler, *J. Anal. At. Spectrom.* **36** (2021) 1272–1279.
201. S.-H. Pyo, J. Hoon Park, T.-S. Chang, R. Hatti-Kaul, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* **5** (2017) 61–66.
202. H. Y. Aboul-Enein, I. Ali, *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.* **25** (2002) 2739–2748.
203. A.-E. Dascalu, D. Speybrouck, M. Billamboz, D. Corens, A. Ghinet, E. Lipka, *Journal of Chromatography A* **1622** (2020) 461125.
204. C. Vaccher, V. Wallez, P. Carato, M. P. Vaccher, J. P. Bonte, *Chromatographia* **52** (2000) 513–516.

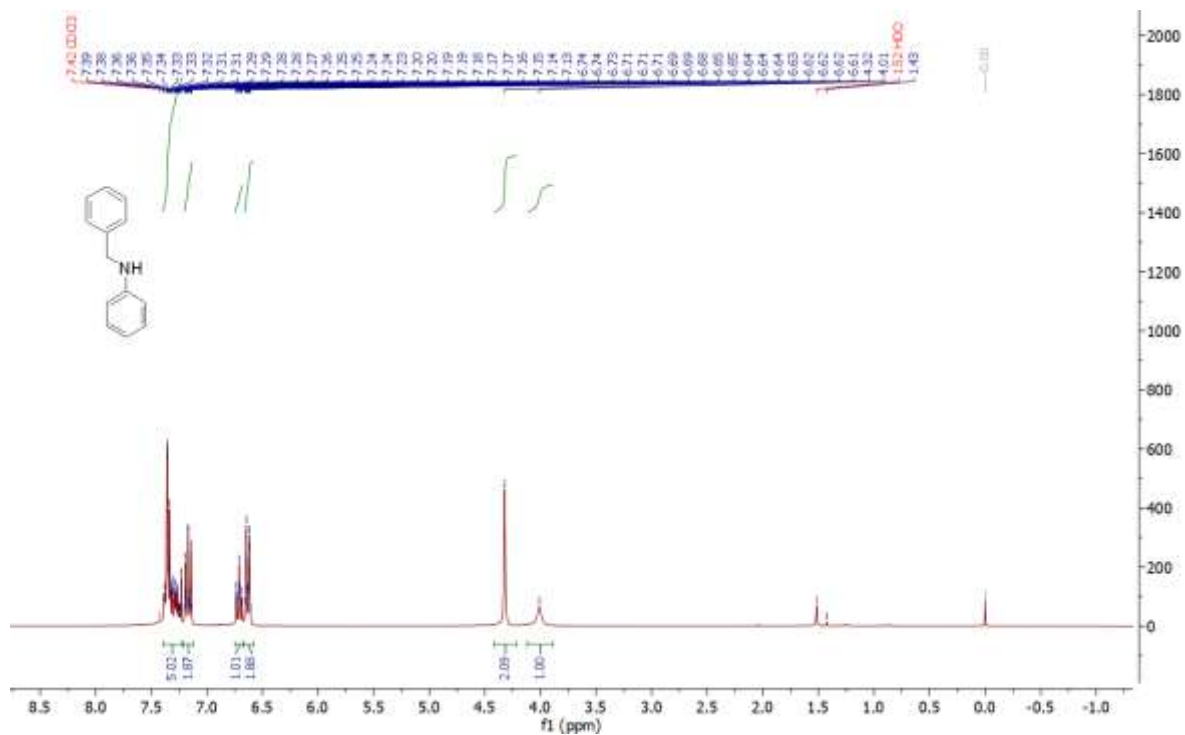
205. R. Tatini, O. Sadik, S. Bernhard, H. Abruna, *Anal. Chim. Acta* **534** (2005) 193–198.
206. C. Singh, C. S. Sharma, P. R. Kamble, *Int. J. Pharm.* (2013) 69–75.
207. T. C. Velickovic, J. Ognjenovic, L. Mihajlovic, *Ion Exc. Tec.*, **11** (2012) 1–34.
208. Y. Wang, C. Ma, R. Feng, J. Fu, Y. Sun, Q. Zhang, Y. Zhang, Y. Zhou, B. Yang, Y. Zhang et al., *Acta Pharm. Sin. B.* **2** (2012) 527–533.
209. J. Yu, J. Tang, X. Yuan, X. Guo, L. Zhao, *Chirality* **29** (2017) 147–154.
210. T. Wang, *Anal. Chem.* **73** (2001) 4190–4195.
211. A. A. Younes, C. Galea, D. Mangelings, Y. V. Heyden, Normal-Phase and Polar Organic Solvents Chromatography in Analytical Separation Science, 3rd. ed., 2015, 227–244.
212. Horton, J. R.; Sawada, K.; Nishibori, M.; Zhang, X.; Cheng, X. *Structure* **9** (2001) 837–849.
213. J. A. Olsen, D. W. Banner, P. Seiler, U. Obst Sander, A. D’Arcy, M. Stihle, K. Müller, F. Diederich, *Angew. Chem., Int. Ed.* **42** (2003) 2507–2511.
214. J. K. Kimberli, A. Choudhary, R. T. Raines, *J. Org. Chem.* **78** (2013) 2099–2103.
215. G. Paramaguru, R. V. Solomon, S. Jagadeeswari, P. Venuvanalingam, R. Renganathan, *Eur. J. Org. Chem.* (2014) 753–766.
216. R. Sardella, F. Ianni, A. Lisanti, M. Marinozzi, S. Scorzoni, B. Natalini, *Biomed. Chromatogr.* **28** (2014) 159–167.
217. R. W. Stringham, Y. K. Ye, *J. Chromatogr. A* **1101** (2006) 86–93.
218. J. A. Blackwell, R. W. Stringham, D. Xiang, R. E. Waltermire, *J. Chromatogr. A* **852** (1999) 383–394.
219. S. Ma, S. Shen, H. Lee, N. Yee, C. Senanayake, L. A. Nafie, N. Grinberg, *Tetrahedron: Asymmetry* **19** (2008) 2111–2114.
220. I. W. Wainer, M. C. Alembik, E. Smith, *J. Chromatogr A* **388** (1987) 65–74.
221. I. W. Wainer, R. M. Stiffin, *J. Chromatogr A* **411** (1987) 139–151.
222. R. Koga, Y. Miyoshi, Y. Sato, M. Mita, R. Konno, W. Lindner, K. Hamase, *Chromatographia* **37** (2016) 15–22.
223. R. Bhusan, H. Nagar, J. Martens, *RSC Adv.* **5** (2015) 316–328.
224. S. Batra, R. Bhushan, *Biomed. Chromatogr.* **32** (2017) 1.
225. G. Hesse, R. Hagel, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* (1976) 996.
226. E. Yashima, T. Matsushima, Y. Okamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 6345–6359.

227. R. R. Nageswara, R. A. Narasa, D. Nagaraju, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **42** (2006) 347–353.
228. G. Hesse, R. Hagel, *Chromatographia* **6** (1973) 277.
229. K. De Klerck et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **69** (2012) 77–92.
230. I. Tomoyuki, Y. Okamoto, Preparation and chiral recognition of polysaccharide-based selectors, in: A. Berthod (Ed.), *Chiral Recognition in Separation Methods–Mechanisms and Applications*, Springer, Lyon, France, 2010, pp. 33–52.
231. A.E. Dascalu, D. Speybrouck and M. Billamboz, D. Corens, A. Ghinet, E. Lipka, *J. Chromatogr. A* **1622** (2020) 461125.
232. R. M. Wenslow, Jr. Wang, Tao Wang, *Anal. Chem.* **72** (2001) 4190–4195.
233. D. Ibrahim, A. Ghanem, *Molecules* **24** (2019) 1287.
234. G. Pescitelli, T. Bruhn, *Chirality* **28** (2016) 466–474.
235. S. Superchi, P. Scafato, M. Gorecki, G. Pescitelli, *Curr. Med. Chem.* **25** (2018) 287–320.
236. L. Grauso, R. Teta, G. Esposito, M. Menna, A. Mangoni, *Natural Product Reports* **36** (2019) 1005–1030.
237. J. Autschbach. 9.15 - Calculating Electronic Optical Activity of Coordination Compounds A2 - Reedijk, Jan. In: Poeppelemeier K, editor. *Comprehensive Inorganic Chemistry II (Second Edition)*. Amsterdam: Elsevier; 2013. 407–426.
238. J. Autschbach, L. Nitsch-Velasquez, M. Rudolph, *Topics in Current Chemistry* **298** (2011) 1–98.
239. É. Brémond, M. Savarese, N. Q. Su, Á. J. Pérez-Jiménez, X. Xu, J. C. Sancho-García, C. Adamo, *Journal of Chemical Theory and Computation* **12** (2016) 459–465.
240. M. Bursch, J.-M. Mewes, A. Hansen, S. Grimme, *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, e202205735.
241. . B. Mennucci, C. Cappelli, R. Cammi, J. Tomasi, *Chirality* **23** (2011) 717–729.
242. J.-D. Chai, M. H.-Gordon, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **10** (2008) 6615–6620.
243. Axel D. Becke, *The Journal of Chemical Physics* **98** (1993) 5648–5652.
244. T. Yanai, D. P. Tew, N. C. Handy, *Chemical Physics Letters* **393** (2004) 51–57.
245. F. Weigend, R. Ahlrichs, *Physical Chemistry Chemical Physics* **7** (2005) 3297–3305.

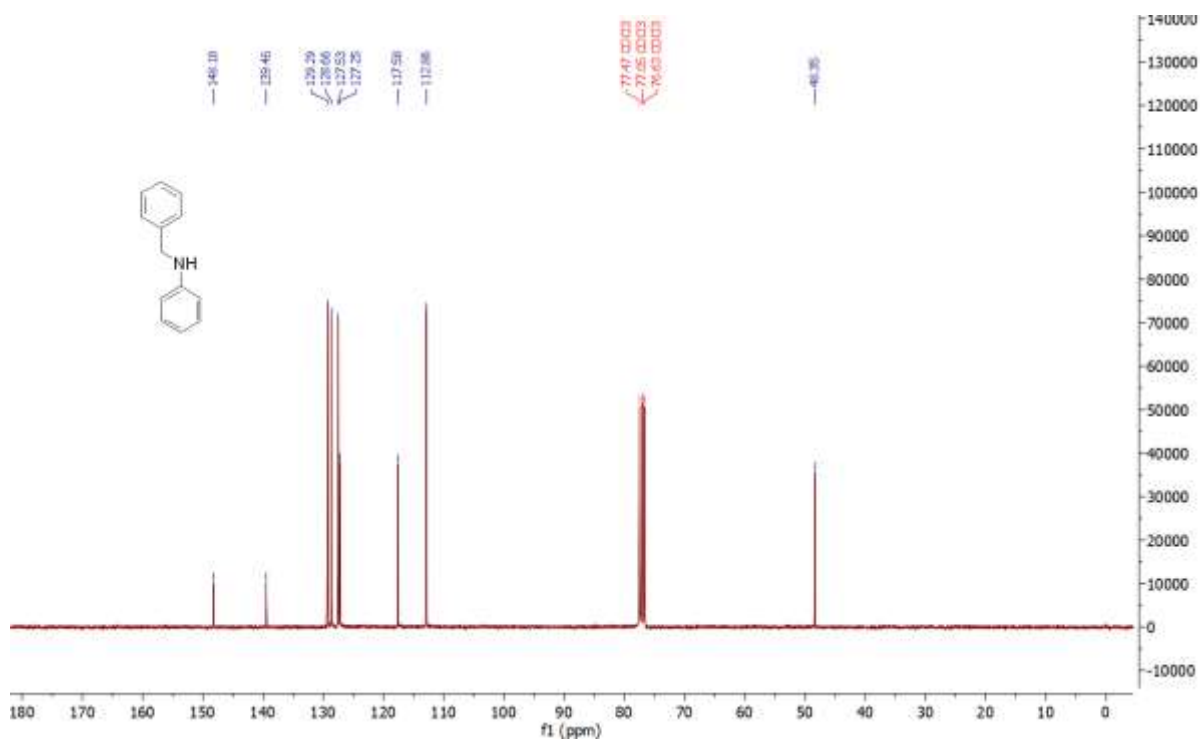
-
246. T. B. Freedman, X. Cao, R. K. Dukor, L. A. Nafie, *Chirality* **15** (2003) 743–758.
247. P. J. Stephens, F. J. Devlin, J.-J. Pan, *Chirality* **20** (2008) 643–663.

§ 8. DODATAK

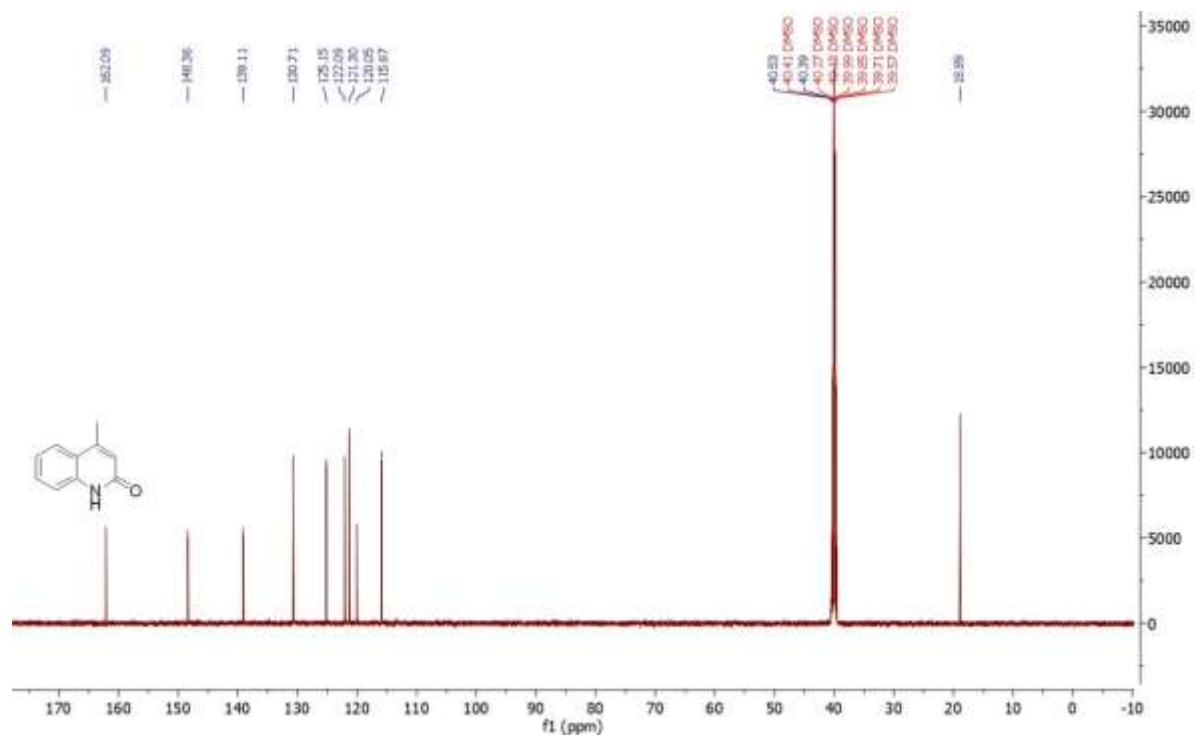
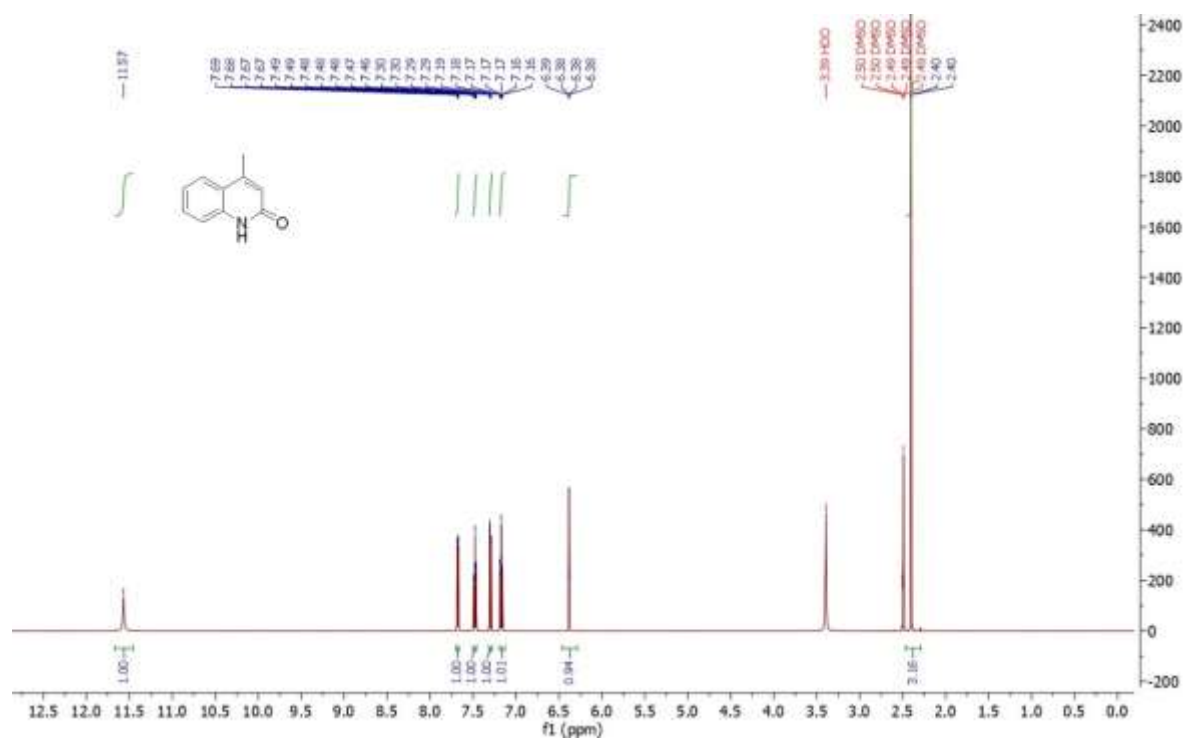
8.1. Dodatak 1: NMR spektri

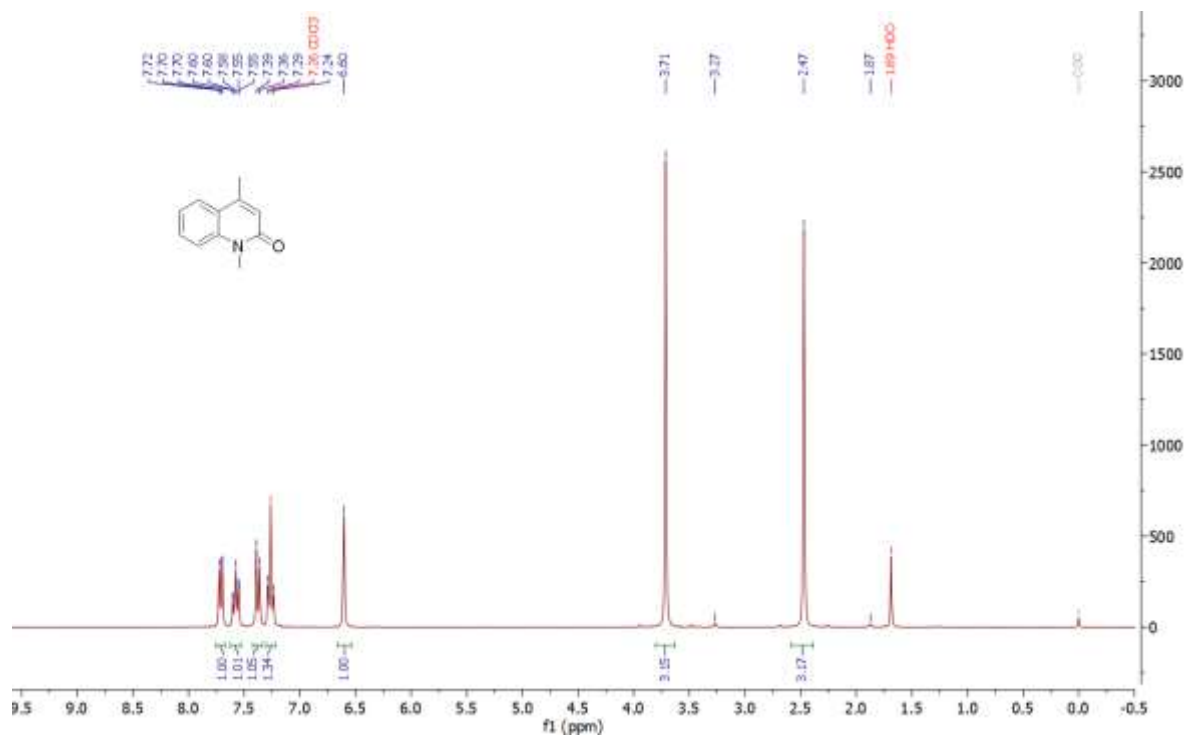
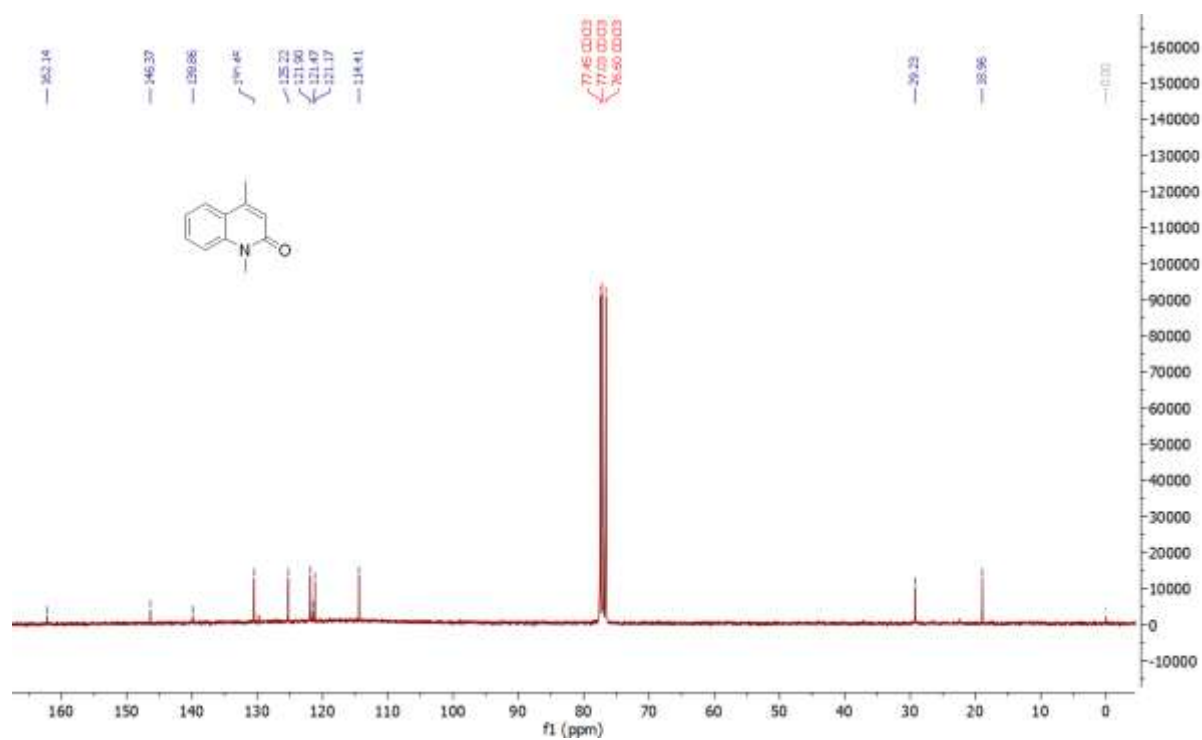


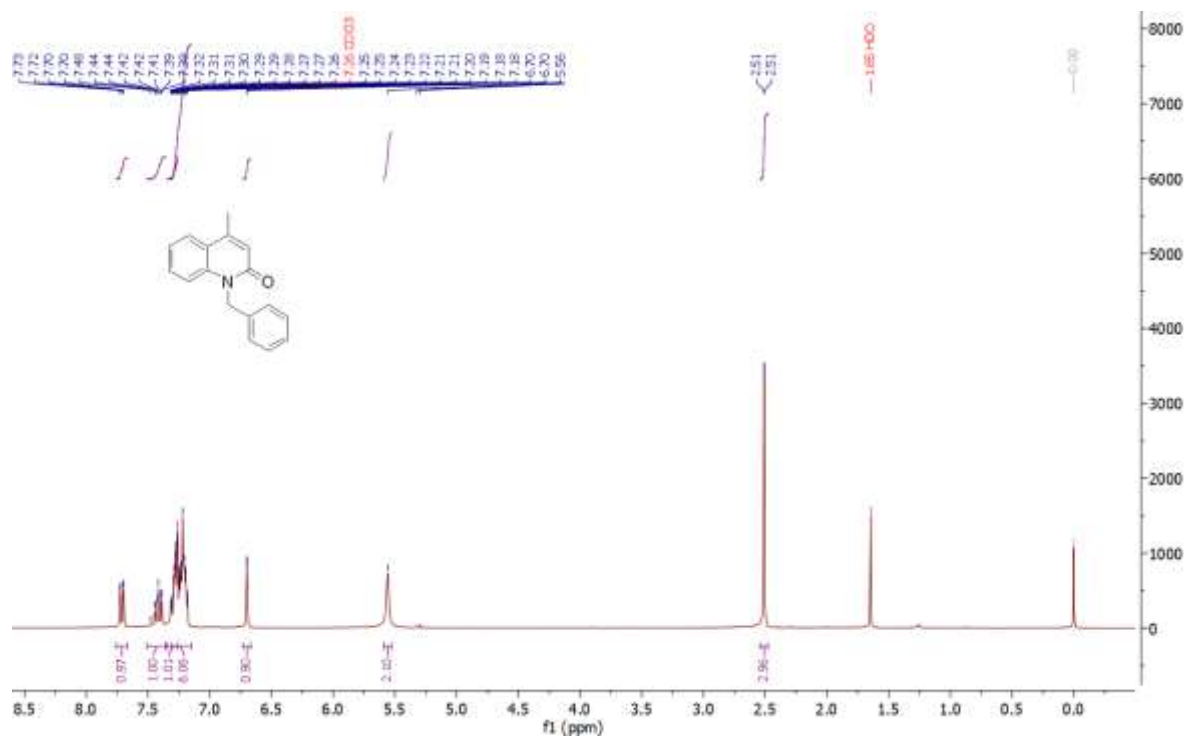
D1.1. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja **1c**.



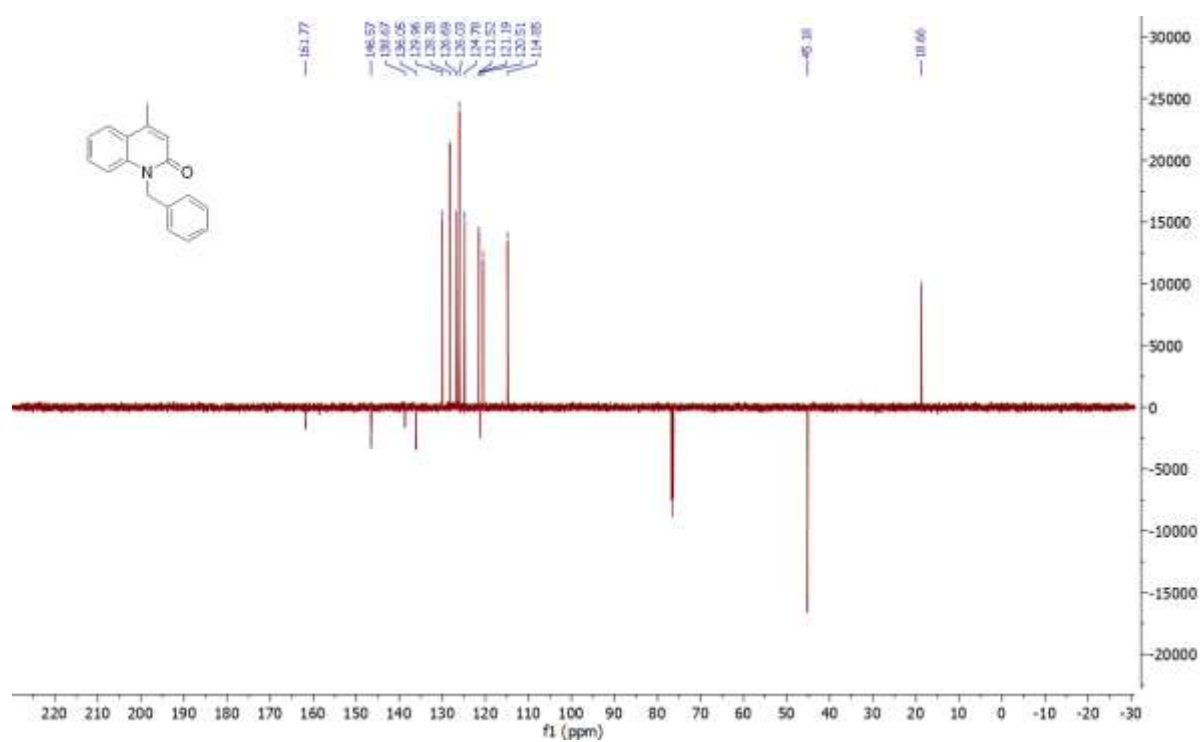
D1.2. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 151 MHz) spoja **1c**.



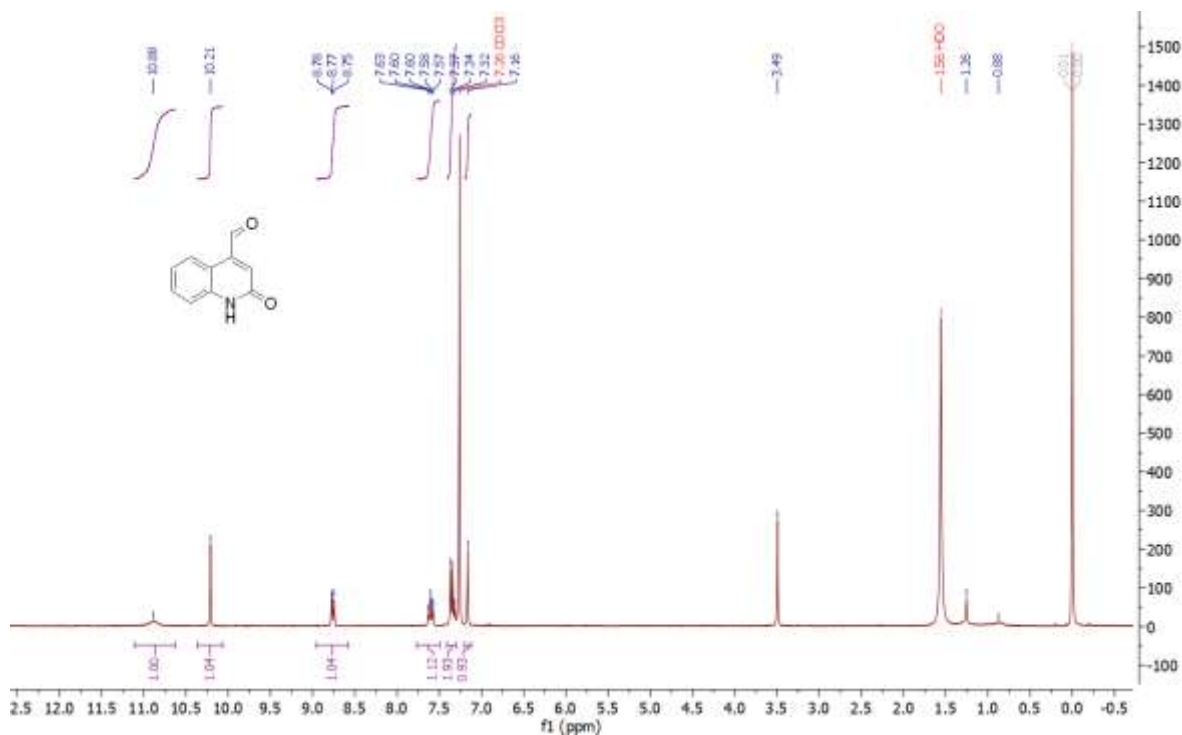
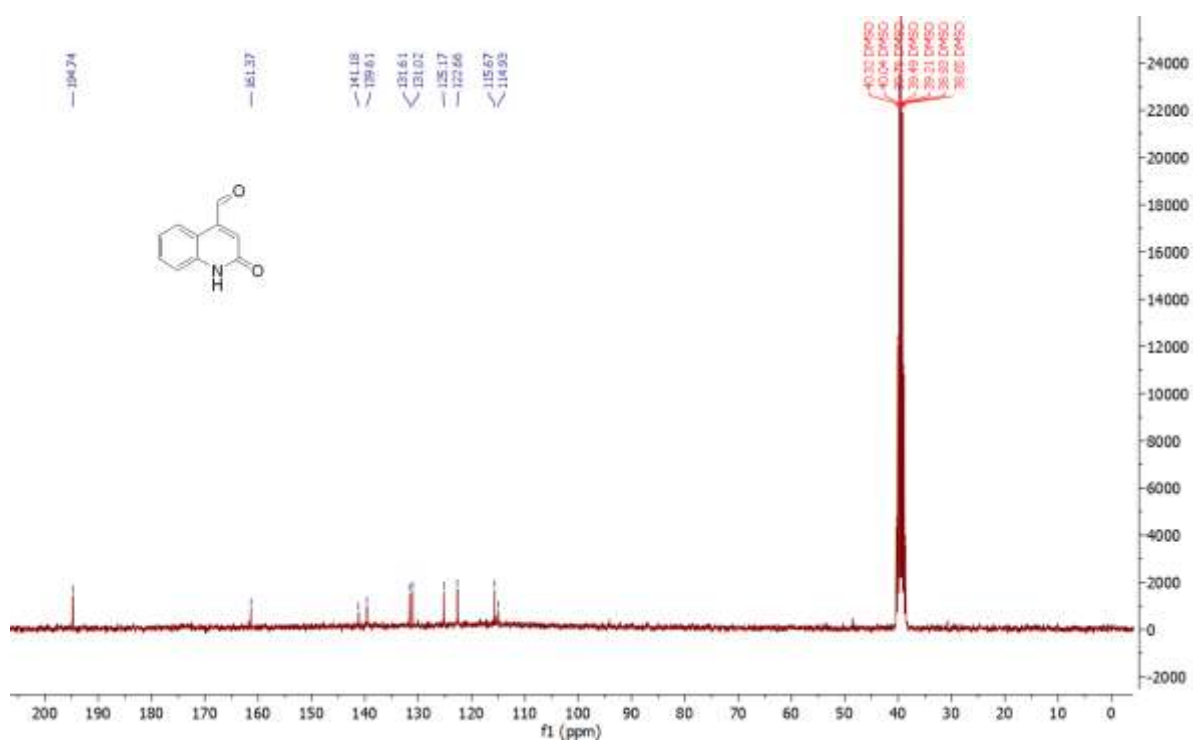
D1.5. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja 4.D1.6. ^{13}C NMR spectrum (CDCl_3 , 75 MHz) spoja 4.

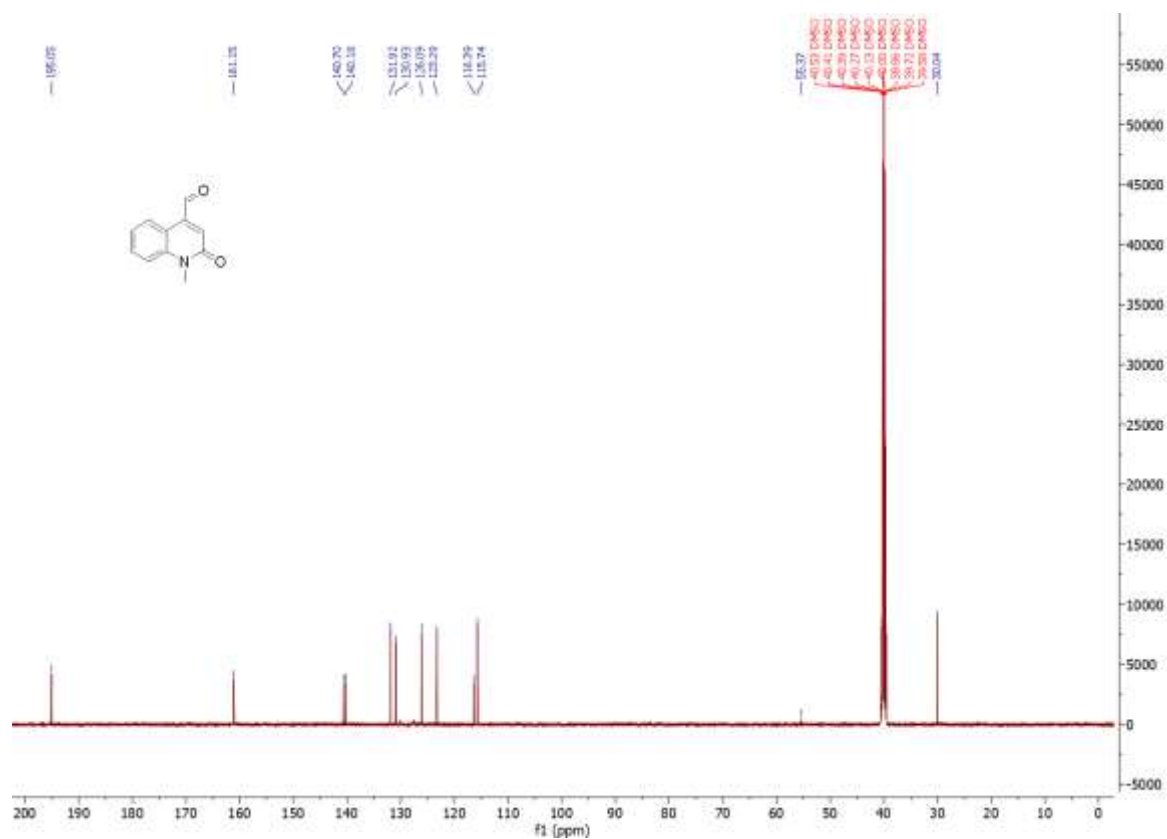
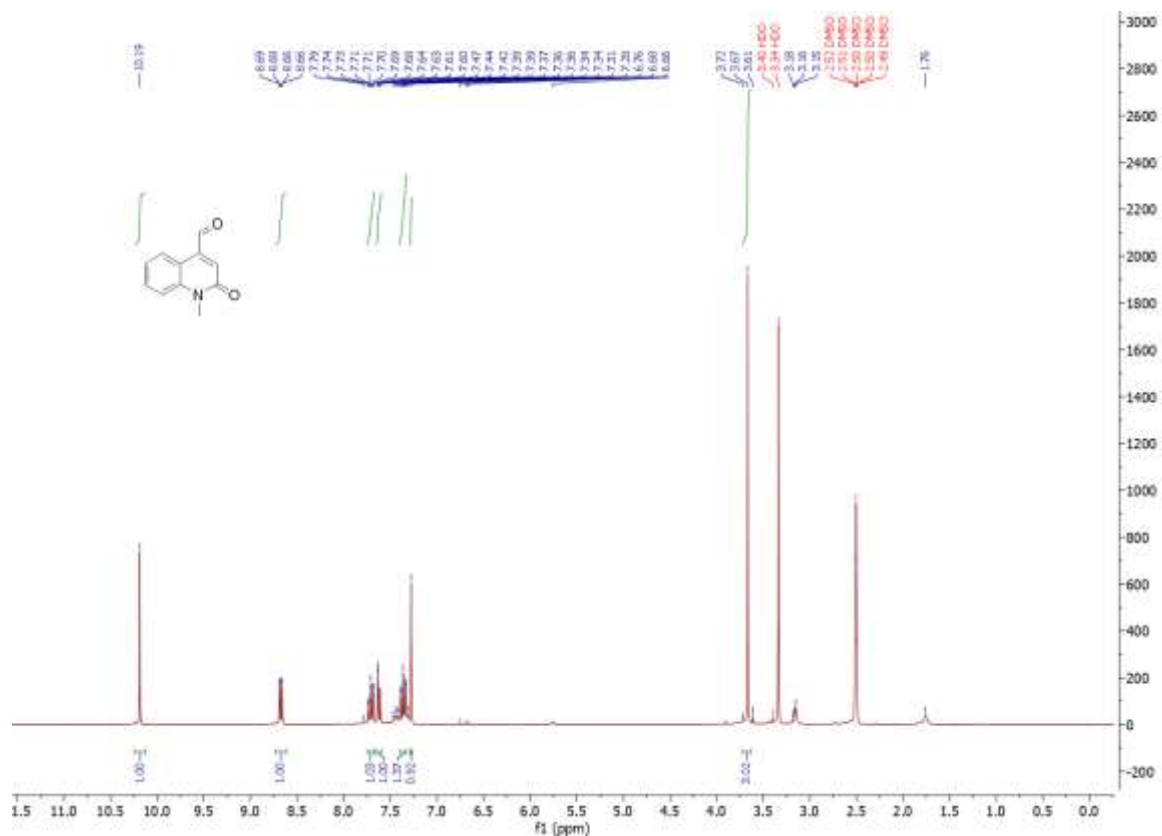


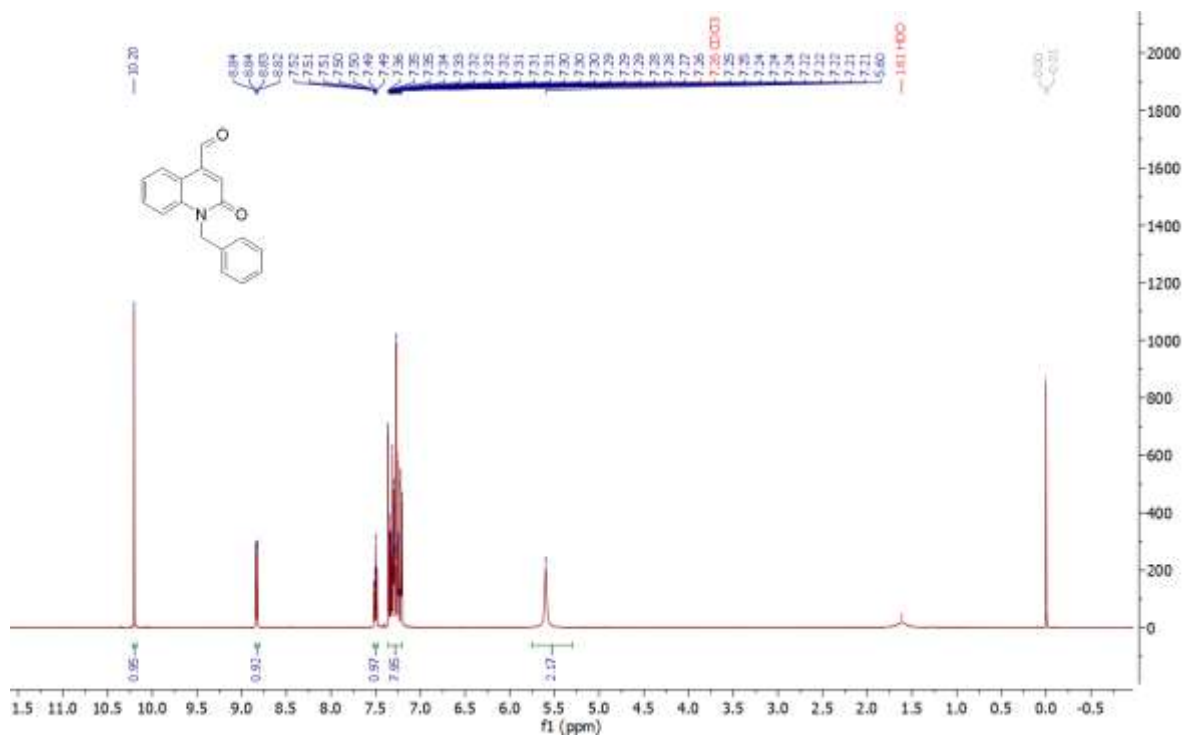
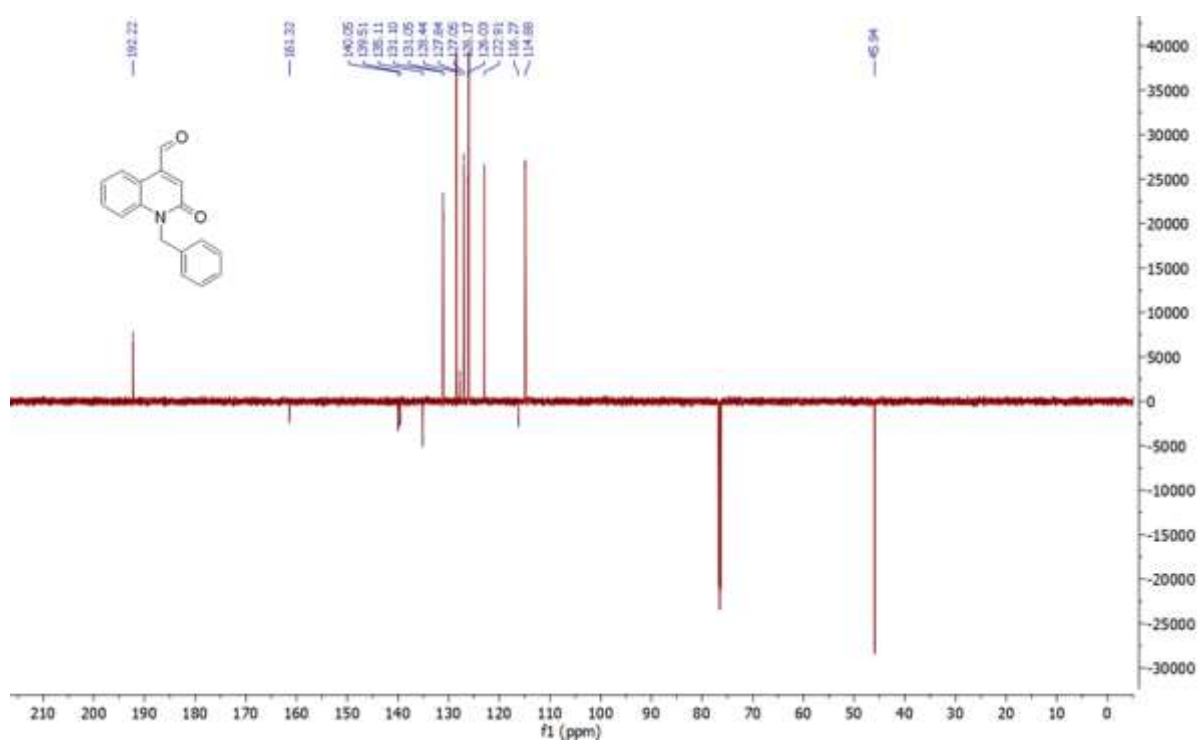
D1.7. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja **5**.

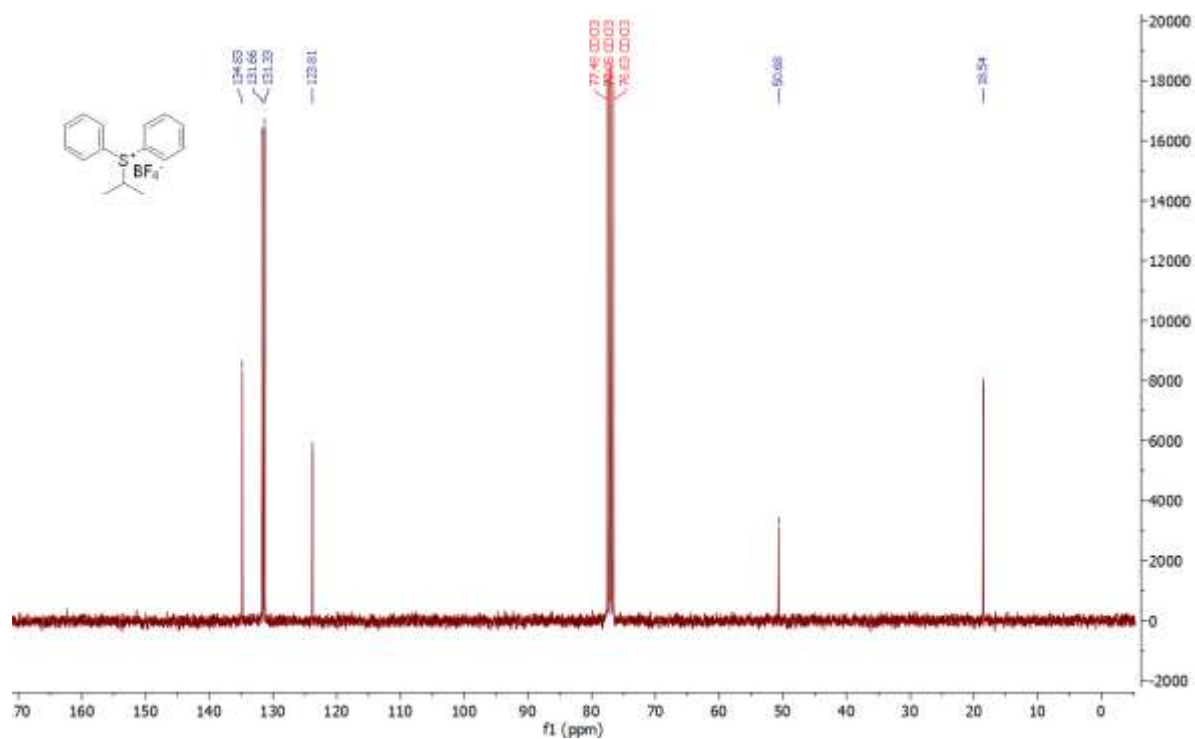
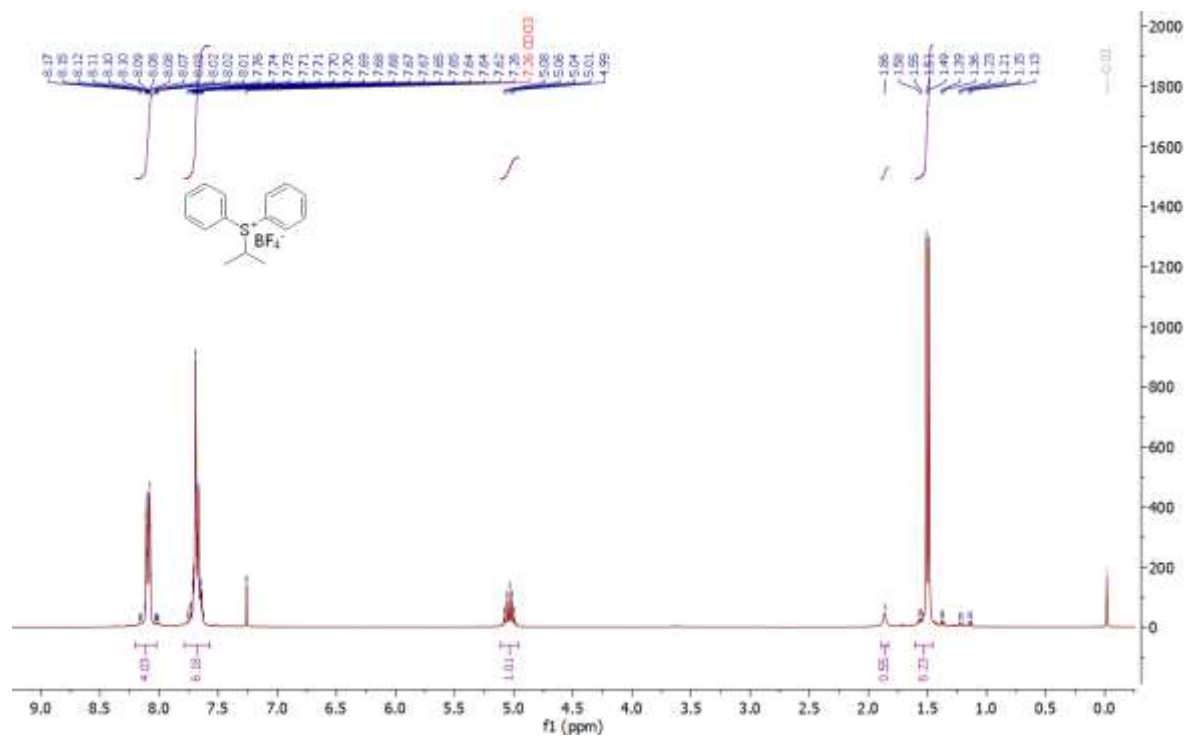


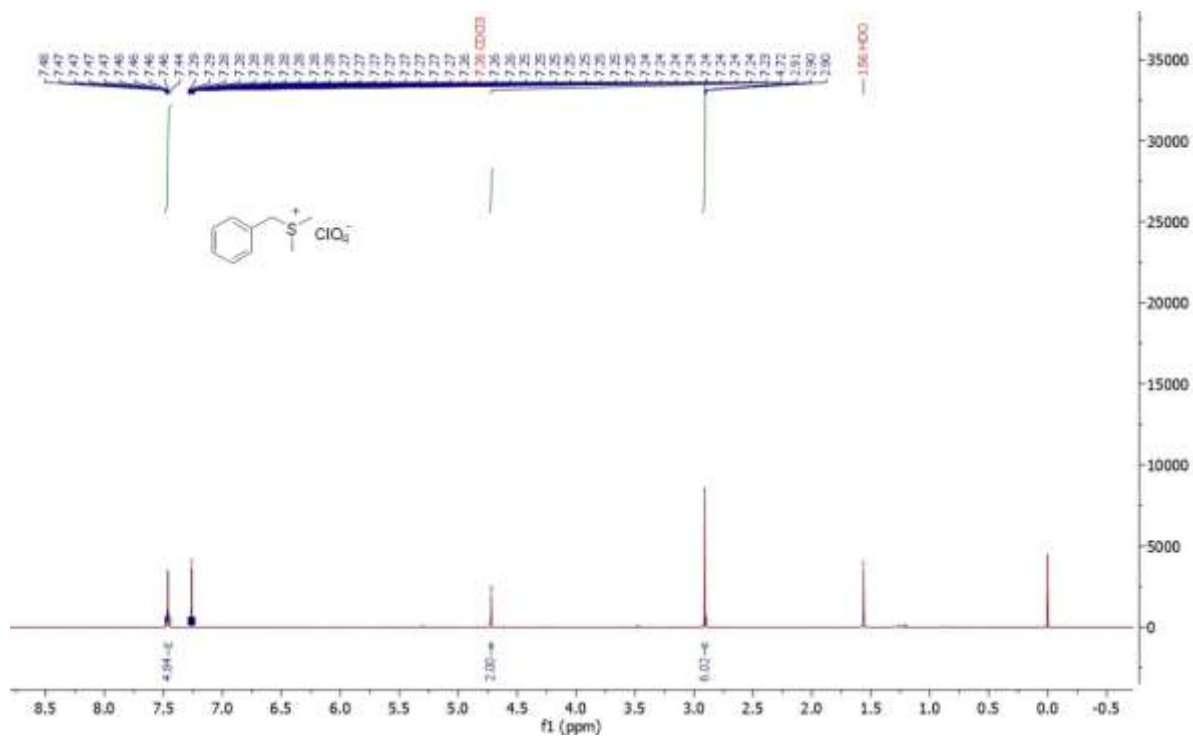
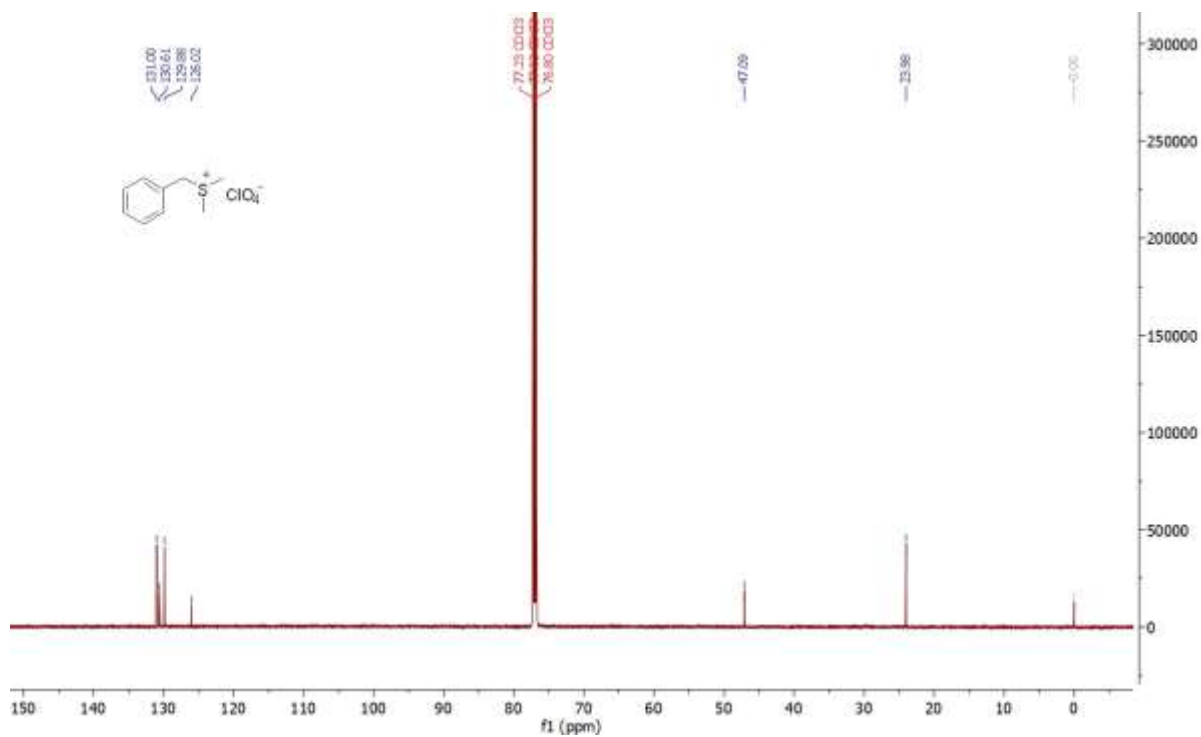
D1.8. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 151 MHz) spoja **5**.

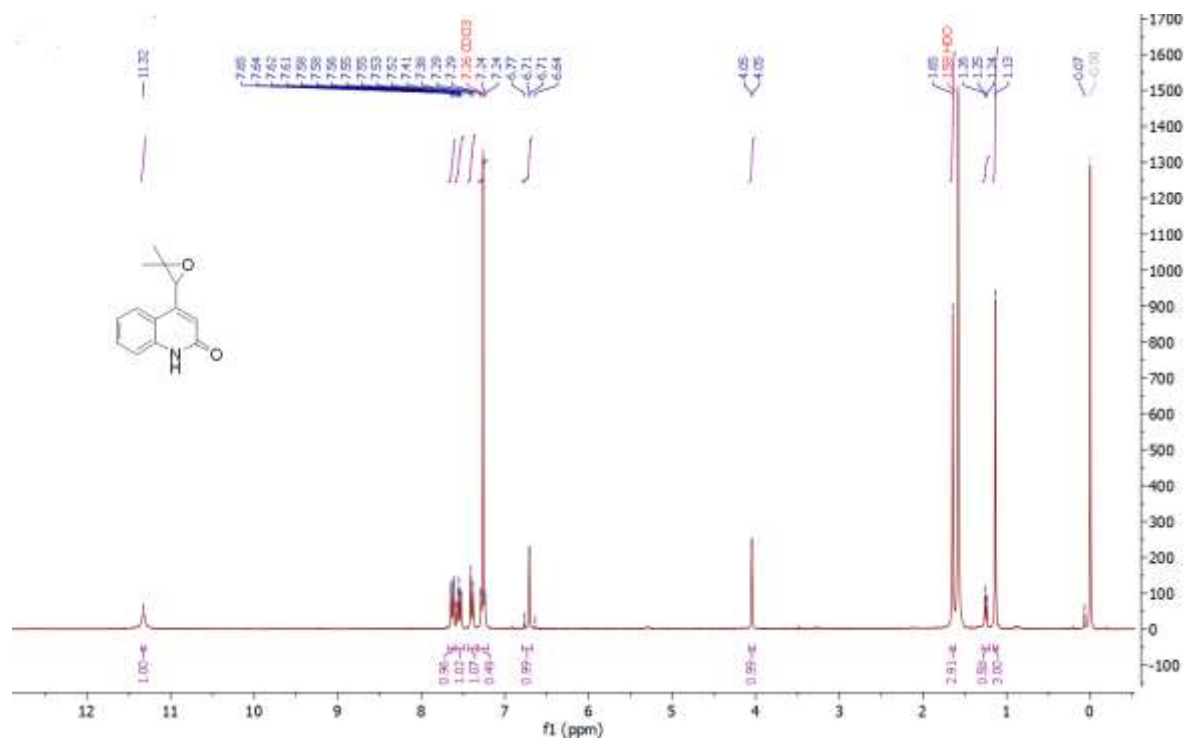
D1.9. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja 6.D1.10. ^{13}C NMR spektar (DMSO-d_6 , 75 MHz) spoja 6.



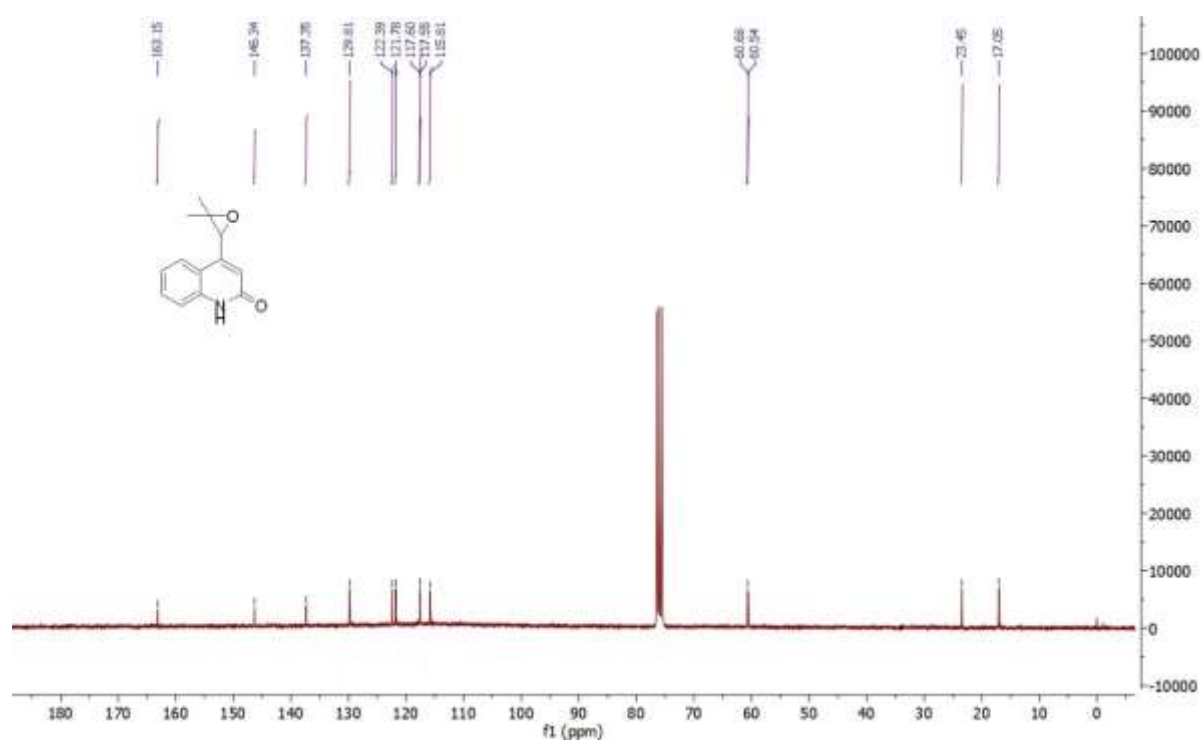
D1.13. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja 8.D1.14. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 151 MHz) spoja 8.



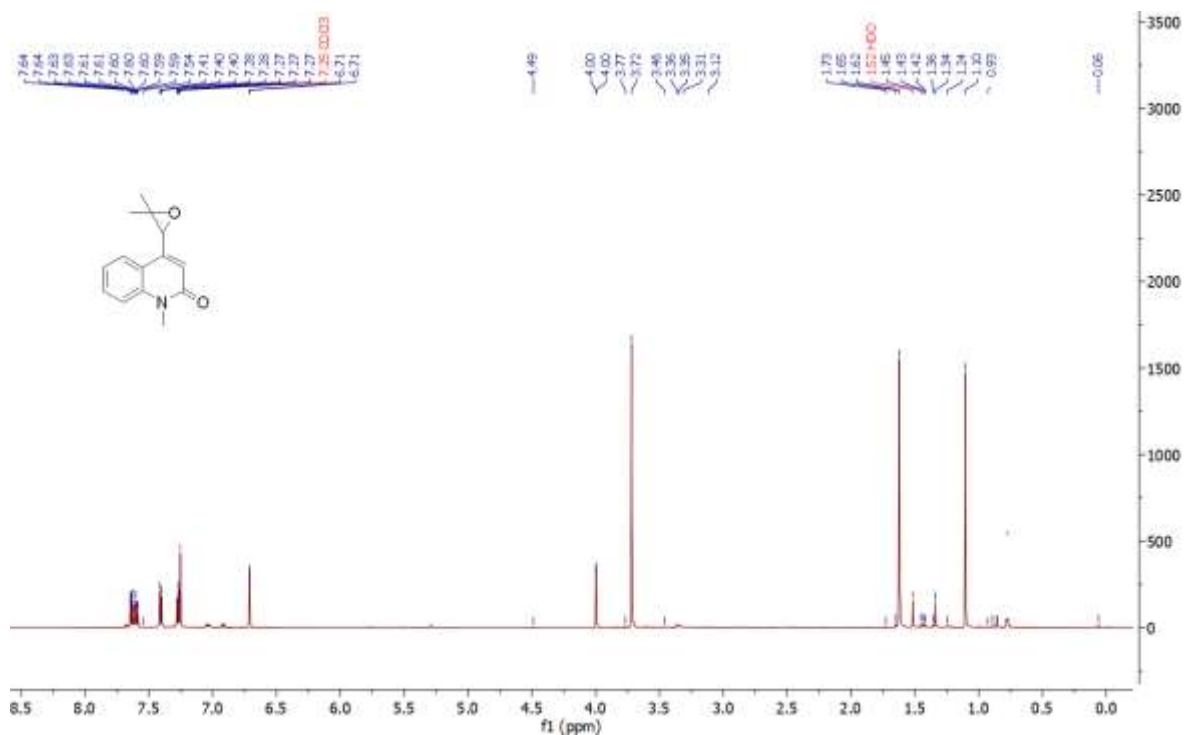
D1.17. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja 10.D1.18. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 75 MHz) spoja 10.



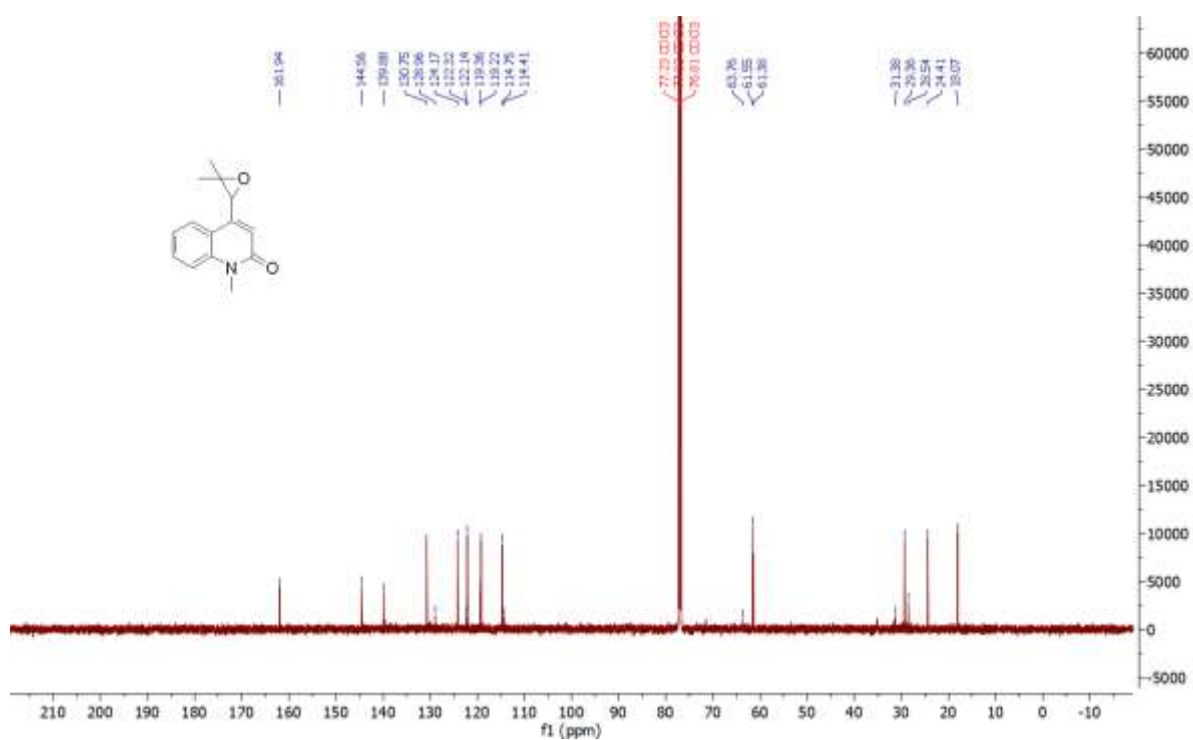
D1.19. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja *rac-11*.



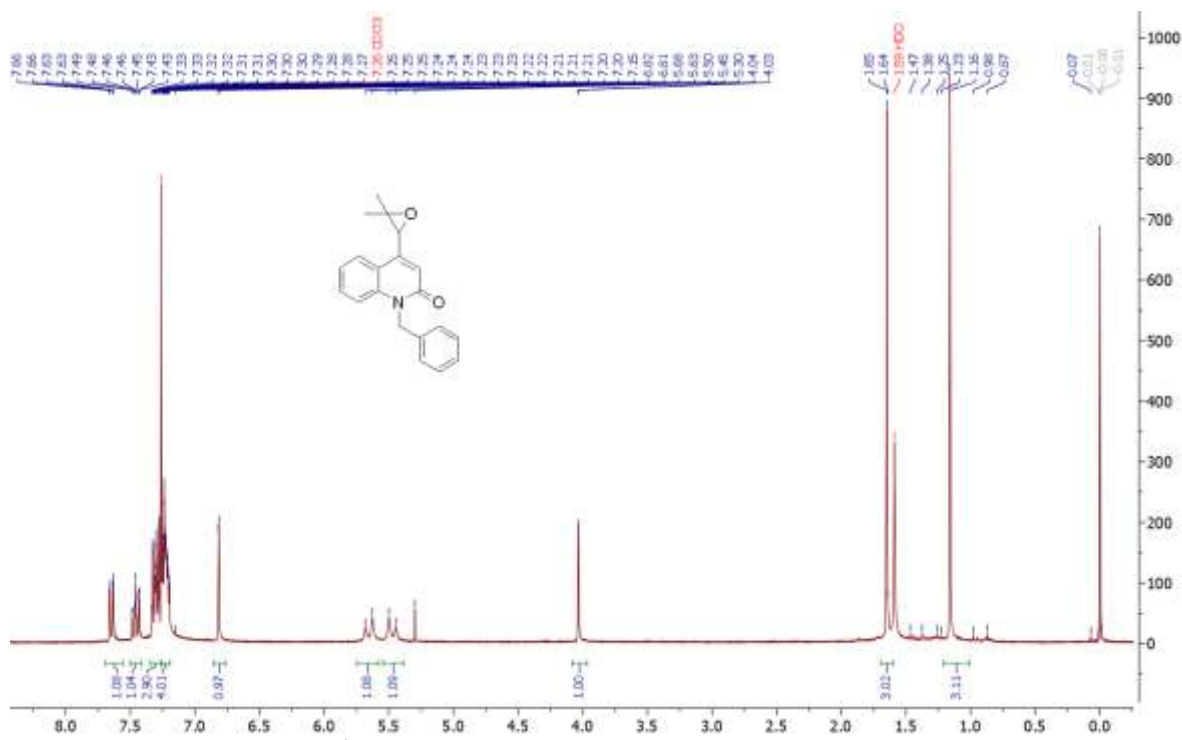
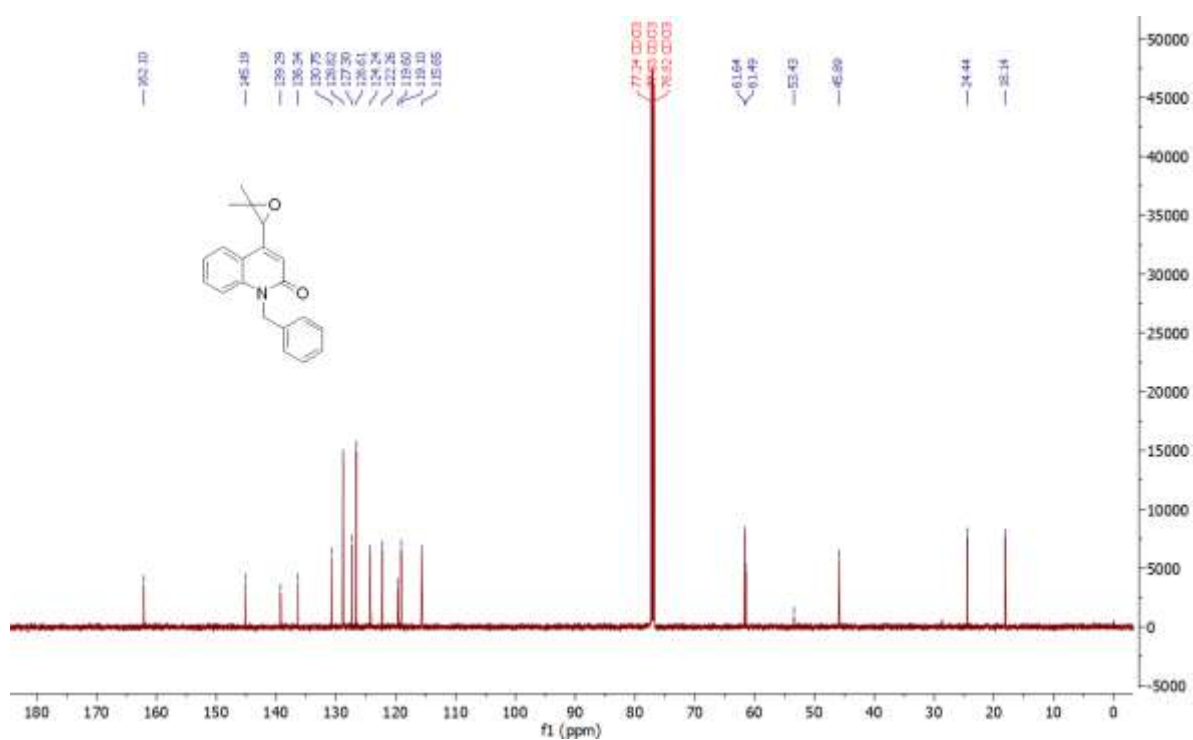
D1.20. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 75 MHz) spoja *rac-11*.

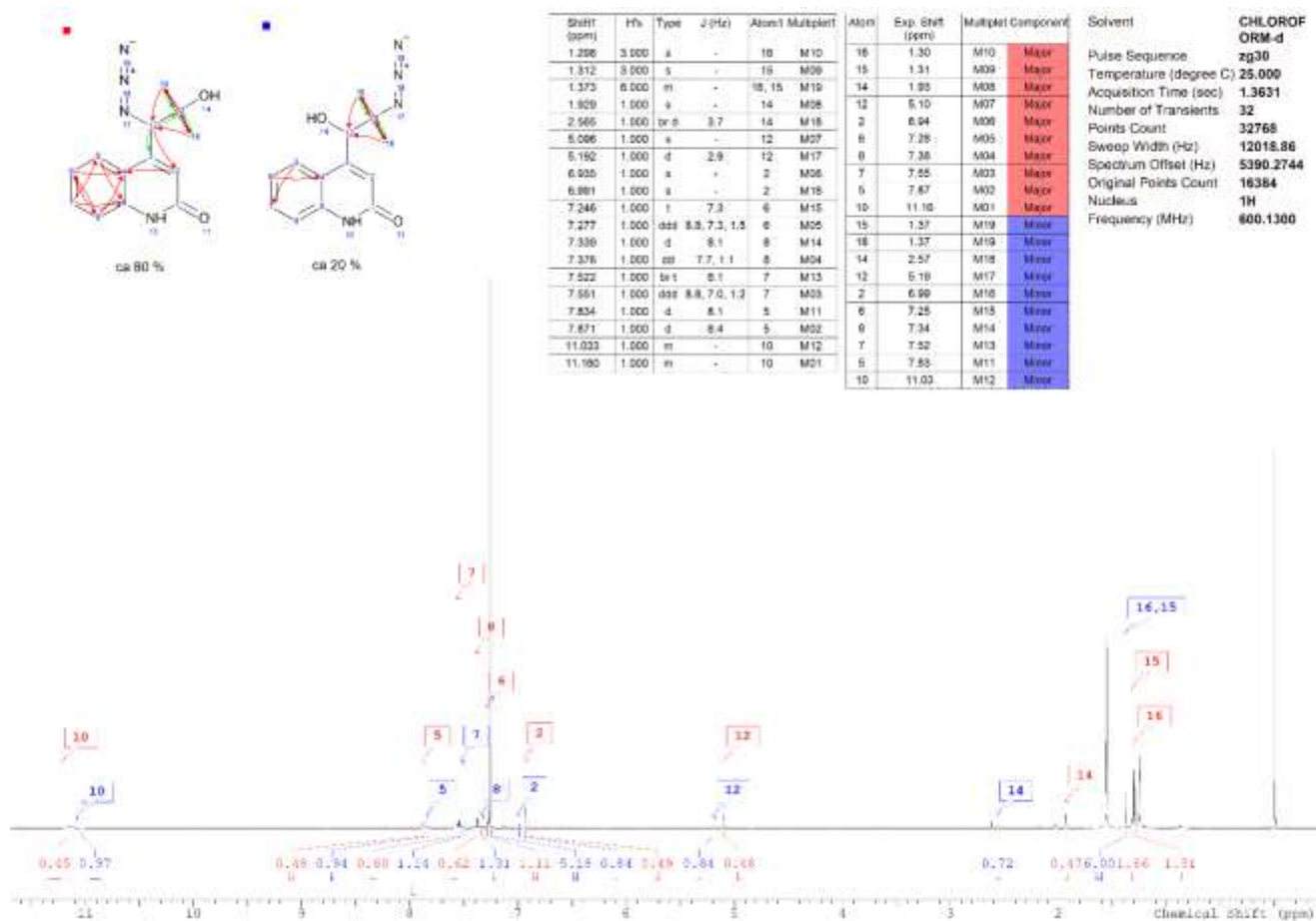


D1.21. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 600 MHz) spoja *rac*-12.

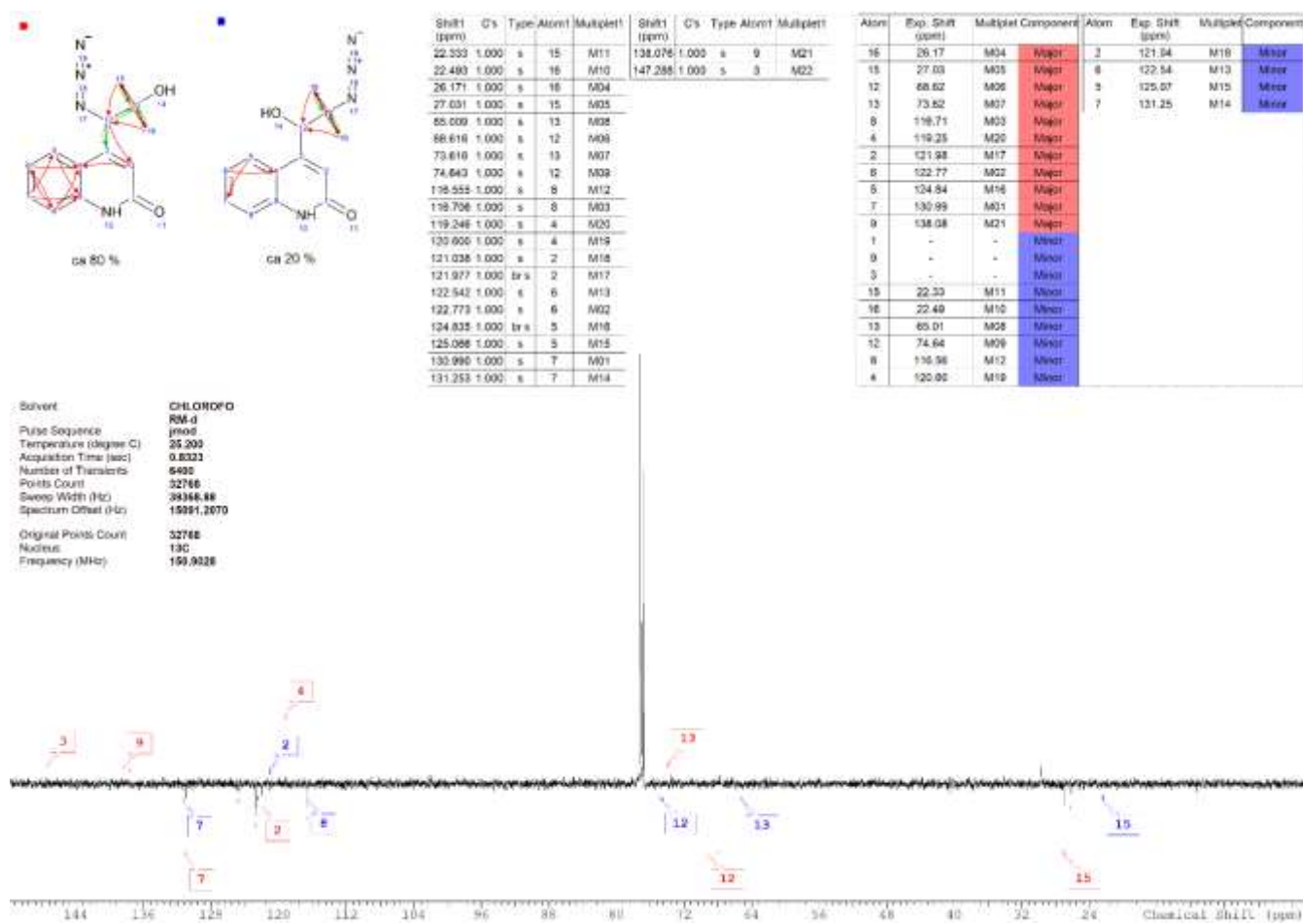


D1.22. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 151 MHz) spoja *rac*-12.

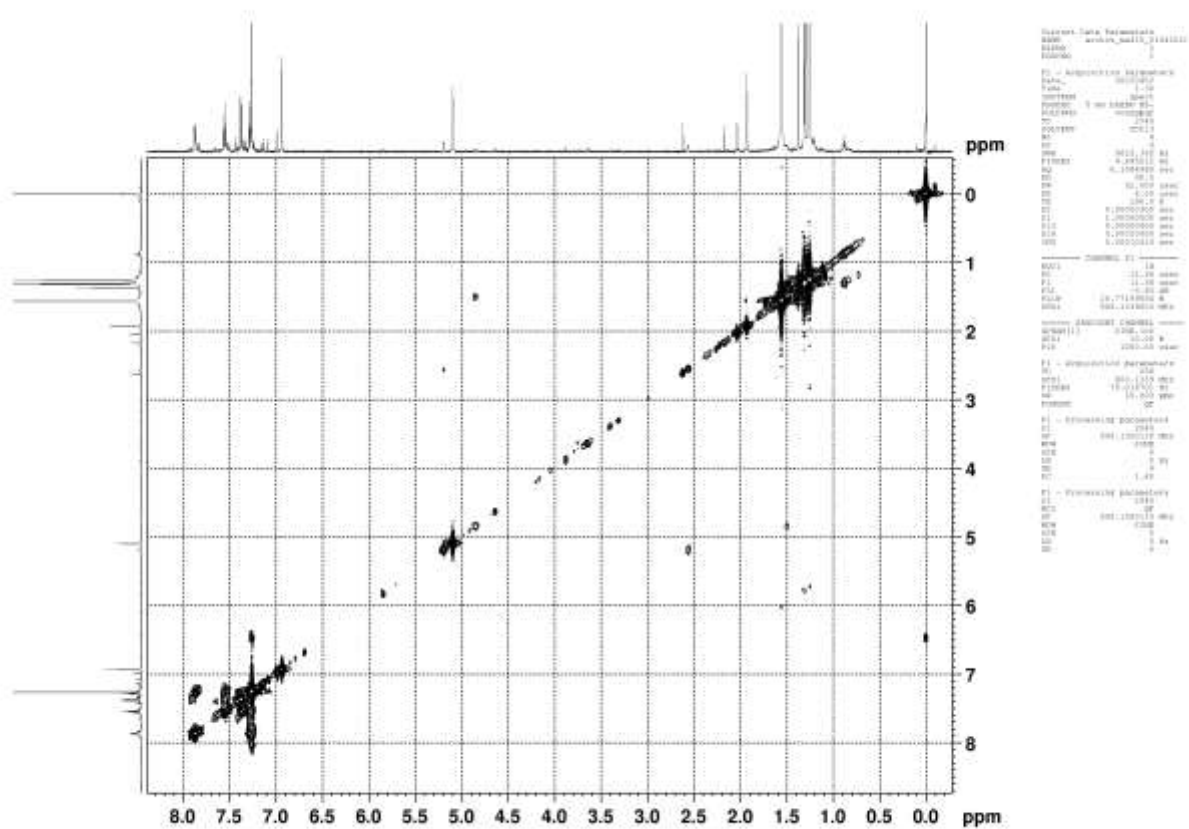
D1.23. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja *rac*-13.D1.24. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 75 MHz) spoja *rac*-13.



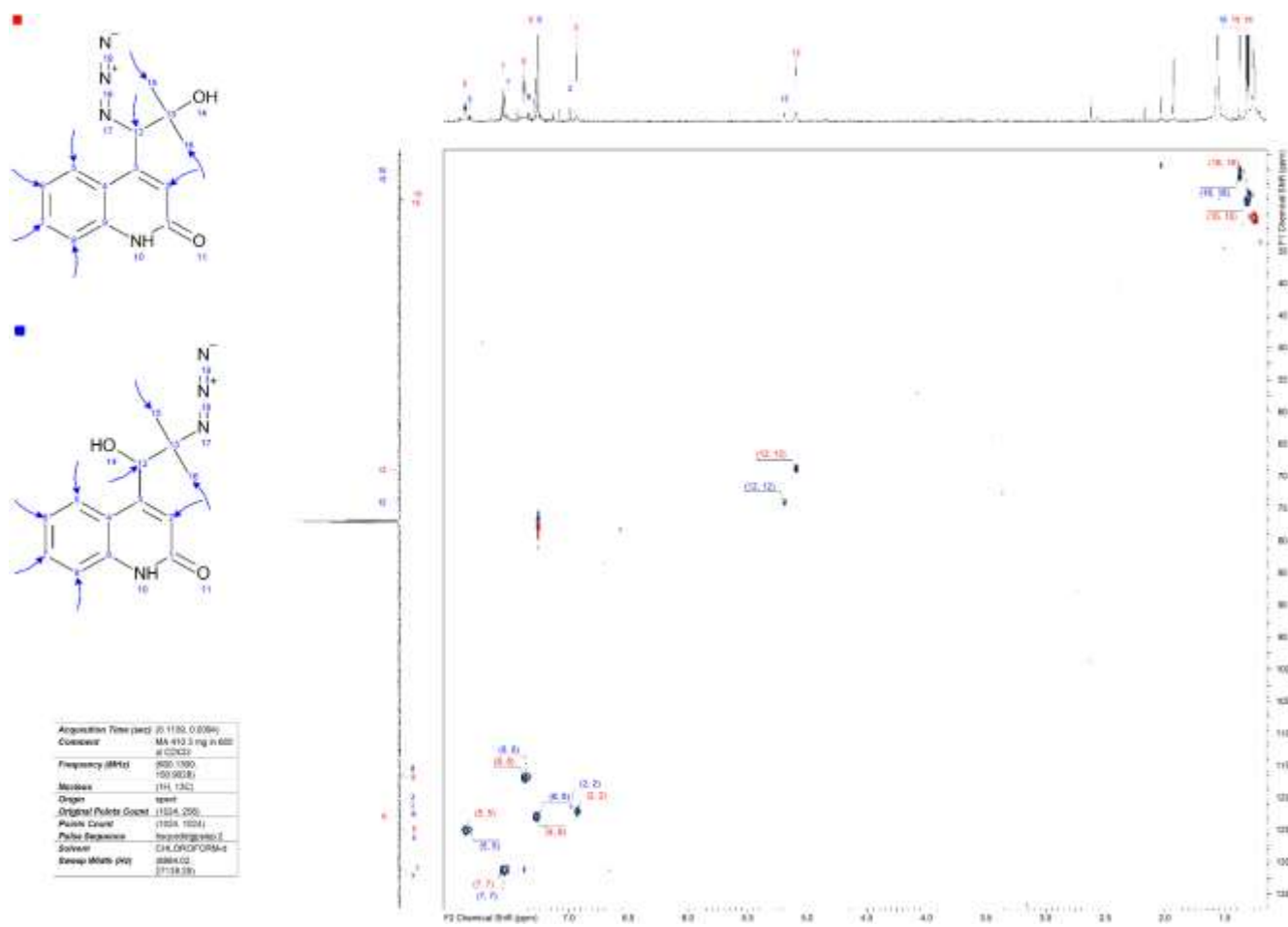
D1.31. ¹H spektar, numeracija i potpuna asignacija *rac*-17a-b u CDCl₃ pri 25 °C.



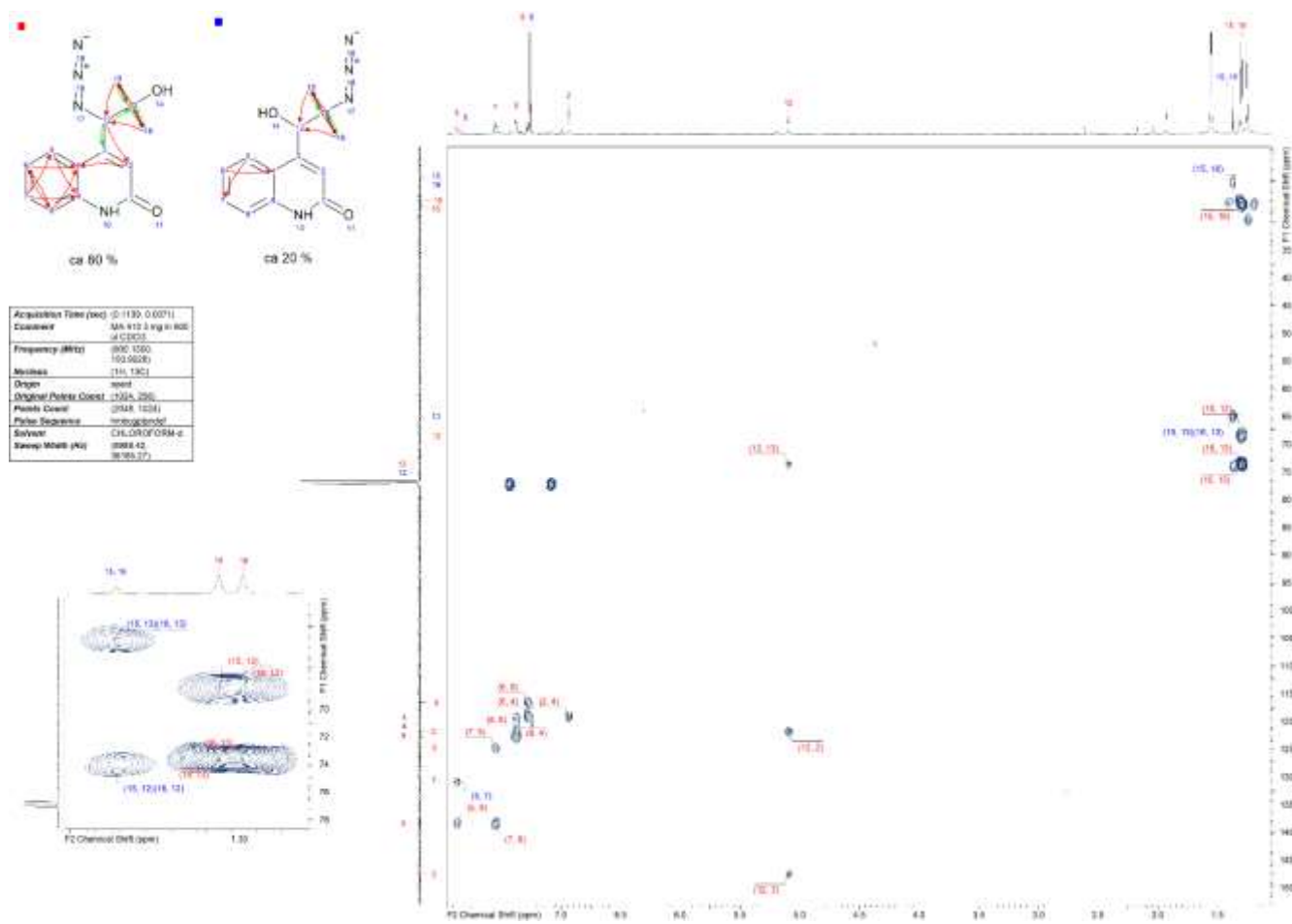
D1.32. ^{13}C spektar, numeracija i potpuna asignacija *rac*-17a-b u CDCl_3 pri 25 °C.



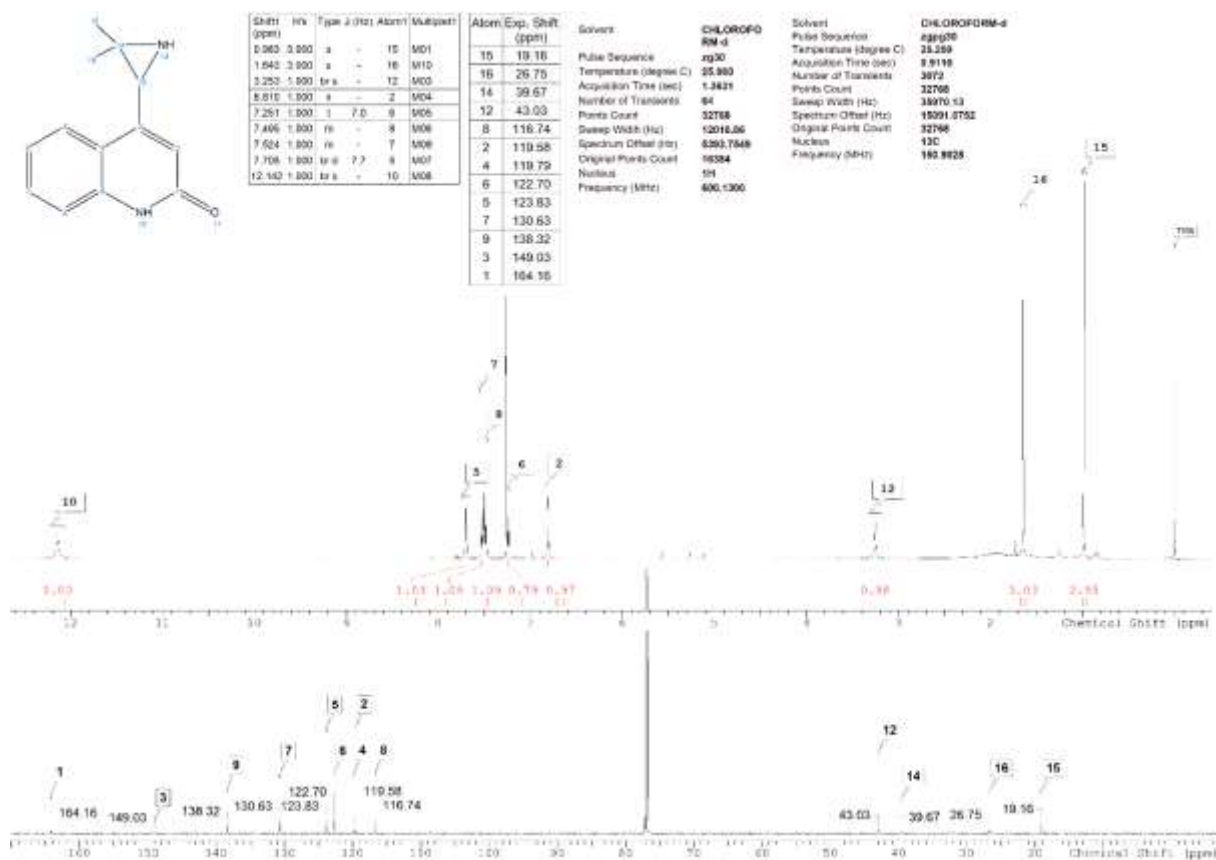
D1.33. COSY spektar *rac*-17a-b u CDCl₃ pri 25 °C.



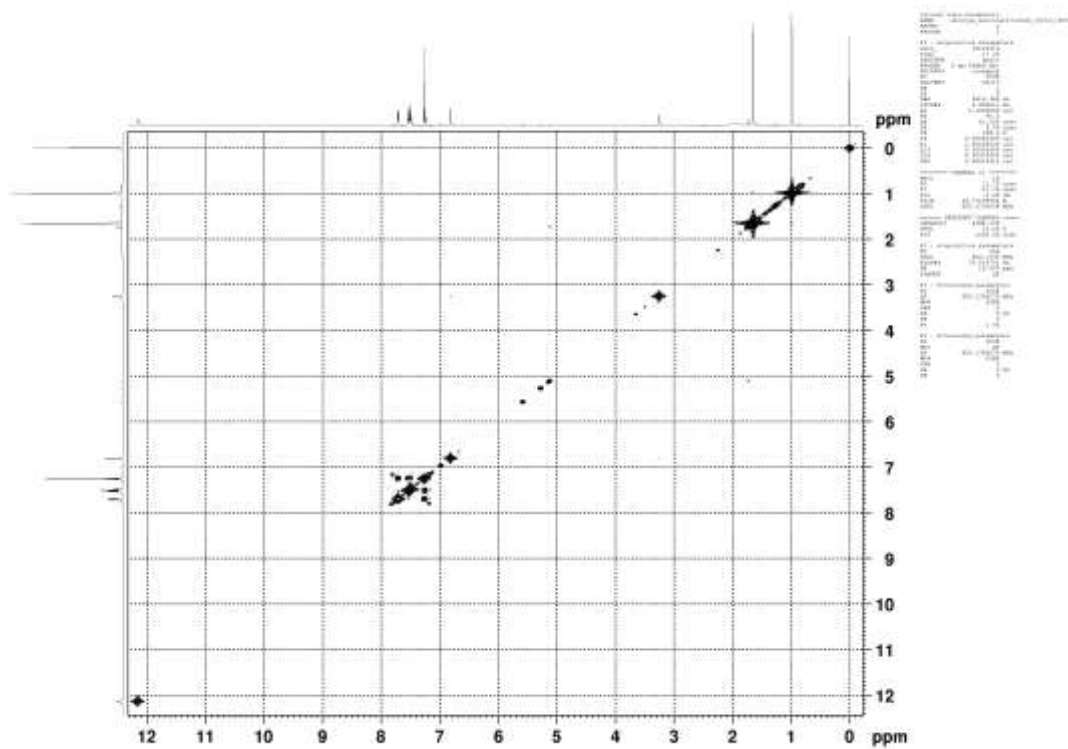
D1.34. ^1H - ^{13}C HSQC spektar *rac*-17a-b u CDCl_3 pri 25 °C.



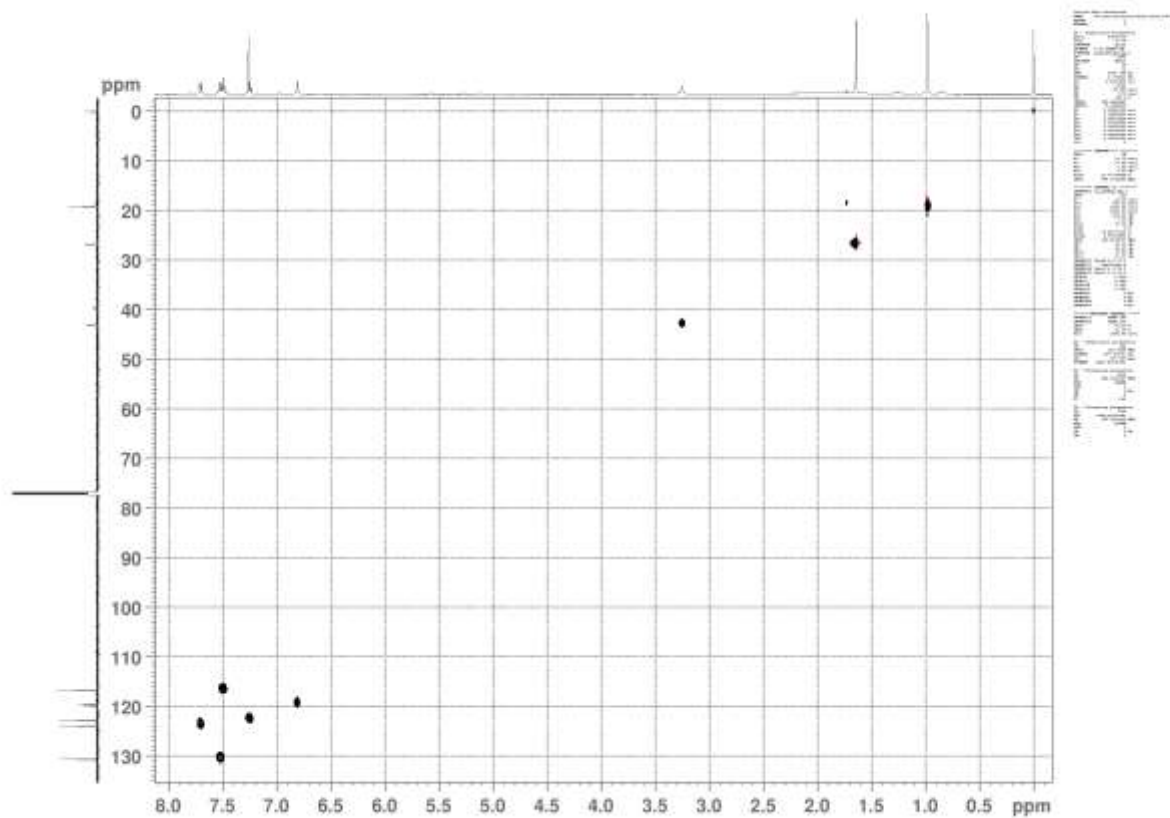
D1.35. ^1H - ^{13}C HMBC spektar *rac-17a-b* u CDCl_3 pri 25 °C.



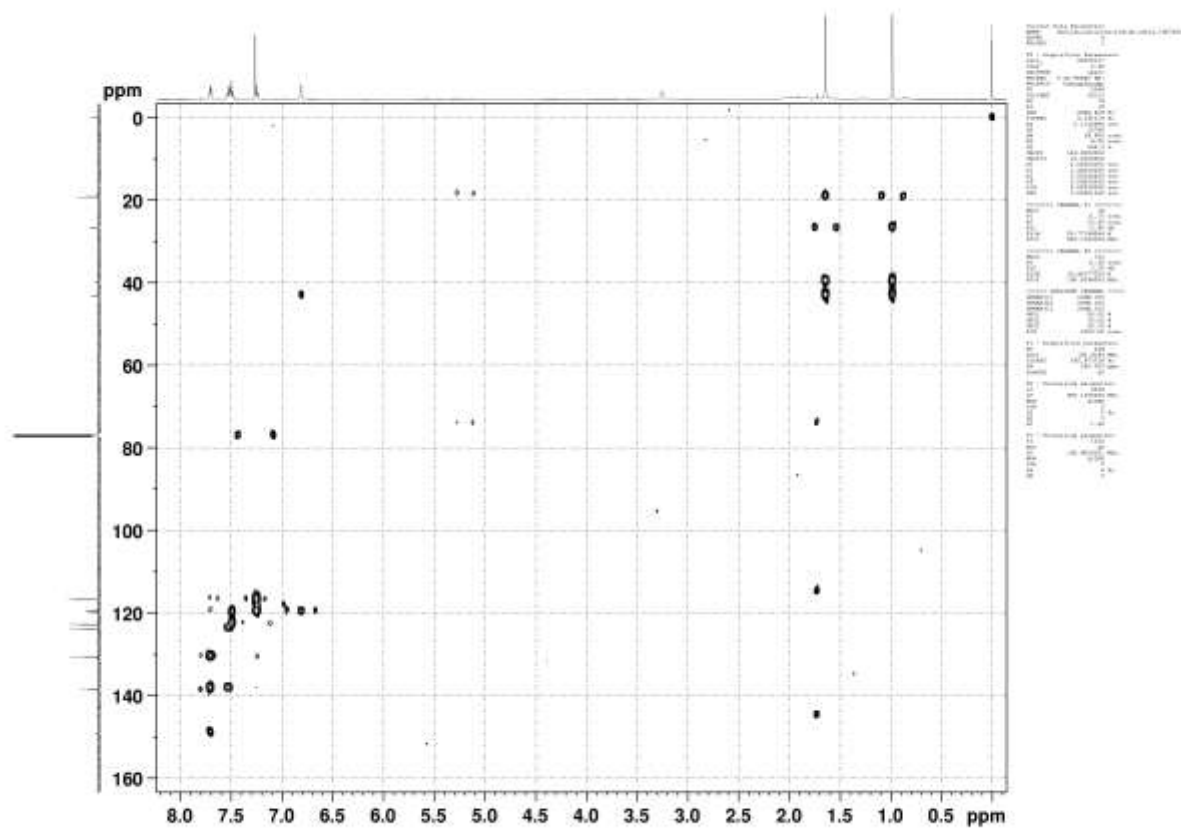
D1.36. ^1H i ^{13}C spektar, struktura, numeracija i potpuna asignacija marinoaziridine B u CDCl_3 pri 25 °C



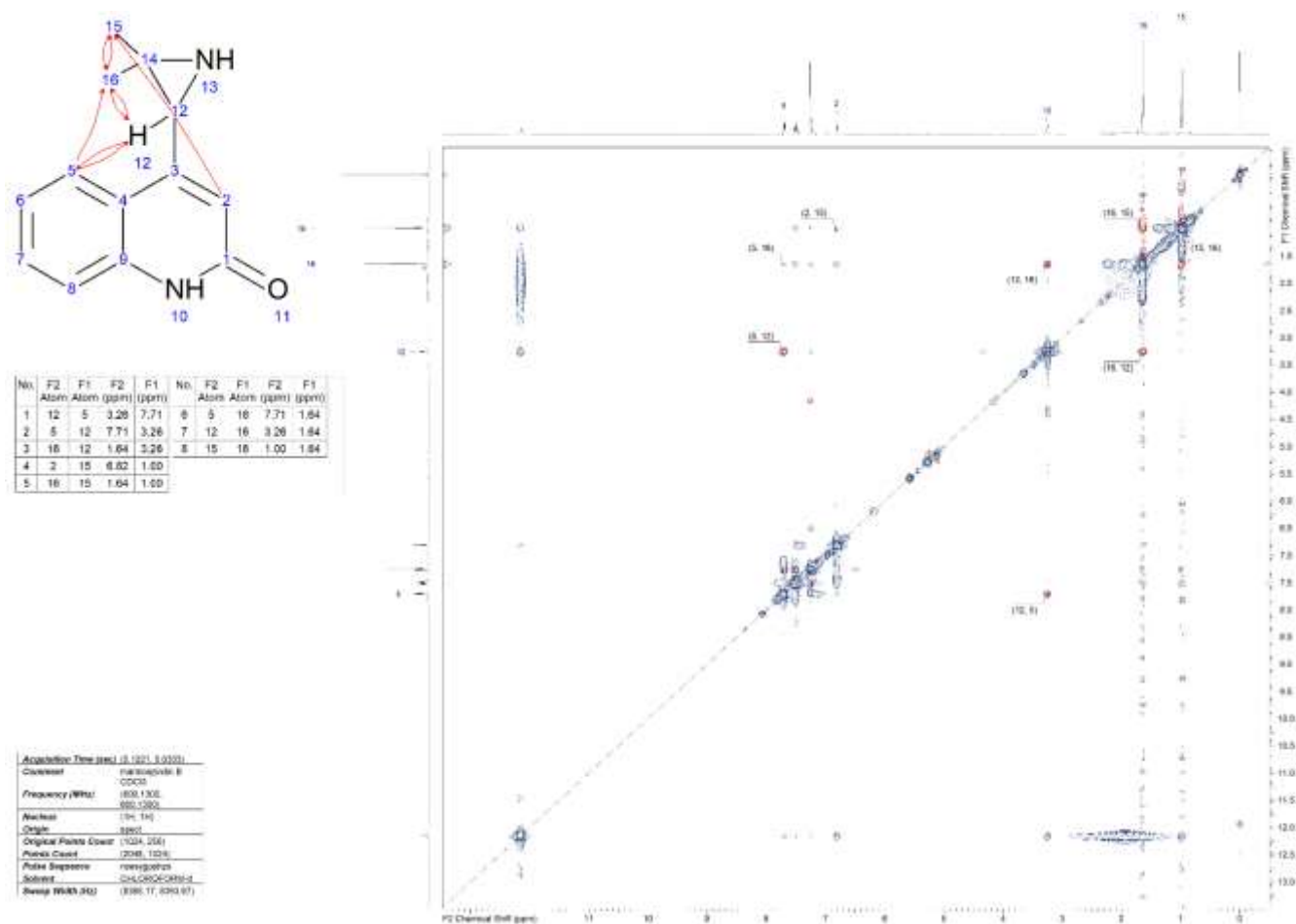
D1.37. COSY spektar marinoaziridine B u CDCl_3 pri 25 °C.



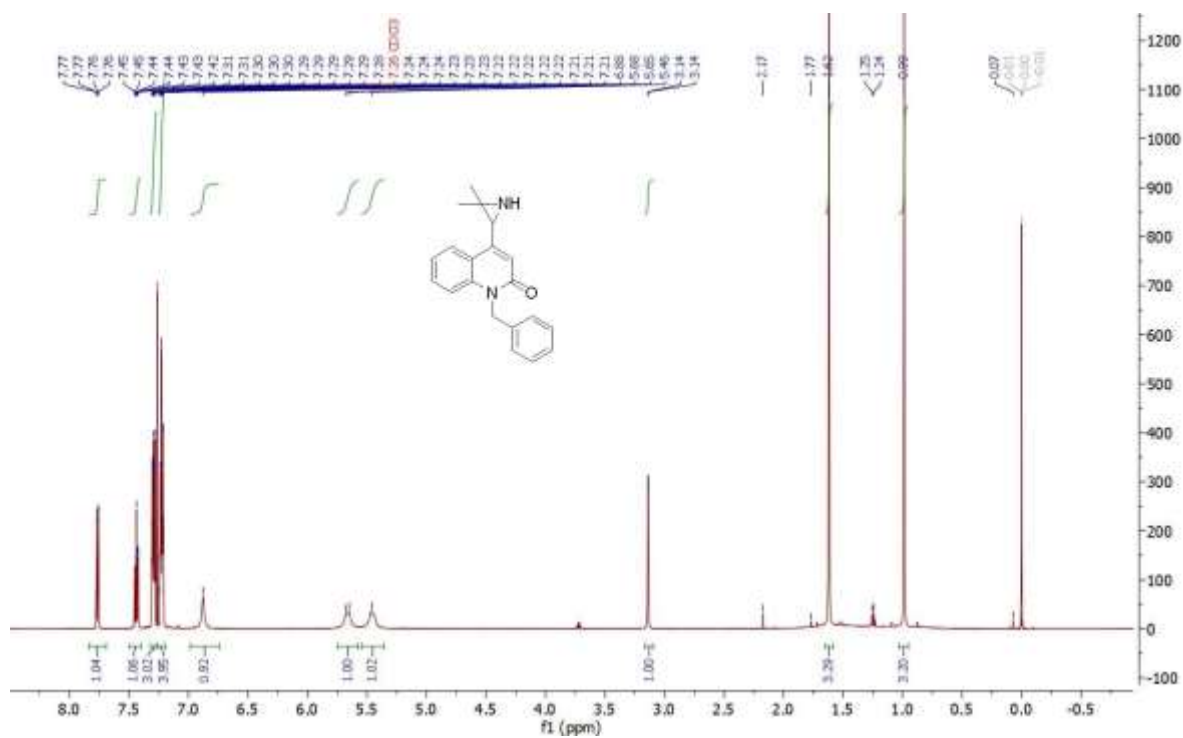
D1.38. ^1H - ^{13}C HSQC spektar marinoaziridine B u CDCl_3 pri $25\text{ }^\circ\text{C}$

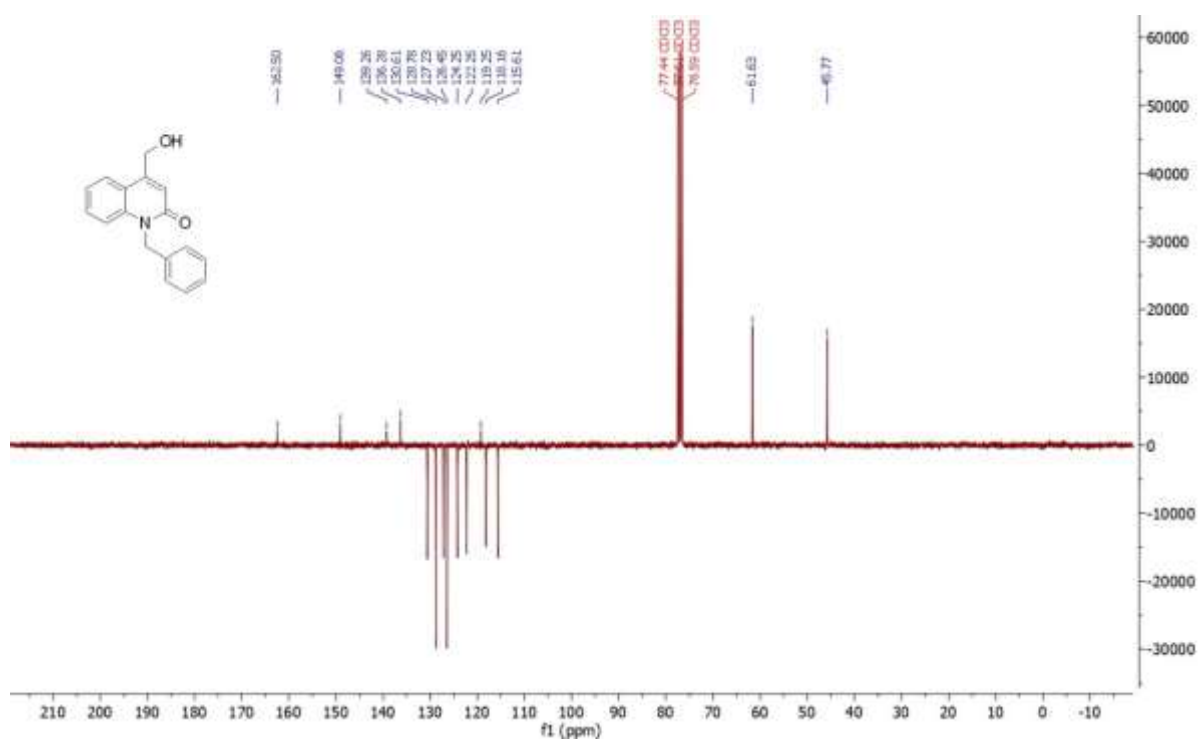
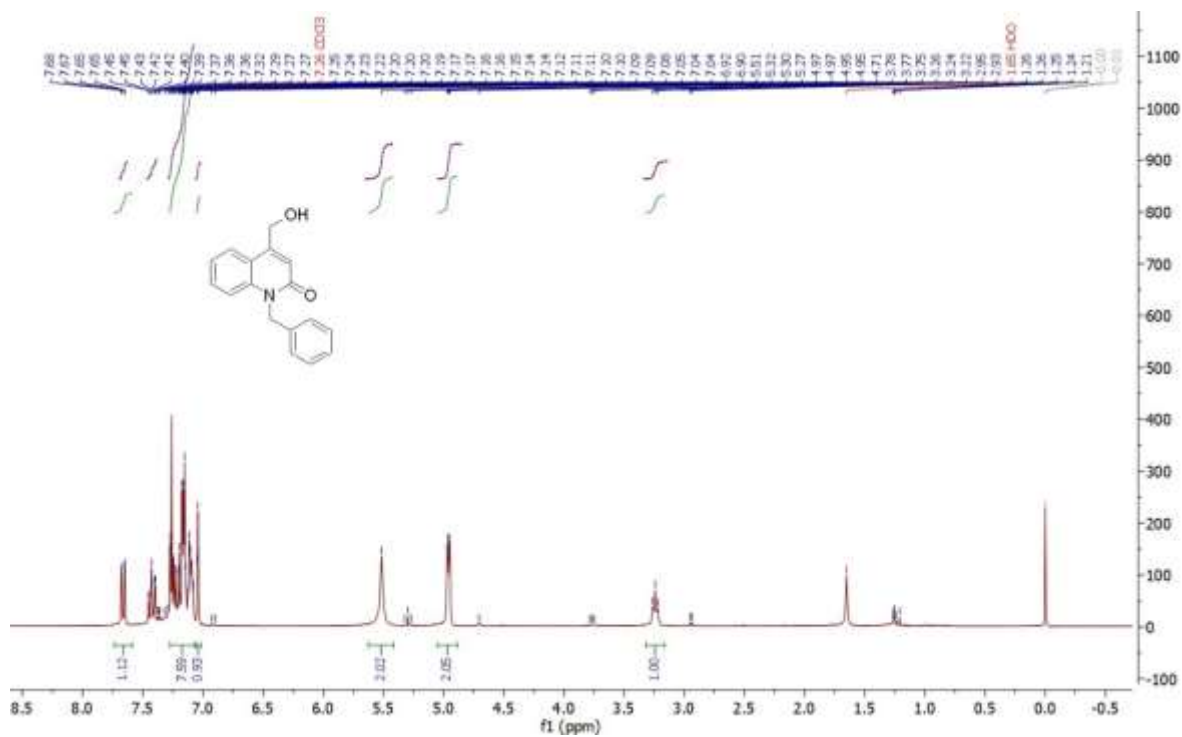


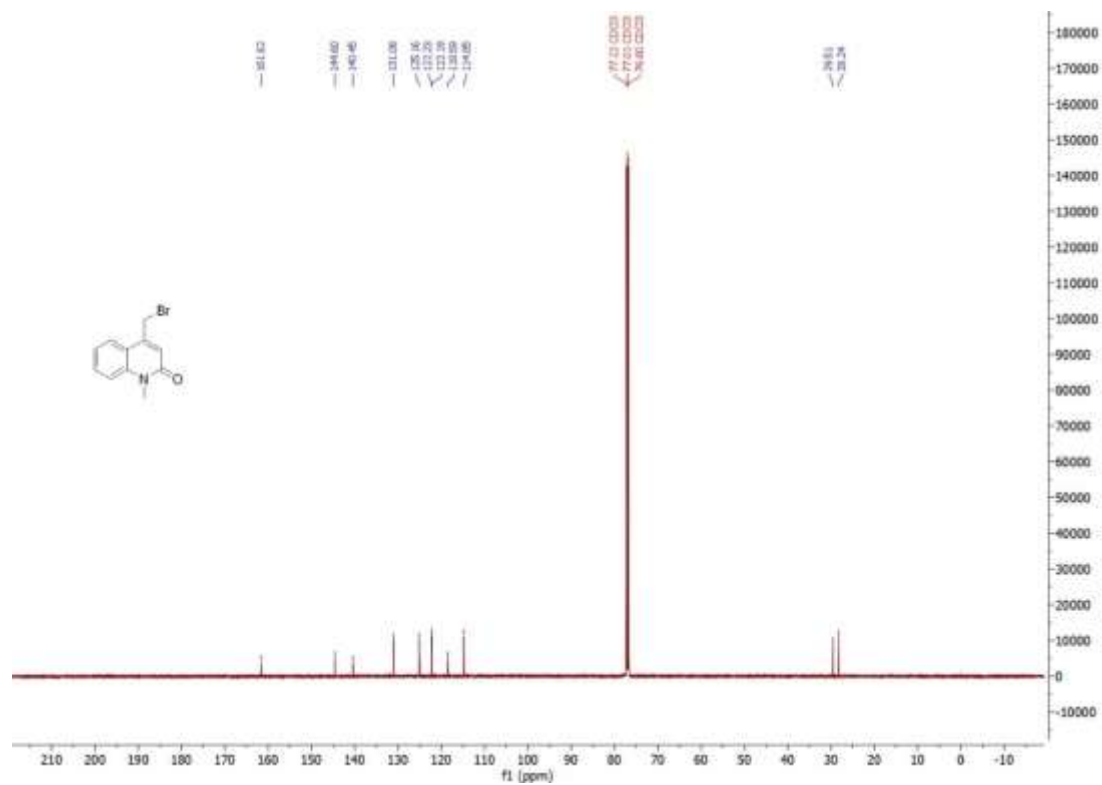
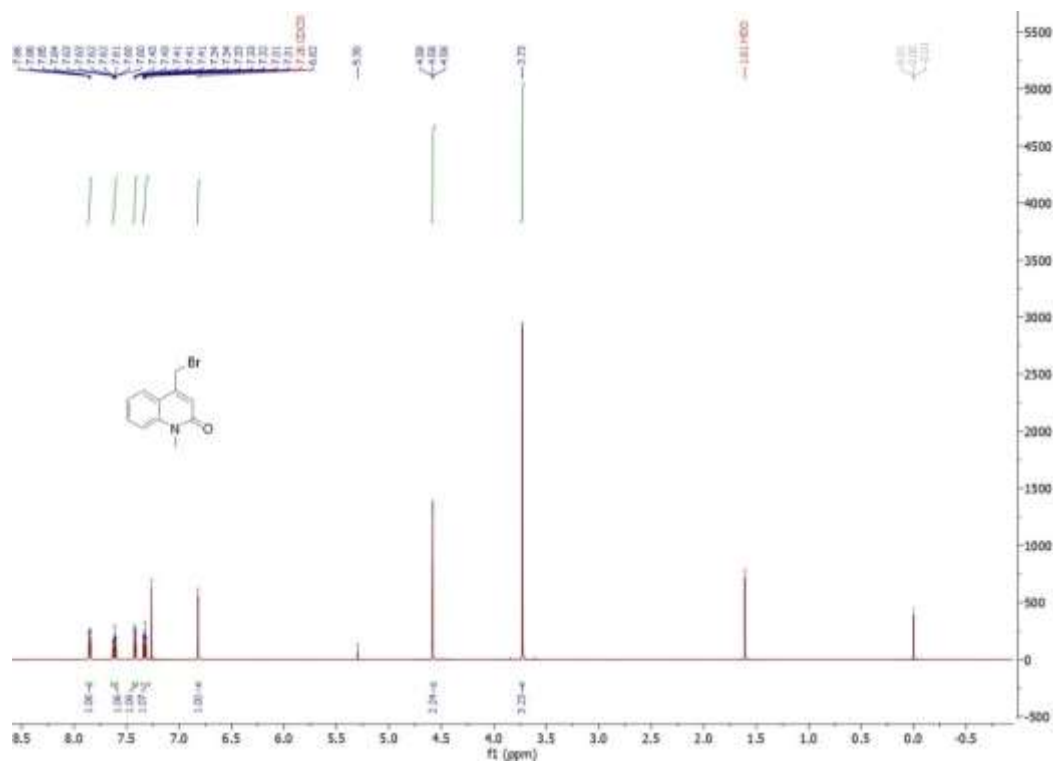
D1.39. ^1H - ^{13}C HMBC spektar marinoaziridine B u CDCl_3 pri 25 °C.

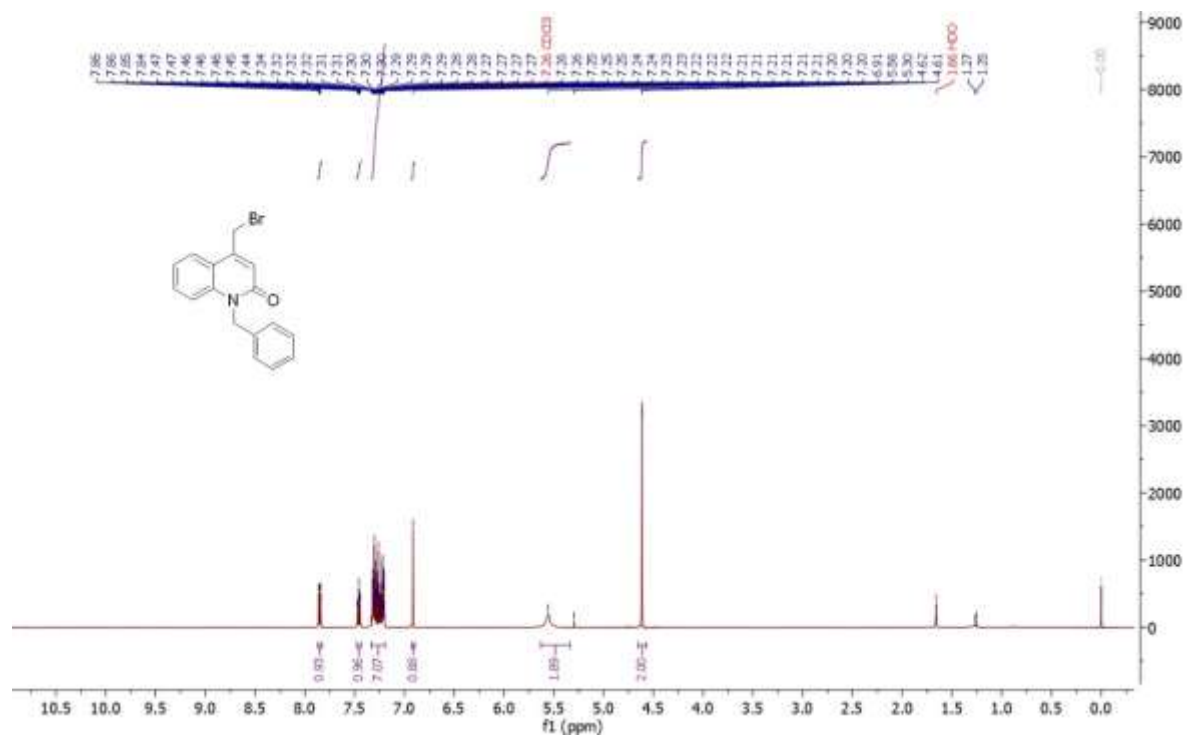


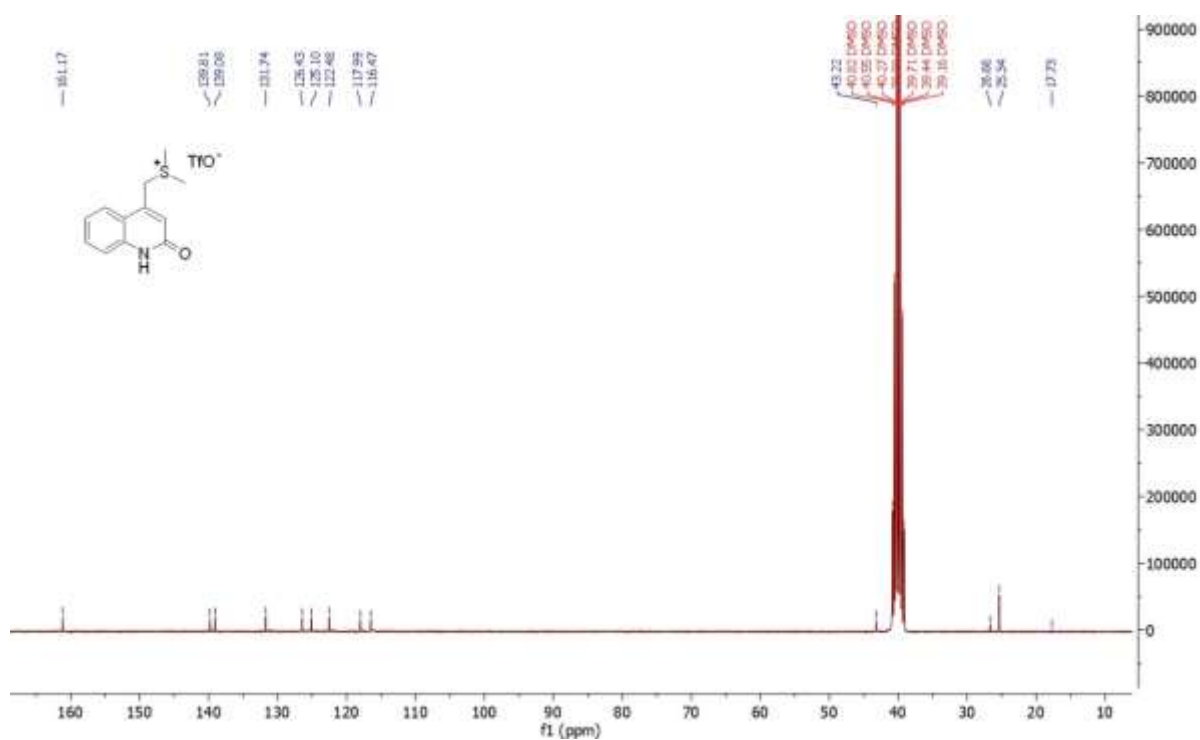
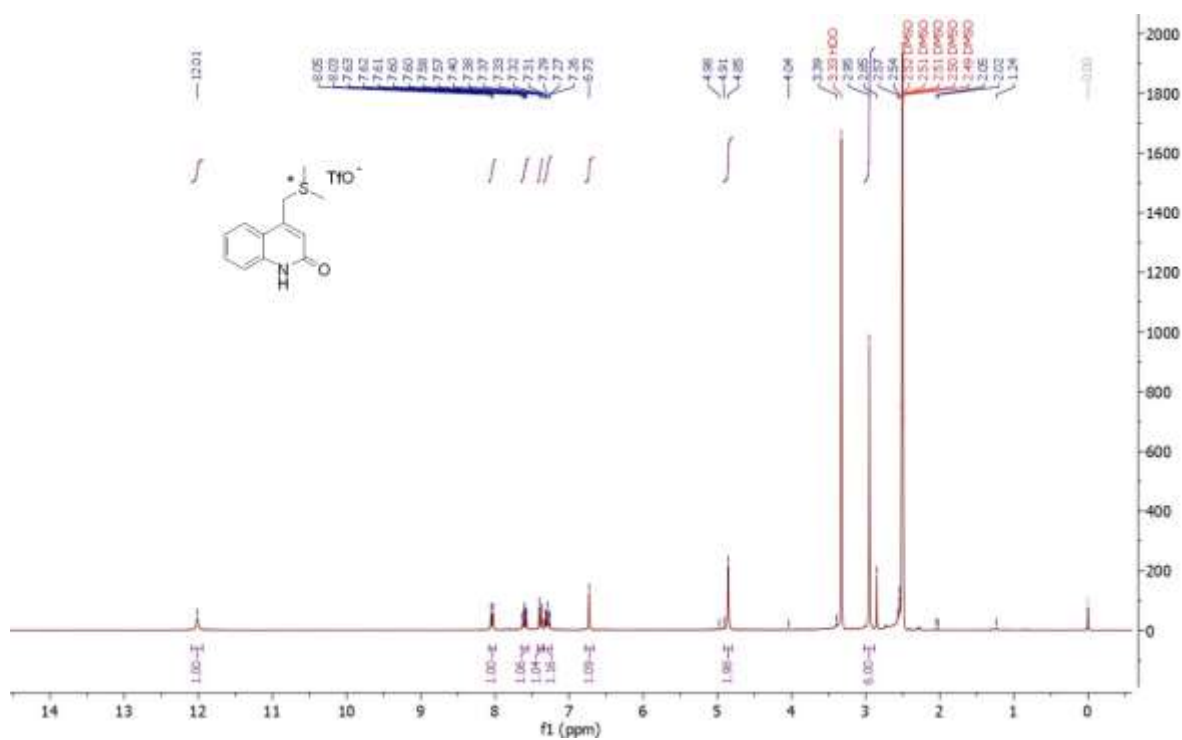
D1.40. NOESY spektar marinoaziridine B u CDCl₃ pri 25 °C.

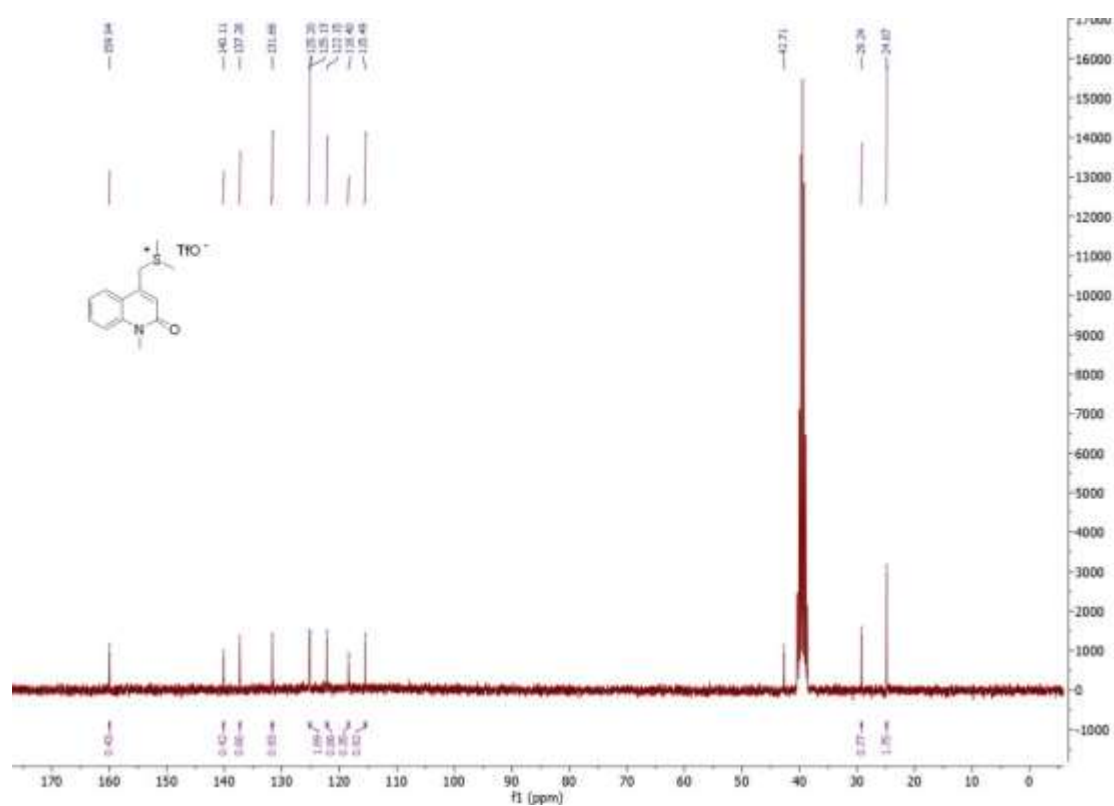
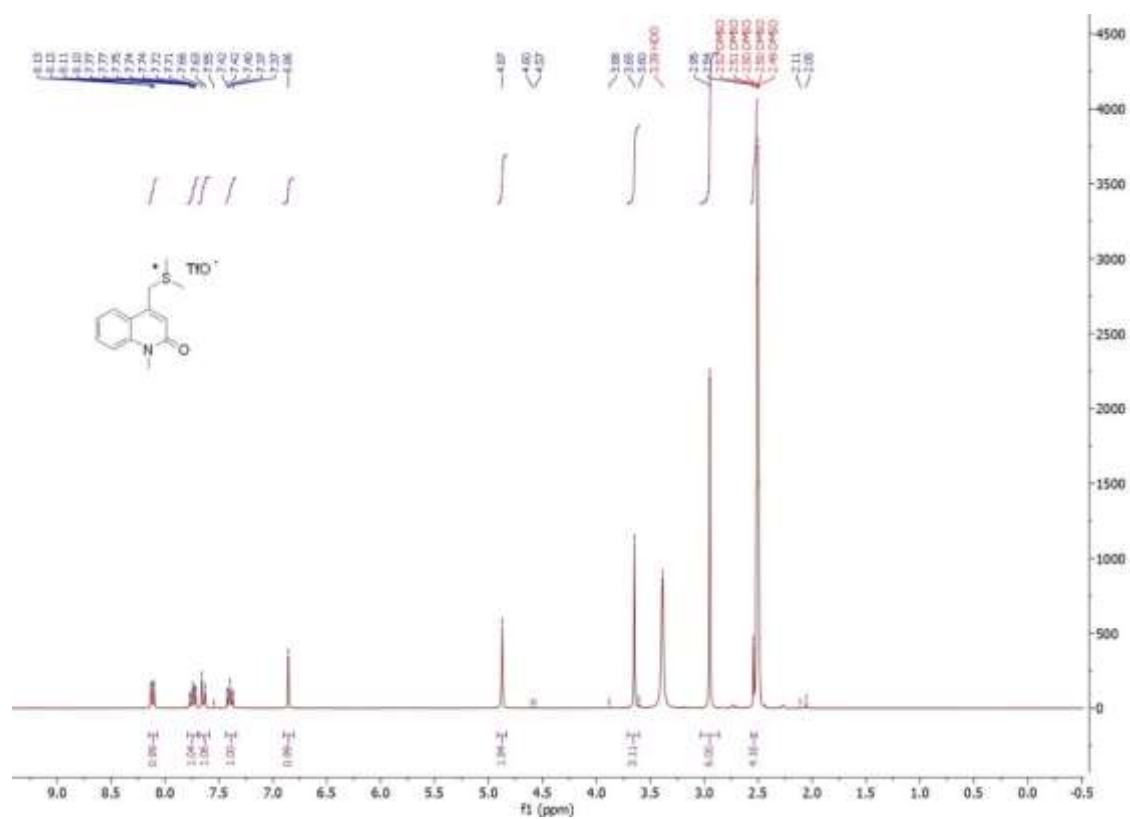


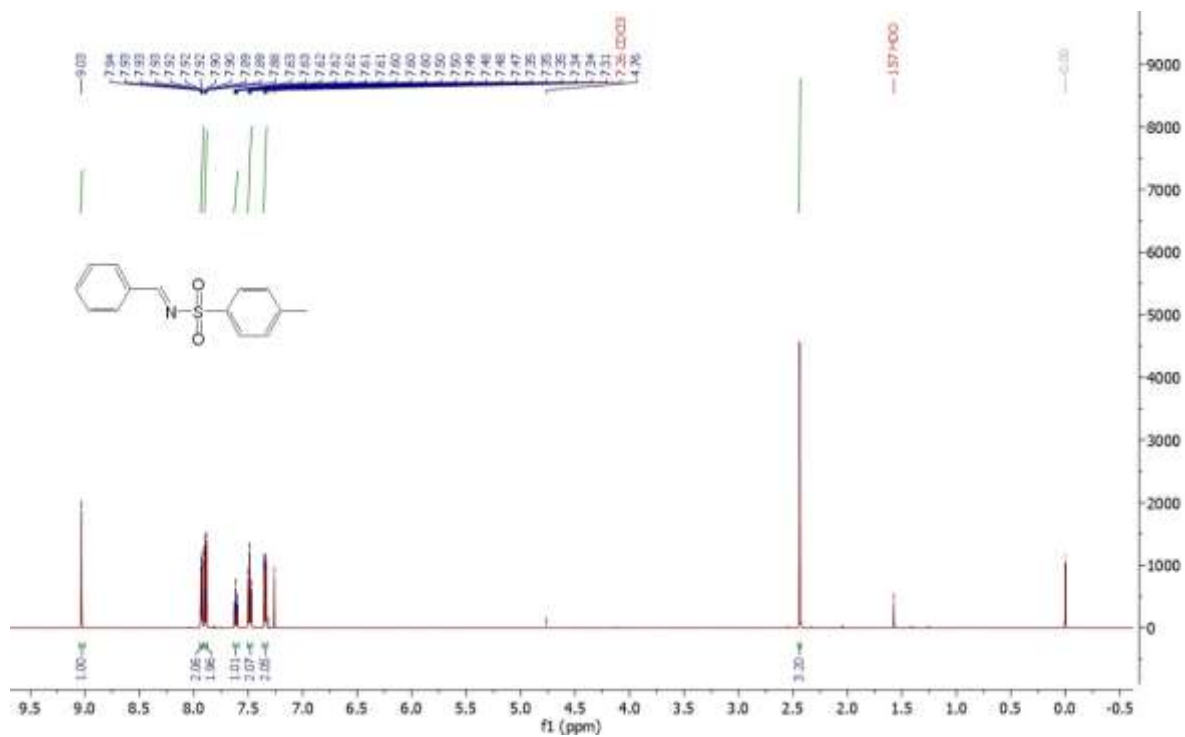
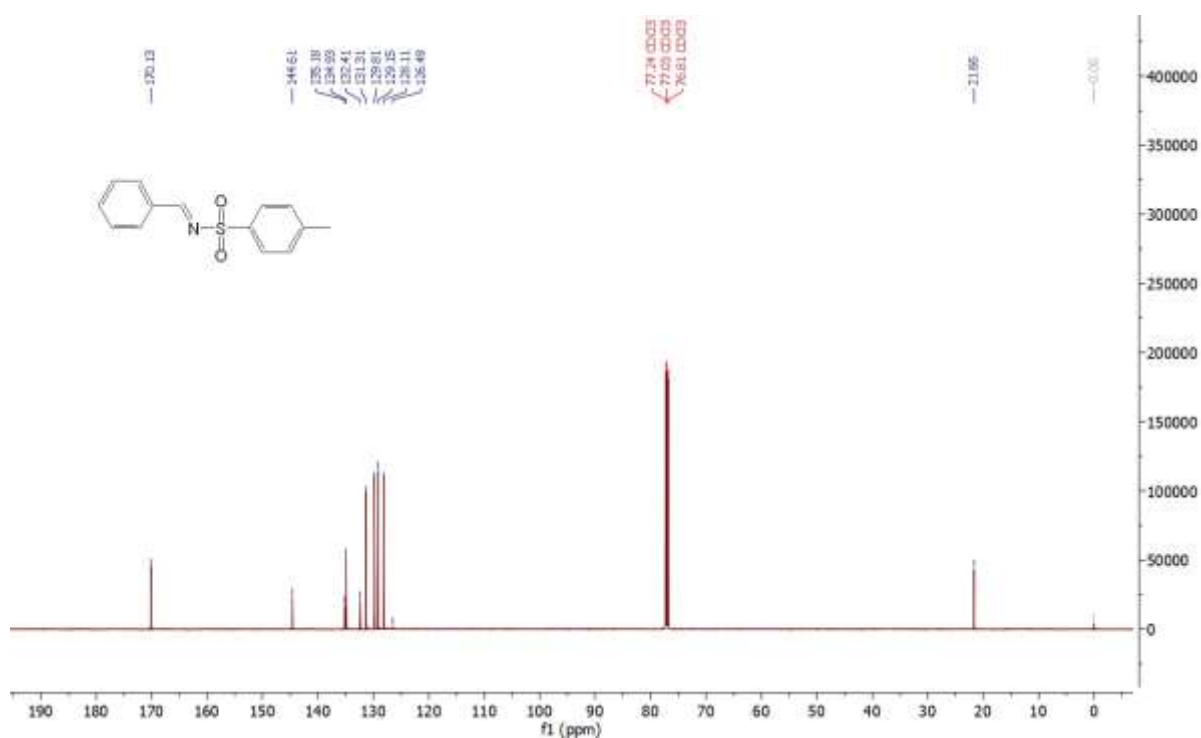


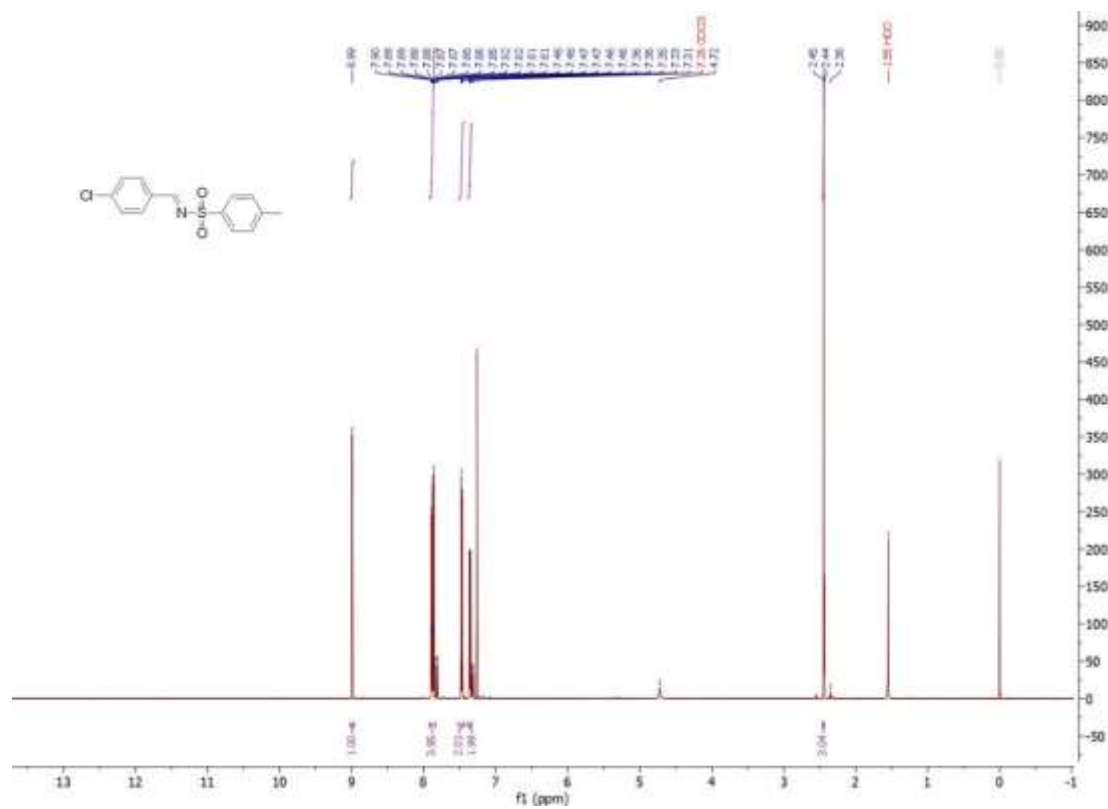




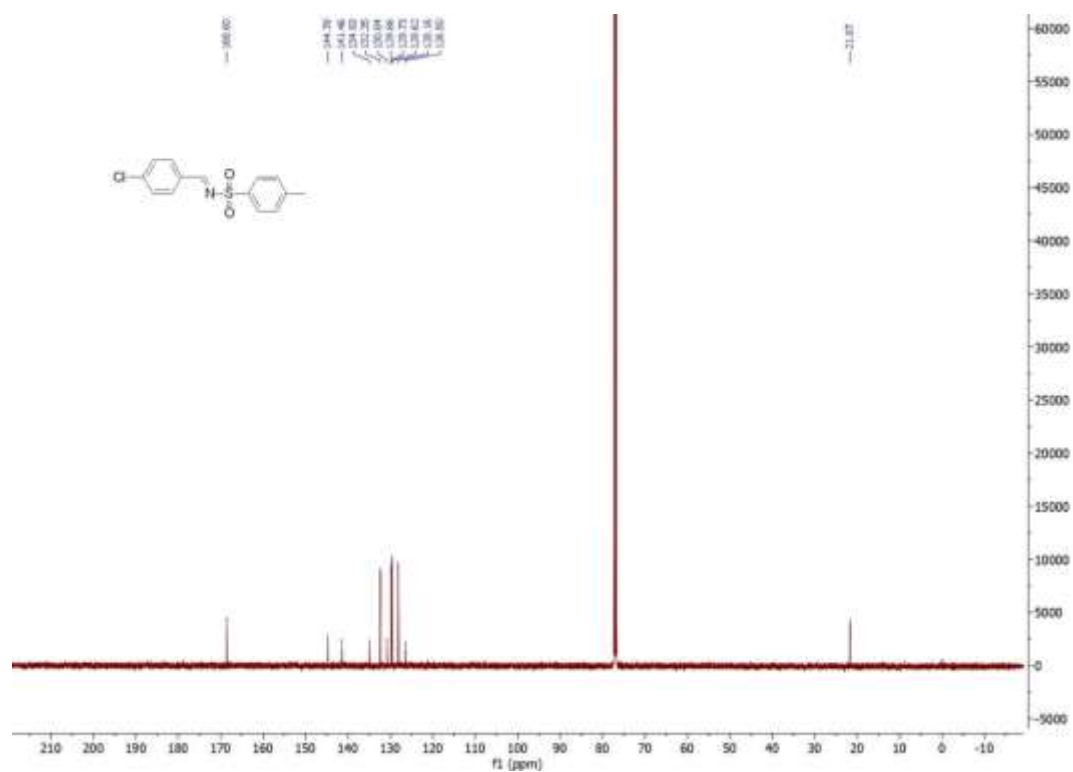


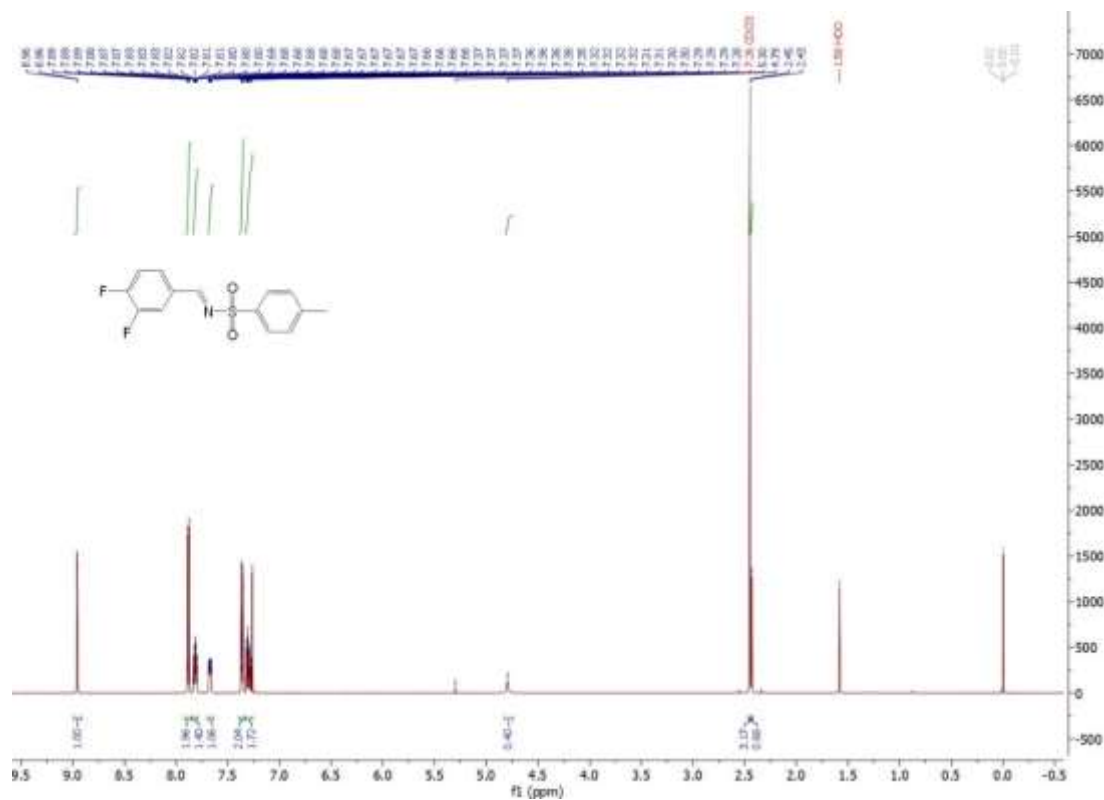
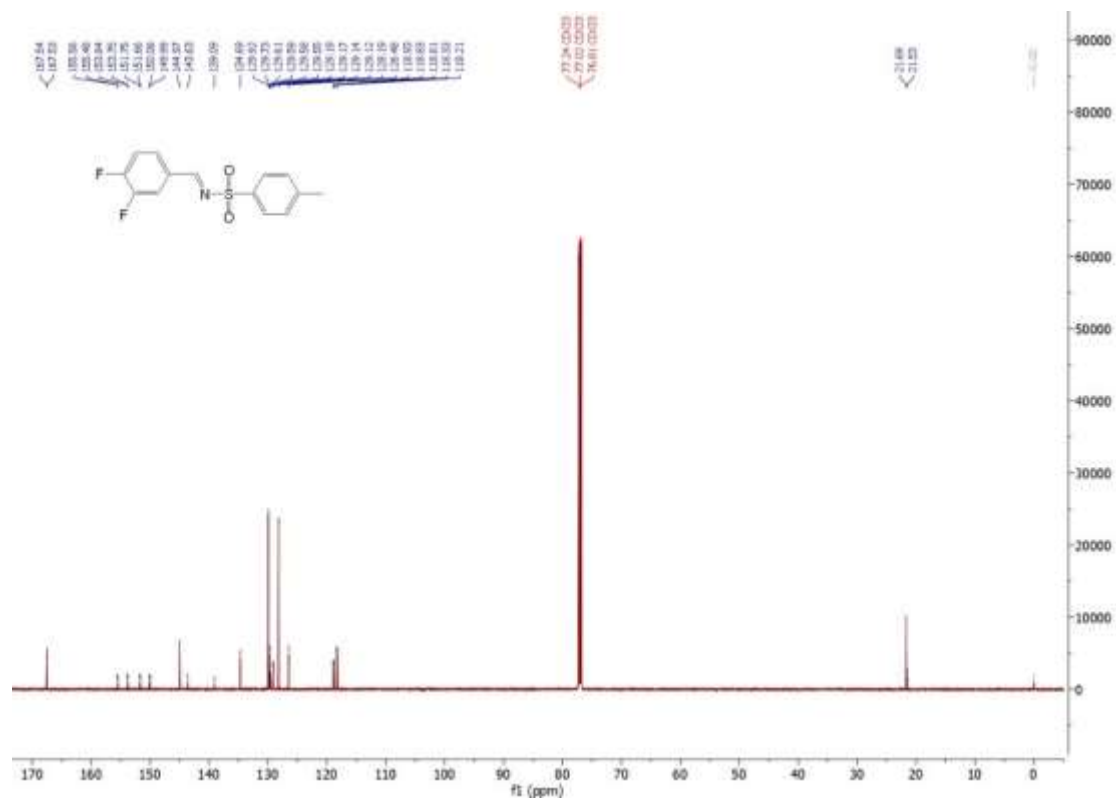


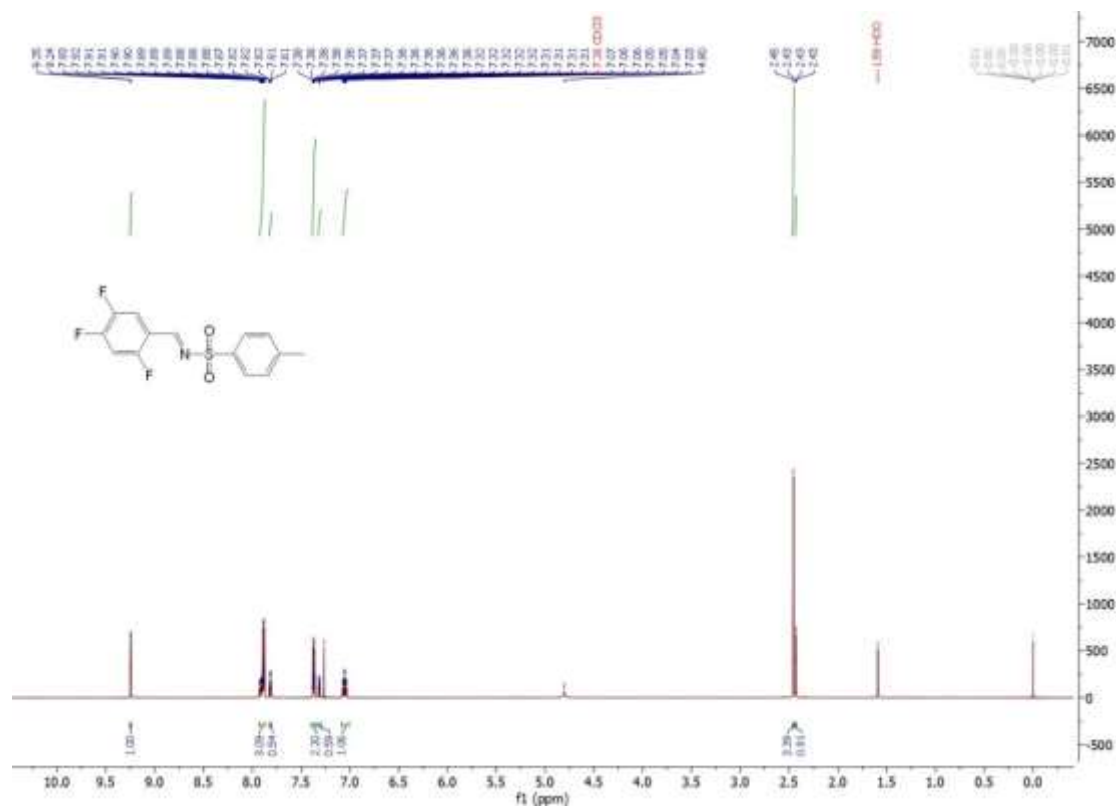
D1.55. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja 36D1.56. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja 36



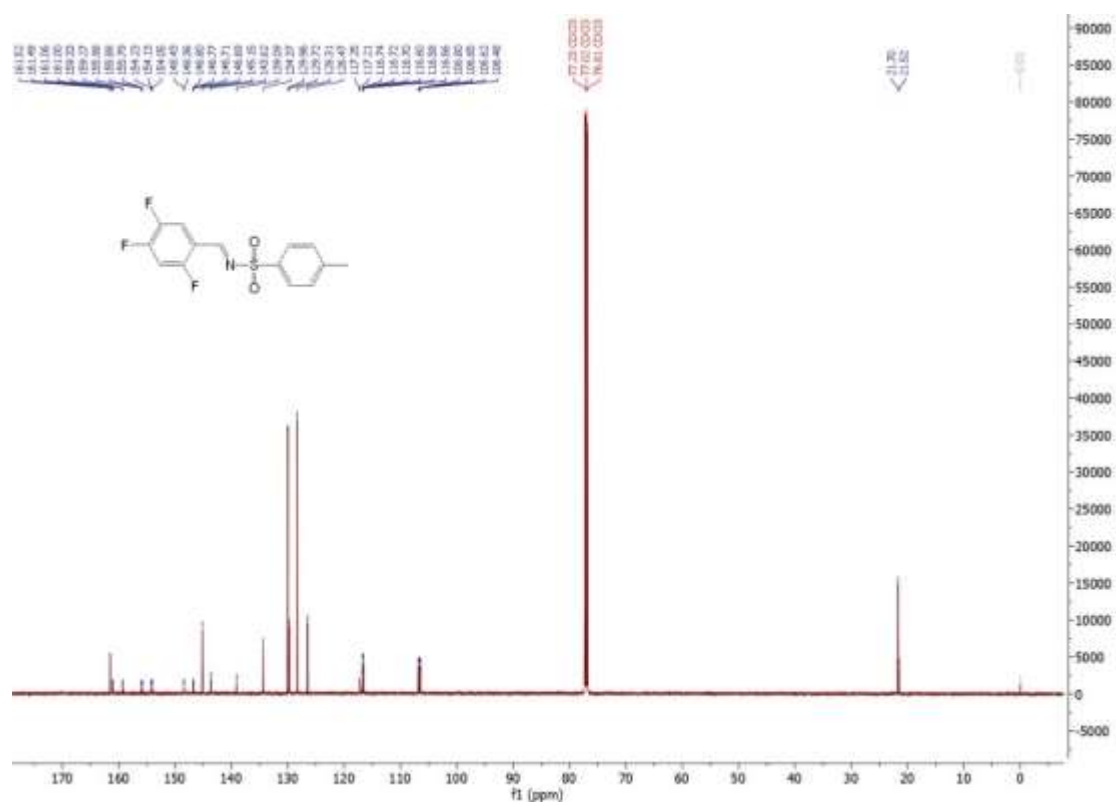
D1.57. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 600 MHz) spoja **37**



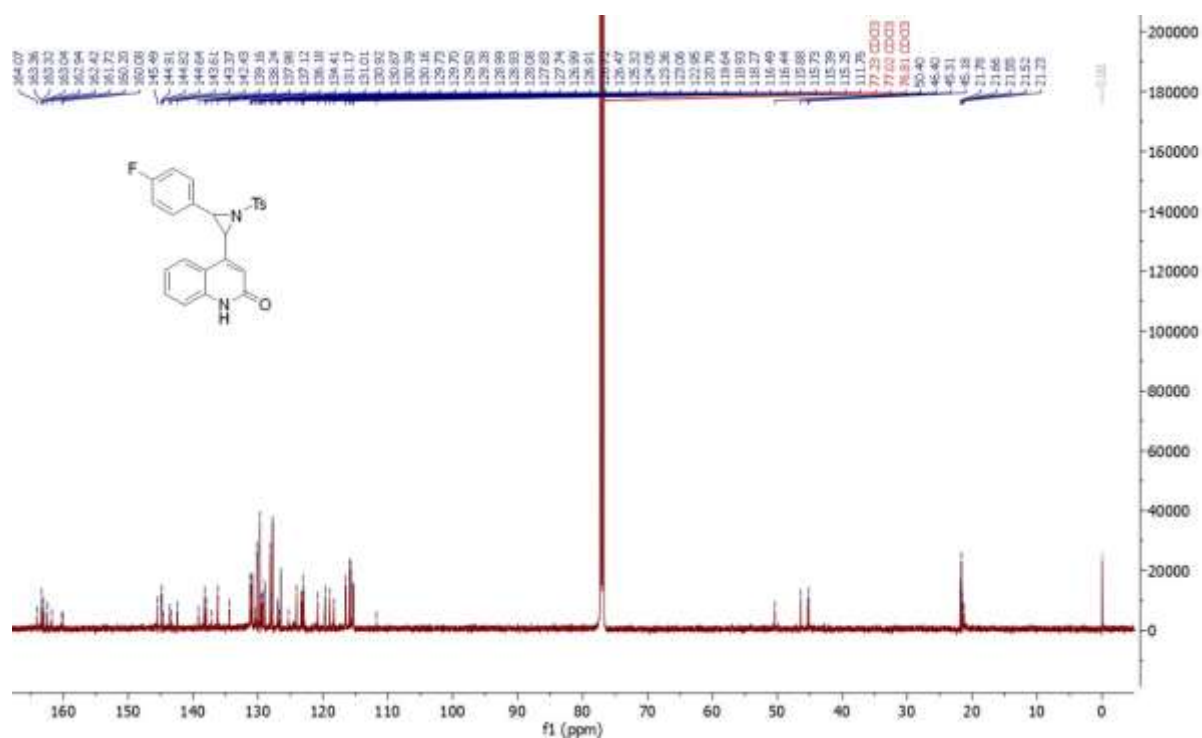
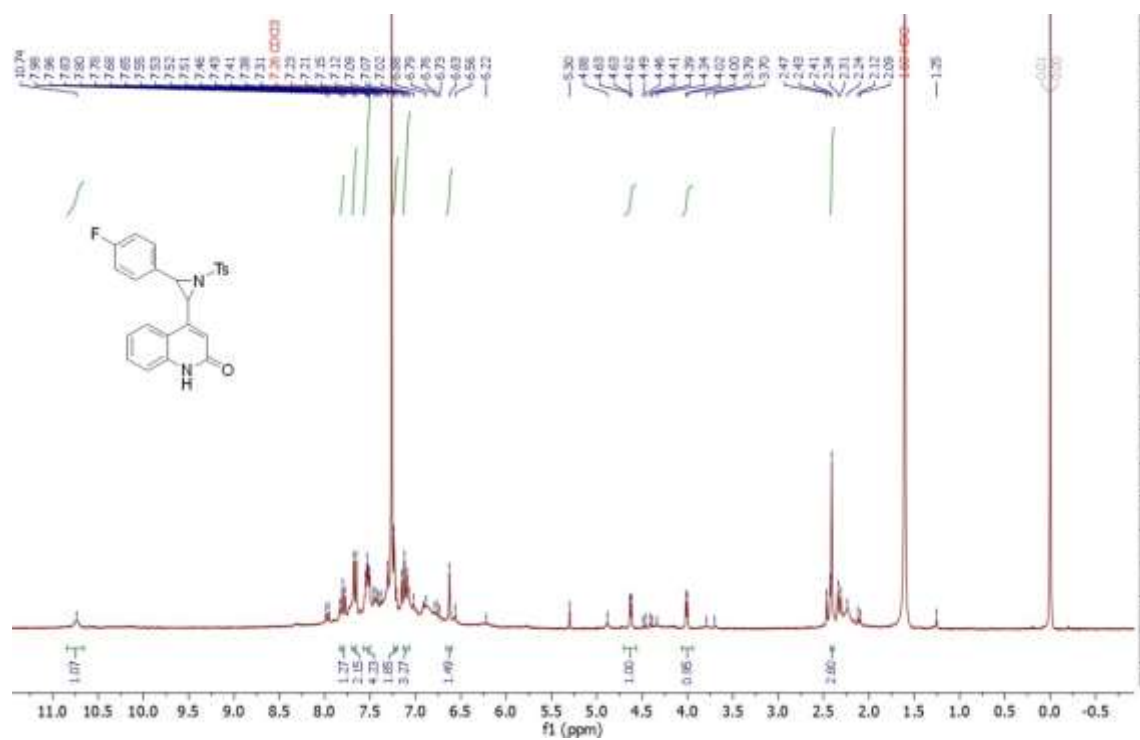
D1.67. ¹H NMR spektar (CDCl₃, 600 MHz) spoja 42D1.68. ¹³C NMR spektar (CDCl₃, 151 MHz) spoja 42

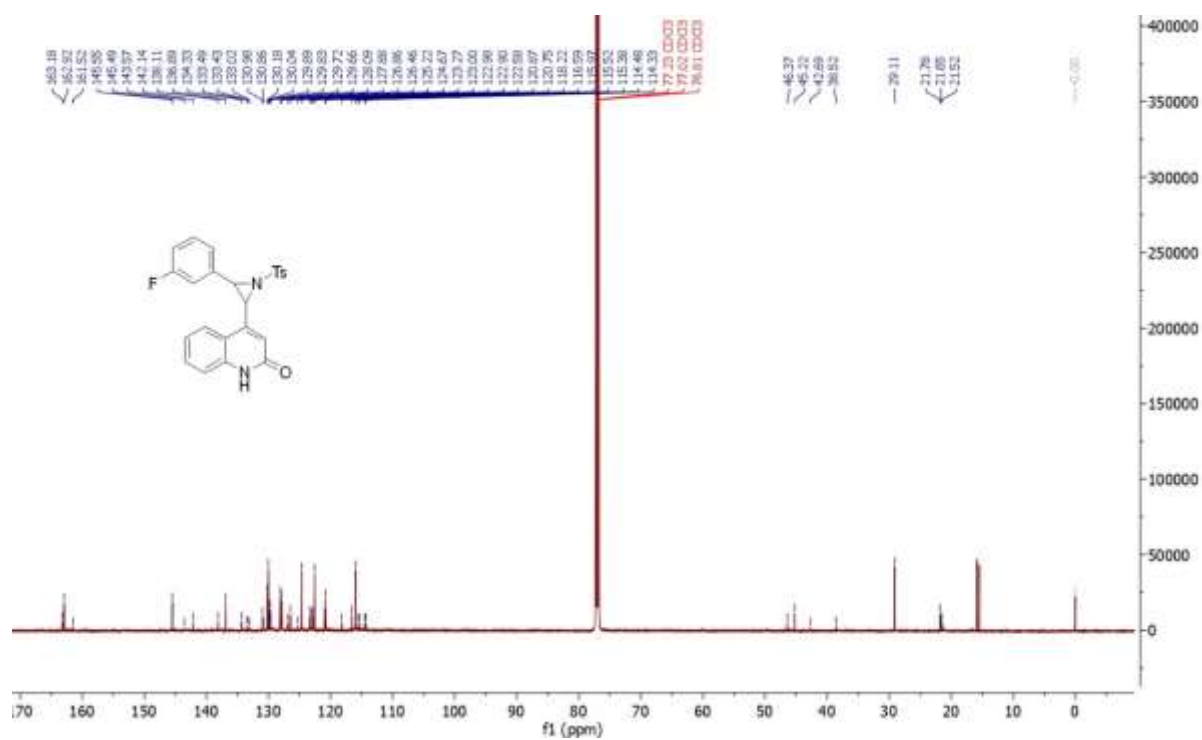
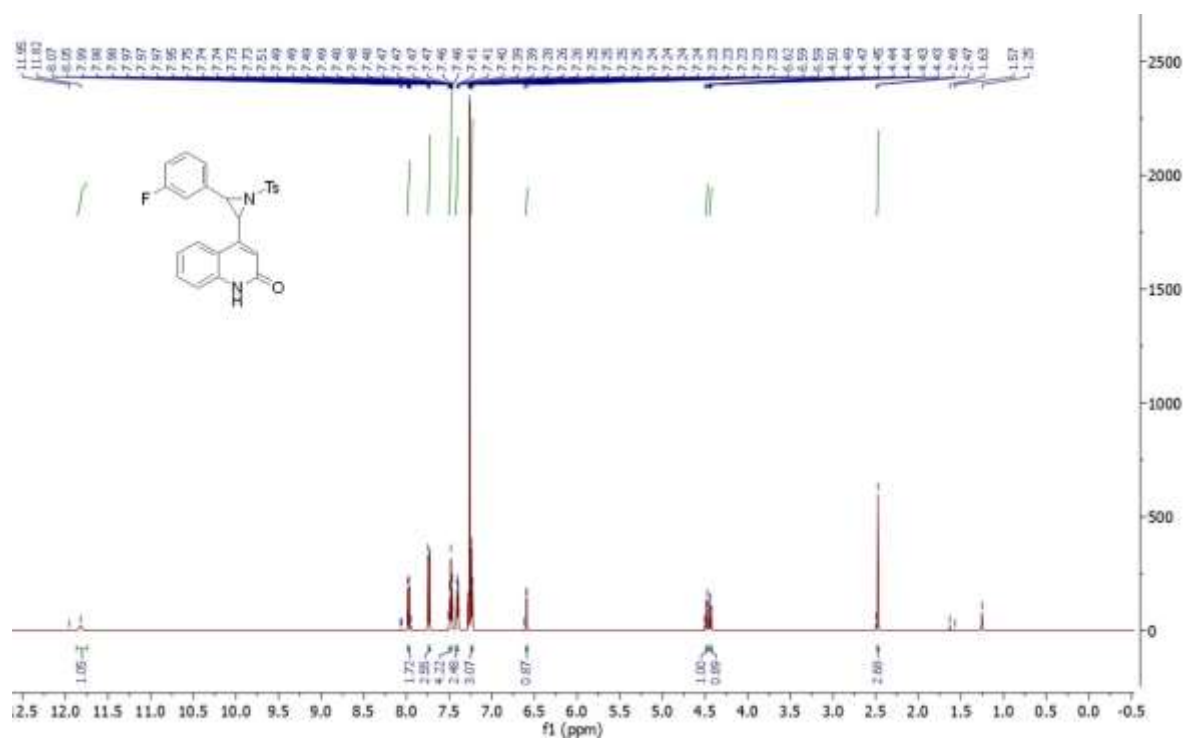


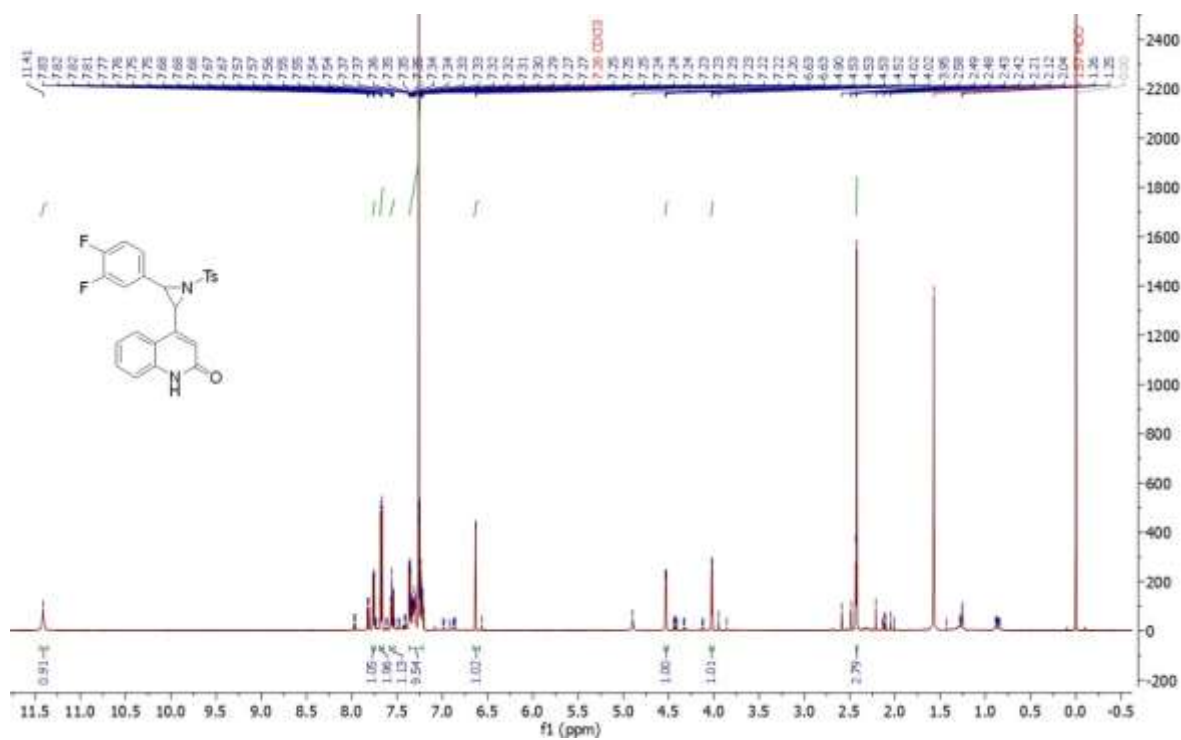
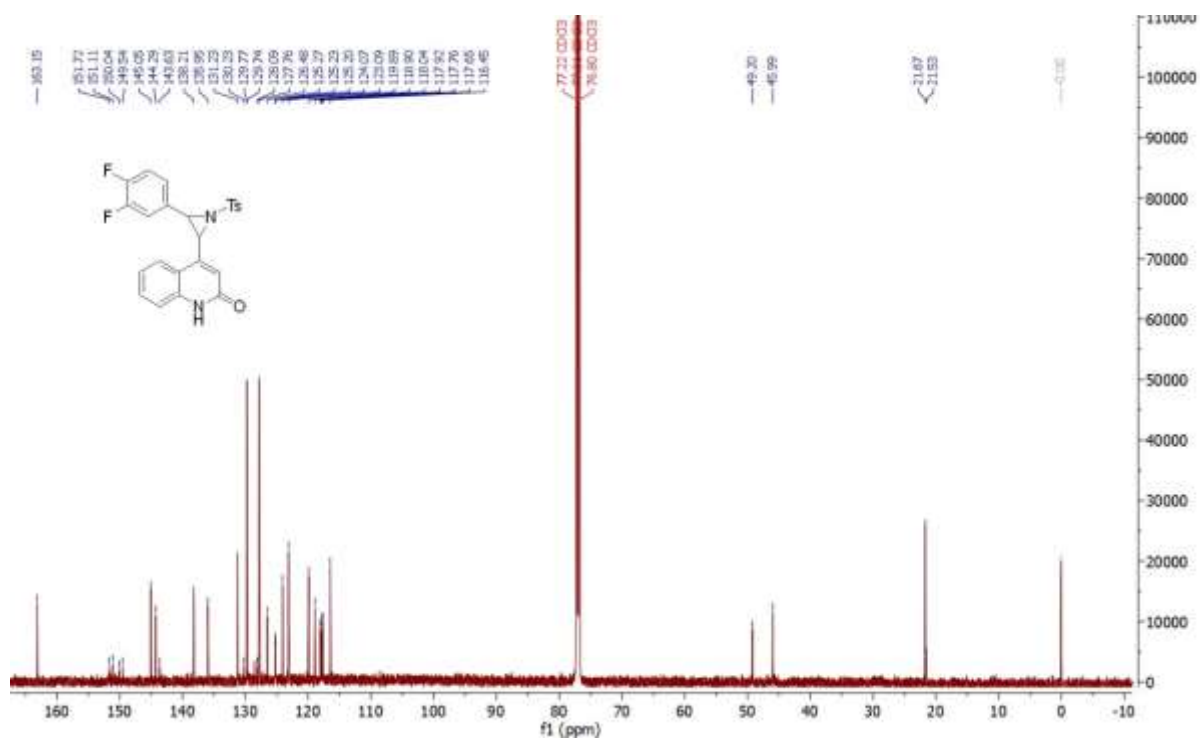
D1.69. ^1H NMR spektr (CDCl₃, 600 MHz) spoja 43

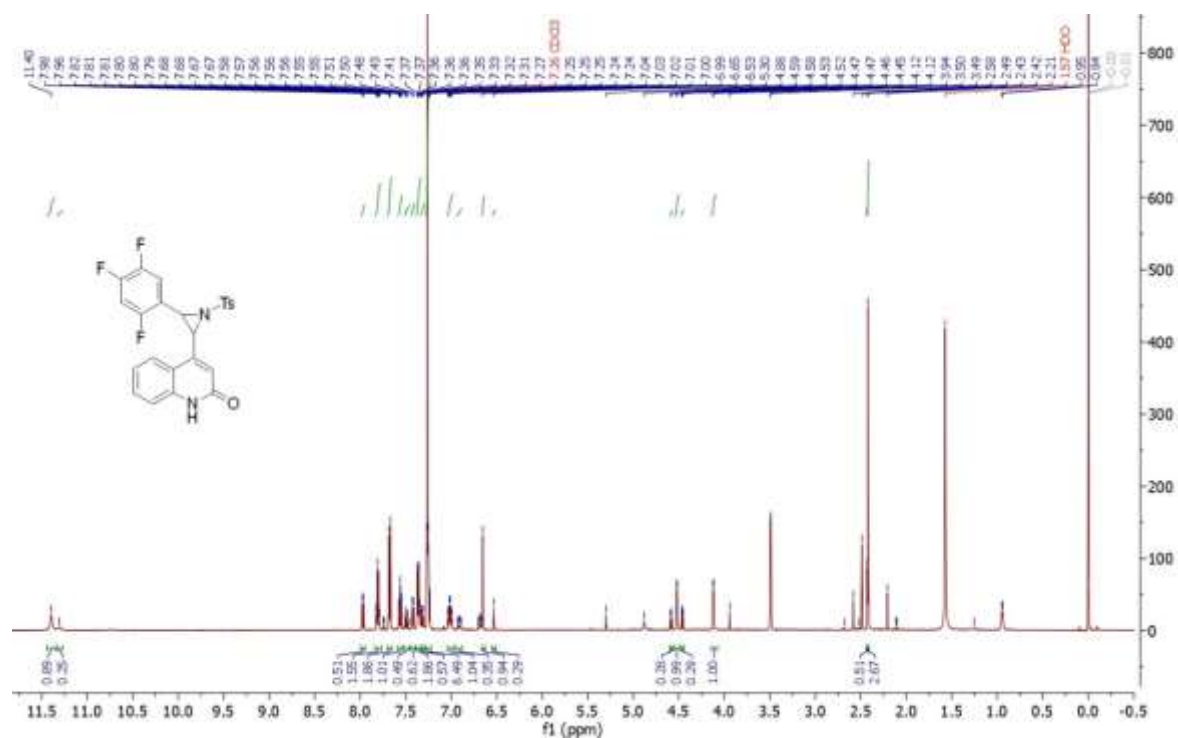
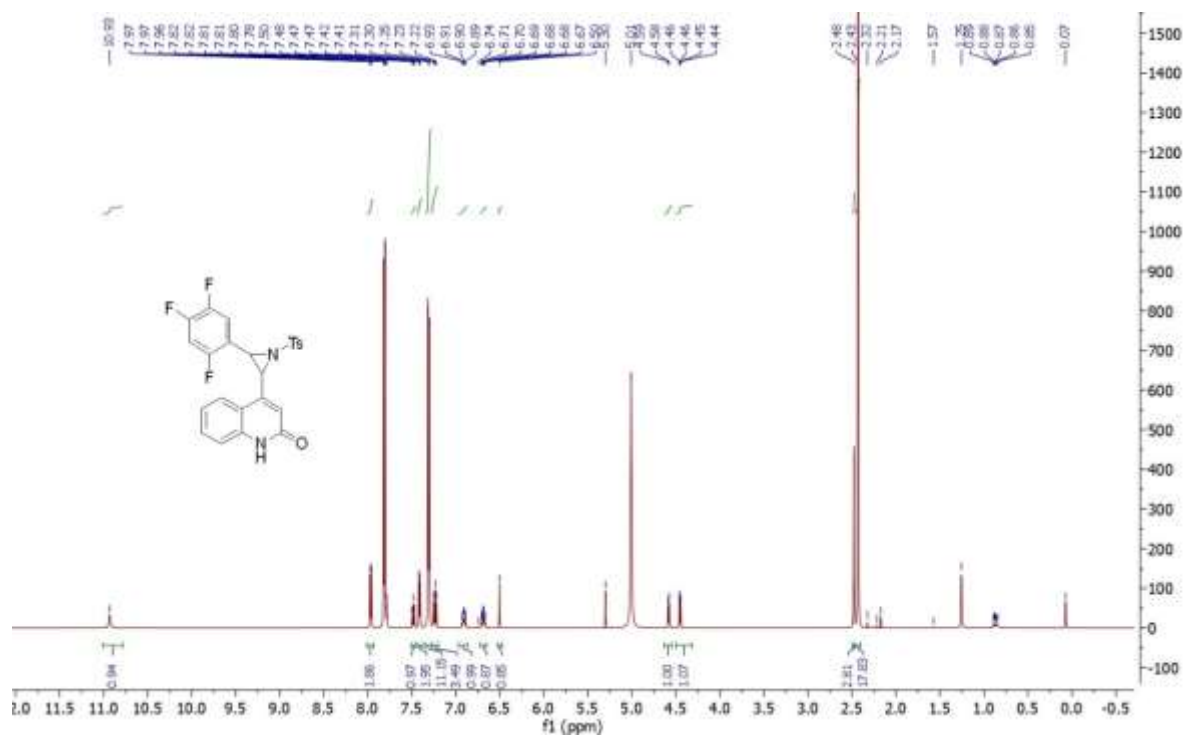


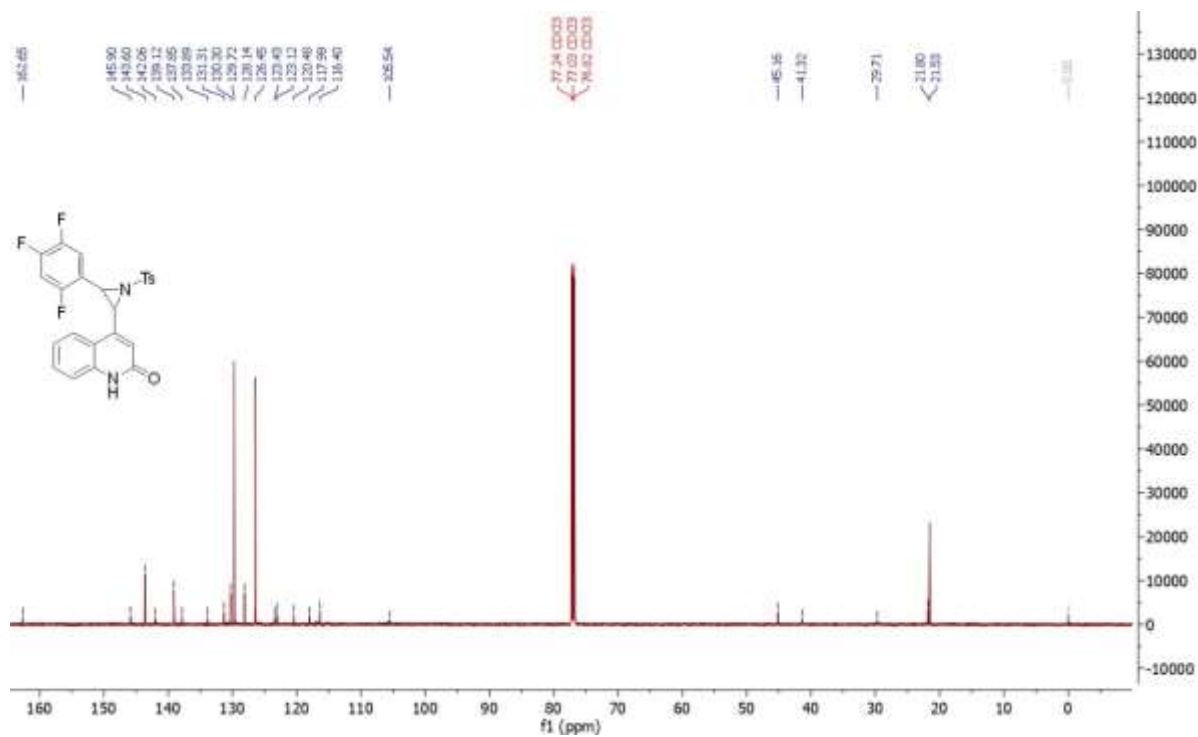
D1.70. ^{13}C NMR spektr (CDCl₃, 151 MHz) spoja 43



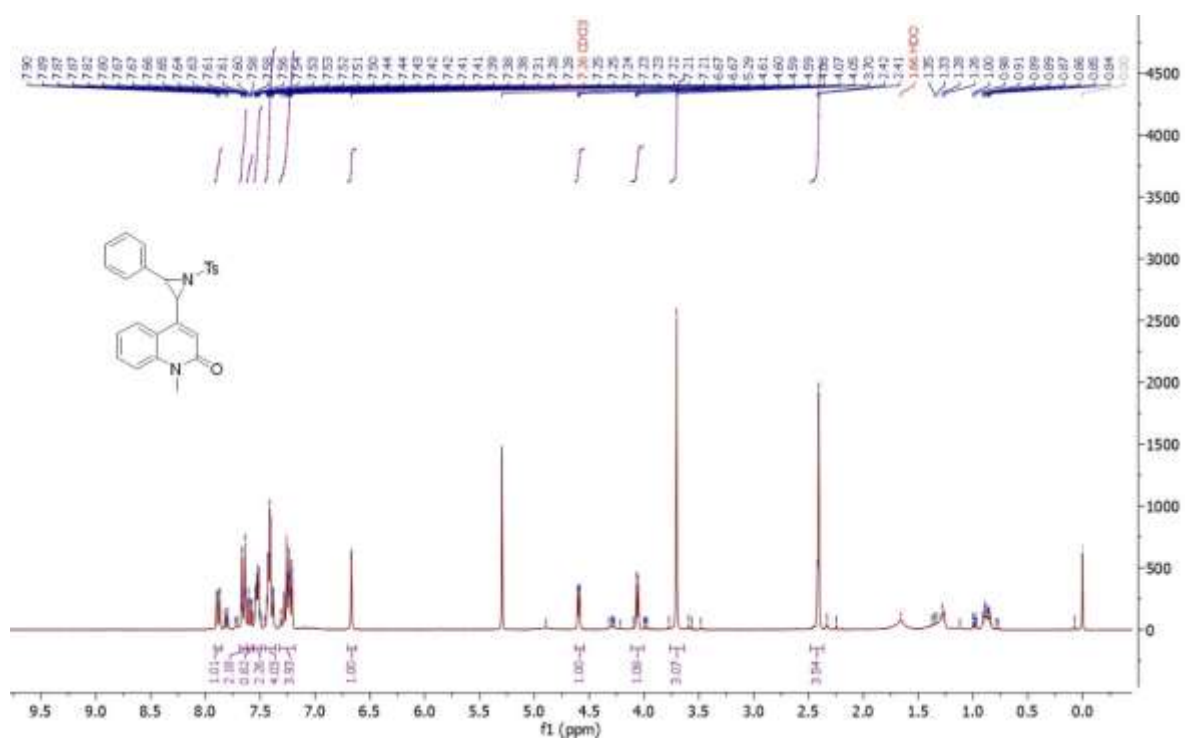


**D1.80.** $^1\text{H NMR}$ spektar (CDCl₃, 600 MHz) spoja 50**D1.81.** $^{13}\text{C NMR}$ spektar (CDCl₃, 151 MHz) spoja rac-50

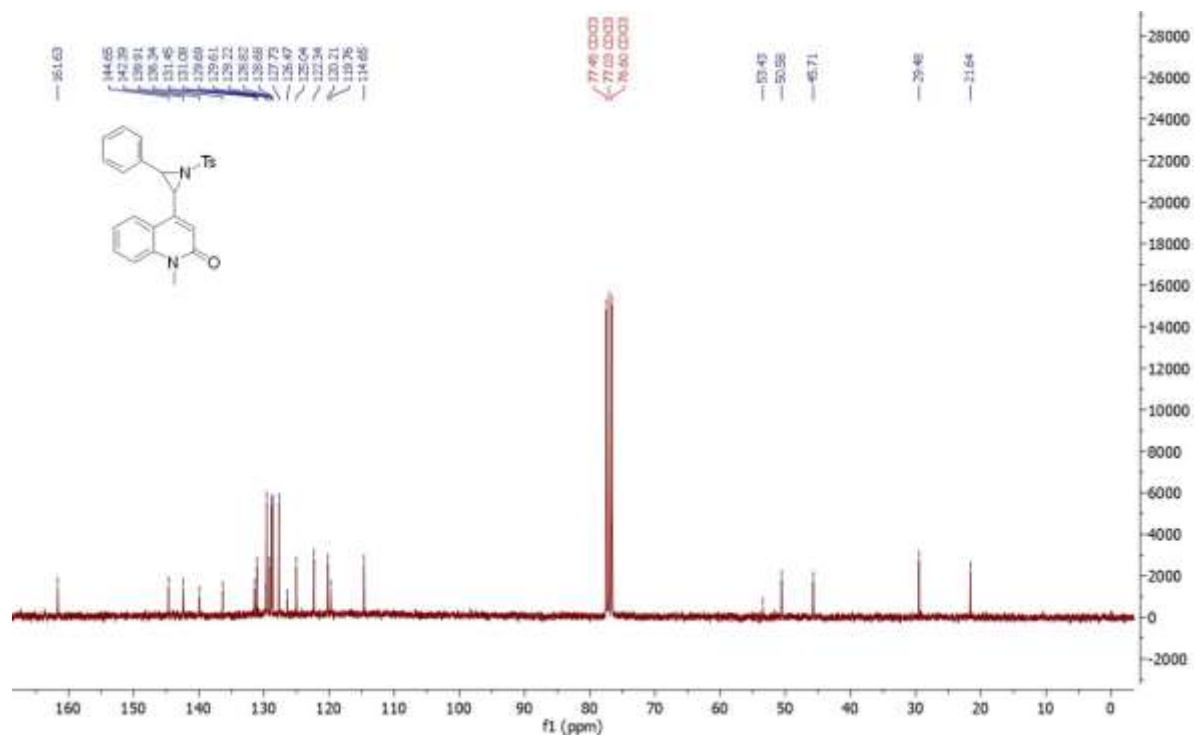
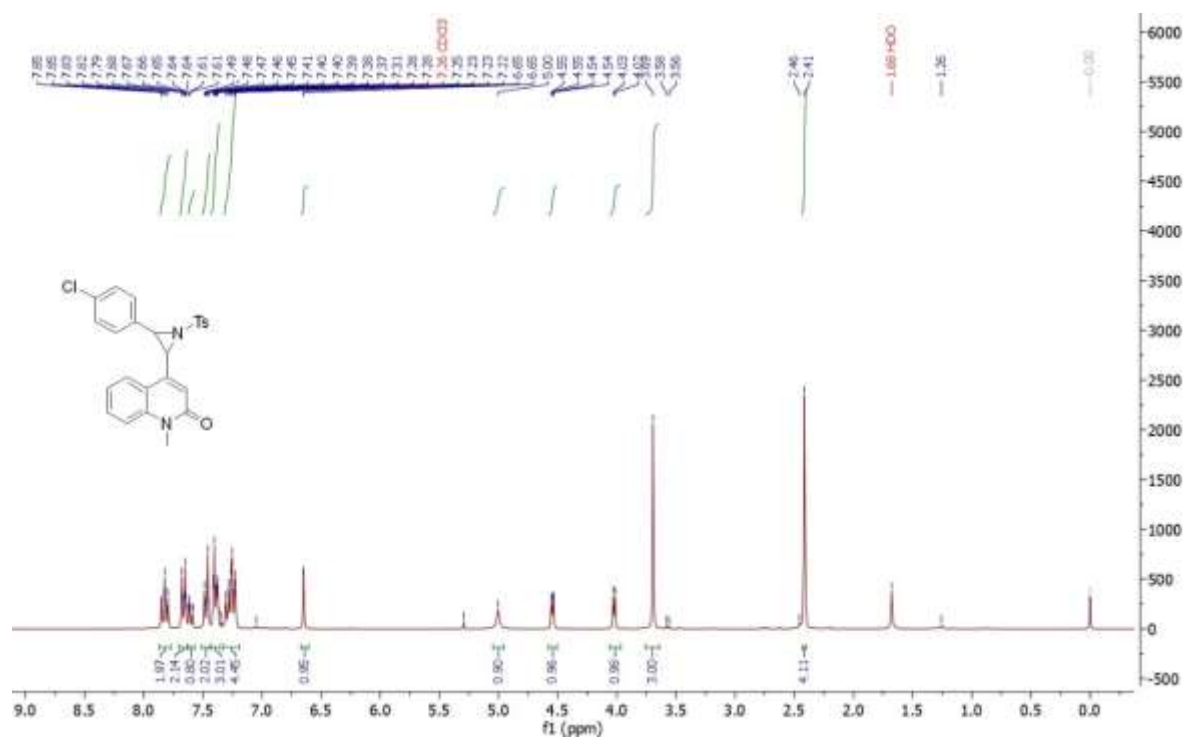
D1.82. ^1H NMR spektar (CDCl₃, 600 MHz) spoja rac-51a/bD1.83. ^1H NMR spektar (CDCl₃, 151 MHz) spoja rac-51a

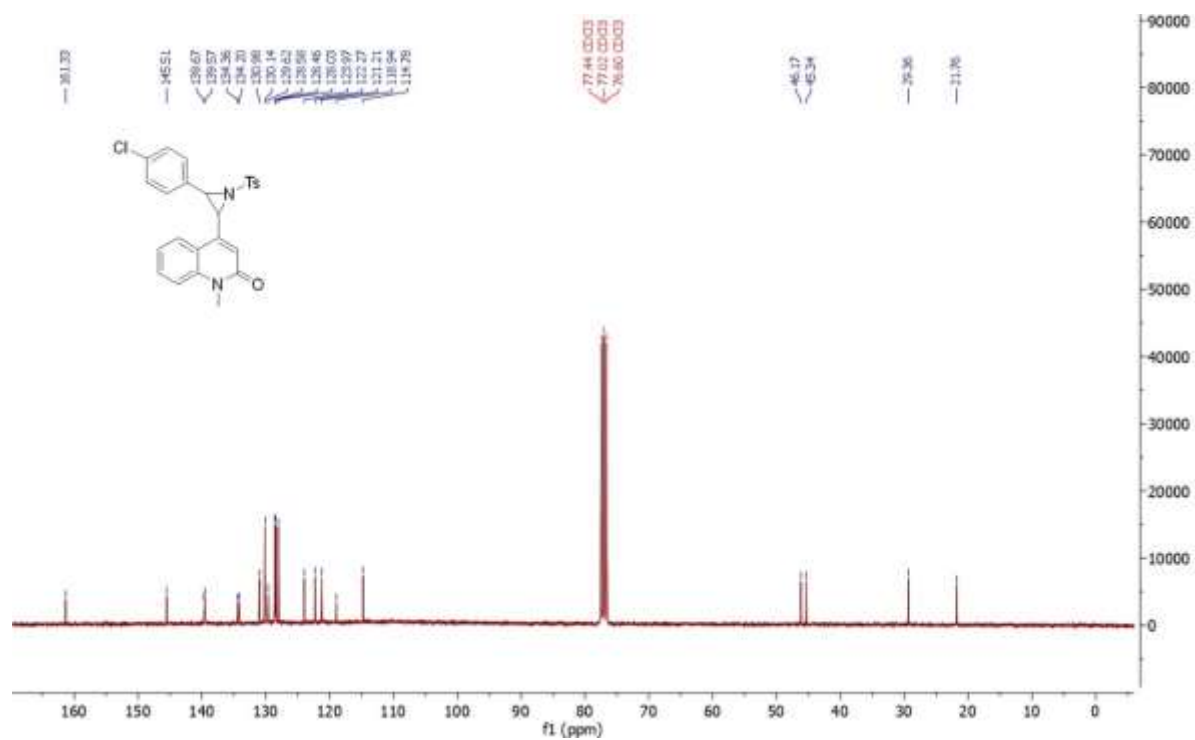


D1.84. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , 151 MHz) spoja **51a**

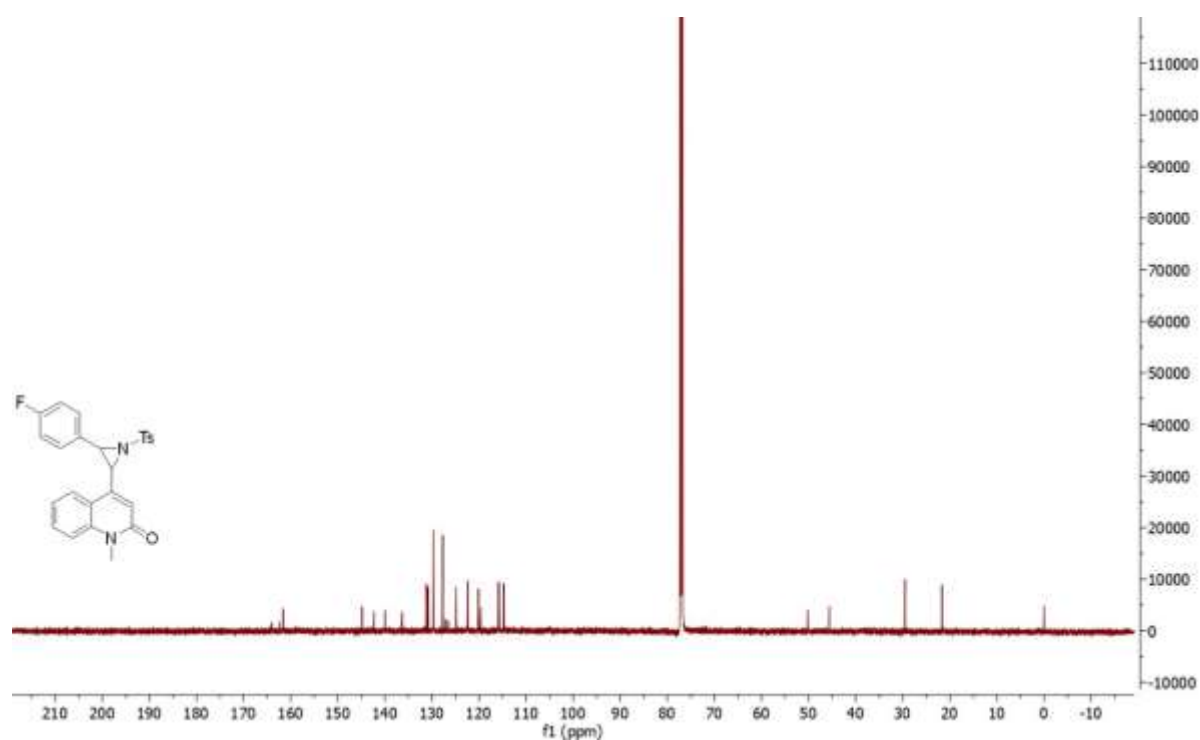
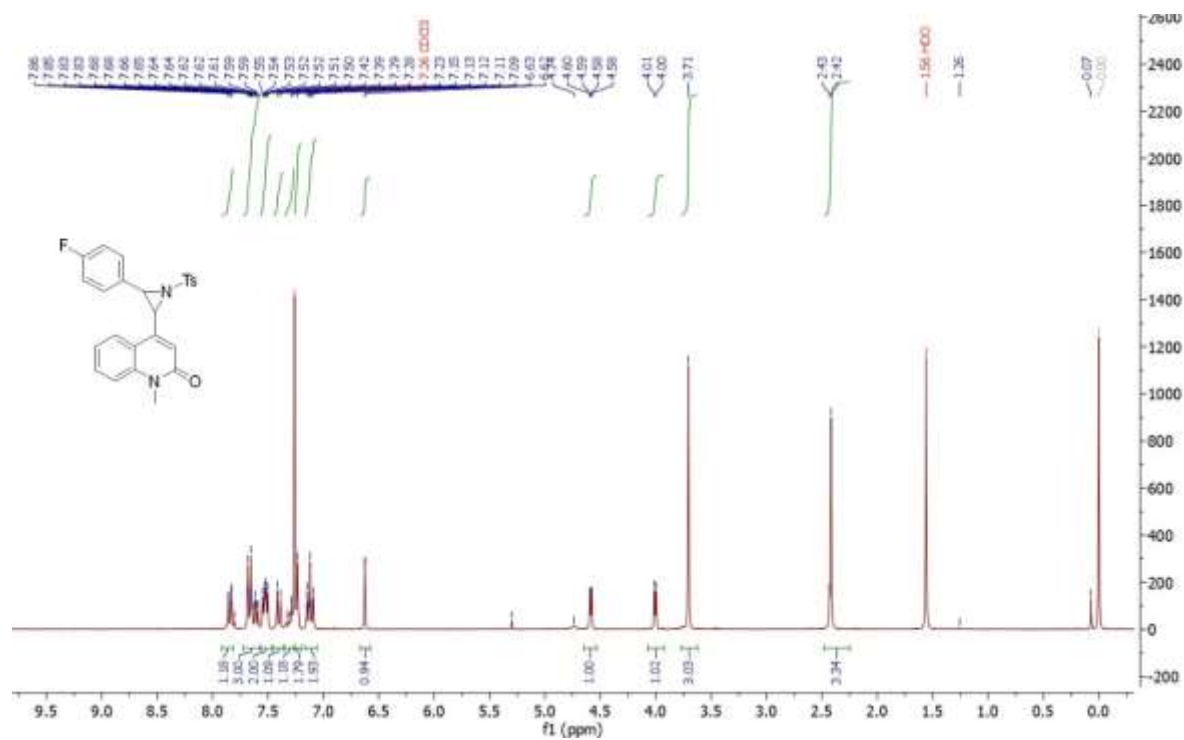


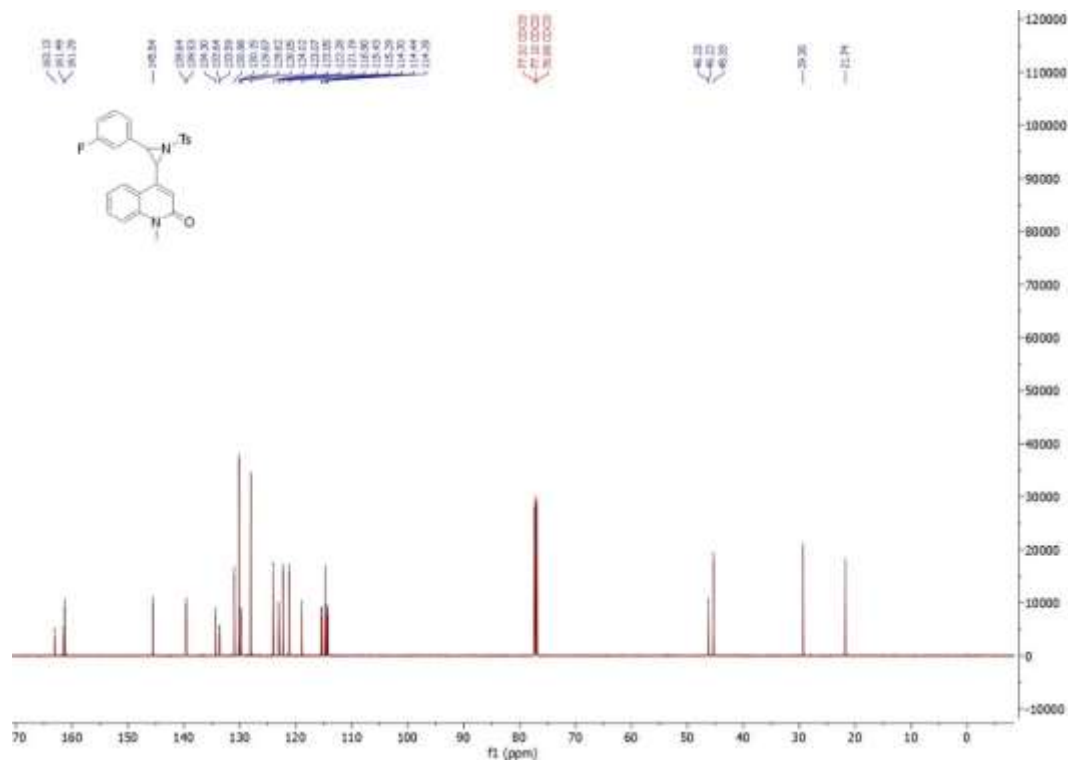
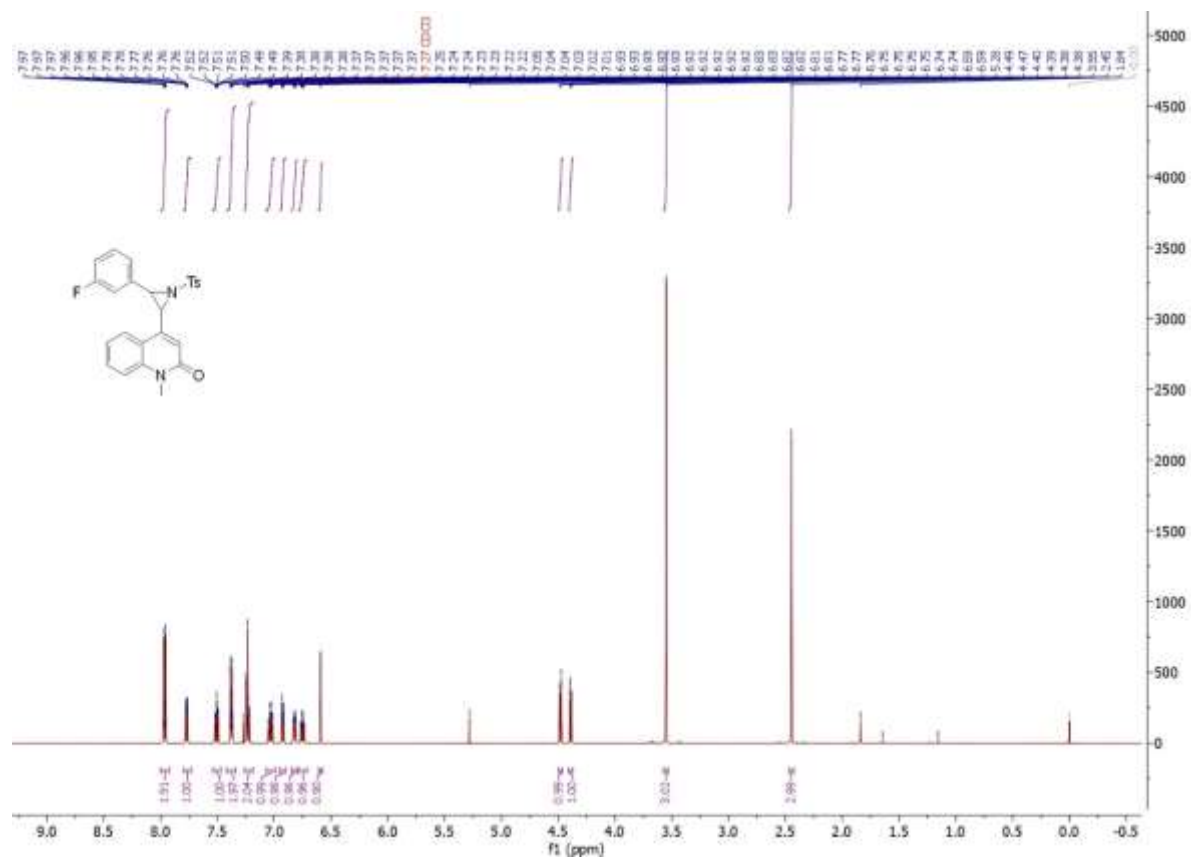
D1.85. ^1H NMR spektar (CDCl_3 , 300 MHz) spoja **rac-52**

D1.86. ¹³C NMR spektar (CDCl₃, 75 MHz) spoja rac-52D1.87. ¹H NMR spektar (CDCl₃, 300 MHz) spoja rac-53



D1.88. ^{13}C NMR spektar (CDCl₃, 75 MHz) spoja **rac-53**





8.2. Dodatak 2: Razdvajanje enantiomera marinoepoksida i marinoaziridina primjenom HPLC i SFC

Tablica D2.1. Utjecaj pokretne faze na razdvajanje enantiomera *rac-11-13* na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

spoj	Mobile phase	k_1	k_2	α	R_s	k_1	k_2	α	R_s
<i>rac-11</i>	<i>n</i> -hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.20	2.43	2.02	4.34	2.98	3.89	1.31	2.12
	DMC	1.51	2.24	1.48	1.99	5.82	9.26	1.59	3.31
	DMC/MeOH (90/10, v/v)	0.35	0.52	1.49	1.42	1.11	1.71	1.54	2.69
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	0.51	0.77	1.50	1.72	1.55	2.33	1.50	2.60
	CO ₂ /MeOH (80/20, v/v)	0.98	2.10	2.14	2.63	1.78	2.85	1.60	2.38
	CO ₂ /MeOH (85/15, v/v)	1.63	3.34	2.05	3.25	3.28	5.23	1.60	3.02
	CO ₂ /MeOH (90/10, v/v)	2.93	5.98	2.04	3.98	6.10	9.92	1.63	3.90
	CO ₂ /MOH (95/5, v/v)	8.83	18.02	2.04	4.59	17.83	31.23	1.75	5.20
	CO ₂ /EtOH (80/20, v/v)	1.00	2.12	2.12	2.83	2.20	3.57	1.62	2.66
	CO ₂ /EtOH (85/15, v/v)	1.97	4.00	2.03	3.73	3.47	5.72	1.65	3.33
	CO ₂ /EtOH (90/10, v/v)	3.84	7.81	2.03	4.53	/	/	/	/
	CO ₂ /EtOH (95/5, v/v)	13.83	28.25	2.04	4.82	/	/	/	/
<i>rac-12</i>	<i>n</i> -hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.09	1.49	1.37	2.24	9.11	11.91	1.31	2.67
	DMC	0.45	0.56	1.24	0.65	5.42	9.81	1.81	4.70
	DMC/MeOH (90/10, v/v)	0.22	0.22	1.00	0.00	1.37	2.20	1.61	3.30
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	0.27	0.27	1.00	0.00	1.91	3.10	1.62	3.45
	CO ₂ /MeOH (80/20, v/v)	0.58	0.87	1.51	0.82	4.17	6.61	1.58	3.34
	CO ₂ /MeOH (85/15, v/v)	0.94	1.38	1.47	1.18	7.22	11.44	1.58	3.87
	CO ₂ /MeOH (90/10, v/v)	1.58	2.32	1.47	1.72	12.95	20.87	1.61	4.35
	CO ₂ /MeOH (95/5, v/v)	3.73	5.58	1.49	2.69	/	/	/	/
	CO ₂ /MeOH (97/3, v/v)	6.98	10.81	1.55	3.01	/	/	/	/
	CO ₂ /EtOH (80/20, v/v))	0.59	0.79	1.34	0.58	6.00	9.07	1.51	3.21
	CO ₂ /EtOH (85/15, v/v)	1.18	1.53	1.30	0.93	9.13	14.04	1.54	3.64
	CO ₂ /EtOH (90/10, v/v)	2.01	2.68	1.33	1.49	/	/	/	/
CO ₂ /EtOH (95/5, v/v)	4.96	6.97	1.40	2.54	/	/	/	/	
<i>rac-13</i>	<i>n</i> -hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.39	1.44	1.04	1.72	6.61	8.34	1.26	2.13
	DMC	0.38	0.49	1.29	0.66	2.68	4.40	1.64	3.19
	DMC/MeOH (90/10, v/v)	0.20	0.20	1.00	0.00	0.76	1.12	1.48	2.06
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	0.24	0.24	1.00	0.00	1.54	2.42	1.57	2.61
	CO ₂ /MeOH (80/20, v/v)	1.27	1.58	1.24	0.71	4.46	6.77	1.52	2.97
	CO ₂ /MeOH (85/15, v/v)	2.02	2.50	1.24	1.05	7.93	12.02	1.52	3.34
	CO ₂ /MeOH (90/10, v/v)	3.47	4.28	1.23	1.43	14.57	22.39	1.54	3.67
	CO ₂ /MeOH (95/5, v/v)	8.76	10.92	1.25	1.77	/	/	/	/
	CO ₂ /EtOH (80/20, v/v)	1.33	1.65	1.24	0.81	5.98	8.92	1.49	2.99
	CO ₂ /EtOH (85/15, v/v)	2.51	3.09	1.23	1.19	9.45	14.26	1.51	3.42
	CO ₂ /EtOH (90/10, v/v)	4.54	5.63	1.24	1.66	/	/	/	/
	CO ₂ /EtOH (95/5, v/v)	12.18	15.34	1.25	2.04	/	/	/	/
CHIRAL ART Amylose-SA					CHIRAL ART Cellulose-SC				

Tablica D2.2. Utjecaj pokretne faze na razdvajanje enantiomera *rac-14-16* na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

Spoj	Mobile phase	k_1	k_2	α	R_s	k_1	k_2	α	R_s
<i>rac-14</i>	n-hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.93	5.40	2.80	6.30	2.44	2.65	1.09	0.56
	DMC	1.27	1.72	1.36	1.56	3.97	4.90	1.23	1.49
	DMC/MeOH (90/10, v/v)	0.35	0.52	1.48	1.44	0.93	1.08	1.16	0.69
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	0.44	0.62	1.42	1.29	2.10	2.49	1.19	1.24
	CO ₂ /MeOH (80/20, v/v)	4.09	12.75	3.11	6.33	9.16	10.14	1.11	0.74
	CO ₂ /MeOH (85/15, v/v)	6.58	19.86	3.02	6.32	17.22	19.30	1.12	0.98
	CO ₂ /MeOH (90/10, v/v)	12.03	35.31	2.94	6.50	5.40	6.11	1.13	0.77
	CO ₂ /EtOH (80/20, v/v)	3.88	8.22	2.12	4.58	8.72	9.92	1.14	0.98
	CO ₂ /EtOH (85/15, v/v)	6.54	13.78	2.11	5.01	3.93	4.27	1.09	0.63
	CO ₂ /EtOH (90/10, v/v)	13.36	28.35	2.12	5.03	/	/	/	/
<i>rac-15</i>	n-hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.96	5.73	2.92	8.74	11.72	13.16	1.12	1.35
	DMC	0.40	0.64	1.61	1.92	3.77	4.83	1.28	1.85
	DMC/MeOH (90/10, v/v)	0.19	0.33	1.71	1.38	1.15	1.35	1.17	0.97
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	0.22	0.36	1.91	1.45	1.51	1.81	1,20	1.17
	CO ₂ /MeOH (80/20, v/v)	2.66	6.45	2.43	5.60	9.96	11.51	1.16	1.25
	CO ₂ /MeOH (85/15, v/v)	4.11	9.79	2.38	6.16	17.10	19.80	1.16	1.28
	CO ₂ /MeOH (90/10, v/v)	6.88	16.32	2.37	6.45	30.41	35.41	1.16	1.54
	CO ₂ /EtOH (80/20, v/v)	2.31	4.54	1.97	4.36	12.50	14.34	1.15	1.55
	CO ₂ /EtOH (85/15, v/v)	4.22	8.09	1.92	5.11	19.39	22.34	1,15	1.41
	CO ₂ /EtOH (90/10, v/v)	7.62	14.74	1.93	5.86	/	/	/	/
<i>rac-16</i>	n-hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.89	5.19	2.75	7.23	9.31	9.31	1.00	0.00
	DMC	0.31	0.51	1.63	1.45	0.68	0.68	1.00	0.00
	DMC/MeOH (90/10, v/v)	0.17	0.25	1.46	0.68	0.69	0.69	1.00	0.00
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	0.19	0.30	1.55	0.87	0.87	0.87	1.00	0.00
	CO ₂ /MeOH (80/20, v/v)	4.45	8.22	1.85	4.53	11.93	11.93	1.00	0.00
	CO ₂ /MeOH (85/15, v/v)	7.00	12.73	1.82	4.82	21.04	21.04	1.00	0.00
	CO ₂ /MeOH (90/10, v/v)	12.17	22.18	1.75	5.22	/	/	/	/
	CO ₂ /EtOH (80/20, v/v)	4.00	7.20	1.80	4.58	14.11	15.62	1.11	0.72
	CO ₂ /EtOH (85/15, v/v)	7.41	13.21	1.78	5.18	22.85	25.69	1.12	0.75
	CO ₂ /EtOH (90/10, v/v)	14.14	25.32	1.79	5.92	/	/	/	/
CHIRAL ART Amylose-SA						CHIRAL ART Cellulose-SC			

Tablica D2.3. Utjecaj pokretne faze na razdvajanje enantiomera **rac-23** na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

Spoj	Mobile phase	k_1	k_2	α	R_s	k_1	k_2	α	R_s
rac-23	<i>n</i> -hexane/ <i>i</i> -PrOH (90/10)	3.91	3.91	1.00	0.00	/	/	/	/
	<i>n</i> -hexane/EtOH (80/20, v/v)	1.78	2.04	1.15	1.10	4.59	7.25	1.58	3.67
	DMC	3.33	4.74	1.42	2.01	8.92	10.65	1.19	1.18
	DMC/MeOH (95/5, v/v)	/	/	/	/	6.05	7.43	1.23	1.63
	DMC/EtOH (95/5)	/	/	/	/	8.51	9.70	1.14	0.98
	DMC/EtOH (90/10, v/v)	/	/	/	/	4.22	4.96	1.18	1.16
	CO ₂ /MeOH (70/30, v/v)	1.22	3.36	2.75	4.97	6.23	16.61	2.67	2.43
	CO ₂ /EtOH (70/30, v/v)	0.44	1.71	3.89	4.47	7.54	20.56	2.73	2.52
					CHIRAL ART Amylose-SA		CHIRAL ART Cellulose-SC		

Tablica D2.4. Utjecaj pokretne faze na razdvajanje enantiomera **rac-52-59** na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama KNF-1-KNF-2

kolona ^a		<i>cis</i> 52	<i>trans</i> 52	<i>cis</i> 53	<i>trans</i> 53	<i>cis</i> 54	<i>cis</i> 55	<i>trans</i> 56	<i>trans</i> 57	<i>trans</i> 58	<i>cis</i> 59	<i>trans</i> 59
KNF-1	k_1	0,08	0,42	0,33	0,38	0,23	0,18	0,27	0,24	0,40	0,13	0,35
	k_2	0,08	0,42	0,53	0,64	0,23	0,18	0,34	0,34	0,73	0,13	0,35
	α	1,00	1,00	1,62	1,68	1,00	1,00	1,00	1,40	1,82	1,00	1,00
	R_s	0,00	0,00	1,21	1,51	0,00	0,00	0,00	0,08	1,72	0,00	0,00
KNF-2	k_1	0,21	0,23	0,24	0,25	0,11	0,08	0,18	0,14	0,19	0,01	0,19
	k_2	0,21	0,23	0,24	0,25	0,11	0,08	0,18	0,14	0,24	0,01	0,19
	α	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,25	1,00	1,00
	R_s	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00
KNF-3	k_1	4,40	9,67	3,93	7,93	3,47	3,84	8,99	6,75	7,99	0,25	6,00
	k_2	6,74	13,12	5,67	10,99	4,68	4,89	13,69	11,72	9,84	0,25	7,44
	α	1,53	1,36	1,44	1,38	1,35	1,27	1,52	1,73	1,23	1,00	1,24
	R_s	2,66	1,97	2,25	1,73	1,88	1,53	2,71	3,35	1,36	0,00	1,38

KNF-1-Chiral Art Amylose SA, **KNF-2**-Chiral Art Cellulose SB, **KNF-3**-Chiral Art Cellulose SC.

§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Anđela Buljan

Datum i mjesto rođenja: 12. svibnja, 1993., Sinj, Republika Hrvatska

Email: Andjela.Buljan@irb.hr

Obrazovanje:

2000. – 2008.	Osnovna škola Marka Marulića u Sinju
2008. – 2012.	Gimnazija Dinka Šimunovića u Sinju
2012. – 2015.	Preddiplomski studij kemije na Kemijsko-tehnološkom fakultetu u Splitu, Sveučilišta U Splitu
2015. – 2018.	Diplomski studij kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu, Sveučilišta u Zagrebu

Radno iskustvo:

5/2018. – danas	suradničko radno mjesto 1. vrste asistent na projektu <i>Bioprospecting Jadranskog mora</i> , Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Laboratorij za kiralne tehnologije
-----------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

▪ *Neposredno vodstvo diplomskih radova*

- 1) Totalna sinteza (\pm)-halogeniranih derivata marinoaziridina (diplomandica: Marija Renić)
- 2) Priprava i odvajanje enantiomera 2-kinolinonskih epoksida uz regioselektivno otvaranje prstena (diplomandica: Paola Sinković)

▪ *Usavršavanje u međunarodnim institucijama:*

1/10/2019 – 1/11/2019	Sveučilište u Beču, Institut za organsku katalizu (prof. C. Hultzsch)
21/9/2022 – 21/10/2022	Université d'Orléans. <i>Institut de Chimie Organique et Analytique</i> (prof. dr. sc. Arnaud Tatibouët)

Stipendije i nagrade:

2019. dobitnica stipendije Sveučilišta u Zagrebu za jednomjesečni istraživački boravak na Sveučilištu u Beču

2022. dobitnica stipendije za sufinanciranje kratkoročnog boravka u znanstvenim institucijama Republike Francuske

2022. dobitnica EuChemS22 novčane nagrade

Znanstvene publikacije:

1. **A. Buljan**, M. Roje, *Application of Green Chiral Chromatography in Enantioseparation of Newly Synthesized Racemic Marinoepoxides. Marine Drugs*, 20 (8), 530, 19 doi:10.3390/md20080530.
2. **A. Buljan**, A. Knežević, I. Dokli, A. Lesac, *Synthesis and Mesomorphic Properties of Novel Bent-shaped Naphthyl Diketones. Croatica chemica acta*, 2 (2019) 3541, doi:10.5562/cca3541.
3. A. Knežević, A. M. Sapunar, **A. Buljan**, I. Dokli, Z. Hameršak, D. Kontrec, A. Lesac, A. *Fine-tuning effect of p–p interactions on the stability of the NTB phase. Soft matter* 14 (2015) 8466–8474 doi:10.1039/c8sm01569d.

Postersko priopćenje:

1. **A. Buljan**, M. Roje, Totalna sinteza i razdvajanje enantiomera (\pm)-marinoaziridina B. // 8EuChemS22, Lisbon, Portugal, 2022. str. 1–1 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).
2. **A. Buljan**, M. Renić, Marija, M. Roje, Sinteza i razdvajanje enantiomera halogeniranih derivata marinoaziridina. // XII European Conference on Marine Natural Products Galway, Irska, 2021. (poster, međunarodna recenzija, ostalo).
3. **A. Buljan**, P. Sinković, M. Roje, Synthesis and enantioseparation (\pm)-marinoaziridine precursors. // 27th Croatian Meeting of Chemists and Chemical engineers and 5th Symposium Vladimir Prelog: Book of Abstracts / Marković, Dean; Meštrović, Ernest; Namjesnik, Daniel; Tomašić, Vesna (ur.). Zagreb: Croatian Chemical Society, 2021. Str. 161–161 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).
4. **A. Buljan**, I. Dokli, M. Roje, Asimetrična sinteza marinoaziridina i njegovih derivata s potencijalnim biološkim učinkom. // Knjiga sažetaka / K. Kumerički, A. Lukić, D. Bucković, I. Primožič, Z. Drmač, K. Pikelj, (ur.). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu,

Prirodoslovno-matematički fakultet, 2019. str. 30–30 (poster, domaća recenzija, sažetak, znanstveni).

5. **A. Buljan**, I. Dokli, M. Roje, Mikrovalna sinteza 2(1*H*)-kinolona nasuprot klasičnoj sintezi. // *Book of Abstracts /26th Croatian Meeting of Chemists and Chemical engineers and 4th Symposium Vladimir Prelog, Šibenik, Hrvatska, 2019. Str. 62–62* (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).