

Priprava i karakterizacija kiralnih derivata kinuklidin-3-ola

Brekalo, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:217:489898>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Iva Brekalo

Priprava i karakterizacija kiralnih derivata kinuklidin-3-ola

Diplomski rad

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

Zagreb, 2020. godina

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

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom Aktivnošću i *in silico* usmjeren dizajn malih bioaktivnih molekula
(IP-2016-06-03775)

Zahvale

Zahvaljujem prof. dr. sc Ines Primožič na pruženoj prilici, savjetima te ukazanom povjerenju sudjelovanju na projektu i izradi diplomskoga rada na Zavodu za organsku kemiju.

Zahvaljujem asistentici Almi Ramić na vodstvu tijekom eksperimentalnog dijela te korisnom dobivenom znanju, uputama i usmjerenju i ugodnom radnom okruženju.

Zahvaljujem se djelatnicima Zavoda za organsku kemiju te ostatku djelatnika Kemijskog odsjeka na svom prenesenom znanju kroz studiranje.

Zahvaljujem se prijateljima i kolegama na podršci u svakom trenutku.

Najveća hvala mojoj obitelji bez kojih bi bilo sve puno teže te koji su mi bili potpora u svim odlukama, namjerama i željama kroz cijelo obrazovanje.

Sadržaj

SAŽETAK.....	VII
ABSTRACT	VIII
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED.....	3
2.1. Kinuklidin i njegovi derivati	3
2.2. Rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola	7
2.2.1. <i>Kinetička rezolucija katalizirana subtilizinom.....</i>	<i>8</i>
2.2.2. <i>Biorezolucija katalizirana Aspergillus melleus proteazom.....</i>	<i>10</i>
2.3. Acetilkinesteraza	12
2.3.1. <i>Inhibitori acetilkinesteraze</i>	<i>14</i>
2.4. Kvaterne amonijeve soli	15
2.4.1. <i>Menshutkinova reakcija</i>	<i>15</i>
2.4.2. <i>Kvaterne amonijeve soli derivata kinuklidina.....</i>	<i>16</i>
2.4.3. <i>Kvaternizacija kinuklidin-3-ola alkil-halogenidima</i>	<i>17</i>
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	18
3.1. Opće napomene	18
3.2. Rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola	19
3.2.1. <i>Priprava (\pm) kinuklidin-3-il-acetata</i>	<i>19</i>
3.2.2. <i>Kemijska rezolucija (\pm) kinuklidin-3-il-acetata</i>	<i>19</i>
3.2.3. <i>Priprava (R)-kinuklidin-3-ola (2)</i>	<i>20</i>
3.2.4. <i>Priprava (S)-kinuklidin-3-ola (3).....</i>	<i>20</i>
3.3. Priprava kvaternih monomera kinuklidin-3-ola.....	20
3.3.1. <i>Opći postupak kvaternizacije</i>	<i>20</i>
3.3.2. <i>Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromoktanom</i>	<i>21</i>
3.3.2.1. <i>(\pm)-1-oktil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (4).....</i>	<i>21</i>
3.3.2.2. <i>(R)-1-oktil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (5).....</i>	<i>21</i>
3.3.2.3. <i>(S)-1-oktil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (6).....</i>	<i>21</i>
3.3.3. <i>Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromdekanom.....</i>	<i>22</i>
3.3.3.1. <i>(\pm)-1-decil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (7)</i>	<i>22</i>
3.3.3.2. <i>(R)-1-decil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (8).....</i>	<i>22</i>
3.3.3.3. <i>(S)-1-decil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (9)</i>	<i>22</i>
3.3.4. <i>Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom</i>	<i>23</i>

3.3.4.1.	(±)-1-dodecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (10).....	23
3.3.4.2.	(R)-1-dodecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (11).....	23
3.3.4.3.	(S)-1-dodecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (12).....	23
3.3.5.	Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromtetradekanom.....	24
3.3.5.1.	(±)-1-tetradecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (13).....	24
3.3.5.2.	(R)-1-tetradecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (14).....	24
3.3.5.3.	(S)-1-tetradecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (15).....	24
3.3.6.	Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromheksadekanom.....	25
3.3.6.1.	(±)-1-heksadecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (16).....	25
3.3.6.2.	(R)-1-heksadecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (17).....	25
3.3.6.3.	(S)-1-heksadecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (18).....	26
3.4.	Priprava kvaternih dimera kinuklidin-3-ola.....	26
3.4.1.	Opći postupak kvaternizacije.....	26
3.4.2.	Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1,8-dibromoktanom.....	27
3.4.2.1.	(±)-1,1'-(oktano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (19).....	27
3.4.2.2.	(R)-1,1'-(oktano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (20).....	27
3.4.2.3.	(S)-1,1'-(oktano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (21).....	27
3.4.3.	Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1,10-dibromdekanom.....	28
3.4.3.1.	(±)-1,1'-(dekano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (22).....	28
3.4.3.2.	(R)-1,1'-(dekano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (23).....	28
3.4.3.3.	(S)-1,1'-(dekano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (24).....	28
§ 4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	29
4.1.	Uvod.....	29
4.2.	Rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola.....	30
4.2.1.	Priprava (±)- kinuklidin-3-il-acetata.....	30
4.2.2.	Kemijska rezolucija (±)- kinuklidin-3-il-acetata.....	31
4.3.	Priprava kvaternih monomera kinuklidin-3-ola.....	33
4.4.	Priprava kvaternih dimera kinuklidin-3-ola.....	34
4.5.	FIZIKALNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA.....	35
4.6.	SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA.....	38
4.6.1.	IR spektroskopija.....	38
4.6.2.	NMR spektroskopija.....	38
§ 5.	ZAKLJUČAK.....	41
§ 6.	POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	42
§ 7.	LITERATURNI IZVORI.....	43
§ 8.	DODATAK.....	IX

8.1. ^1H I ^{13}C (DEPT Q) NMR SPEKTRI.....	ix
8.2. 2D NMR SPEKTRI.....	xxx
8.3. IR SPEKTRI.....	xxxi
§ 9. ŽIVOTOPIS	xL



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

Priprava i karakterizacija kiralnih derivata kinuklidin-3-ola

Iva Brekalo

U okviru ovog rada opisana je rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola pomoću D- i L-vinske kiseline te priprava njegovih racemičnih i enantiomerno čistih kvaternih soli. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola provodila se uz pomoć alkil-halogenida različite duljine ugljikovodičnog lanca i to C8-C16 za sintezu monomera (petnaest spojeva) te C8-C10 za sintezu dimera (šest spojeva). Identifikacija spojeva provedena je klasičnim analitičkim postupcima koji uključuju infracrvenu spektroskopiju i 1D i 2D spektroskopiju NMR. Čistoća dobivenih spojeva kontrolirana je tankoslojnom kromatografijom (TSK), a enantiomerna čistoća mjerenjem optičkog zakretanja.

(50 stranica, 19 slika, 3 tablica, 33 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

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

Ključne riječi: alkil-halogenid, enantiomeri, kinuklidin-3-ol, kvaterne amonijeve soli, rezolucija

Mentor: prof. dr. sc. Ines Primožič
Neposredni voditelj: Alma Ramić, mag. chem.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Ines Primožič
 2. prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić
 3. prof. dr. sc. Biserka Prugovečki
- Zamjena: doc. dr. sc. Đani Škalamera

Datum diplomskog ispita: 25. rujna, 2020.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

Preparation and characterization of chiral quinuclidin-3-ol derivatives

Iva Brekalo

In the scope of this work, the resolution of racemic quinuclidin-3-ol using D- and L-tartaric acid and the preparation of its racemic and enantiomerically pure quaternary salts are described. Quaternization of quinuclidin-3-ol was performed using alkyl-halides of different lengths of hydrocarbon chain C8-C16 for monomer synthesis (15 compounds) and C8-C10 for dimer synthesis (6 compounds). Compound identification was performed by classical analytical methods involving infrared spectroscopy and 1D and 2D NMR spectroscopy. The purity of the obtained compounds was controlled by thin-layer chromatography (TLC), and the enantiomeric purity by measuring the optical rotation.

(50 pages, 19 figures, 3 tables, 33 references, original in Croatian)

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

Keywords: alkyl halide, enantiomers, quinuclidin-3-ol, quaternary ammonium salts, resolution

Mentor: prof. Dr. Ines Primožič, Professor
Assistant mentor: Alma Ramić, mag. chem.

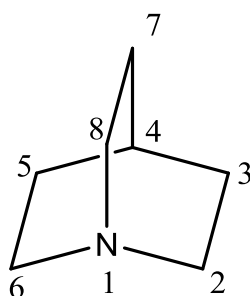
Reviewers:

1. Dr. Ines Primožič, Professor
 2. Dr. Iva Juranović Cindrić, Professor
 3. Dr. Biserka Prugovečki, Professor
- Substitute: Dr. Đani Škalamera, Assistant Professor

Date of exam: September 25, 2020

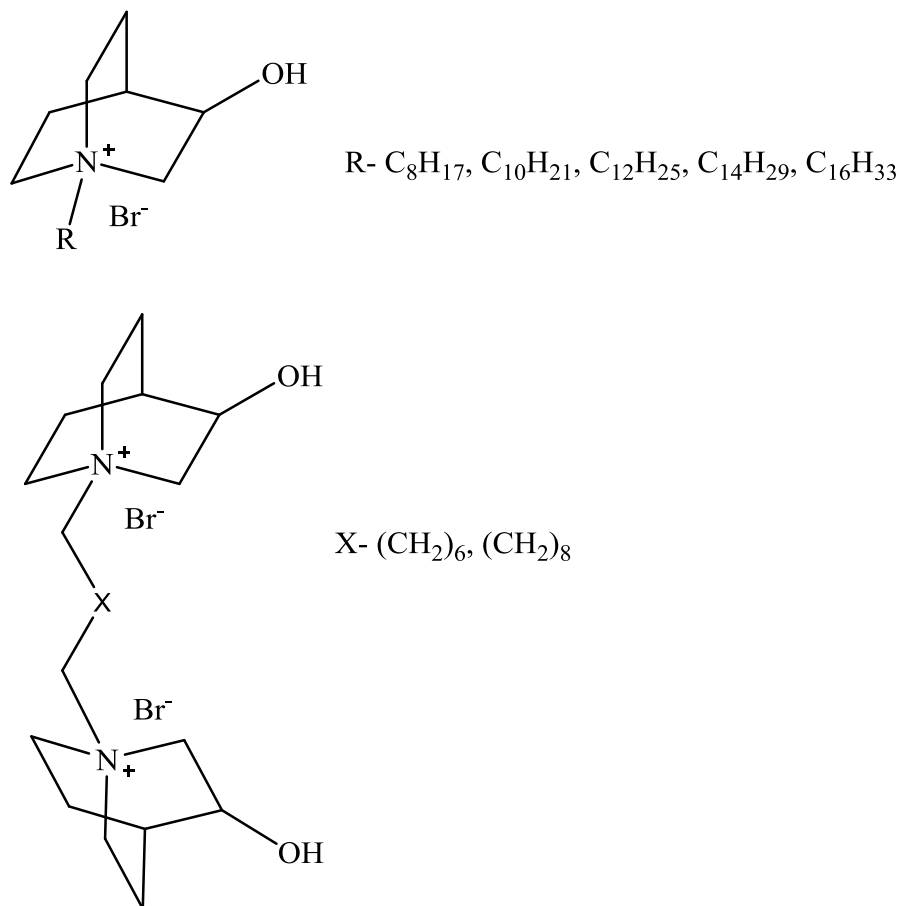
§ 1. UVOD

Kinuklidin, 1-azabicyklo[2.2.2]oktan, (slika 1.), zasićen je biciklički sustav visoke simetrije s dušikovim atomom u premoštenju¹. Prisutan je kao strukturna jedinica mnogih prirodnih i sintetskih fiziološki aktivnih spojeva.



Slika 1. Kinuklidin

Zbog sličnosti s acetilkolinom, njegovi derivati istraživani su kao antidoti pri trovanju živčanim bojnim otrovima². Kvaterni derivati kinuklidin-3-ola primjenjuju se kao surfaktanti i antibakterijski agensi, a djeluju i kao inhibitori acetilkolinesteraze^{3,4,5}. Cilj ovog diplomskog rada bila je rezolucija racemičnog Q-3-ola pomoću D- i L-vinske kiseline te priprava njegovih racemičnih i enantiomerno čistih kvaternih soli. Za kvaternizaciju kinuklidinskog dušika koristili su se alkil-halogenidi različite duljine ugljikovodičnog lanca (C8-C16), (Slika 2.). Struktura dobivenih spojeva ispitana je klasičnim analitičkim postupcima te infracrvenom spektroskopijom i 1D i 2D spektroskopijom NMR. Čistoća spojeva kontrolirana je tankoslojnom kromatografijom (TSK), a enantiomerna čistoća mjerenjem optičkog zakretanja.



Slika 2. Strukture sintetiziranih spojeva

§ 2. LITERATURNI PREGLED

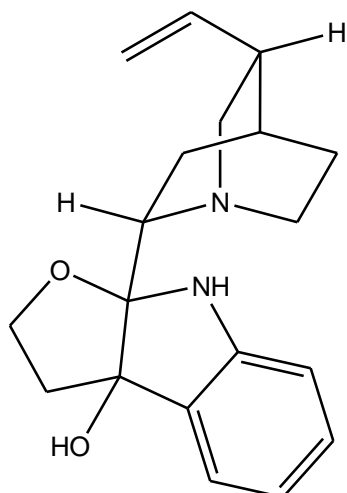
2.1. Kinuklidin i njegovi derivati

Već spomenuti kinuklidin, 1-azabiciklo (2.2.2) oktan (Slika 1.), kao i brojni njegovi derivati izoliran je iz kore drveta kininovca i ostalih biljaka roda Rubiaceae.⁶ (Slika 3.)

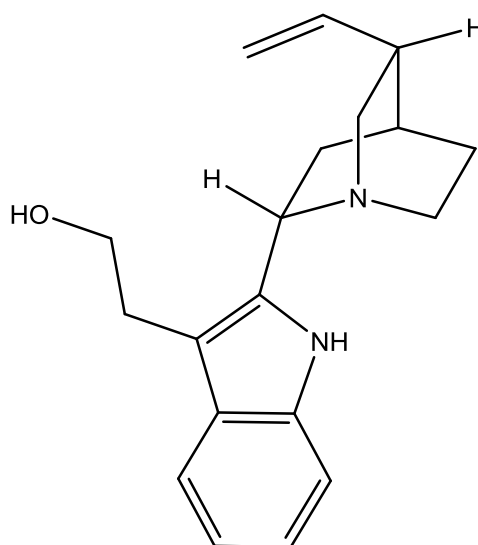


Slika 3. Kora drveta kininovca⁶

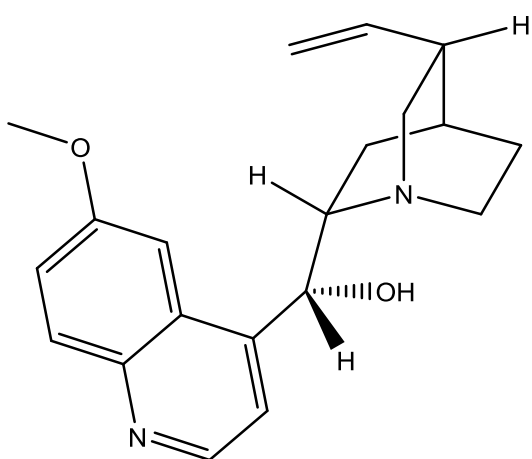
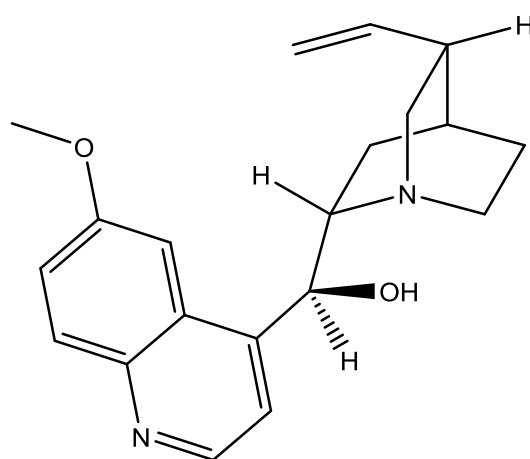
Zbog visokosimetrične strukture molekula kinuklidina izrazito je kemijski stabilna. Bazičnost kinuklidina je relativno visoka i po iznosu (pK_a 10, 58) slična je bazičnosti alifatskih amina.¹ Osim što je prisutan kao strukturna jedinica većine alkaloida⁷, kinuklidin se koristi i kao katalizator. Nekoliko poznatih derivata kinuklidina jesu kinamin, cinhonamin, kinin i njegov izomer kinidin, cinhonin te njegov izomer cinhonidin.⁸ (Slika 4.) Osim strukturne zanimljivosti većina derivata ima široku primjenu u medicini te liječenju bolesti poput malarije.⁹



Kinamin

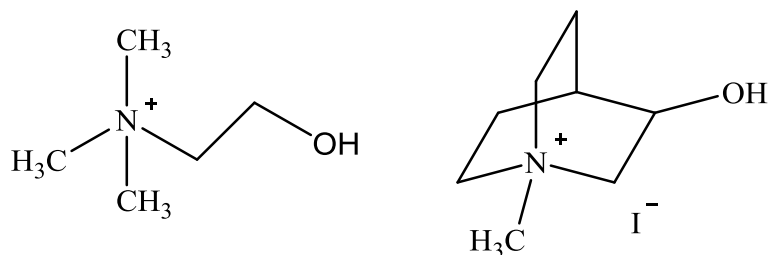


Chinchonamin

R- H(cinhonidin), OCH₃(kinidin)R- H(cinhonin), OCH₃(kinin)

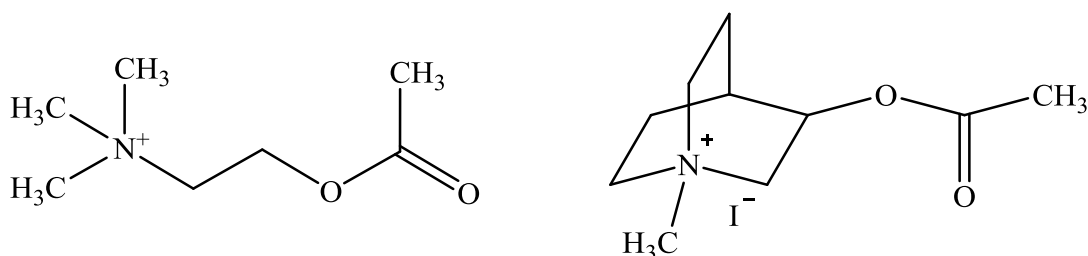
Slika 4. Neki prirodni spojevi koji sadrže kinuklidin u svojoj strukturi

Esteri kinuklidin-3-ola te njegovi *N*-kvaterni derivati pokazuju farmakološku aktivnost.¹⁰ Kvaternizirani kinuklidin-3-ol može se promatrati kao biciklički analog kolina¹¹ (Slika 5.).



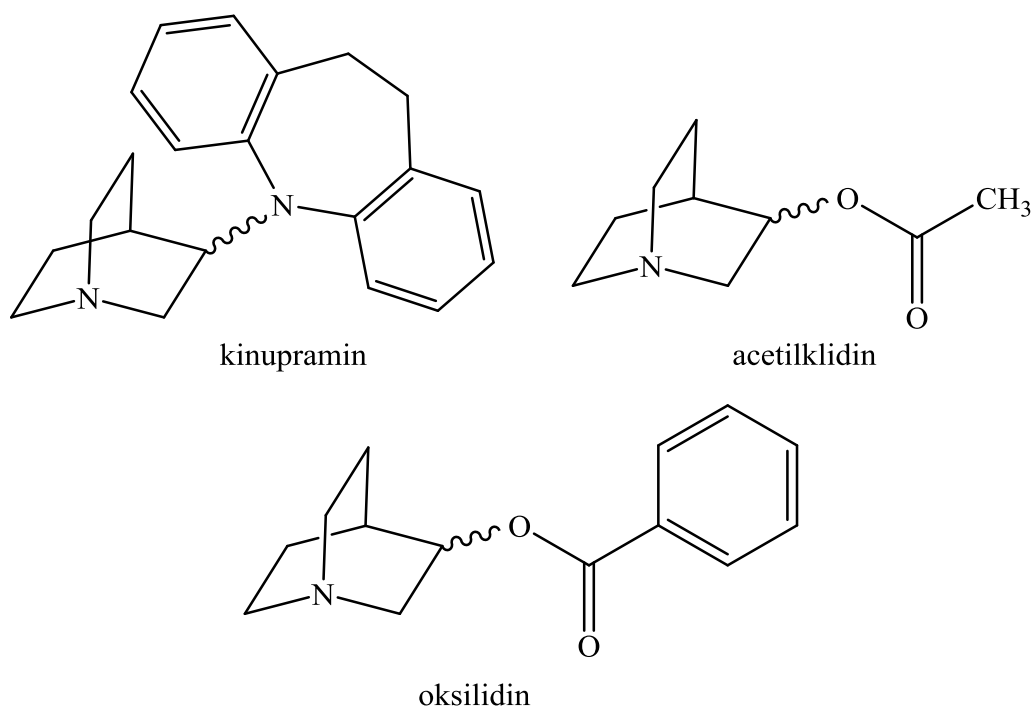
Slika 5. a) kolin b) 3-hidroksi-1-metilkinuklidinijev jodid

S druge strane esteri kinuklidin-3-ola mogu promatrati kao biciklički analozi acetilkolina (slika 6.).



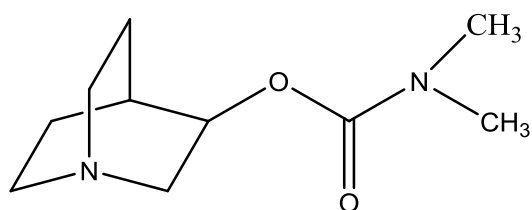
Slika 6. a) acetilkolin b) 3-acetoksi-1-metilkinuklidinijev jodid

Sukladno sličnošću strukture esteri kinuklidin-3-ola reagiraju s mnogim kolinergičkim receptorima. Mnogi esteri kinuklidina priznati su kao terapeutici. Najpoznatiji terapeutici su kinupramin za liječenje depresije, acetiklidin za smanjenje očnog tlaka, kinuklidin-3-il-benzilat pri liječenju neuroze¹¹ (slika 7.).

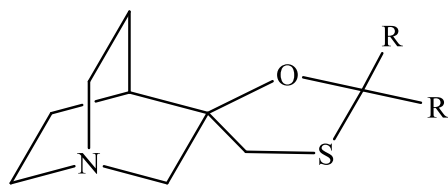


Slika 7. Esterski derivati kinuklidina

Osim estera i kvaternih soli kinuklidina izniman biološki značaj pokazali su njegovi karbamati. Najviše istraživani *N,N*-dimetilkarbamat kinuklidin-3-ol (slika 8.), pokazao se kao inhibitor acetilkolinesteraze u organizmu.¹²

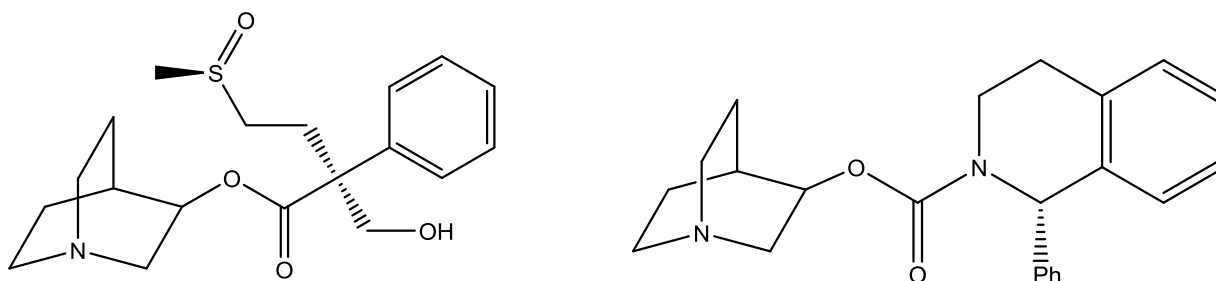
Slika 8. Struktura *N,N*-dimetilkarbamata kinuklidin-3-ola

Na slici 9. prikazana je opća struktura spiro-1,3-oksa tiolan-5,3- kinuklidina također poznatog derivata kinuklidina. Ovisno o supstytutentima navedeni spojevi koriste se za različite metode liječenja bolesti središnjeg živčanog sustava.¹³



Slika 9. Opća formula spiro derivata kinuklidina

(R)-kinuklidin-3-ol strukturna je jedinica brojnih farmaceutski aktivnih tvari. Neke od njih su Solifenacin koji se koristi kod prekomjerno aktivnog mokraćnog mjehura¹⁴ te Revatropat za liječenje astme¹⁵ (Slika 10.).



Slika 10. a) struktura Revatropata b) struktura Solifenacina

2.2. Rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola

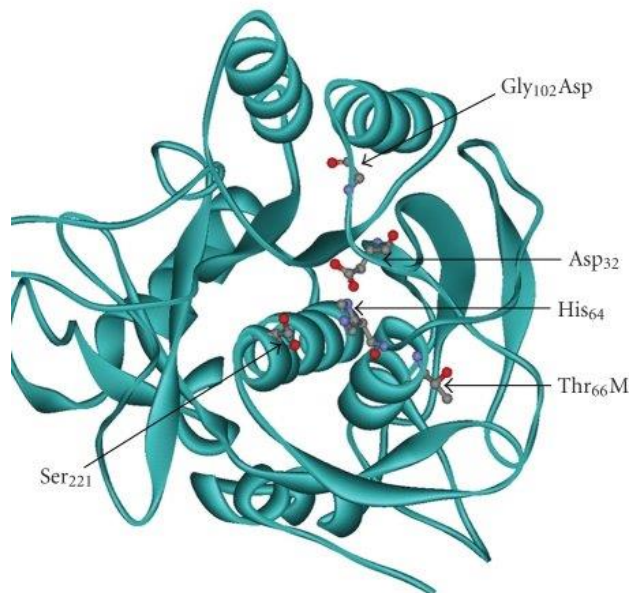
Od druge polovice 20.stoljeća pa do danas otkrivena je nekolicina načina rezolucije kinuklidin-3-ola. Biološki aktivni derivati kinuklidin-3-ola sadrže kiralne centre pa je često poželjno da budu enantiomerno čisti kako bi se poboljšala specifičnost i smanjile nuspojave.¹⁶

S obzirom na to da enantiomeri kinuklidin-3-ola pokazuju različitu biološku aktivnost potrebno je osmisliti industrijski što bolji i prihvatljiviji postupak rezolucije racemičnog kinuklidin-3-ola.¹⁷

Osim rezolucije racemičnog kinuklidin-3-ola pomoću D- i L- vinske kiseline opisane u poglavlju 3.2 često istraživani način rezolucije je uz pomoć različitih enzima. Neki od do najuspješnijih postupaka su kinetička rezolucija katalizirana subtilizinom i biorezolucija katalizirana *Aspergillus melleus* proteazom.

2.2.1. Kinetička rezolucija katalizirana subtilizinom

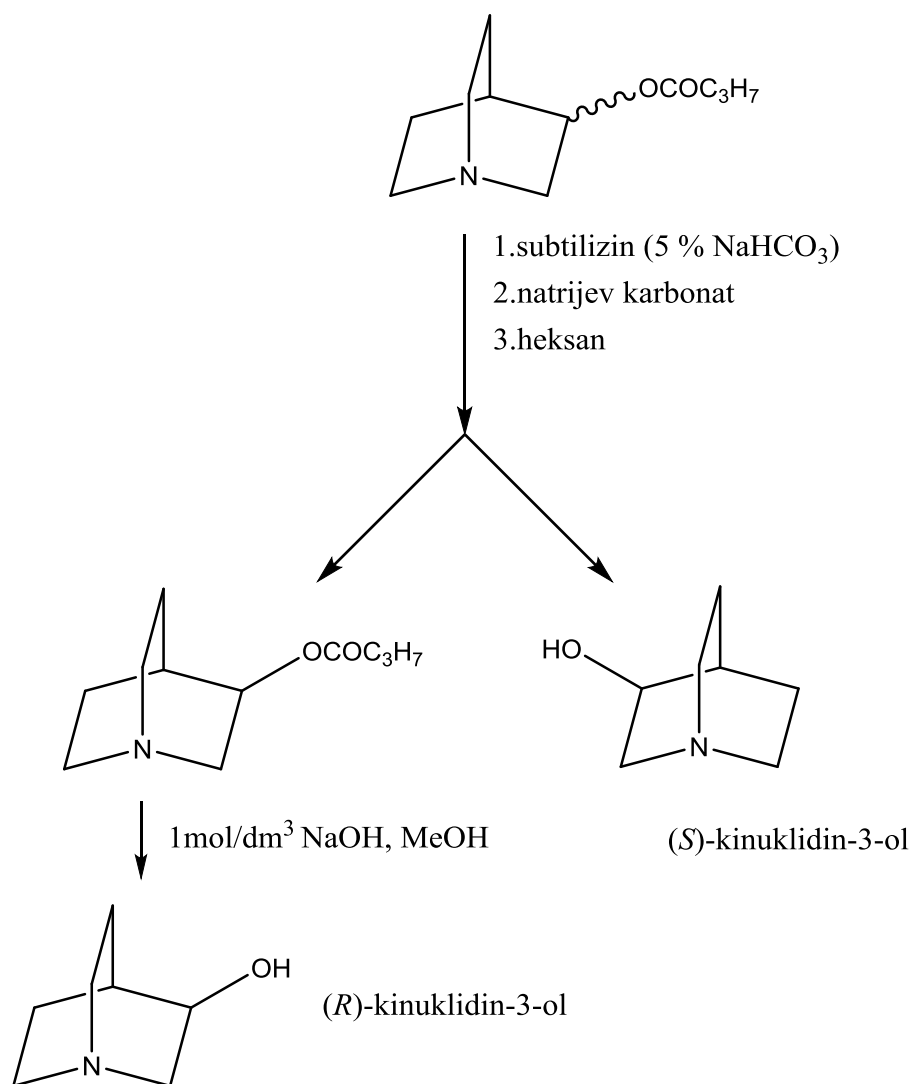
Subtilizin je važan industrijski enzim koji služi kao model u razumijevanju kinetike mnogih organskih reakcija (Slika 11.).



Slika 11. 3D struktura subtilizina s istaknutim aminokiselinama važnim za njegovu aktivnost¹⁸

1993. godine D.C.Muchmore¹⁶ ispitaio je mogućnost rezolucije kinuklidin-3-ol selektivnom enzimskom hidrolizom estera sa subtilizin proteazom te odvajanje željenog enantiomera ili njegovog estera. Smjesa (*R*) i (*S*)-kinuklidin-3-ola reagira sa suviškom anhidrida butanske kiseline te nastane esterska sol koja se potom katalitički hidrolizira subtilizinom u lagano bazičnoj otopini (5 % NaHCO₃). Hidroliza je enantioselektivna za (*S*)-enantiomer što rezultira obogaćivanjem estera (*R*)-enantiomera, te nastaje alkohol obogaćen (*S*)-enantiomerom. Neizreagirani (*R*)-ester može se odvojiti od alkohola povećanjem pH te dodavanjem natrijevog karbonata uz ekstrakciju heksanom. (*R*)-ester može se hidrolizirati uobičajenim u alkohol dodatkom baze natrijeva hidroksida i metanola. Tada se (*S*)-kinuklidin-3-ol može dobiti iz reakcijske smjese ekstrakcijom otapala s otapalom koje ima visoki koeficijent razdvajanja kinuklidin-3-ola iz vode. Postupak je prikazan na shemi 1.

Enantiomerni višak (e.v) za (*R*)-kinuklidin prema opisanom postupku iznosio je više od 90 %.



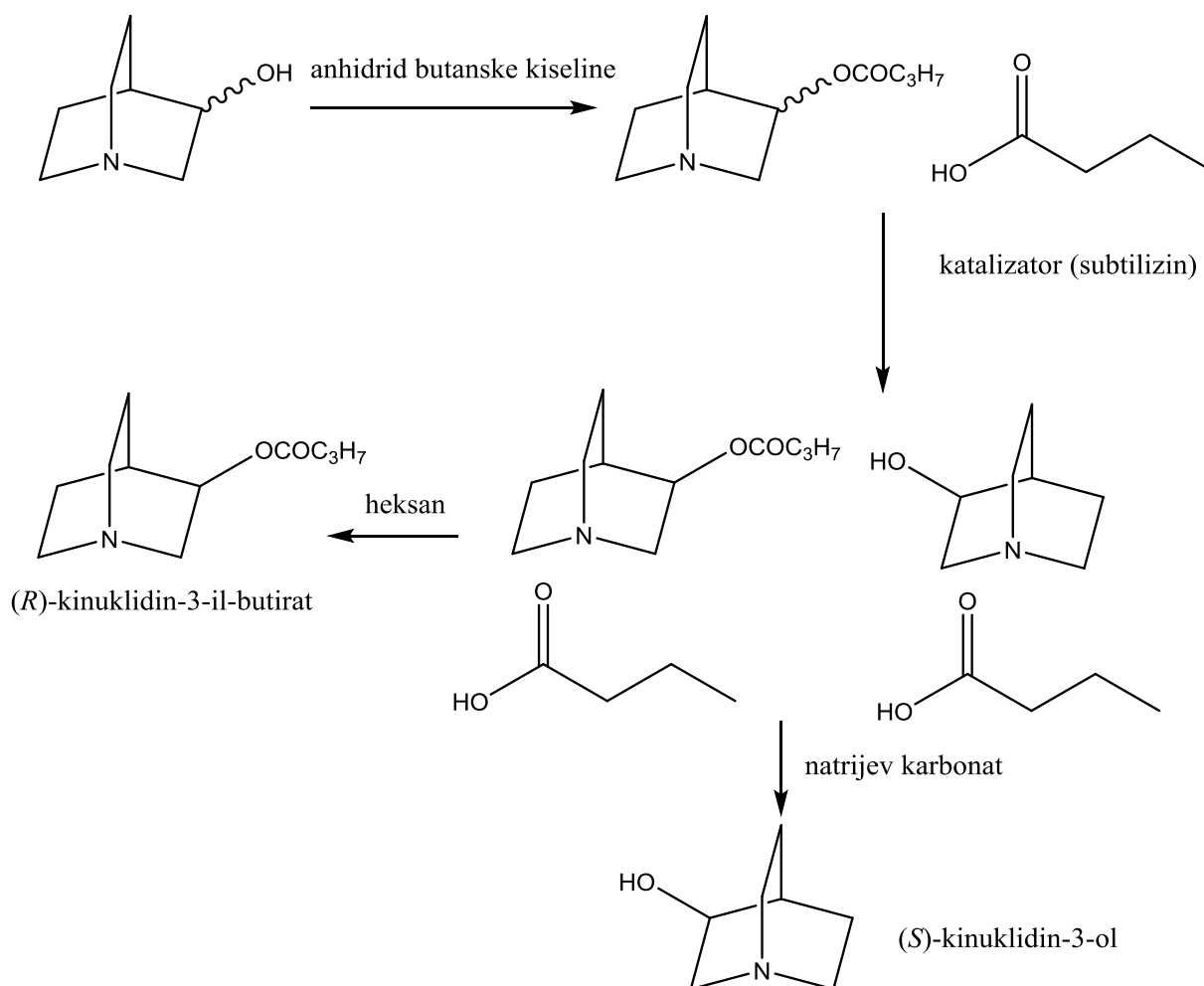
Shema 1.

U patentu¹⁹ iz 1997. godine objavljeno je da unakrsno povezani mikrokristali subtilizina kataliziraju (*S*)-selektivnu esterifikaciju (\pm)-kinuklidin-3-ola s vinil-butiratom. Patent nije zaživio budući da je iskorištenje reakcije bilo izrazito nisko.

Mnogi autori istraživali su mogućnost rezolucije pomoću ionskih tekućina.²⁰ Ionske tekućine privukle su veliku pozornost zbog svojih jedinstvenih svojstava kao što je nehlapivost. Ionska tekućina pripravljena je u jednom koraku reakcijom racemičnog kinuklidin-3-ola i anhidrida butanske kiseline s namjerom rezolucije polaznog alkohola. Cijeli postupak prikazan je na shemi 2.

S obzirom na kratko vrijeme reakcije te njeno visoko iskorištenje uporaba ionskih

tekućina u rezoluciji kinuklidin-3-ola opisan ima sve širu primjenu u znanosti.



Shema 2.

2.2.2. Biorezolucija katalizirana *Aspergillus melleus proteazom*

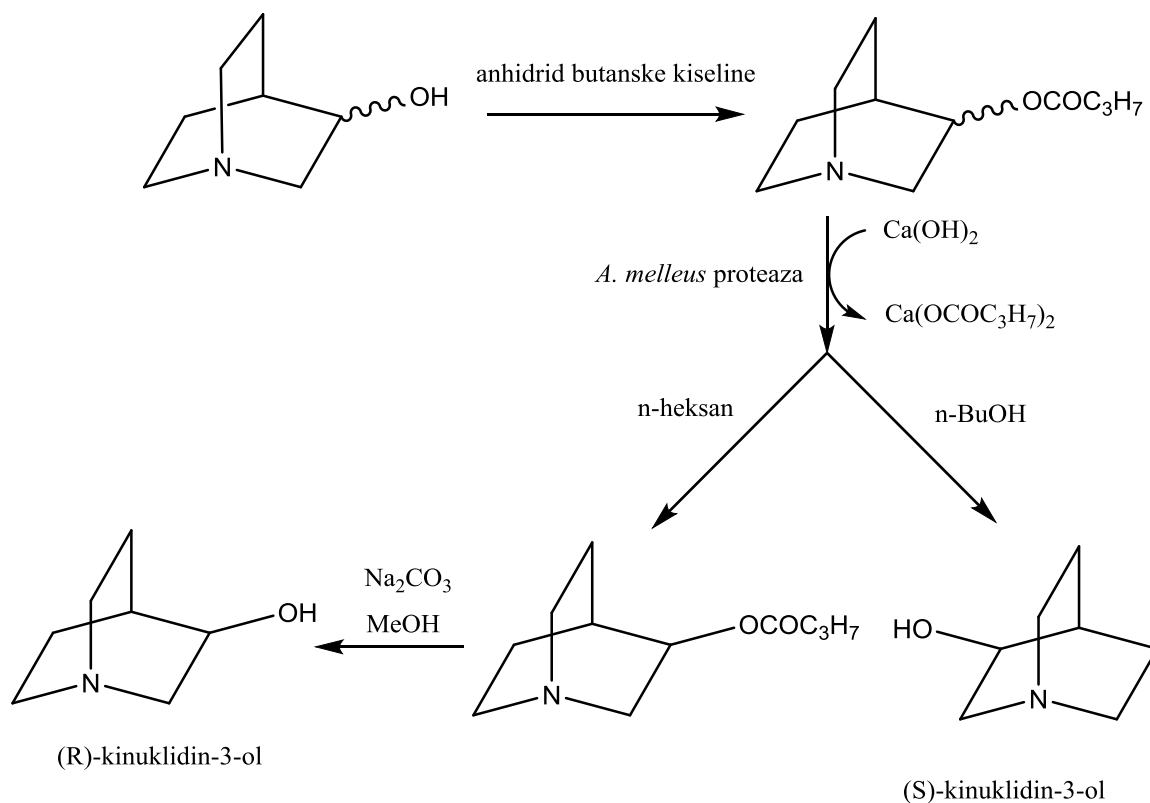
Zbog biološkog značaja (*R*)-kinuklidin-3-ola znanstvenici su htjeli stvoriti industrijski najisplativiji postupak rezolucije racemičnog kinuklidin-3-ola enzimski kataliziranom enantioselektivnom hidrolizom estera (\pm) kinuklidin-3-ola.¹⁷ Nakon pripreve (\pm)-kinuklidin-3-il butirata pomoću anhidrida butanske kiseline²¹, testirana je mogućnost hidrolize sa sedam komercijalno dostupnih hidrolaza (tri proteaze i četiri lipaze). Najboljom se pokazala *Aspergillus melleus* (*A. melleus*) proteaza (Tablica 1.). Dobiveni su produkti (*S*)-kinuklidin-3-ol i (*R*)-kinuklidin-3-il-butirat.

Tablica 1. Pregled enzima za enantioselektivnu hidrolizu (\pm)-kinuklidin-3-il butirata

Enzim	Pretvorba (%)	Ee(%) butirat	(R)- E(%) (S)-Q-3-ol	E ^e
Proteza A.melleus	44	75	95	98
Proteaza Bacillus subtilis	17	18	93	33
Proteaza A.oryzae	23	27	91	28
Lipaza Pseudomonas sp	12	6	48	3
Lipaza C.rugosa	3	/	/	/
Lipaza P. cepacia	0	/	/	/
Lipaza R. japonicus	0	/	/	/

Nakon utvrđenog najboljeg enzima za hidrolizu, htjeli su ispitati povezanost strukturne selektivnosti te su provodili hidrolizu s pripremljenim različitim (\pm) kinuklidin-3-il esterima. Ispostavilo se da je najbolje iskorištenje upravo s već spomenutim (\pm)-kinuklidin-3-il butiratom.

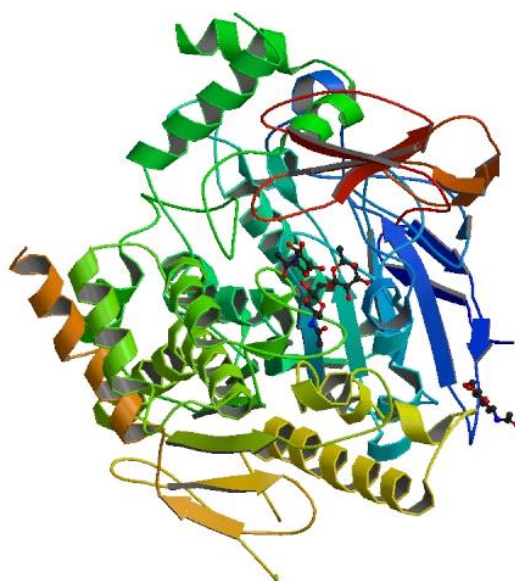
Kako bi ublažili inhibiciju uklanjanjem butanske kiseline nastale hidrolizom, testirano je nekoliko anorganskih soli. Najbolji ishod pokazala je $\text{Ca}(\text{OH})_2$, održavajući pH reakcijske smjese pri 7,5. Ekstrakcijom n-heksanom te potom hidrolizom uz pomoć Na_2CO_3 u metanolu izoliran je (R)-kinuklidin-3-ol (e.v. 96 %), (Shema 3.).



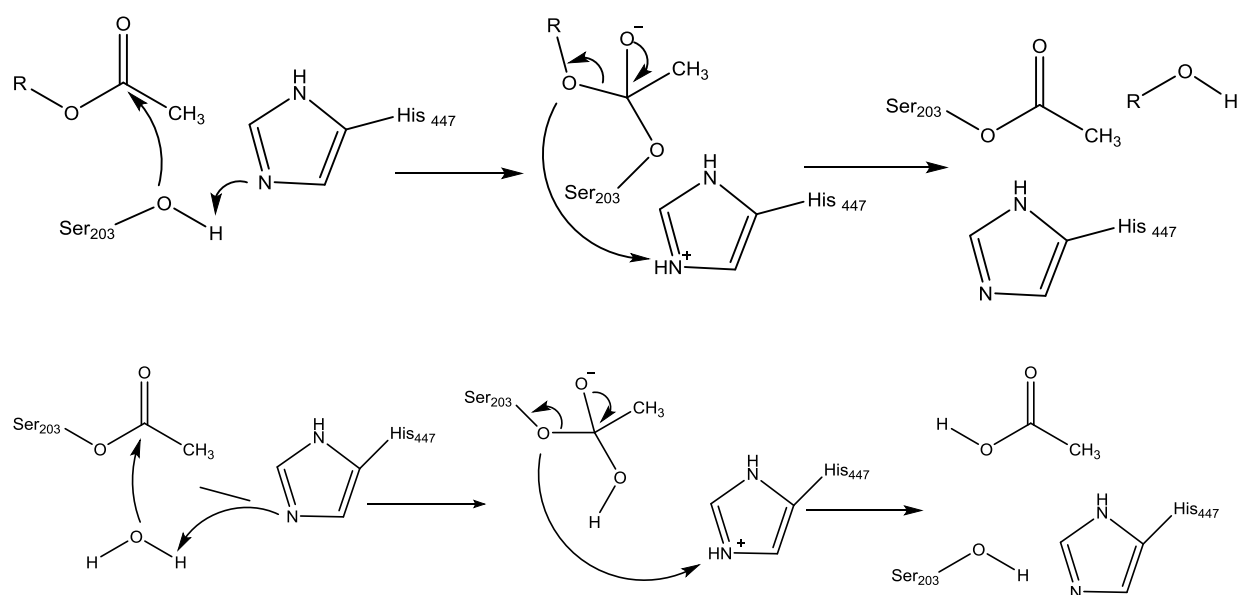
Shema 3.

2.3. Acetilkinesteraza

Acetilkinesteraza (AChE; E.C. 3.1.1.7) enzim je koji se zbog svoje značajne uloge u organizmu intenzivno istražuje u području biomedicine i toksikologije. AChE od iznimne je važnosti budući da je njezin fiziološki sustrat, acetilkolin (Slika 6.a) jedan od prijenosnika živčanih impulsa. Osnovnu strukturu AChE čini 12 β -nabranih ploča okruženih s 14 α -uzvojnica (Slika 12.).

Slika 12. 3D prikaz acetilkolinesteraze⁵

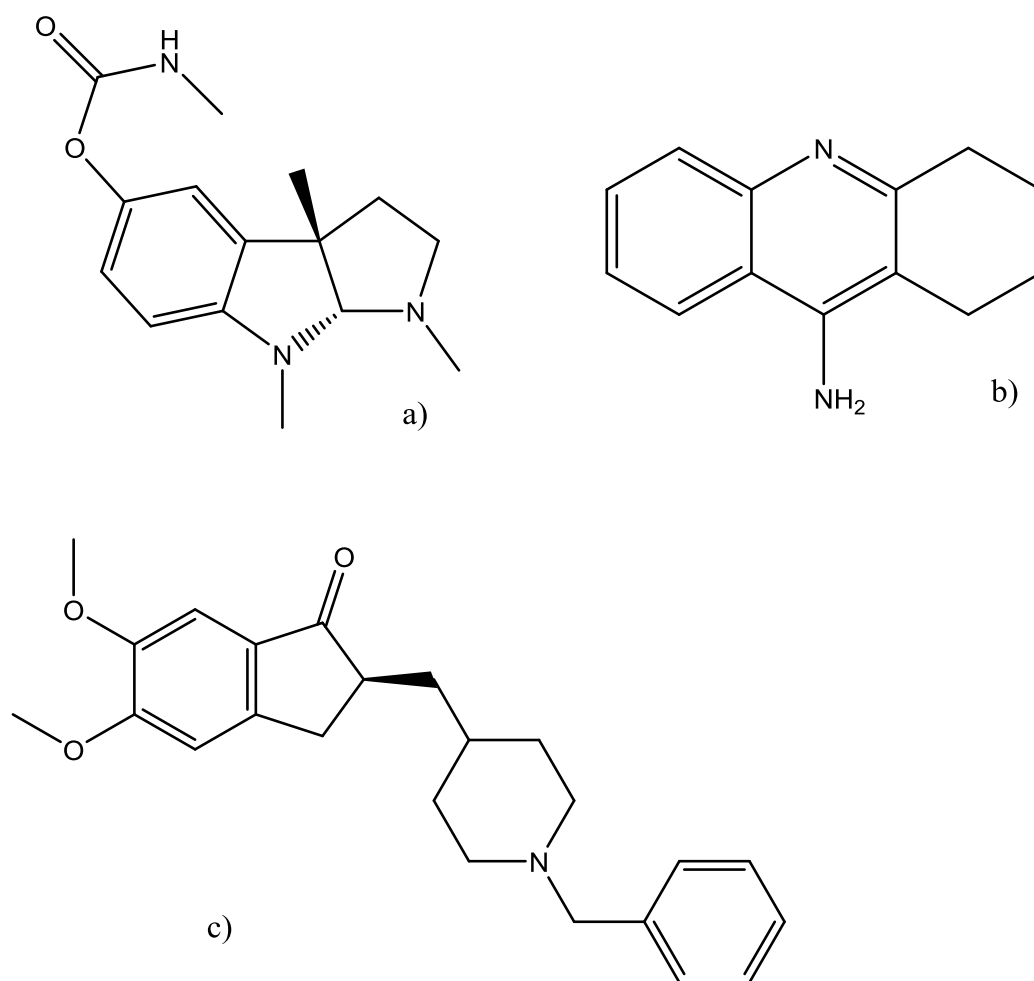
AChE razgrađuje neuroprijenosnik acetilkolin na acetat i kolin i tako smanjuje aktivnost acetilkolina. Hidroliza acetilkolina, odvija se na dnu aktivnog mjesta kroz složeni mehanizam preko katalitičke trijade²² (shema 4.).



Shema 4.

2.3.1. Inhibitori acetilkolinesteraze

Inhibicija acetilkolinesteraze ima ključnu ulogu u ublažavanju simptoma kod Alzheimerove bolesti. U mozgu pacijenata s Alzheimerovom bolesti dolazi do gubitka kolinergičkih neuroona te smanjena koncentracije acetilkolina i aktivnosti AChE.²³ Inhibitori mogu biti reverzibilni (donepezil, takrin) i ireverzibilni (fizostigmin), (Slika 13.).



Slika 13. Strukture inhibitora acetilkolinesteraze a) donepezil b) takrin c) fizostigmin

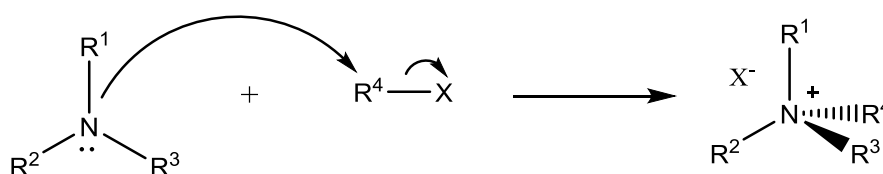
2.4. Kvaterne amonijeve soli

Kada se tercijarni amin veže na ugljikov atom, dobiveni spoj je kvaterna amonijeve sol. Za razliku od amina kvaterne amonijeve soli ne posjeduju bazna svojstva.²⁴ Kvaterne amonijeve soli imaju četiri alkilne ili arilne skupine vezane za dušikov atom. Iz opće formule $R_4N^+X^-$ vidljivo je da su spojevi kvaternih amonijevih soli dipoli. Atom dušika nosi pozitivan naboj, isto kao u jednostavnim amonijevim solima.²⁵

Biološki značaj kvaternih amonijevih soli izrazito je širokog područja antibakterijske aktivnosti što se pripisuje elektrostatskoj interakciji između pozitivnog naboja dušika i negativnog naboga nabijenoj bakterijskoj staničnoj membrani što vodi do bušenja membrane te naposljetku i smrti stanice.

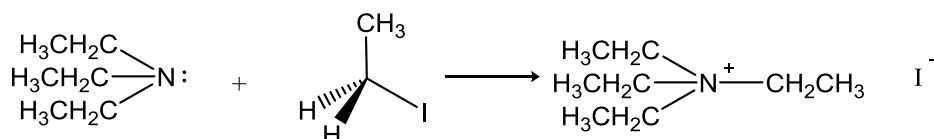
2.4.1. Menshutkinova reakcija

Menshutkinova reakcija je specifična SN2 reakcija u kojoj su reaktanti neutralni spojevi a produkti dva iona suprotnog naboja.²⁶ U organskoj kemiji Menshutkinova reakcija tercijarni amin u SN2 reakciji s alkil-halogenidom daje kvaternu amonijevu sol.²⁷ (Shema 5.)



Shema 5.

Česti primjer Menshutkinove reakcije je reakcija trietilamina i etil-jodida (Shema 6.). Ona se smatra važnim primjerom za proučavanje učinka otapala na brzinu reakcije.²⁸

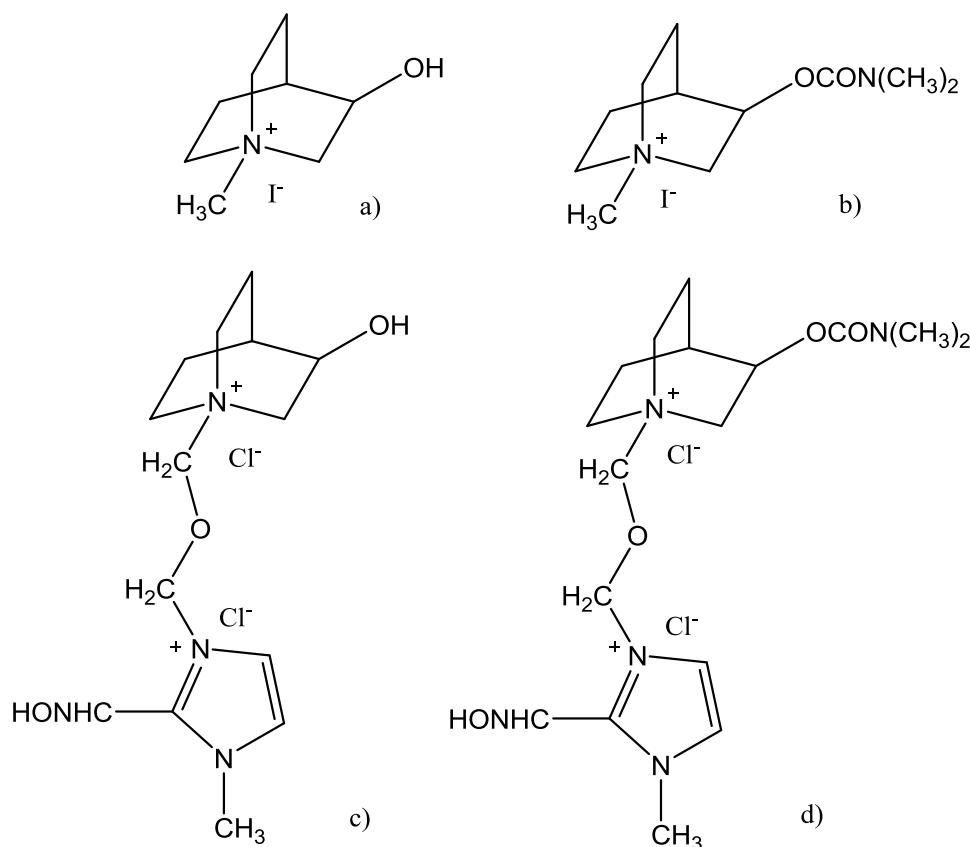


Shema 6.

2.4.2. Kvaterne amonijeve soli derivata kinuklidina

Četiri različite kvaterne amonijeve soli derivata kinuklidina (Slika 14.), ispitivane su kao potencijalni inhibitori acetilkolinesteraze (2.2.1) te kao antidoti protiv organofosfatne toksičnosti.²⁹

Izvor enzima bili su ljudski eritrociti te se ispitivanje izvodilo u 0,1 mol/dm³ fosfatnom puferu (pH 7,4) na 10 i 37 °C. Enzimska aktivnost mjerena je spektrofotometrijski. Sve četiri kvaterne amonijeve soli stabilne su u vodenom mediju te su pokazivale reverzibilnu inhibitorsku aktivnost.

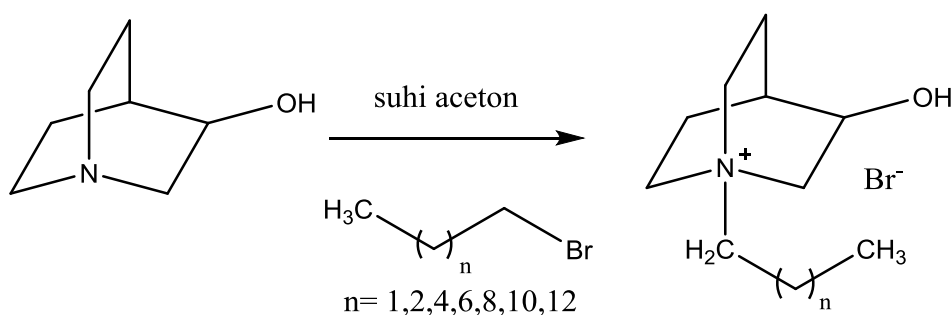


Slika 14. a) 3-hidroksi-1-metilkinuklidinijev klorid; b) 3-(*N,N*-dimetilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijev jodid; c) 3-(*N,N*-dimetilkarbamoiloksi)-1-(3-(2-hidroksiiminometil-3-metil-1-imidazolij)-2-oksapropil)-kinuklidinijev diklorid; d) 3-hidroksi-1-(3-kloro-2-oksapropil)kinuklidinijev klorid

Osim navedenih ispitivana je široka primjena kvaternih amonijevih soli derivata kinuklidina poput pripreve kiralnih polimera³⁰, kao *phase transfer* kiralni katalizatori³¹ kao potencijalni terapeutici te u brojne druge medicinske i farmaceutske svrhe.

2.4.3. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola alkil-halogenidima

Istraživane su kvaterne amonijeve soli kinuklidin-3-ola s različitom duljinom alkilnih lanaca (C3-C14) te je proučavano različito antimikrobno djelovanje s obzirom na duljinu lanca.³ Dokazano je kako duljina lanca uvelike utječe na različito antimikrobno djelovanje. Dulji lanci imali su bolju aktivnost. Sve kvaterne soli sintetizirane su u suhom acetonu s odgovarajućim lancem alkil-bromida. (Shema 7.)



Shema 7.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Svi reagensi i korištene kemikalije bile su analitičke čistoće ili prethodno pročišćavane navedenim postupcima opisanim u literaturi.

Tankoslojna kromatografija (TSK) rađena je na pločicama silikagela (TLC Silica gel 60 F₂₅₄), a spojevi su detektirani u izoliranoj atmosferi joda. Sustav otapala korišten u tankoslojnoj kromatografiji bio je 9:1 kloroform:metanol za monomere te 7:3 kloroform : metanol za dimere.

¹H NMR i ¹³C NMR spektri snimljeni su pomoću NMR spektrometra Bruket Avance II HD Ascend pri 400MHz (¹H NMR) te 100MHz (¹³C NMR) u deuteriranom metanolu ili kloroformu. Svi NMR spektri vizualizirani su u programu TopSpin. Kemijski pomaci izraženi su u ppm (parts per million) u odnosu na unutarnji standard tetrametilsilan (TMS). Signali su označeni kao s= singlet; d= dublet, t=triplet, m=multiplet. Konstante sprege označene su Hertzima. Kinuklidinski protoni označeni su brojevima prema pravilu numeriranja kinulidinskog prstena.

IR spektri snimljeni su na FTIR Perkin-Elmer Spectrum Two spektrometru, a valni brojevi izraženi su u cm⁻¹. Uzorci su pripremani u obliku KBr pastile.

Tališta dobivenih spojeva određena su uređajem Buchi Melting Point B-545 te nisu korigirana.

Optička zakretanja određena su na polarimetru Schmidt+Haensch POLARTRONIC NH8 pri sobnoj temperaturi.

Korištena je vakumska pumpa Buchi Vacuum Pump V-710 te Domel Centric 400R uređaj za centrifugu.

3.2. Rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola

3.2.1. Priprava (\pm) kinuklidin-3-il-acetata

Polazni racemični kinuklidin-3-ol (8,9 g, 0,07 mol) zagrijavan je s acetanhidridom (60 mL) na uljnoj kupelji uz refluks četiri sata. (temperatura kupelji 160 °C, a rotacija 400). Acetanhidrid u suvišku uklonjen je destilacijom pod sniženim tlakom (220 mbar, 135 °C). Dobiveni spoj neutraliziran je zasićenom otopinom kalijeva karbonata (25 mL) te ekstrahiran kloroformom (4 x 25 mL). Organski ekstrakti sušeni su 30 minuta na bezvodnom natrijevom sulfatu (Na₂SO₄). Kloroform je uparen na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom. Sirovi acetat predestilirana na vakumskoj pumpi (12 mbar) uz zagrijavanje s hitgunom (400 °C). Prvo destilira acetanhidrid, a potom (\pm)- Q-3-ac **1** (11,9 g, 97 %)

3.2.2. Kemijska rezolucija (\pm) kinuklidin-3-il-acetata

L-vinskoj kiselini (11,4 g, 0,08 mol) otopljenoj u 80 % otopini etanola (60mL) polako je dodan (\pm)-Q-3-ac . Otopina se zagrije do vrenja te se ostavi preko noći u mraku na sobnoj temperaturi. Dobiveni kristali soli profiltriraju se preko sinter lijevka te prekrizaliziraju iz 80 % otopine etanola. (60mL). Dobivena sol je (*R*)-acetoksikinuklidinijev L-tartarat. (7,94 g, 74 %)

Matičnica je sačuvana te uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Uparena matičnica zaluzena je sa zasićenom otopinom kalijeva karbonata (2,5 mL). Neutralizirana matičnica ekstrahirana je kloroformom (4 x 20 mL) te se sušila na bezvodnom natrijevom sulfatu. Kloroform je uparen na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom. Dobiveni sirovi acetat se predestilira na vakumskoj pumpi uz zagrijavanje s hitgunom (18 mbar, 400 °C) te je dobiven kinuklidin-3-il acetat.

U ekvimolarnu količinu D-vinske kiseline (3,7 g) dokapan je predestilirani kinuklidin-3-il acetat. Smjesa se zagrije do vrenja te ostavi 3 dana na sobnoj temperaturi u mraku. Dobiveni kristali su prekrizalizirani iz 80% otopine etanola (40 mL). Dobivena sol je (*S*)-3-acetoksikinuklidinijev D-tartarat (4,7 g, 95 %).

3.2.3. Priprava (*R*)-kinuklidin-3-ola (**2**)

(*R*)-3-acetoksikinuklidinijev L-tartarat (7,94 g, 0,024 mol) otopljen je u vodenoj otopini NaOH (2,5 mol/dm³, 31 mL) te je zagrijavan uz refluks na 50 °C dva sata. Otopina je uparena do suha na rotacijskom uparivaču. Dobiveni kristali prebace se u tuljac od filter papira te umetnu u Soxhletov uređaj za kontinuiranu ekstrakciju. Ekstrakcija se vrši benzenom (170 mL) 24 sata pri temperaturi od 115 °C. Benzen je uparen na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom. Dobiveni su kristali (*R*)-Q-3-ola, **2** (2,8g, 89 %)

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ / cm⁻¹ : 3600-2400 (O-H), 2947,2872 (C-H), 1045 (C-N)

3.2.4. Priprava (*S*)-kinuklidin-3-ola (**3**)

(*S*)-3-kinuklidinijev D-tartarat (4,71g, 0,0173 mol) otopljen je u vodenoj otopini NaOH (2,5 mol/dm³, 23 mL) te je zagrijavan uz refluks na 50 °C dva sata. Otopina je uparena do suha na rotacijskom uparivaču. Dobiveni kristali prebace se u tuljac od filter papira te umetnu u Soxhletov uređaj za kontinuiranu ekstrakciju. Ekstrakcija se vrši benzenom (130 mL) 24 sata pri temperaturi od 115 °C. Benzen je uparen na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom. Dobiveni su kristali (*S*)-Q-3-ola, **3** (1,7 g, 46%)

IR spektar sadrži identične vrpce kao spoj **2**.

3.3. Priprava kvaternih monomera kinuklidin-3-ola

3.3.1. Opći postupak kvaternizacije

Kinuklidin-3-ol se otopi u minimalnoj količini suhog acetona (3-5 mL) te se stavi na miješalicu pri sobnoj temperaturi. Dokapa se određena količina odgovarajućeg alkil-bromida (C8-C16) te se reakcijska smjesa ostavi na miješalici pri sobnoj temperaturi omotana aluminijskom folijom 24 sata. Dobiveni talog profiltrira se preko sinter lijevka poroziteta 4 te se ispere višestruko suhim eterom te suši na vakumu 30 minuta. Ako se se talog ne pojavi, upariti dio otapala te ostaviti da kristalizira talog.

IR spektar svih dobivenih monomera daje karakteristične vrpce; (KBr) $\tilde{\nu}$ / cm⁻¹ : 3100-3600, 3267-maksimum (O-H), 2918,2853 (C-H), 1018 (C-N), 1115 (C-O)

3.3.2. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromoktanom

3.3.2.1. (\pm)-1-oktil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (4)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom pripremljen je spoj **4** (0,302g, 80 %). TSK, silikagel, $R_f = 0,42$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 100 - 101$ °C

^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 0,89-0,95 (3H, m, H8'), 1,28-1,43 (10H, m, H3'-H7'), 1,70-1,79 (2H, m, H5), 1,85-1,98 (2H, m, H8), 2,03-2,14 (1H, m, H2'a), 2,17-2,22 (1H, m, H2'b), 2,30-2,40 (1H, m, H4), 3,10-3,48 (7H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,67-3,75 (1H, m, H2b), 4,19-4,26 (1H, m, H3)

^{13}C NMR (400MHz, MeOD) δ / ppm: 13,04 (C8'), 17,44, 21,04, (C5, C8), 26,65 (C4), 21,68, 22, 33, 26,17, 28,81,29,07, 29,13, 29,23, 29,37,29,36, 31,67 (C2'-C7') 53,33, 54,55 (C6, C7) 63,11 (C2) 64,07 (C3)

3.3.2.2. (R)-1-oktil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (5)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom pripremljen je spoj **5** (0,3183g, 88 %). TSK, silikagel, $R_f = 0,42$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 100 - 102$ °C

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **4**.

3.3.2.3. (S)-1-oktil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (6)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom pripremljen je spoj **6** (0,138, 82%). TSK, silikagel, $R_f = 0,42$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 100 - 101$ °C

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **4**.

3.3.3. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromdekanom

3.3.3.1. (\pm)-1-decil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (7)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecilbromidom pripremljen je spoj **7** (0,120 g, 53%). TSK, silikagel, $R_f = 0,42$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 158 - 160^\circ\text{C}$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 0,89-0,95 (3H, m, H10'), 1,28-1,43 (14H, m, H3'-H9'), 1,70-1,79 (2H, m, H5), 1,85-1,98 (2H, m, H8), 2,03-2,14 (1H, m, H2'a), 2,17-2,22 (1H, m, H2'b), 2,30-2,40 (1H, m, H4), 3,10-3,48 (7H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,67-3,75 (1H, m, H2b), 4,19-4,26 (1H, m, H3)

$^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 13,04 (C10'), 17,44, 21,04, (C5, C8), 26,65 (C4), 21,68, 22,33, 26,17, 28,81, 29,07, 29,13, 29,23, 29,37, 29,36, 31,67 (C2'-C9') 53,33, 54,55 (C6, C7) 63,11 (C2) 64,07 (C3)

3.3.3.2. (*R*)-1-decil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (8)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecilbromidom pripremljen je spoj **8** (0,260 g, 92%). TSK, silikagel, $R_f = 0,42$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 158 - 160^\circ\text{C}$

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **7**.

3.3.3.3. (*S*)-1-decil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (9)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecilbromidom pripremljen je spoj **9** (0,102 g, 75%). TSK, silikagel, $R_f = 0,42$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 158 - 160^\circ\text{C}$

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **7**.

3.3.4. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom

3.3.4.1. (\pm)-1-dodecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (10)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom pripremljen je spoj **10** (0,396 g, 67%). TSK, silikagel, $R_f = 0,43$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 213 - 215$ °C

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 0.85-0.92 (3H, m, H12'), 1.20-1.37 (18H, m, H3'-H11'), 1.64-1.76 (2H, m, H5), 1.82-1.94 (1H, m, H8a), 2.01-2.086 (2H, m, H2'), 2.36-2.42 (1H, m, H8b), 2.42-2.53 (1H, m, H4), 3.30-3.70 (7H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3.99-4.07 (1H, m, H2b), 4.39-4.44 (1H, m, H3), 5.25-5.23 (1H, d, OH)

$^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 13.03 (C12'), 17.12, 21.04, (C5, C8), 26.65 (C4), 21.69, 22.33, 26.17, 28.81, 29.06, 29.13, 29.22, 29.32, 31.66 (C2'-C11') 53.34, 54.54 (C6, C7) 63.11 (C2) 64.07 (C3)

3.3.4.2. (*R*)-1-dodecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (11)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom pripremljen je spoj **11** (0,371 g, 84%). TSK, silikagel, $R_f = 0,43$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 213 - 216$ °C

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **10**.

3.3.4.3 (*S*)-1-dodecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (12)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-dodecylbromidom pripremljen je spoj **12** (0,297 g, 80%). TSK, silikagel, $R_f = 0,43$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 213 - 216$ °C

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **10**.

3.3.5. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromtetradekanom

3.3.5.1. (\pm)-1-tetradecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (13)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-bromtetradekanom pripremljen je spoj **13** (0,541 g, 85%). TSK, silikagel, $R_f = 0,43$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 215 - 218^\circ\text{C}$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 0,90-0,94 (3H, m, H14'), 1,27-1,39 (22H, m, H3'-H13'), 1,71-1,79 (2H, m, H5), 1,84-1,98 (2H, m, H8), 2,04-2,14 (1H, m, H2'a), 2,18-2,21 (1H, m, H2'b), 2,30-2,39 (1H, m, H4), 3,10-3,47 (7H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,67-3,75 (1H, m, H2b), 4,12-4,25 (1H, m, H3)

$^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 13,04 (C14'), 17,44, 21,04, (C5, C8), 26,65 (C4), 21,68, 22,33, 26,17, 28,81, 29,07, 29,13, 29,23, 29,32, 29,36, 31,66 (C2'-C13') 53,34, 54,54 (C6, C7) 63,11 (C2) 64,07 (C3)

3.3.5.2. (*R*)-1-tetradecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (14)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-bromtetradekanom pripremljen je spoj **14** (0,416 g, 58%). TSK, silikagel, $R_f = 0,43$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 215 - 218^\circ\text{C}$

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **13**.

3.3.5.3. (*S*)-1-tetradecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (15)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-bromtetradekanom pripremljen je spoj **15** (0,246 g, 77%). TSK, silikagel, $R_f = 0,43$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 215 - 218^\circ\text{C}$

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **13**.

3.3.6. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1-bromheksadekanom

3.3.6.1. (\pm)-1-heksadecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (16)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-bromheksadekanom pripremljen je spoj **16** (0,593 g, 88%). TSK, silikagel, $R_f = 0,44$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 218 - 220$ °C

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 0,85-0,92 (3H, m, H16'), 1,20-1,37 (26H, m, H3'-H15'), 1,64-1,76 (2H, m, H5), 1,82-1,94 (1H, m, H8a), 2,01-2,086 (2H, m, H2'), 2,36-2,42 (1H, m, H8b), 2,42-2,53 (1H, m, H4), 3,30-3,70 (7H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,99-4,07 (1H, m, H2b), 4,39-4,44 (1H, m, H3), 5,25-5,23 (1H, d, OH)

$^{13}\text{C NMR}$ (400MHz, MeOD) δ / ppm: 13,04 (C16') 17,44, 21,04 (C5,C8), 26,65 (C4), 21,68, 22,33, 26,18, 28,82, 29,07, 29,14, 29,23, 29,38, 31,67 (C2'-C15') 53,34, 54,54 (C6, C7) 63,12 (C3) 64,07 (C2)

3.3.6.2. (R)-1-heksadecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (17)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-bromheksadekanom pripremljen je spoj **17** (0,454 g, 88%). TSK, silikagel, $R_f = 0,44$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 218 - 220$ °C

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 0,89-0,96 (3H, m, H16'), 1,25-1,43 (26H, m, H3'-H15'), 1,70-1,80 (2H, m, H5), 1,85-1,98 (2H, m, H8), 2,03-2,14 (1H, m, H2'a), 2,17-2,22 (1H, m, H2'b), 2,30-2,40 (1H, m, H4), 3,10-3,48 (7H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,67-3,75 (1H, m, H2b), 4,19-4,26 (1H, m, H3)

$^{13}\text{C NMR}$ (400MHz, MeOD) δ / ppm: 13,04 (C16'), 17,44, 21,04, (C5,C8), 26,65 (C4), 21,68, 22,33, 26,17, 28,81, 29,07, 29,13, 29,23, 29,37, 29,36, 31,67 (C2'-C13') 53,33, 54,55 (C6, C7) 63,11 (C2) 64,07 (C3)

3.3.6.3. (S)-1-heksadecil-3-hidroksikinuklidinijev bromid (18)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1-bromheksadekanom pripremljen je spoj **18** (0,298 g, 90%). TSK, silikagel, $R_f = 0,44$, kloroform : metanol = 9 : 1; $t_r = 218 - 220$ °C

NMR spektar identičan je NMR spektru spoja **17**.

3.4. Priprava kvaternih dimera kinuklidin-3-ola

3.4.1. Opći postupak kvaternizacije

Kinuklidin-3-ol se otopi u suhom metanolu (4 mL) te se stavi na miješalicu i ohladi u ledenoj kupelji. Nakon 15 minuta što se otopina ohladila dokapa se odgovarajući alkil-dibromid u suvišku (1,477 g/ mL, 98%, $t_r = 16$ °C). Smjesa se makne iz kupelji te se postupno zagrije uz miješanje (50 °C, 500 rpm) narednih 48 h. Reakcija smjesa upari se na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom. Ulje dobiveno uparavanjem ohladi se na ledenoj kupelji te se uz miješanje dokapa mala količina suhog metanola (1-2 mL). Potom se iz ulja istiskuje talog suhim eterom. Ponoviti postupak do dobivanja najveće količine taloga. Talog se prebaci u epruvetu za centrifugiranje te se višestruko centrifugira (1 minuta, $r_{cf} = 700$, 6 °C) uz ispiranje eterom (3 x 7 mL). Dobiveni talog ostavi se u vakumiranom eksikatoru tijekom noći.

IR spektar svih dobivenih monomera daje karakteristične vrpce; (KBr) $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3600, 3320-maksimum (O-H), 2947,2861 (C-H), 1032 (C-N), 1114 (C-O)

3.4.2. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1,8-dibromoktanom

3.4.2.1. (\pm)-1,1'-(oktano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (19)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1,8-dibromoktanom pripremljen je spoj **19** (0,488 g, 92%). TSK, silikagel, $R_f = 0,40$, kloroform : metanol = 7 : 3; $t_r = 235-236^\circ\text{C}$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 1,34-1,53 (10H, m, H3'-H7'), 1,70-1,82 (4H, m, H5), 1,84-1,98 (4H, m, H8), 2,04-2,13 (2H, m, H2'a), 2,16-2,22 (1H, m, H2'b), 2,30-2,40 (1H, m, H4), 3,10-3,05 (12H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,67-3,79 (2H, m, H2b), 4,19-4,26 (2H, m, H3)

$^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 17,45, 21,04, (C5, C8), 26,65 (C4), 21,57, 21,63, 25,89, 26,03, 27,59, 28,15, 28,35, 28,59, 32,48, 33,04 (C2'-C8') 53,36, 54,56 (C6, C7) 63,11 (C2) 64,07 (C3)

3.4.2.2. (*R*)-1,1'-(oktano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (20)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1,8-dibromoktanom pripremljen je spoj **20** (0,166 g, 53%). TSK, silikagel, $R_f = 0,40$, kloroform : metanol = 7 : 3; $t_r = 235-236^\circ\text{C}$

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **19**.

3.4.2.3. (*S*)-1,1'-(oktano)bis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (21)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1,8-dibromoktanom pripremljen je spoj **21** (0,411 g, 98%). TSK, silikagel, $R_f = 0,40$, kloroform : metanol = 7 : 3; $t_r = 235-236^\circ\text{C}$

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **19**.

3.4.3. Kvaternizacija kinuklidin-3-ola s 1,10-dibromdekanom

3.4.3.1. (\pm)-1,1'-(dekanobis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (22)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1,10-dibromdekanom pripremljen je spoj **22** (0,448 g, 81%) TSK, silikagel, $R_f = 0,40$, kloroform : metanol = 7 : 3; $t_r = 240-242$ °C

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ / ppm: 1,32-1,50 (14H, m, H3'-H9"), 1,70-1,82 (4H, m, H5), 1,84-1,98 (4H, m, H8), 2,04-2,13 (2H, m, H2'a), 2,16-2,22 (1H, m, H2'b), 2,30-2,40 (1H, m, H4), 3,10-3,05 (12H, m, H2a, H6, H7, H1'), 3,67-3,79 (2H, m, H2b), 4,19-4,26 (2H, m, H3)

$^{13}\text{C NMR}$ (400MHz, MeOD) δ / ppm: 17,45, 21,05, (C5,C8), 26,67 (C4), 21,67, 26,01, 27,73, 28,36, 28,39, 28,67, 28,73, 28,89, 28,97, 29,00, 32,57, 32,60, 33,08 (C2'-C10') 53,36, 54,56 (C6, C7) 63,12 (C2) 64,07 (C3)

3.4.3.2. (R)-1,1'-(dekanobis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (23)

Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1,10-dibromdekanom pripremljen je spoj **23** (0,579 g, 95%). TSK, silikagel, $R_f = 0,40$, kloroform : metanol = 7 : 3; $t_r = 242-245$ °C

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **22**.

3.4.3.3. (S)-1,1'-(dekanobis(3-hidroksikinuklidinijev bromid) (24)

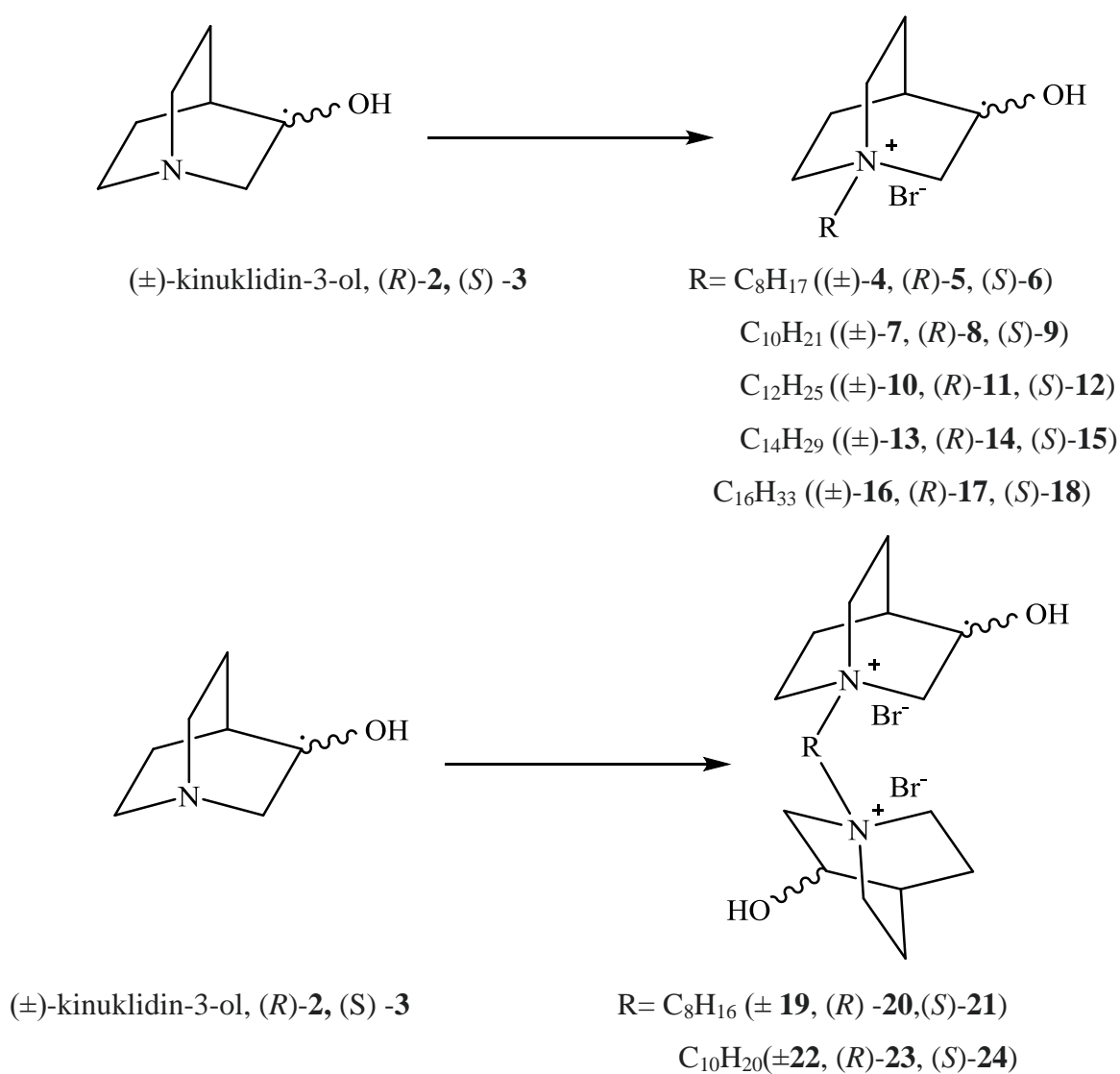
Prema opisanom postupku kvaternizacije kinuklidin-3-ola s 1,10-dibromdekanom pripremljen je spoj **24** (0,228 g, 70%). TSK, silikagel, $R_f = 0,40$, kloroform : metanol = 7 : 3; $t_r = 242-245$ °C

NMR spektar identičan je **NMR** spektru spoja **22**.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

U ovom radu opisano je dobivanje racemičnih te enantiomerno čistih kvaternih soli kinuklidin-3-ola. Nakon rezolucije, kinuklidin-3-ol je kvaterniziran se alkil-halogenidima različite duljine ugljikovodičnog lanca te su dobiveni monomeri i dimeri kvaternih soli prikazani na shemi 8.

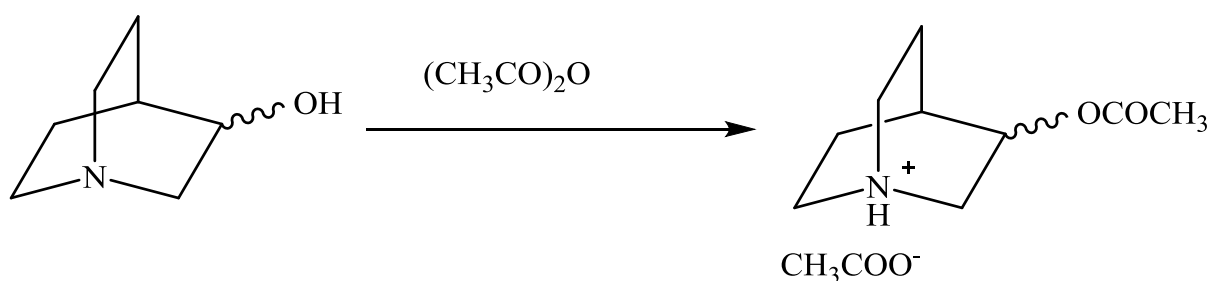


Shema 8.

4.2. Rezolucija racemičnog kinuklidin-3-ola

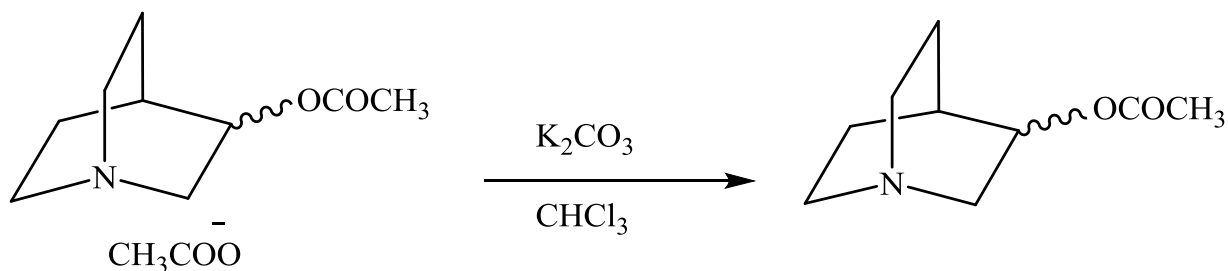
4.2.1. Priprava (\pm)-kinuklidin-3-il-acetata

Reakcijom bijelog praha (\pm)-kinuklidin-3-ola s acetanhidridom uz zagrijavanje na 160 °C priređen je racemični kinuklidin-3-il acetat (**1**), (shema 9). Budući da se dodatkom acetanhidrida reakcijska smjesa zagrije, dodaje se pri sobnoj temperaturi kako bi se izbjegla burna reakcija. Temperatura vrelišta acetanhidrida je 139,8 °C te je to temperatura pri kojoj se odvija reakcija. Acetanhidrid koji je stavljen u suvišku uklonjen je destilacijom pri sniženim tlakom (229 mbar, 135 °C) te je dobivena bezbojna uljasta tekućina spoja **1**.



Shema 9.

Dobiveni acetat kinuklidin-3-ola zalužen je zasićenom otopinom K_2CO_3 . Potrebno je dodavati kalijev karbonat pažljivo u ledenoj kupelji budući da je reakcija egzotermna. Otopina se dodaje dok se ne prestane uočavati razvijanje ugljikovog dioksida (CO_2). Dobiven je bijeli talog koji je zatim ekstrahiran kloroformom. Destilacijom uz podtlak vodene sisaljke dobiven je bezbojni, uljasti kinuklidin-3-il acetat (**1**) u iskorištenju 97% (shema 10.).



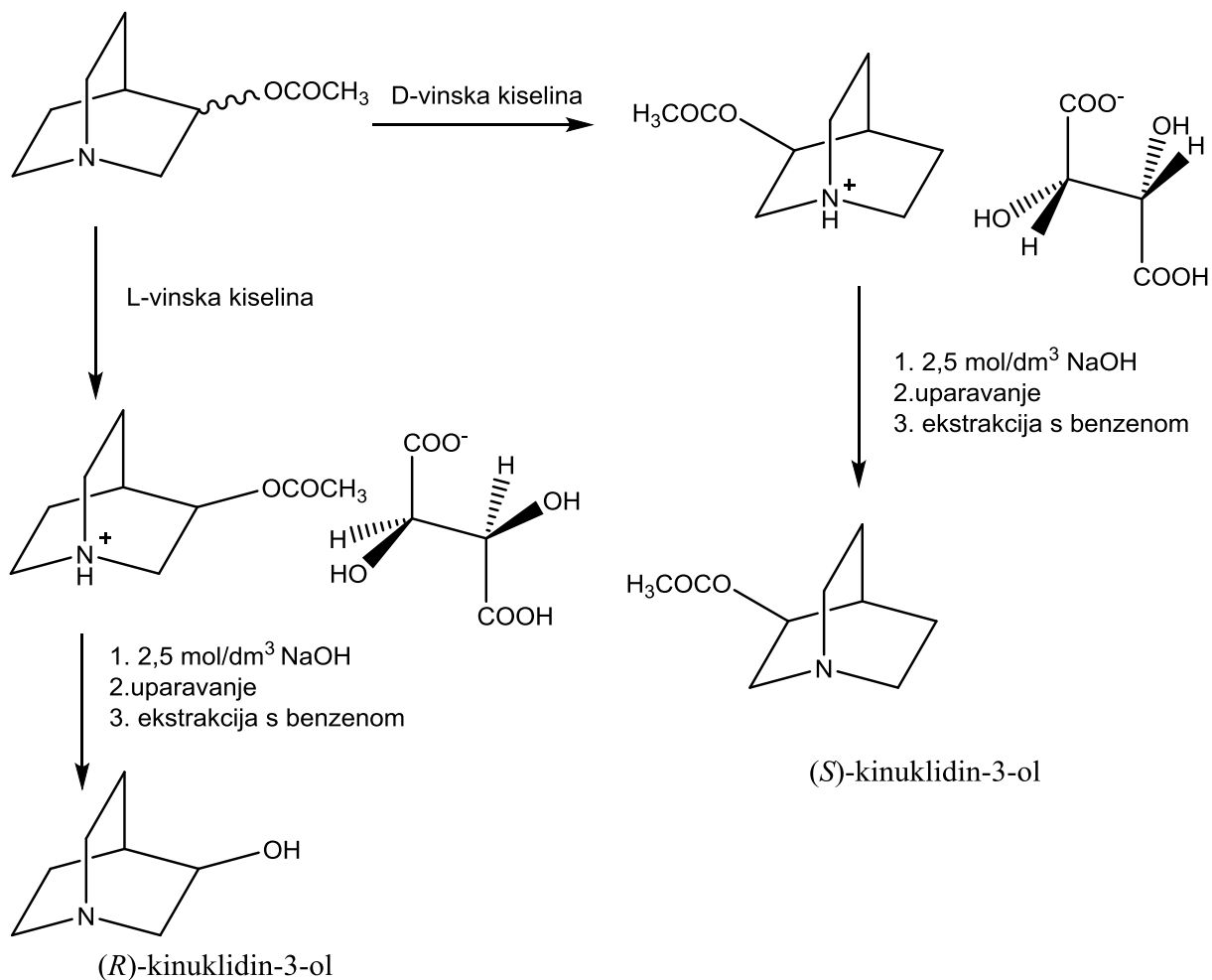
Shema 10.

4.2.2. Kemijska rezolucija (\pm)- kinuklidin-3-il-acetata

Kemijskom rezolucijom racemičnog kinuklidin-3-il acetata pomoću D i L-vinske kiseline dobiveni su (*R*)- i (*S*)- kinuklidin-3-il acetati. Hidrolizom dobivenih enantiomera estera dobiveni su enantiomeri kinuklidin-3-ola. (**2**, **3**), (shema 11).

Kada se u ekvimolarnu količinu otopine L-vinske kiseline u 80 % etanolu dokapa (\pm)-kinuklidin-3-il acetat, reakcija je blago egzotermna (*R*)- acetoksikinuklidinijev L-tartarat kristalizira tijekom 16 sati. U matičnici je zaostao pretežno (*S*)-3-acetoksikinuklidinijev D-tartarat. Da bi se dobio enantiomerno čisti (*R*)-3-acetoksikinuklidinijev L-tartarat prekrizalizira se smjesa iz 80 % etanola. Iskorištenje reakcije je 74 %.

Na isti način kao i kod (*R*)-enantiomera dobiven je sirovi acetat pročišćen destilacijom uz podtlak vodene sisaljke. Bezbojnom, uljastom acetatu dodana je D-vinska kiselina. Kristalizacija je potaknuta struganjem staklenog štapića po stijenkama Erlenmayerove tikvice. Prekrizalizacijom je dobiven čisti (*S*)-3-acetoksikinuklidinijev D-tartarat u iskorištenju 95 %.



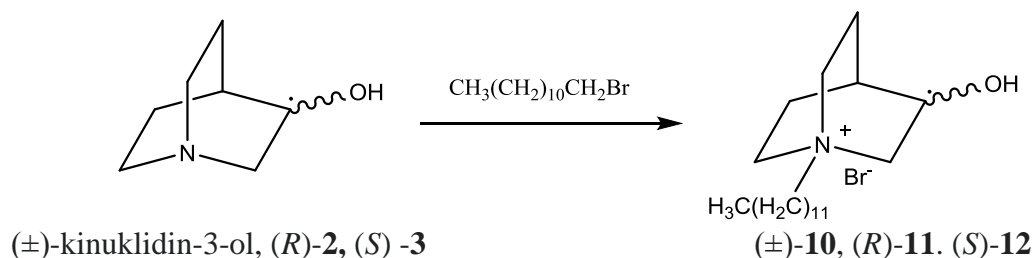
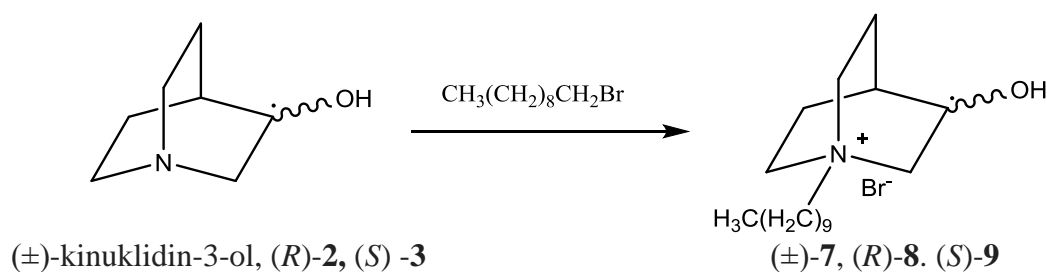
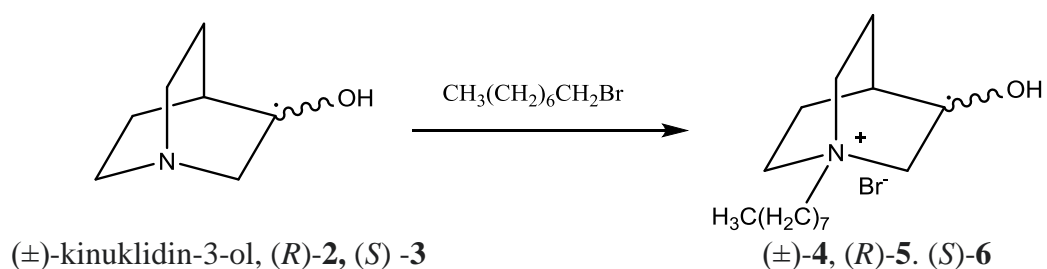
Shema 11.

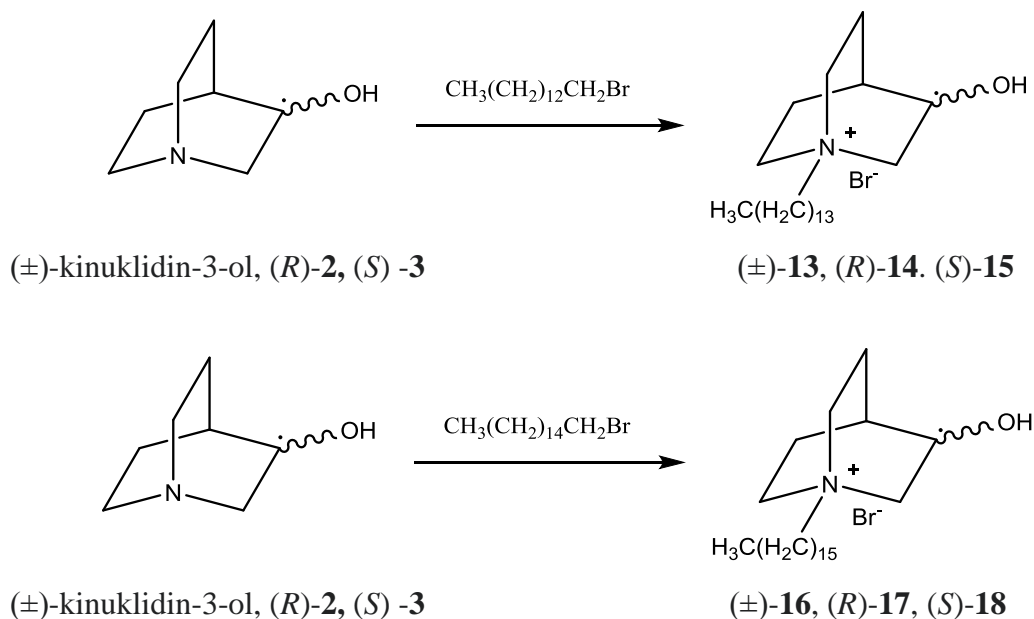
(*R*)-acetoksikinuklidinijev L-tartarat podvrgnut je hidrolizi u lužnatom mediju. Kontinuiranom ekstrakcijom s benzenom dobiven je (*R*)-kinuklidin-3-ol (**2**) u iskorištenju od 89%. Istim postupkom iz (*S*)-acetoksikinuklidinijevog D-tartarata dobiven je optički čisti (*S*)-kinuklidin-3-ol u iskorištenju od 46 % (**3**).

Postupak pripreve enantiomerno čistih (*R*)-i (*S*)-kinuklidin-3-ola iz racemičnog kinuklidin-3-il-acetata prikazan je na shemi 11.

4.3. Priprava kvaternih monomera kinuklidin-3-ola

Kinuklidin-3-ol se otopi u minimalnoj količini suhog acetona.. Budući da je brom dobra izlazna skupina, vrlo brzo nastaje bijeli talog, nakon što se doda odgovarajući alkil-bromid. Kako bi se dobilo što veće iskorištenje, reakcijska smjesa se ostavi na miješalici tijekom noći zamotana folijom s klor-kalcijevom cjevčicom kako ne bi došlo do sporednih reakcija niti onečišćenja. Dobiveni talog profiltrira se preko sinter lijevka poroziteta 4 budući da je vrlo sitan. Čistoća spoja provjerava se TLC-om $\text{CCl}_3 : \text{MeOH} = 9 : 1$. Zbog suviška neizreagirano reaktanta višestruko se ispiru suhim eterom te suši na vakumu 30 minuta kako ne bi zaostalo otapalo. Reakcija je jednako brza kod racemata i enantiomera (**2,3**) Na shemi 12. prikazane su reakcije kinuklidin-3-ola s odgovarajućim alkil-bromidom.

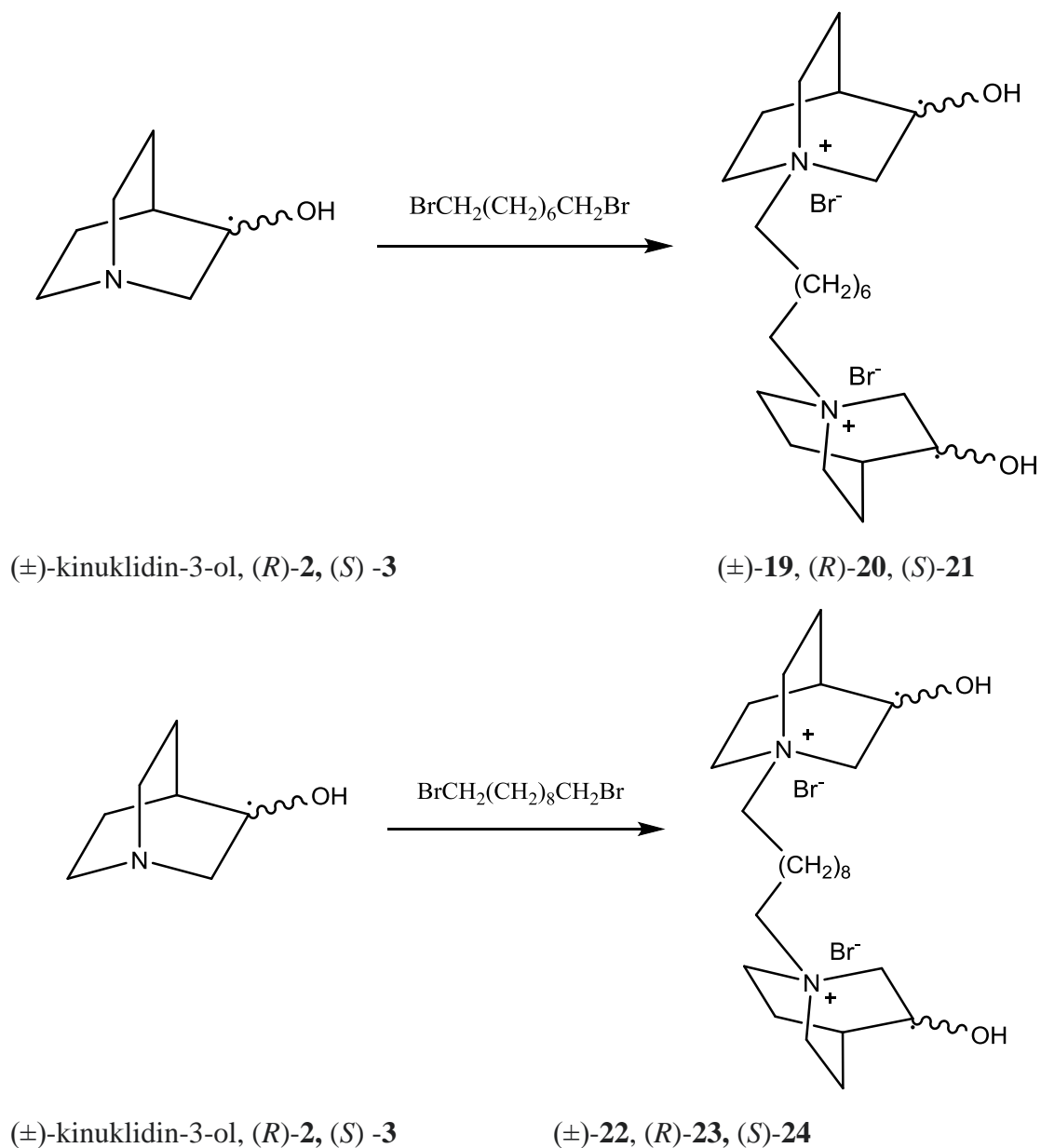




Shema 12.

4.4. Priprava kvaternih dimera kinuklidin-3-ola

Kinuklidin-3-ol se otopi u suhom metanolu. Nakon što se otopina ohladila dokapa se odgovarajući alkil-dihalogenid u suvišku 20 %. Dokapavanjem nastaje talog 1,8-dibromoktan / 1,10-dibromdekan budući da su oni pri 4 °C krutine. ($t_f = 16$ °C). Zatim se reakcijska smjesa zagrije do 50 °C. Nakon 48 sati uparavanjem otapala dobije se uljasta, žućkasta tekućina. Hlađenjem na ledenoj kupelji olakšana je kristalizacija nastalog produkta dodavanjem dietil-etera suhom metanolu. Budući da su čestice nastalog taloga jako sitne, za izolaciju je korišteno centrifugiranje uz ispiranje eterom. Ispiranjem eterom dobije se čisti produkt. Postupak je isti za racemični kinuklidin-3-ol te za njegove enantiomere, (shema 13).



Shema 13.

4.5. FIZIKALNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA

Polazni racemični kinuklidin-3-ol bijela je krutina kao i (*R*)-i (*S*)- enantiomeri kinuklidin-3-ola te im se temperature taljenja ne razlikuju $t_f = 222 - 223^\circ\text{C}$.

Ostali dobiveni spojevi također su stabilne krutine čije su temperature taljenja prikazane na tablici 2. Svim spojevima određeno je talište uređajem Buchi Melting Point B-545.

Tablica 2. Temperature taljenja dobivenih monomera i dimera kinuklidin-3-ola

Spoj	Talište / °C	Spoj	Talište / °C	SPOJ	Talište / °C
4	100-101	11	213-216	18	218-220
5	100-102	12	213-216	19	235-236
6	100-101	13	215-218	20	235-236
7	158-160	14	215-218	21	235-237
8	158-160	15	215-218	22	240-242
9	158-160	16	218-220	23	242-245
10	213-215	17	218-220	24	242-245

Iz dobivenih vrijednosti temperatura taljenja dobivenih kvaternih soli može se zaključiti da porastom duljine lanca pravilno raste temperatura taljenja. Temperature taljenja racemata i enantiomera su jednake.

Svim dobivenim spojevima određeno je optičko skretanje polariziranog svjetla. Dobivene vrijednosti specifičnog zakretanja mjerene su (*R*)-i (*S*)- enantiomerima te su prikazane u tablici 3. te su izračunate prema formuli $[\alpha]_D^t = \frac{100 \times \alpha}{l \times c}$ (α – optičko zakretanje izmjereno polarimetrom, l – duljina ćelije u decimetrima, c – broj grama tvari u 100 mL otopine).

Kvaterne soli (*R*)-kinuklidin-3-ola zakreću ravninu polariziranog svjetla ulijevo dok kvaterne soli (*S*)-kinuklidin-3-ola zakreću ravninu polarizirane svjetlosti udesno.

Tablica 3. Optičko zakretanje (*R*)-i (*S*)-enantiomera kvaternih amonijevih soli kinuklidin-3-ola (25 °C, metanol)

Spoj	$[\alpha]_D^{25}$	Spoj	$[\alpha]_D^{25}$
5	-35	15	+29
6	28	17	-40
8	-41	18	+32
9	+33	20	-60
11	-39	21	+56
12	-34	23	-45

14	-35	24	+38
----	-----	----	-----

4.6. SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA

4.6.1. IR spektroskopija

IR spektroskopija proučava interakcije tvari i elektromagnetskog zračenja u rasponu valnih brojeva $12500-10\text{ cm}^{-1}$ te detektira vibracije do kojih dolazi uslijed apsorpcije elektromagnetskog zračenja. IR spektri pokazuju ovisnost apsorpcije o valnoj duljini te u se u spektrima opažaju samo one vibracije kod kojih postoji promjena dipolnog momenta.³²

Uz pomoć IR spektroskopije određene su karakteristične vibracijske vrpce za određene funkcijske skupine u dobivenim kvaternim amonijevim solima kinuklidin-3-ola. IR spektri snimljeni su pri sobnoj temperaturi koristeći tehniku KBr pastile (slike D46-D68).

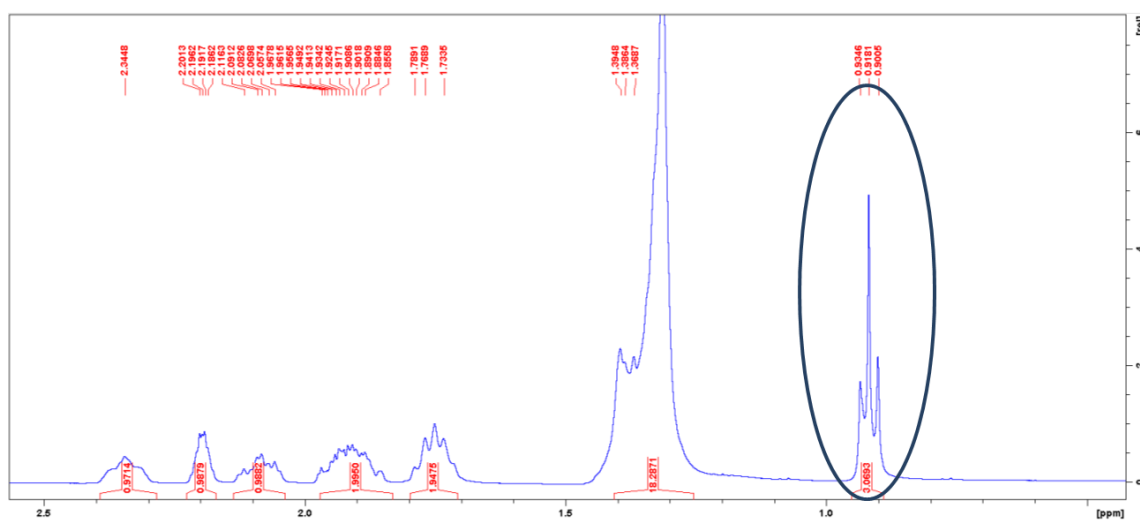
Asignacijom spektara dobivenih soli može se uočiti da se valni brojevi određenih vrpca preklapaju i kod dimera (spojevi **19-24**) i kod monomera (**4 -18**). Razlog tome je što svi spojevi imaju iste funkcijske skupine kojima je rezultat pojava jednakih karakterističnih vrpca. IR spektar dimera i monomera sadrži karakterističnu vibraciju istezanja hidroksilne skupine kinuklidinskog prstena od $3100\text{ cm}^{-1} - 3600\text{ cm}^{-1}$ koja se pojavljuje i kod spektara enantiomera kinuklidin-3-ola (spojevi **2, 3**).

Također, IR spektri svih dobivenih soli dijele jake vrpce simetričnog i asimetričnog istezanja C-H veze alifatskog sustava pri 2918 cm^{-1} i 2853 cm^{-1} koja se ne pojavljuje kod alkohola (**2, 3**). Vrpca istezanja C-N veze pojavljuje se pri 1018 cm^{-1} . Pri 1115 cm^{-1} uočava se vrpca istezanja C-O veze.

4.6.2. NMR spektroskopija

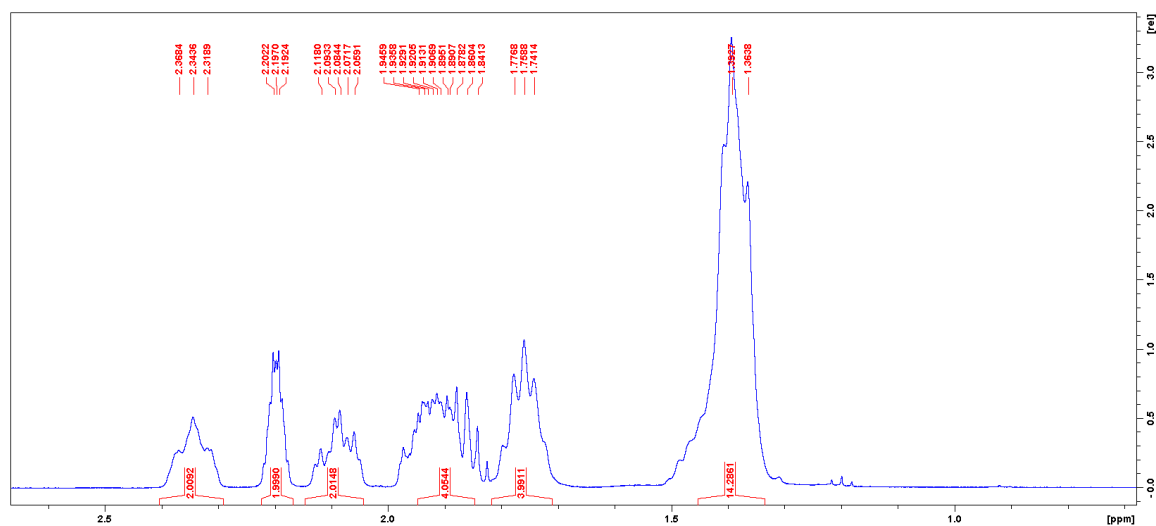
Spektroskopija NMR koristi se za određivanje brojnih organskih struktura. Spektroskopijom NMR proučavaju se jezgre koje posjeduju spin različit od nule npr. ^1H i ^{13}C NMR korišteni u ovom radu.³² 1D tehnikom ^1H NMR detektiraju se signali kemijskih neekvivalentnih protona u spojevima. Broj neekvivalentnih protona proporcionalan je omjeru površina ispod pojedinih signala. ^1H daje nam prvi uvid u strukturu spoja na temelju opaženih kemijskih pomaka.

Korištena tehnika ^{13}C NMR-a, DEPT-Q omogućava editiranje spektara heterojezgri (^{13}C) prema multiplicitetu. Tehnikom DEPT-Q dobiva se informacija o kvaternim ugljikovim atomima. 2D tehnike: COSY, HSQC i HMBC omogućavaju detaljnu strukturnu karakterizaciju. Osim razlike u pomacima spektara mjerenih u kloroformu i metanolu spektri dobivenih spojeva značajno se ne razlikuju. Glavna razlika između ^1H NMR spektara monomera je u integralu signala vodikovih atoma ugljikovodičnog lanca koji se mijenja s obzirom na broj vodika. Na slici 15. prikazan je dio ^1H NMR spektra spoja **11**. sa zaokruženim signalom CH_3 skupine.



Slika 15. Dio ^1H NMR spektra spoja **11** sa zaokruženim signalom CH_3 skupine

Usporedbom ^1H NMR spektara monomera i dimera jasno se vidi izostanak signala metilne skupine monomera ($0,9 - 0,95\text{cm}^{-1}$) kod dimera. Na slici 16. prikazan je dio ^1H NMR spektra spoja **23**.

Slika 16. Dio ^1H NMR spektra spoja **23**

U ^{13}C NMR spektrima dolazi do preklapanja linija multipleta zbog sprezanja kroz 1, 2 ili više veza. Razlika između dimera i monomera može se uočiti izostankom signala CH_3 skupine ($13,00\text{ cm}^{-1}$) kod dimera (Slika D38.) čija je faza kod monomera negativna (Slika D20.).

§ 5. ZAKLJUČAK

Kemijskom rezolucijom racemičnog kinuklidin-3-ola s D- i L-vinskom kiselinom pripremljeni su enantiomerno čisti (*R*)- i (*S*)-kinuklidin-3-ol. Reakcijom racemičnog i enantiomerno čistih kinuklidin-3-ola s alkil-halogenidima različite duljine ugljikovodičnog lanca pripremljeni su racemične i enantiomerno čiste kvaterne amonijeve soli kinuklidin-3-ola. Reakcije su visokog iskorištenja neovisno o duljini ugljikovodičnog lanca (C8-C16) ili o enantiomeru. Budući da su reakcije provođene u suhom otapalu nije došlo do potencijalnih sporednih reakcija te su nastale soli stabilne na sobnoj temperaturi. Sinteza monomera kinuklidin-3-ola brža je od sinteze dimera te se provodi u boljem iskorištenju. Reakcije kvaternizacije poznati su primjer Menshutkinove SN₂ reakcije. Brom kao dobra izlazna skupina pogoduje brzini reakcije te dovodi do visokih iskorištenja koji su dobiveni. Uz pomoć optičkog skretanja uočena je razlika između enantiomera kvaternih amonijevih soli kinuklidin-3-ola. Glavna razlika u ¹H NMR spektrima monomera i dimera uočava se nestankom metilne skupine na ugljikovodičnom lancu kod dimera.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

AChE	acetilkolinesteraza
Asp	aspartat
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
DEPT-Q	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer – Quaternary</i>
Gly	glicin
His	histidin
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
IR	infracrveno
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
Q-3-ac	kinuklidin-3-il acetat
Q-3-ol	kinuklidin-3-ol
Rf	faktor zaostajanja
Ser	serin
Thr	treonin
TLC	<i>thin-layer chromatography</i>
TMS	tetrametilsilan
TSK	tankoslojna kromatografija

§ 7. LITERATURNI IZVORI

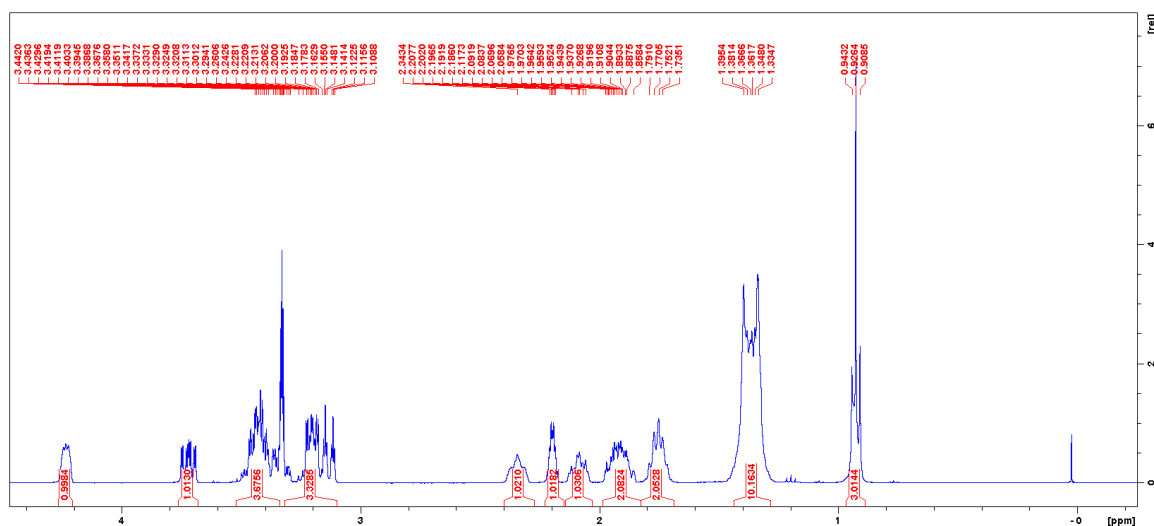
1. M.D. Mashkovsky, L. Yakhontov, Relationships between the chemical structure and pharmacological activity in a series of synthetic quinuclidine derivates, *Pro. Drug. Res.* (1969) 293-339.
2. V. Simeon-Rudolf, E. Reiner, M. Škrinjarić-Špoljar, B. Radić, A. Lučić, I. Primožič, S. Tomić, S. Quinuclidinium-imidazolium compounds: synthesis, mode of interaction with acetylcholinesterase and effect upon Soman intoxicated mice, *Archives of Toxicology* **72** (1998) 289-295.
3. L. Bazina, A. Maravić, L. Krce, B. Soldo, R. Odžak, V.B. Popović, I. Aviani, I. Primožič, M. Šprung, Discovery of novel quaternary ammonium compounds based on quinuclidine-3-ol as new potential antimicrobial candidates, *European Journal of Medicinal Chemistry* **163** (2019) 626-635.
4. S.B. Cammerer, C. Jimenez, S. Jones, L. Gros, S.O. Lorente, C. Rodrigues, J. Rodriguez, A. Caldera, L. Ruiz Perez, W. da Souza, M. Kaiser, R. Brun, J. A. Urbina, D. Gonzalez Pacanowska, I.H. Gilbert, Quinuclidine derivates as potential antiparasitics, *Antimicrobial agents and chemotherapy* **51** (2007) 4049-4061.
5. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Acetilholinesteraza> (20. kolovoz, 2020)
6. H. Bohrmann, C. Lau-Cam, J. Tashiro, H.W. Youngen, Isolation and characterization of dihydroquinamine from the leaf material, *Phytochemistry* **8** (1969) 645-652.
7. The Merck Index, Eleventh Edition, MERC & CO., Inc., USA (1989)
8. L. Hintermann, H. Wu, Transfer Hydrogenations of Alkyls with Formate on Pd/C: Synthesis of Dihydrocinchona Alkaloids, *Synthesis* **45** (2013) 888-892.
9. M. Saito, R. Mansoor, K. Kennon, Efficacy and tolerability of artemisinin-based and quinine-based treatments for uncomplicated falciparum malaria in pregnancy: a systematic review and individual patient data meta-analysis, *The Lancet, Infectious Diseases* **20** (2020) 943-952.
10. A. Bosak, I. Primožič, M. Oršulić, S. Tomić, V. Simeon-Rudolf, *Croat. Chem. Acta* **78** (2005) 121-128.
11. A. Ramić, Priprava i biotransformacije kvaternih estera kinuklidin-3-ola, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2011.

12. K.B.Shaw, The interaction of the acetates and carbamates of some heterocyclic alcohols with acetylcholinesterase, *Canadian Journal of Chemistry* **43** (1965) 3264-3268.
13. A.Fisher, I.Karton, E.Heldman, A.Levy, M.B.Hanan, Y.Grunfeld, Derivates of quinuclidine, U.S Patent 4,855,290, 1989
14. C.R.Chapple, L.Cardozo, W.D. Steers, F.E.Govier, Solifenacin significantly improves all symptoms of overactive bladder sindrom, Blackwell Publishing (2006)
15. B.C.McGorum, D.R.Nicholas, A.P.Foster, D.J.Shaw, R.S.Pirie, Bronchodilator activity of the selective muscarinic antagonist revatropate in horses with heaves, *The Veterinary Journal* **195** (2013) 80-85.
16. D.C.Muchmore, Enantiomeric enrichment of (*R,S*)-3-quinuclidinol, U.S 5215918A,1993
17. F.Nomoto, Y.Hirayama, M.Ikunana, T.Inoue, K.Otsuka, A practical chemoenzymatic process to access (*R*)-quinuclidin-3-ol on scale, *Tetrahedron:Asymmetry* **14** (2003) 1871-1877.
18. https://www.researchgate.net/figure/Ribbon-diagram-of-the-crystal-structure-of-native-subtilisin-BPN-from-coordinates_fig4_26770906 (17. kolovoza 2020.)
19. P.Bossard (Lonza, Ltd) Ger. Offen. DE 19715465 (1997)
20. M. Brossat, T.S.Moody, S.J.C. Taylor, J.W. Wiffen, *Tetrahedron: Asymmetry* **20** (2009) 2112-2116.
21. M.Rehavi, S. Maayani, M. Sokolovsky, Enzymatic resolution and cholinergic properties of (\pm)-3-quinuclidinol derivates, *Life Sciences* **21** (1977) 1293-1302.
22. A.Bosak, M.Katalinić, Z.Kovarik, Kolinesteraze: struktura, uloga, inhibicija, *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* **62** (2011) 175-189.
23. S.Young Kang, K.Y.Lee, S.H. Sung, M.J.Park, Y.C.Kim, Coumarins Isolated from *Angelica gigas* Inhibit Acetylcholinesterase: Structure-Activity Relationship, *J. Nat. Prod.* **64** (2001) 683-685.
24. S.H.Pine, *Organska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1994. str. 375.
25. L.G.Wade, *Organska kemija*, Školska knjiga, Zagreb 2017., str. 873-884.
26. S.Giri,R.I.Riviera, B.Herrera, A.S.Nunez, The mechanism of Menshutkin reaction in gas and solvent phases from the perspective of reaction electronic flux, *Journal of Molecular Modeling* **20** (2014) 2353.
27. https://en.wikipedia.org/wiki/Menshutkin_reaction (15. 8. 2020.)

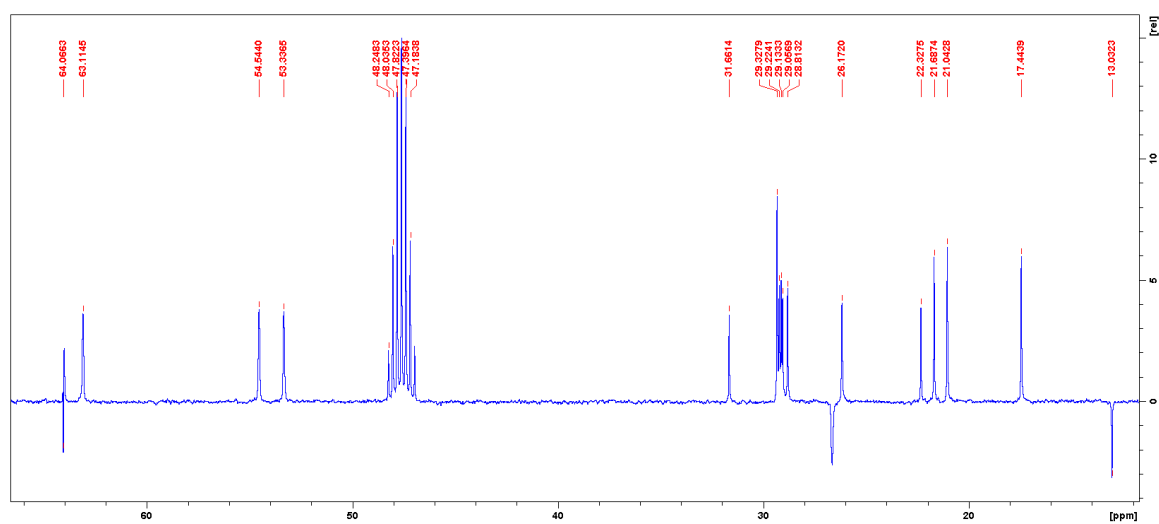
28. O.Acevedo, W.L.Jorgensen, Exploring solvent effects upon the Menshutkin reaction using a polarizable forced field, *J. Phys. Chem. B* **114** (2011) 8425-8430.
29. E. Reiner, M.Škrinjarić-Špoljar, S.Dunaj, V.Simeon-Rudolf, I.Primožič, S.Tomić, 3-hydroxyquinuclidinium derivatives: synthesis of compounds and inhibition of acetylcholinesterase, *Chemico-biological interactions* **119-120** (1999) 173-181.
30. P. Ahamed, M.A.Haque, M.Ishimoto, M.Parvez, N.Haraguchi, S.Itsuno, Synthesis of chiral quaternary ammonium polymers for asymmetric organocatalysis application, *Tetrahedron* **69** (2013) 3978-3983.
31. B.Lygo, P.G.Wainwright, Phase-transfer catalysed asymmetric epoxidation of enones using N-anthracenylmethyl-substituted cinchona alkaloids, *Tetrahedron* **55** (1999) 6289-6300.
32. P.Novak, T.Jednačak, Strukturna analiza spojeva spektroskopskim metodama, TIVA Tiskara Varaždin, (2013)

§ 8. DODATAK

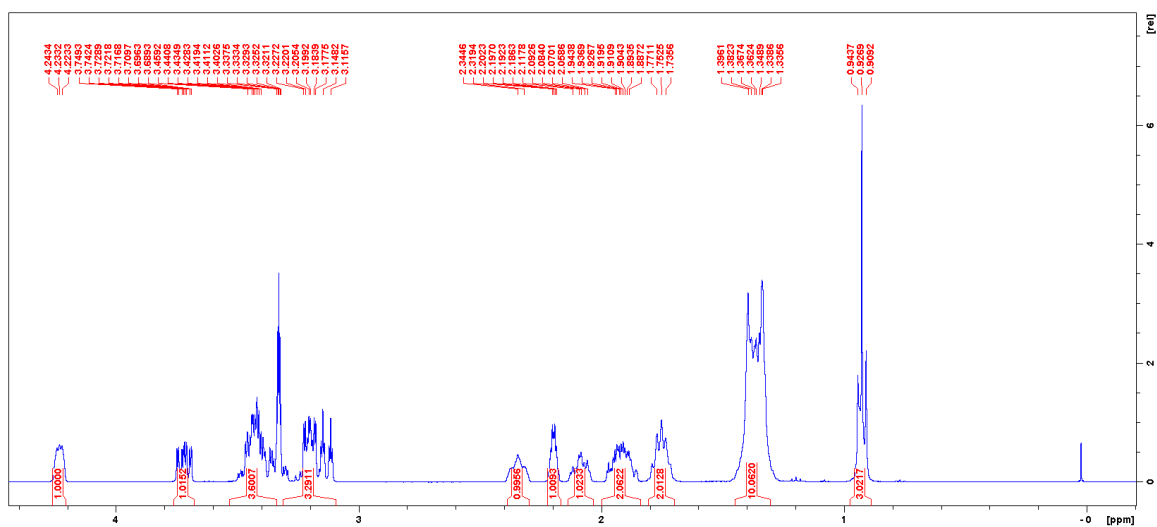
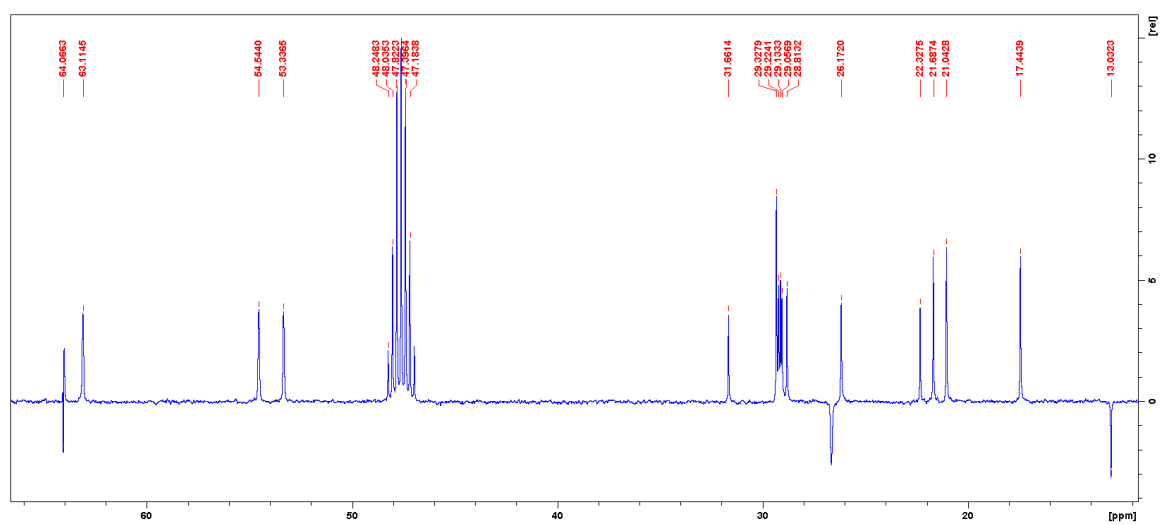
8.1. ^1H I ^{13}C (DEPT Q) NMR SPEKTRI

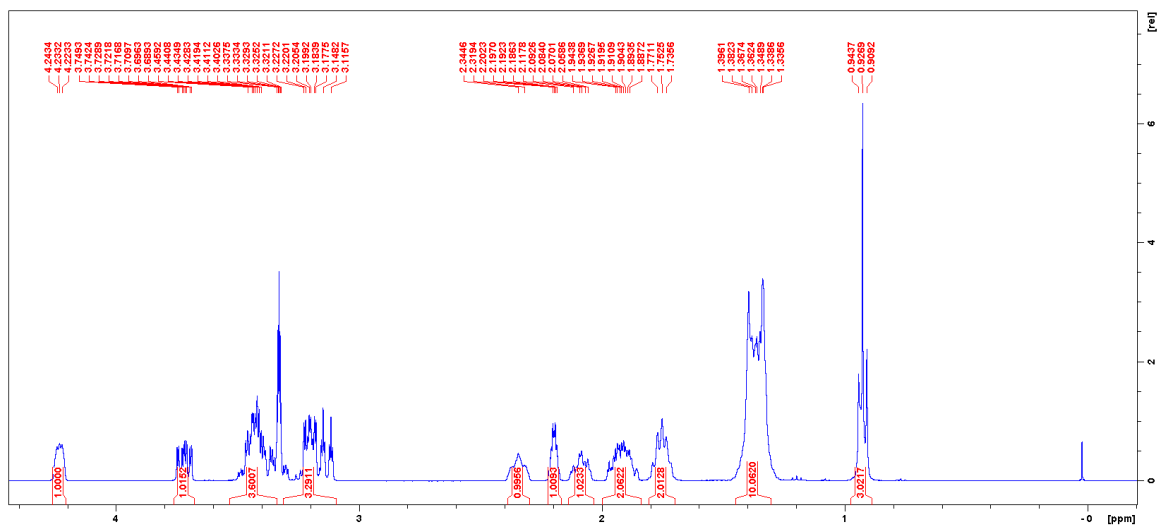
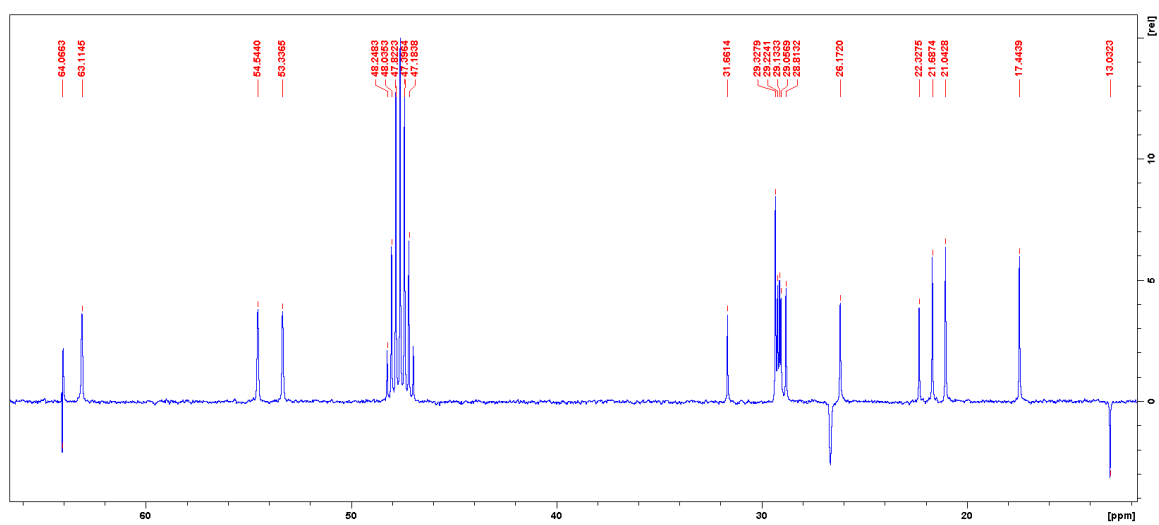


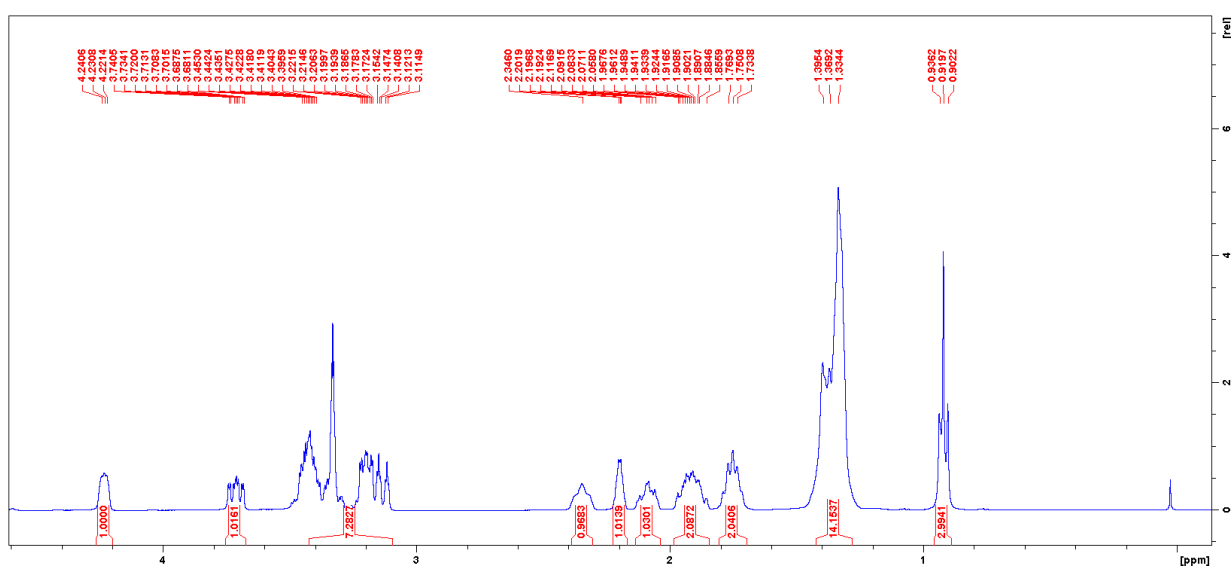
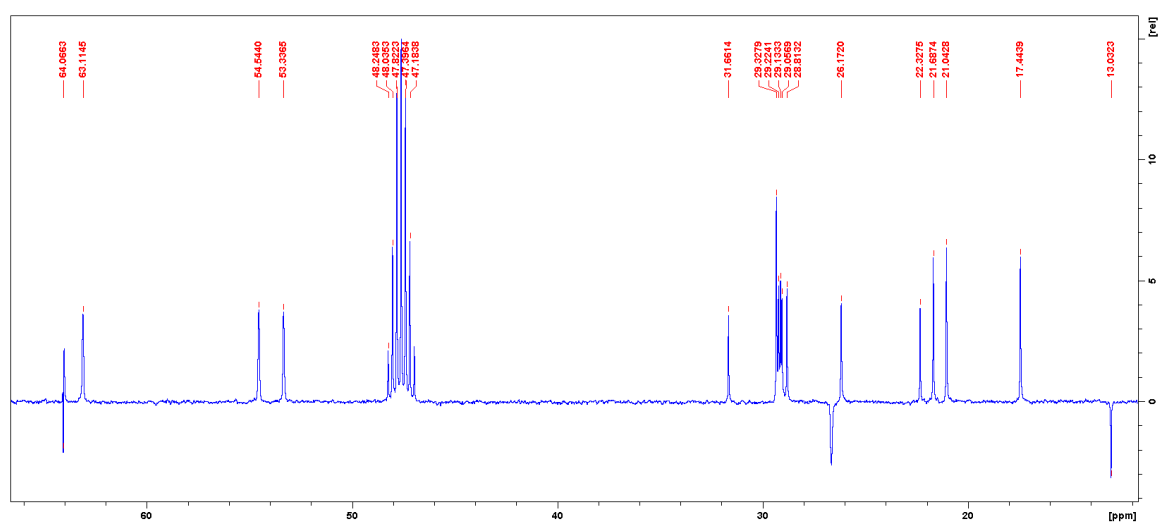
Slika D1. ^1H NMR spektar spoja 4

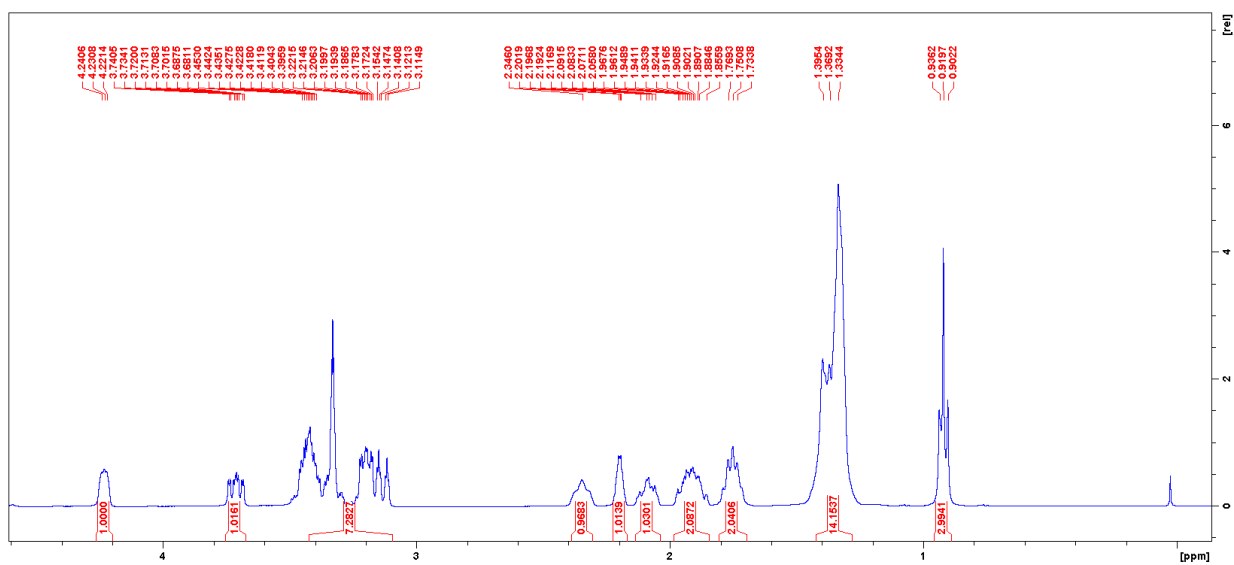
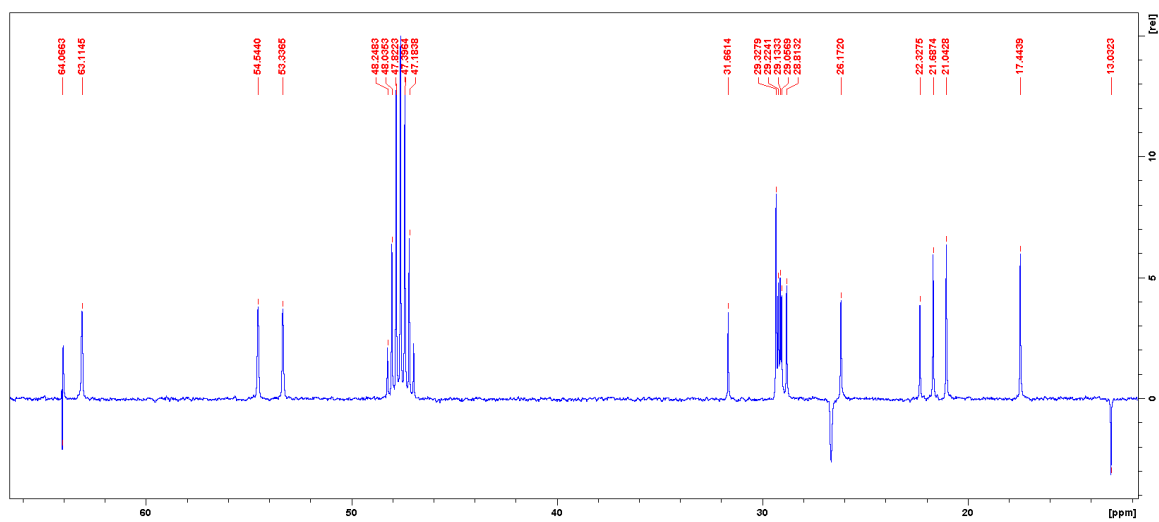


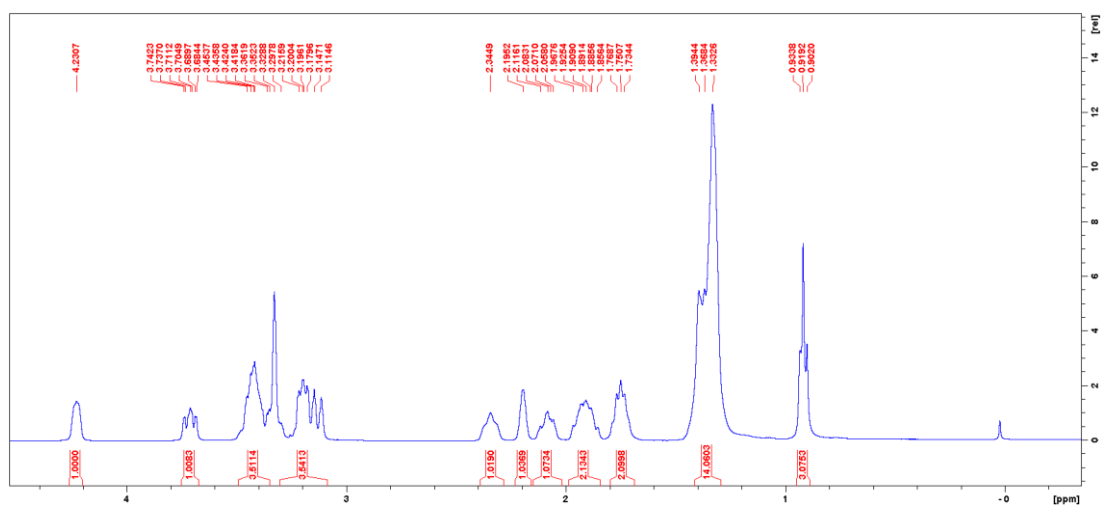
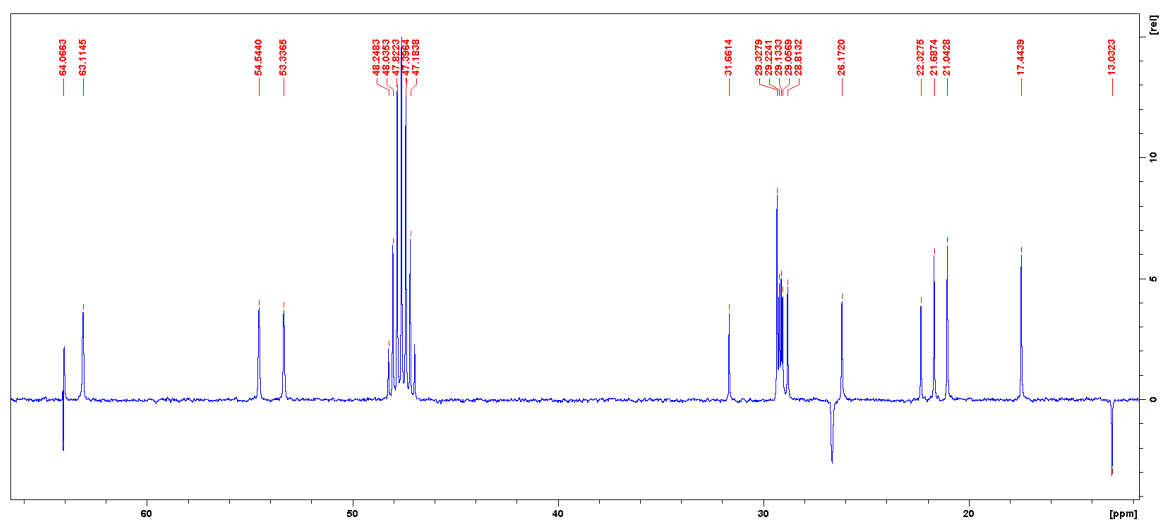
Slika D2 ^{13}C NMR spektar spoja 4

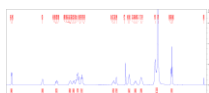
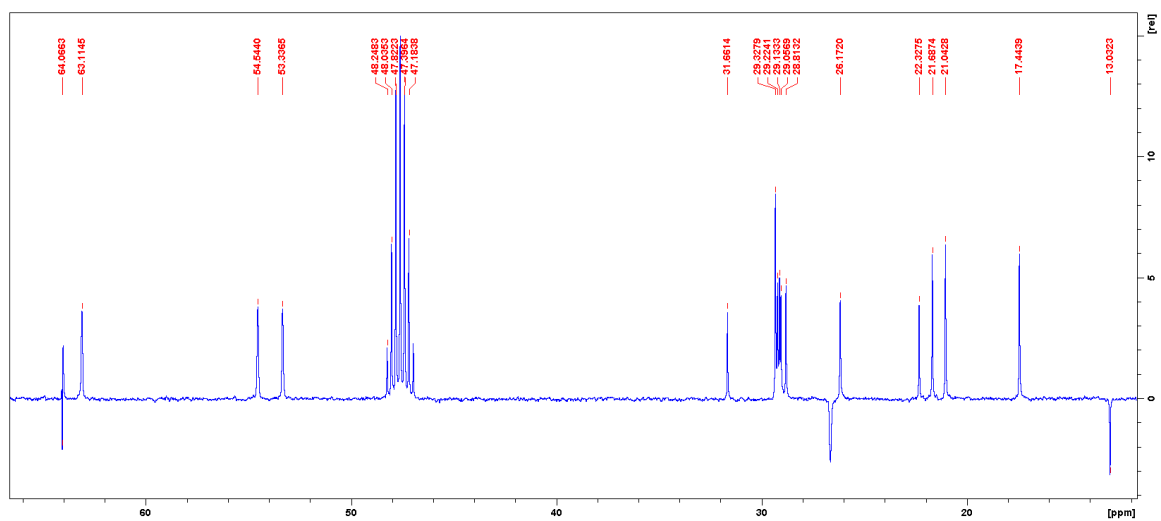
Slika D3. ^1H NMR spektar spoja 5Slika D4 ^{13}C NMR spektar spoja 5

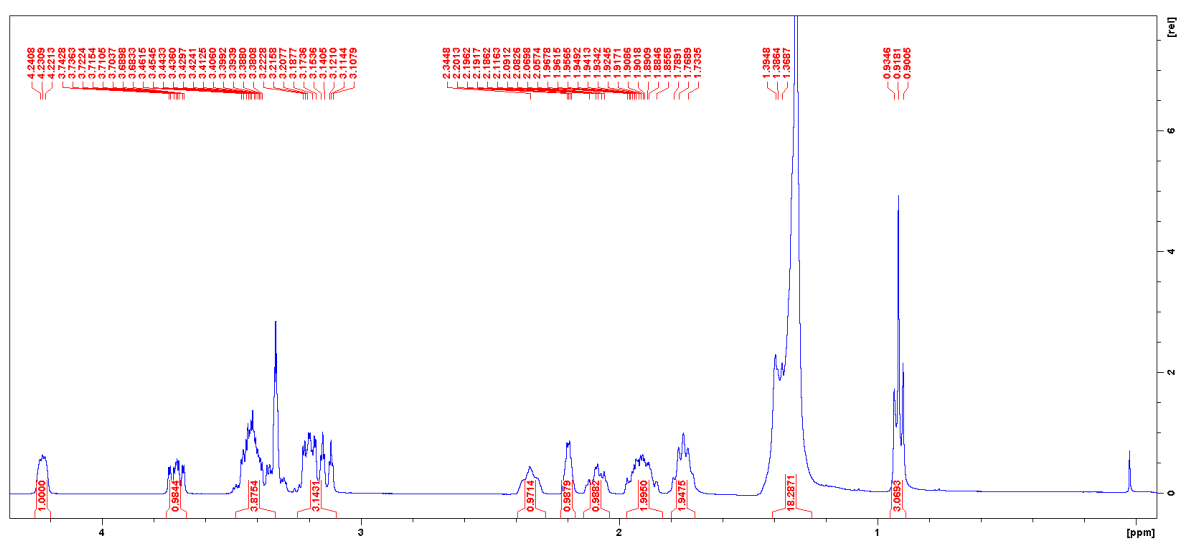
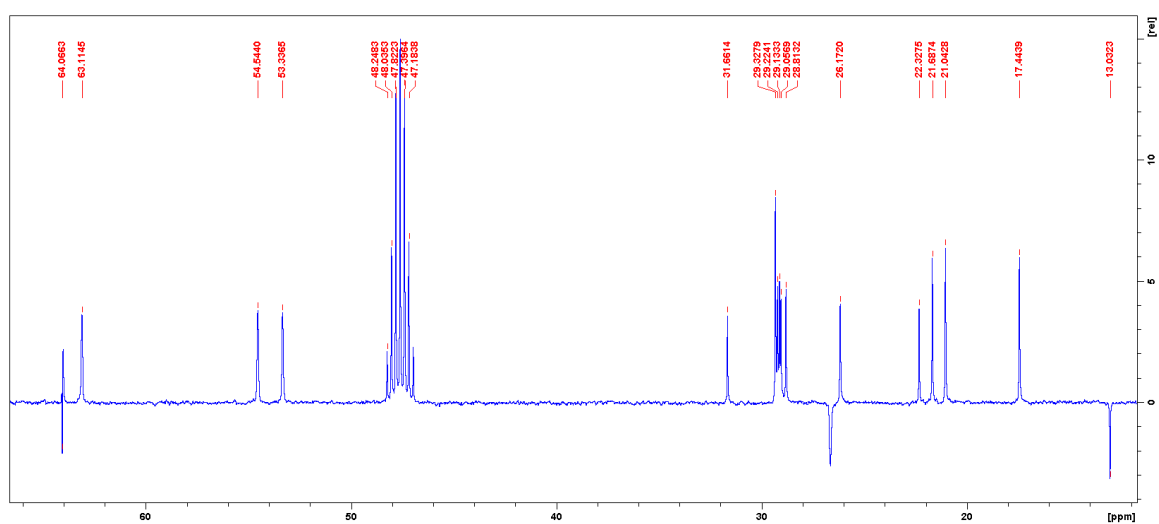
Slika D5. ^1H NMR spektar spoja 6Slika D6 ^{13}C NMR spektar spoja 6

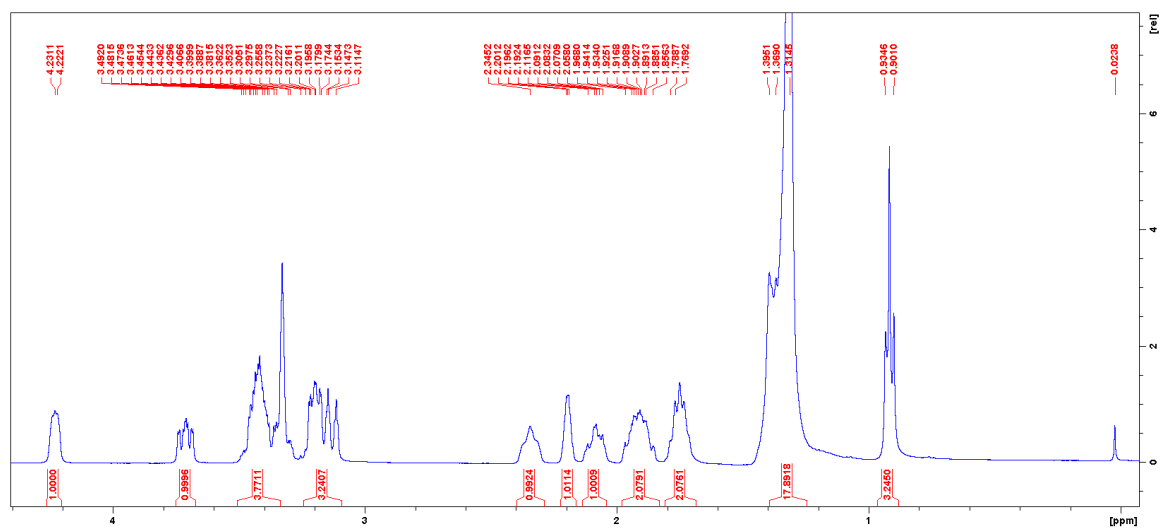
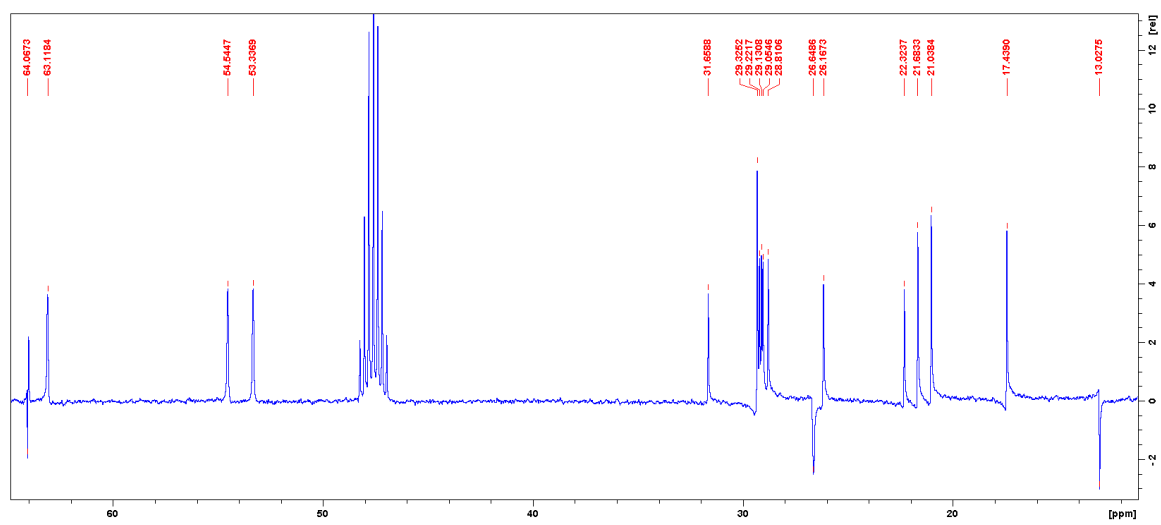
Slika D7. ^1H NMR spektar spoja 7Slika D8. ^{13}C NMR spektar spoja 7

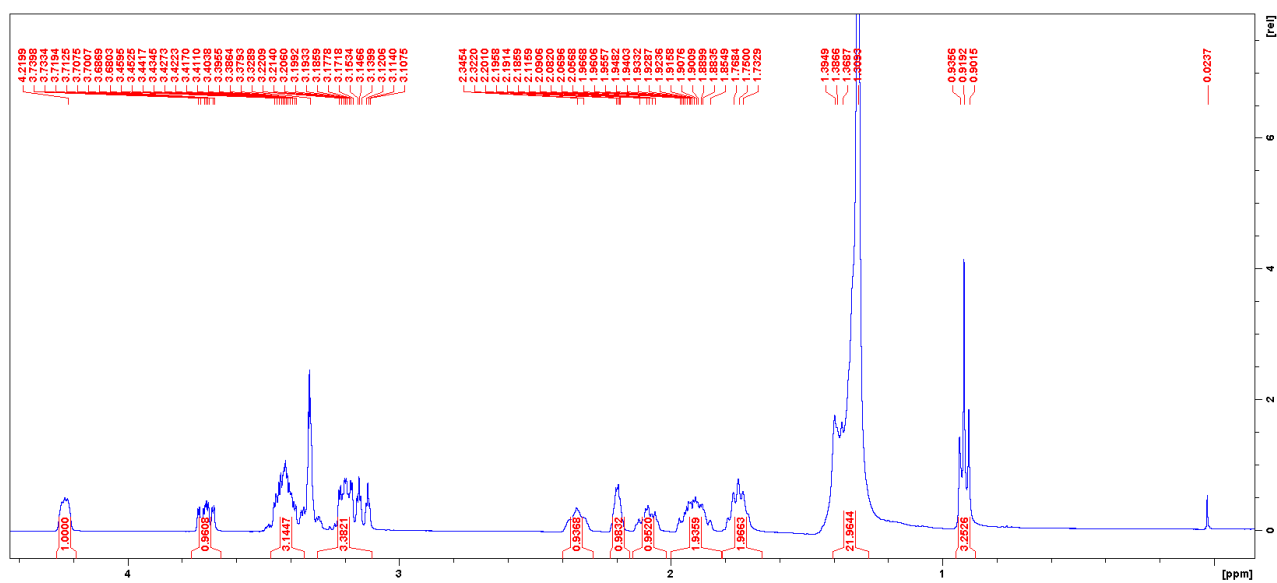
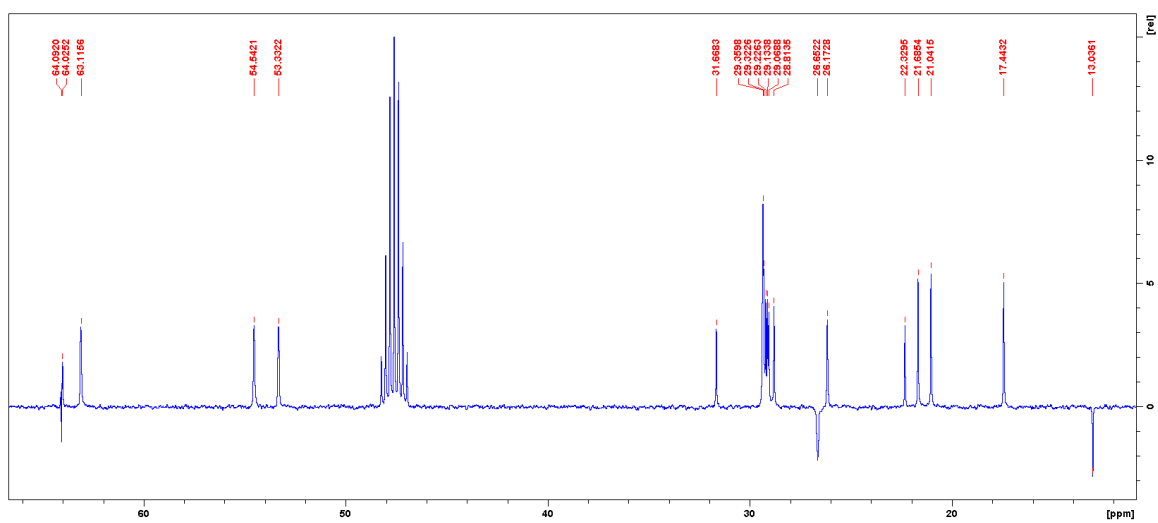
Slika D9. ¹H NMR spektar spoja **8**Slika D10 ¹³C NMR spektar spoja **8**

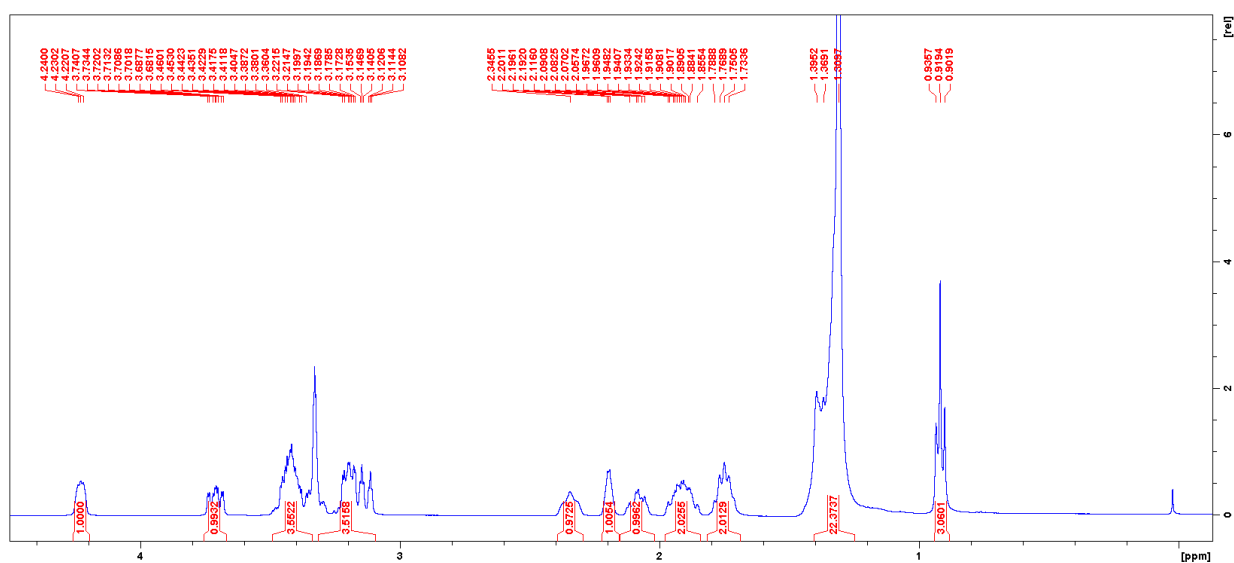
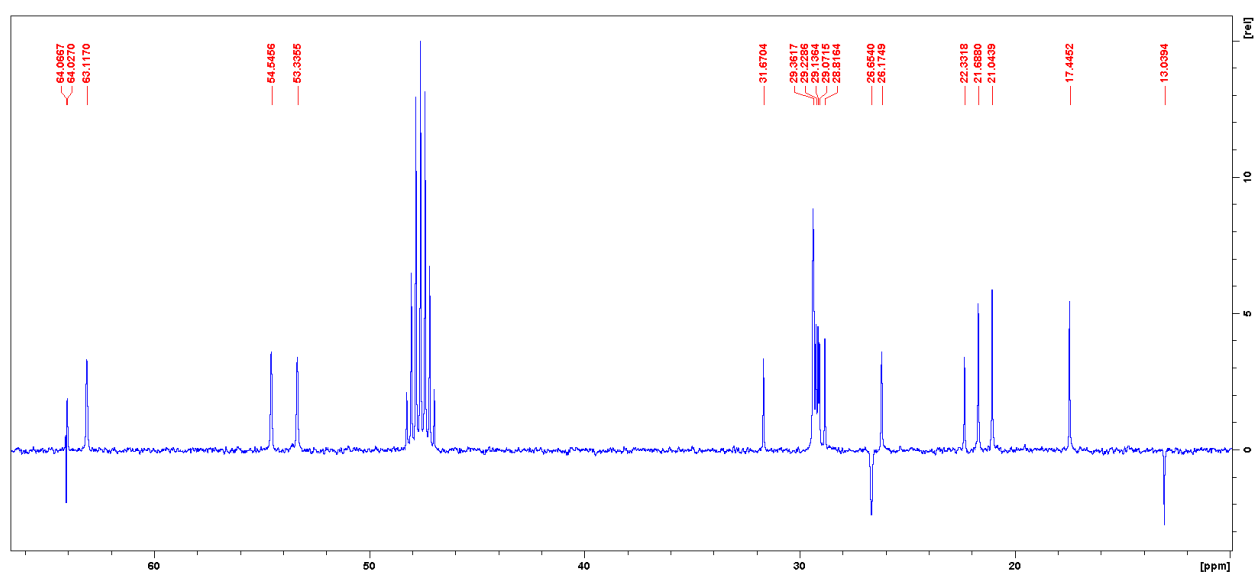
Slika D11. ^1H NMR spektar spoja 9Slika D12 ^{13}C NMR spektar spoja 9

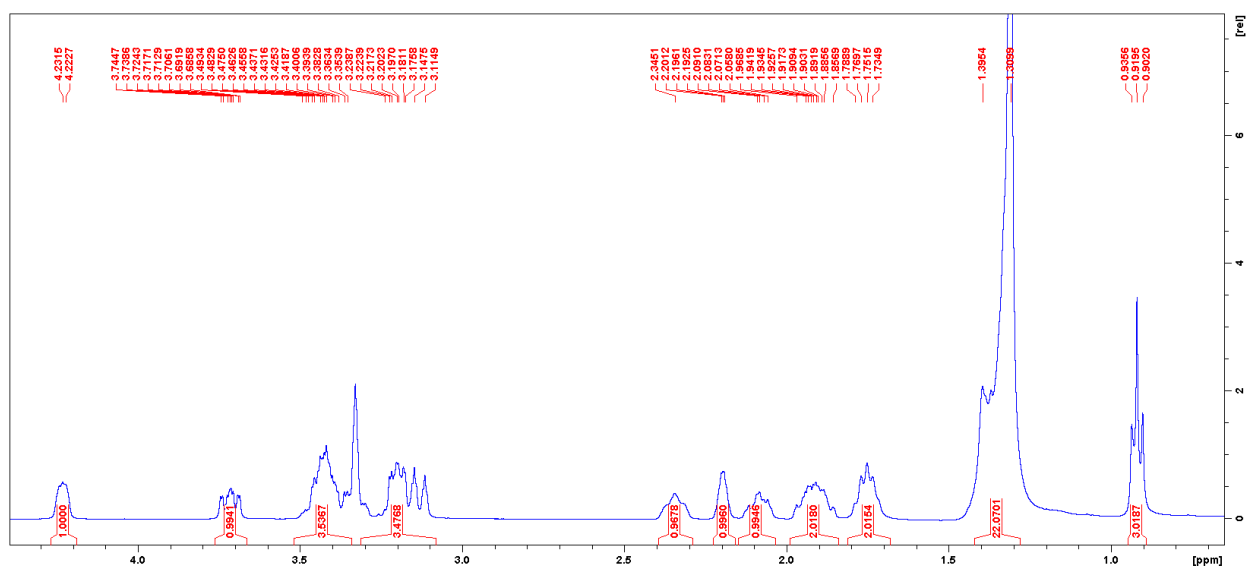
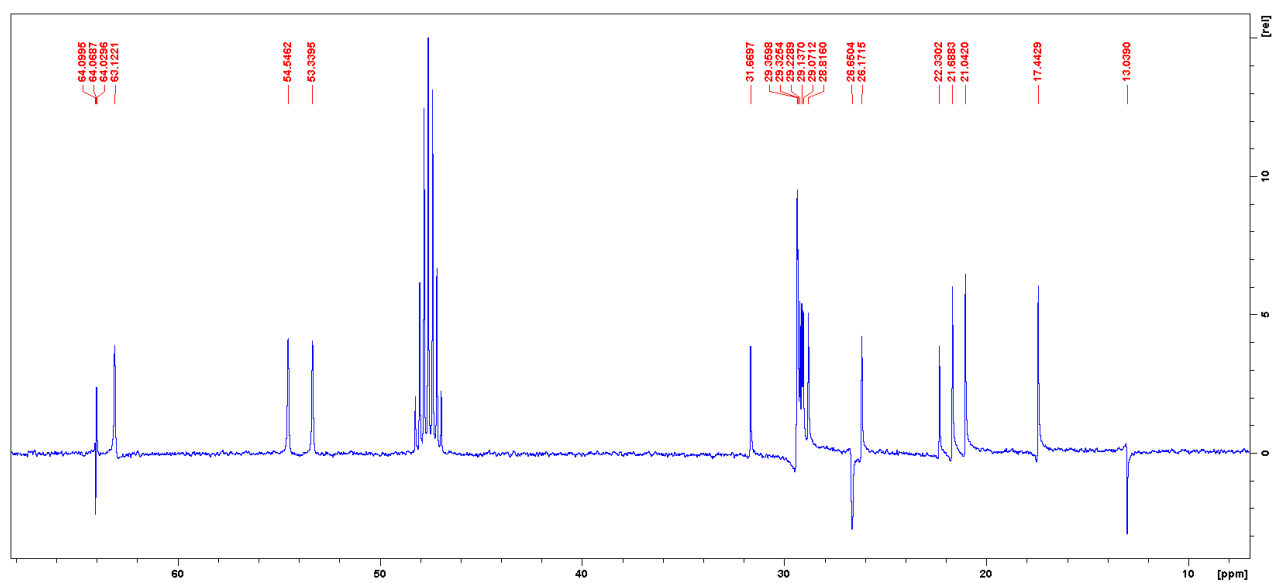
Slika D13. ^1H NMR spektar spoja **10**Slika D14 ^{13}C NMR spektar spoja **10**

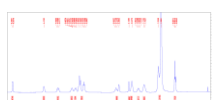
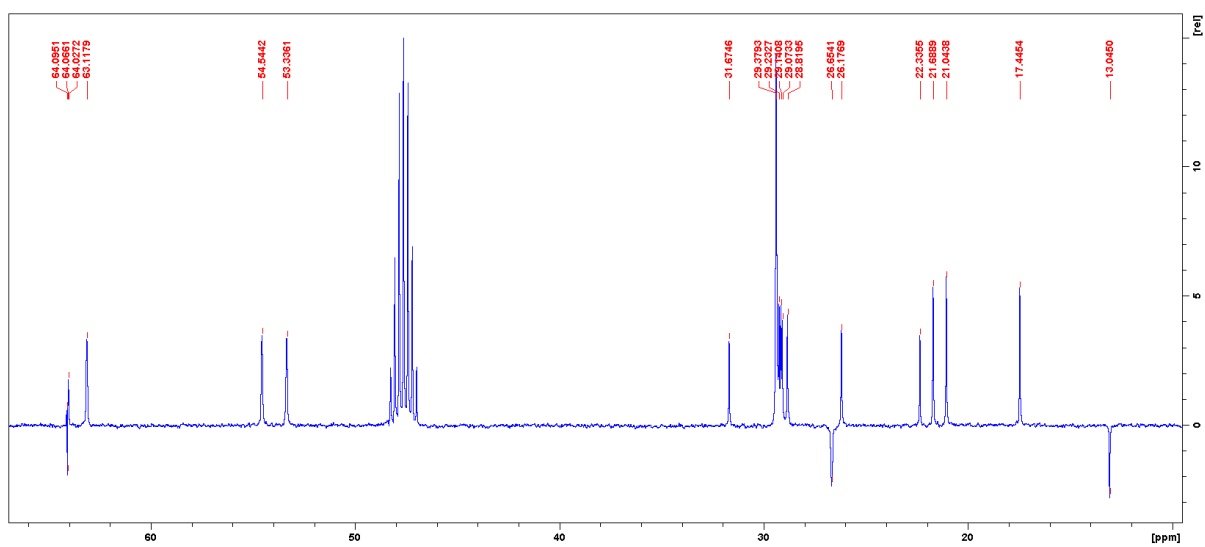
Slika D15. ¹H NMR spektar spoja 11Slika D16 ¹³C NMR spektar spoja 11

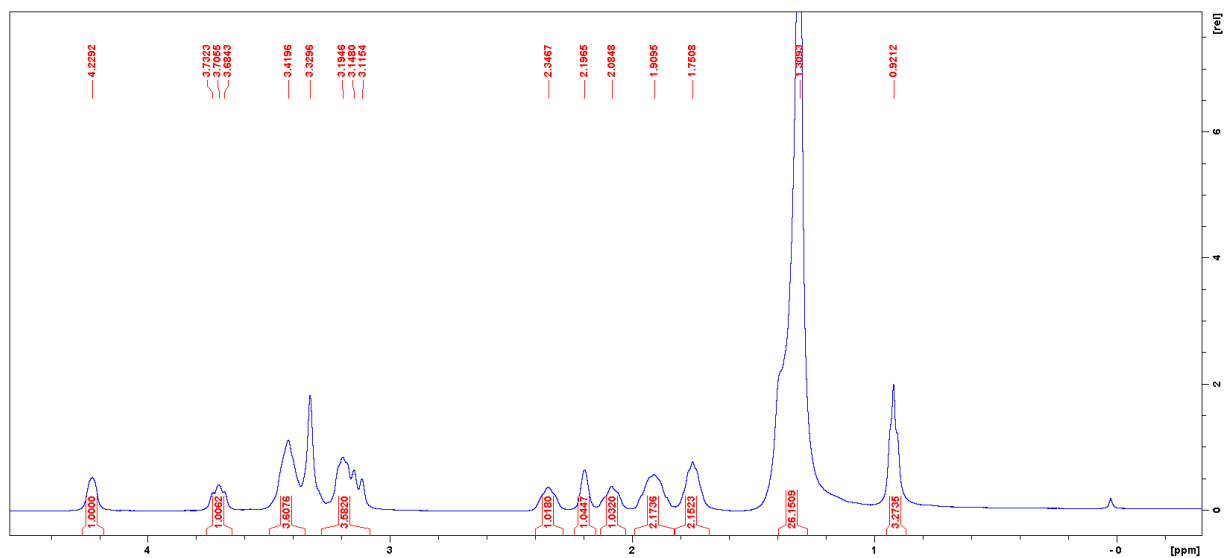
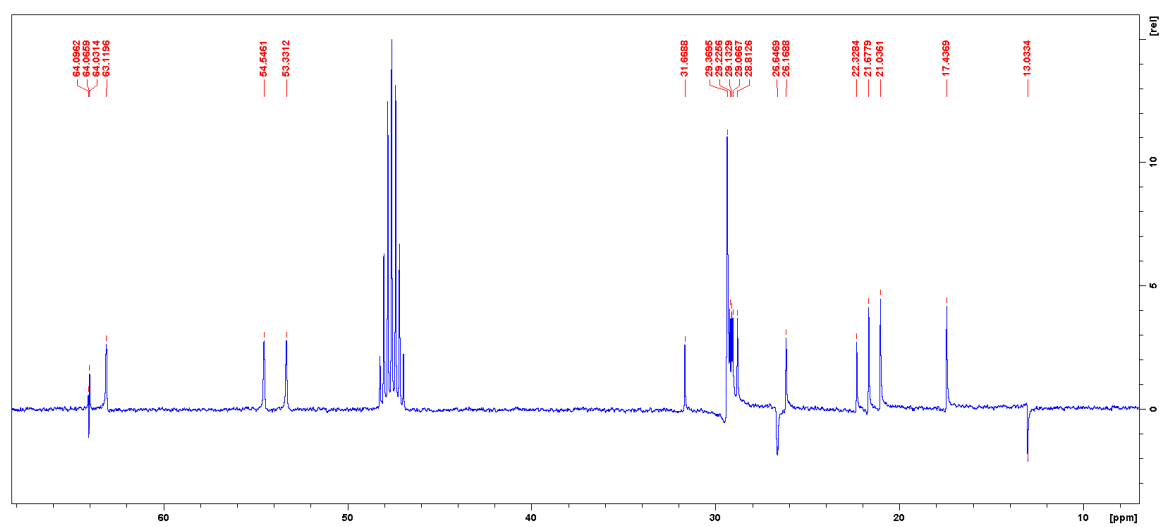
Slika D17. ^1H NMR spektar spoja **12**Slika D18 ^{13}C NMR spektar spoja **12**

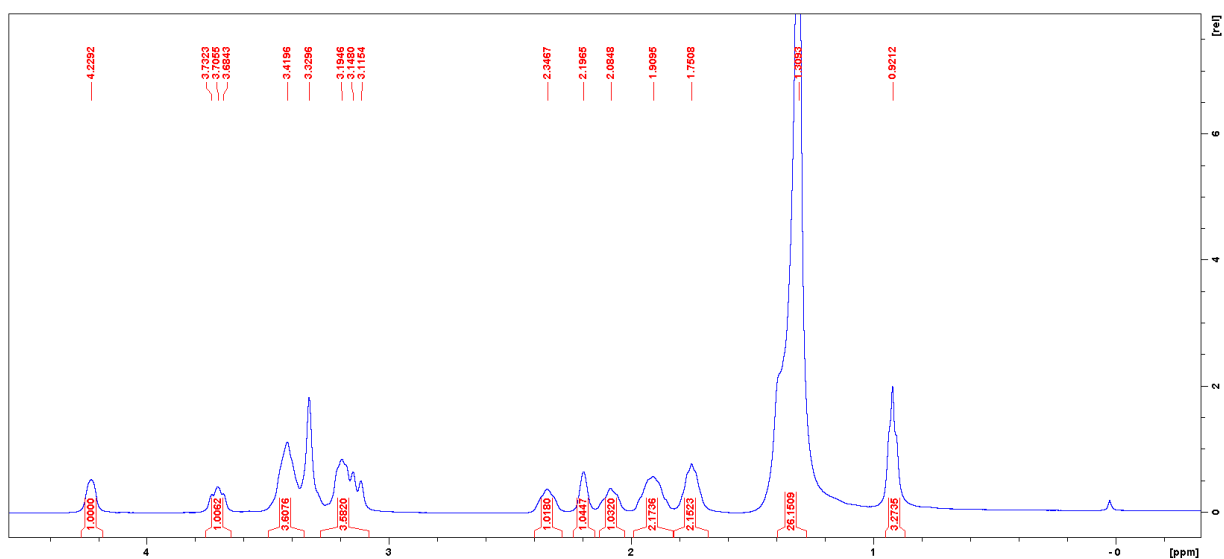
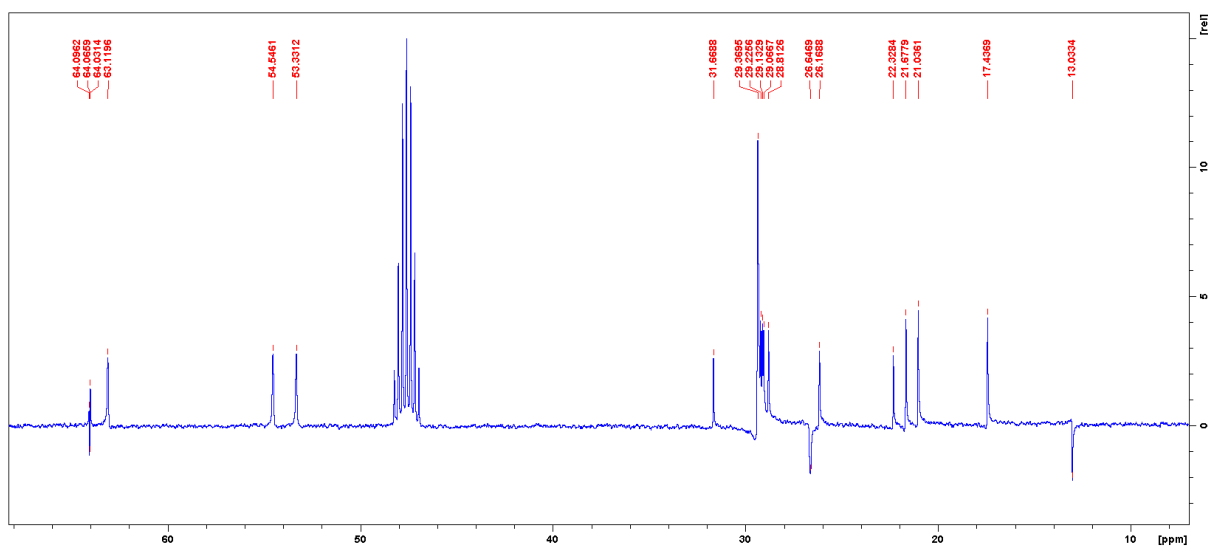
Slika D19. ^1H NMR spektar spoja **13**Slika D20 ^{13}C NMR spektar spoja **13**

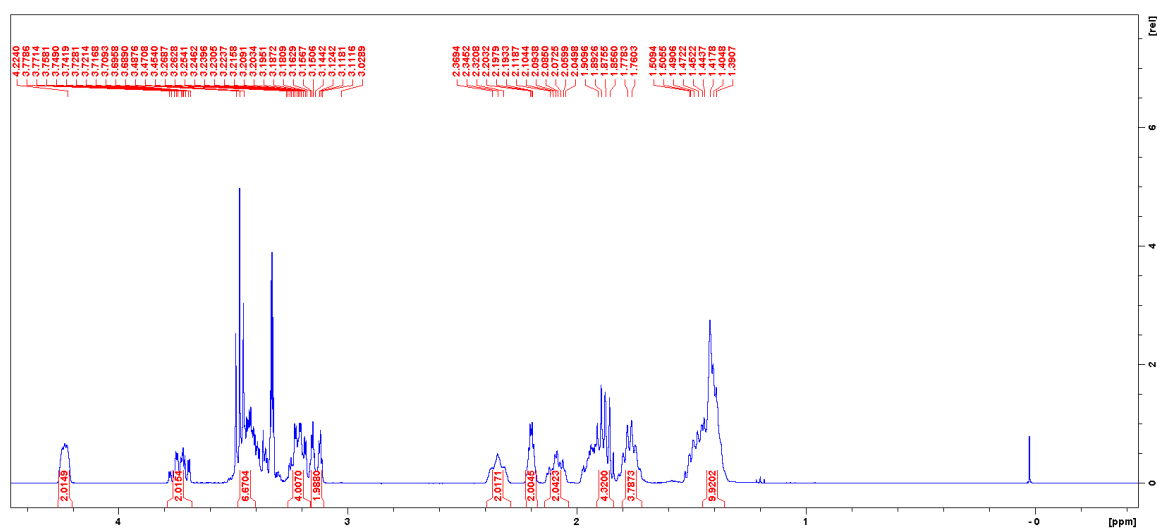
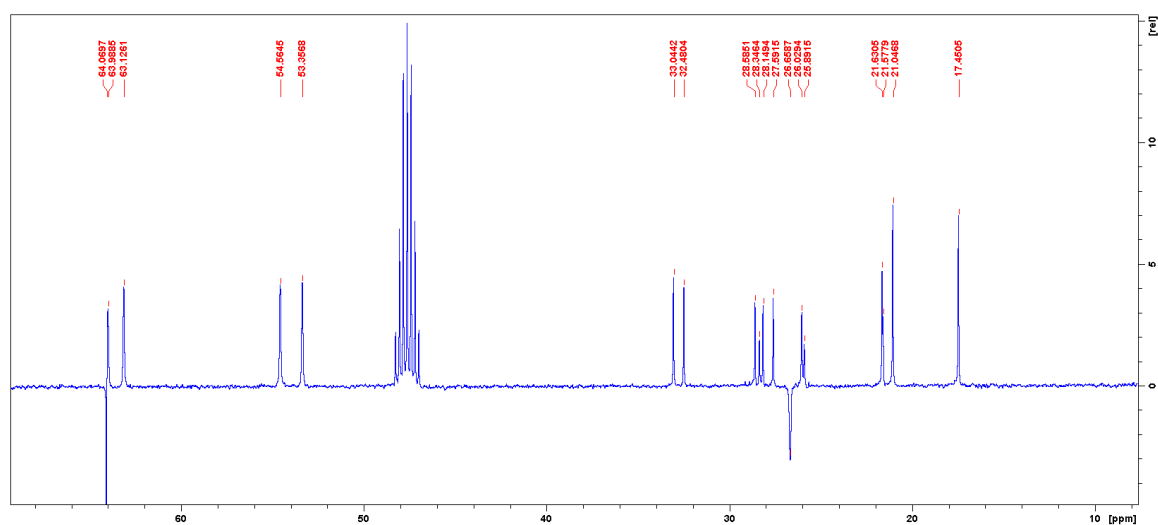
Slika D21. ^1H NMR spektar spoja **14**Slika D22 ^{13}C NMR spektar spoja **14**

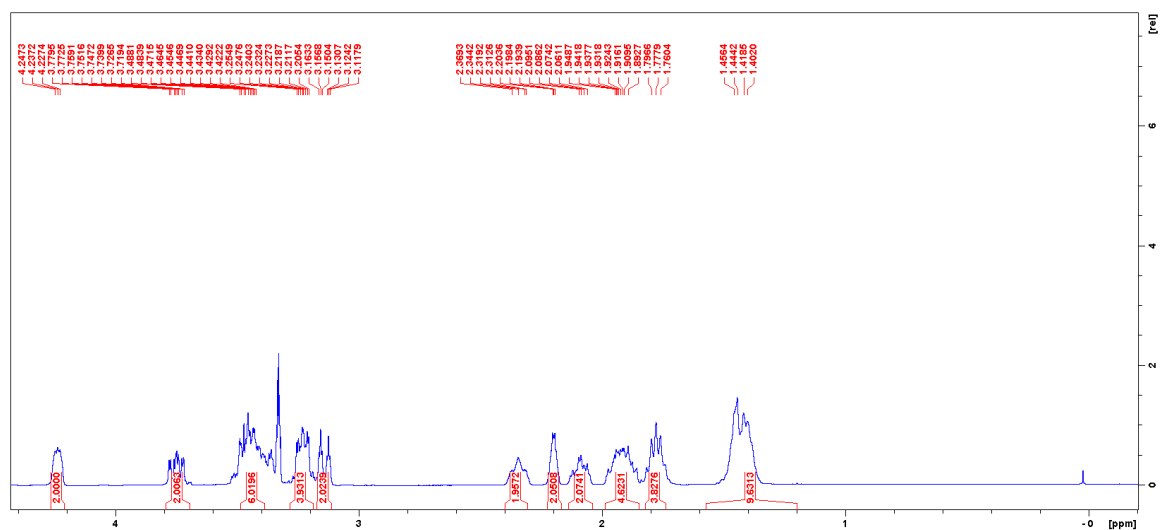
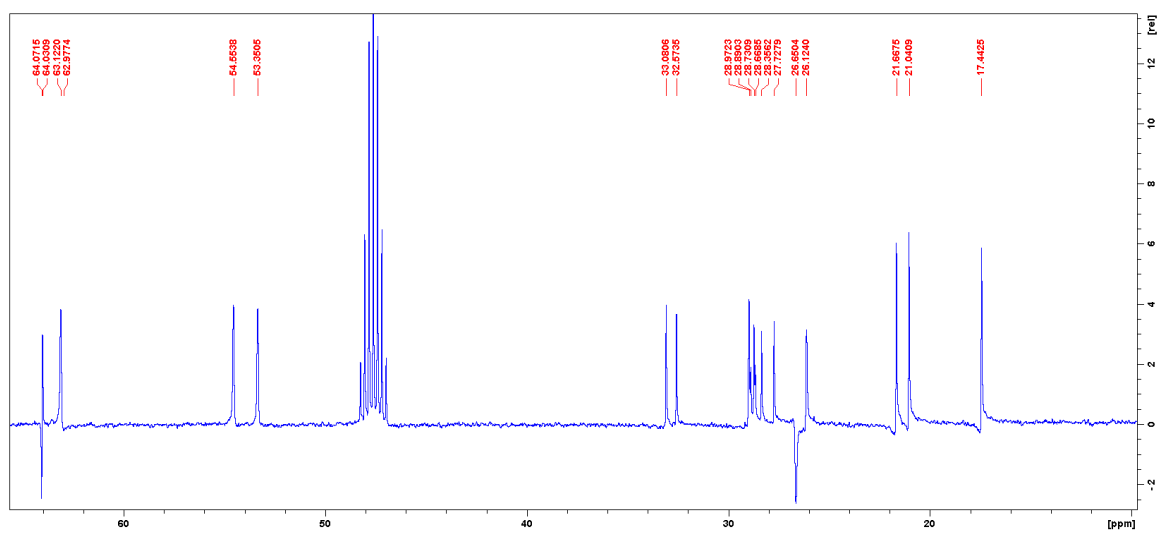
Slika D23. ¹H NMR spektar spoja 15Slika D24 ¹³C NMR spektar spoja 15

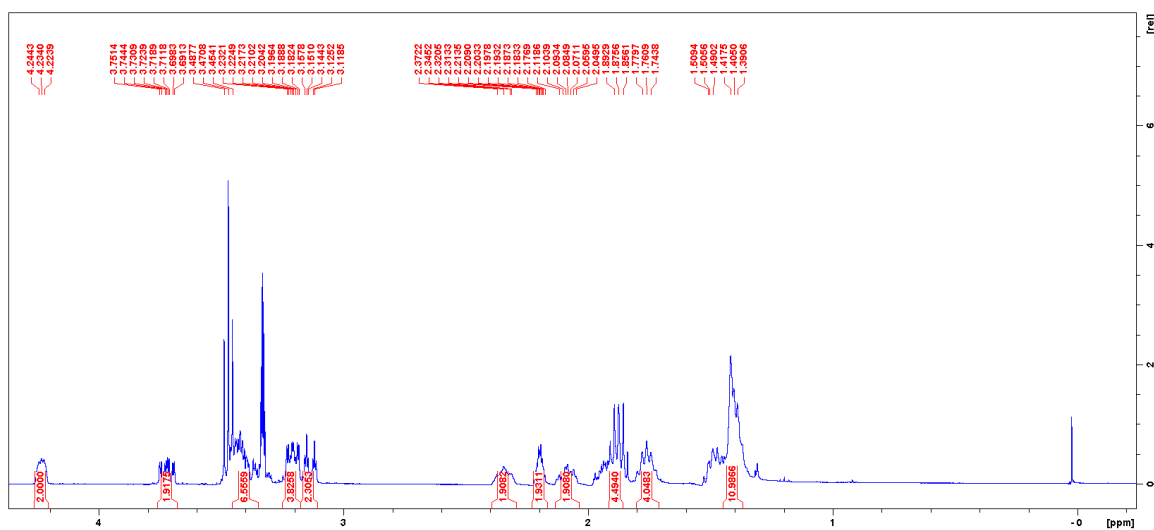
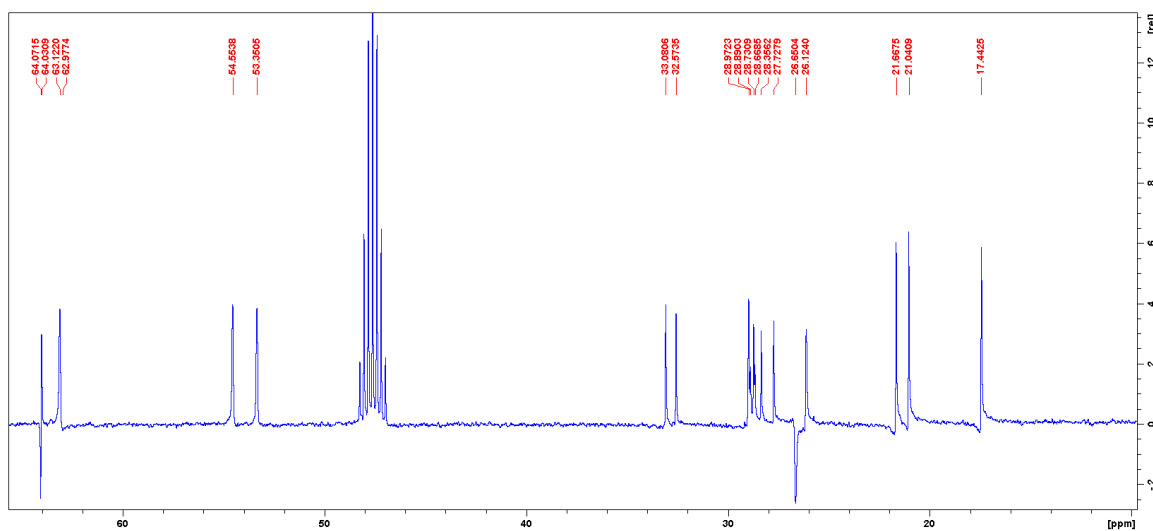
Slika D25. ^1H NMR spektar spoja **16**Slika D26 ^{13}C NMR spektar spoja **16**

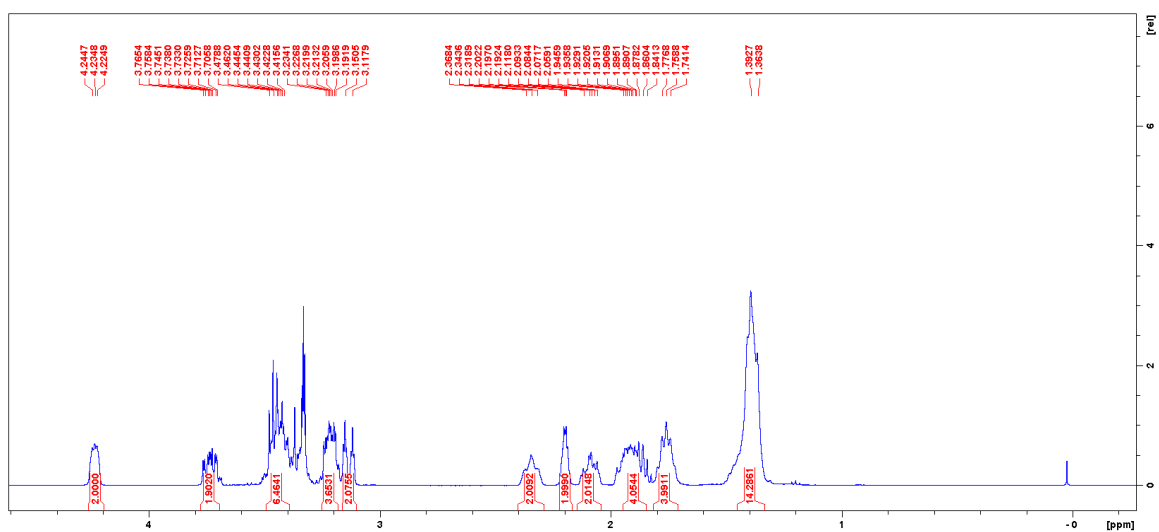
Slika D27. ^1H NMR spektar spoja **17**Slika D28 ^{13}C NMR spektar spoja **17**

Slika D29. ^1H NMR spektar spoja **18**Slika D30 ^{13}C NMR spektar spoja **18**

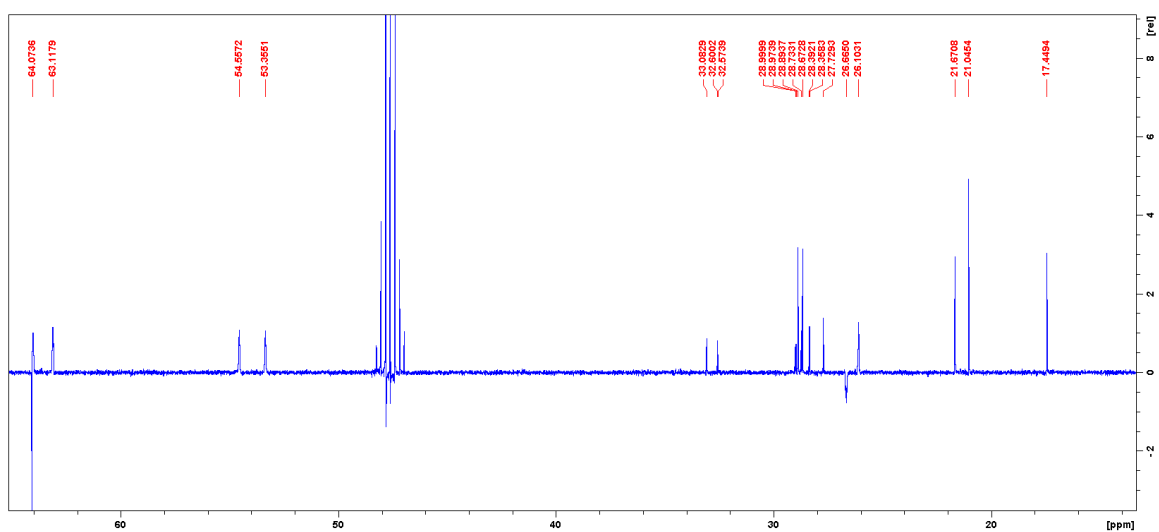
Slika D31. ^1H NMR spektar spoja 19Slika D32. ^{13}C NMR spektar spoja 19

Slika D33. ^1H NMR spektar spoja 20Slika D34 ^{13}C NMR spektar spoja 20

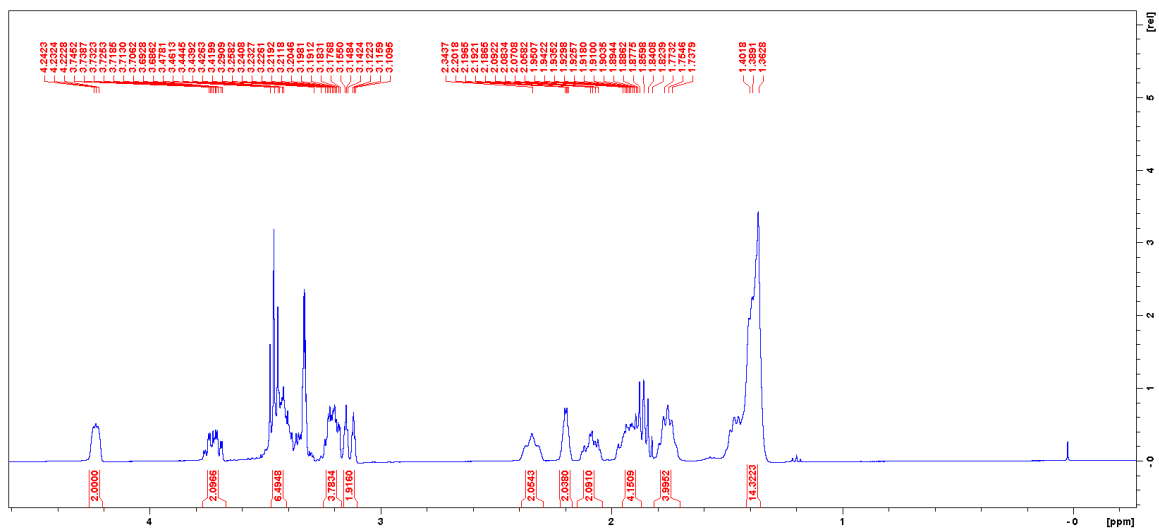
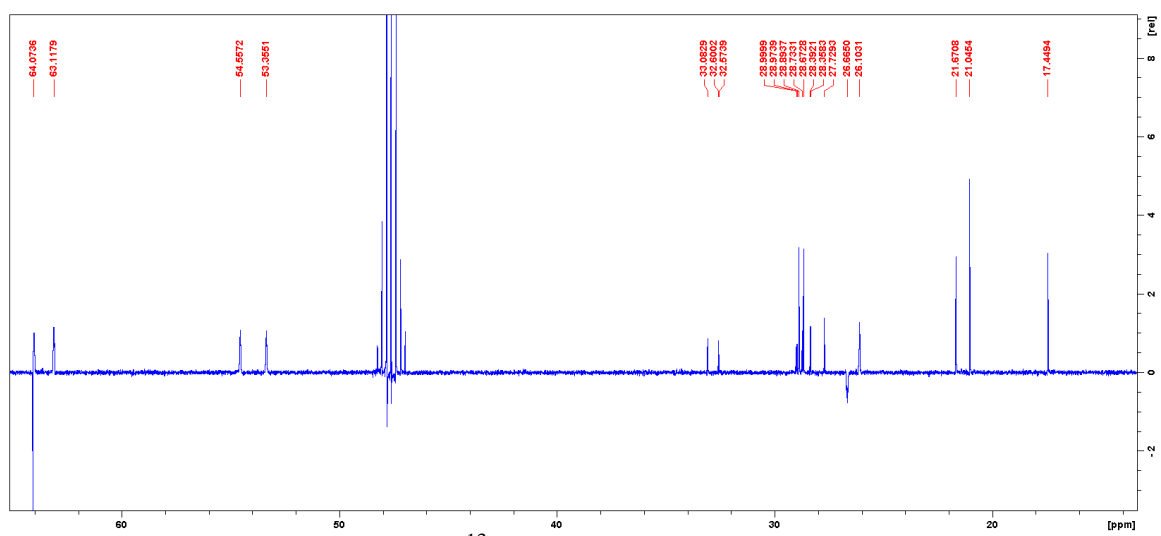
Slika D35. ^1H NMR spektar spoja **21**Slika D36 ^{13}C NMR spektar spoja **21**

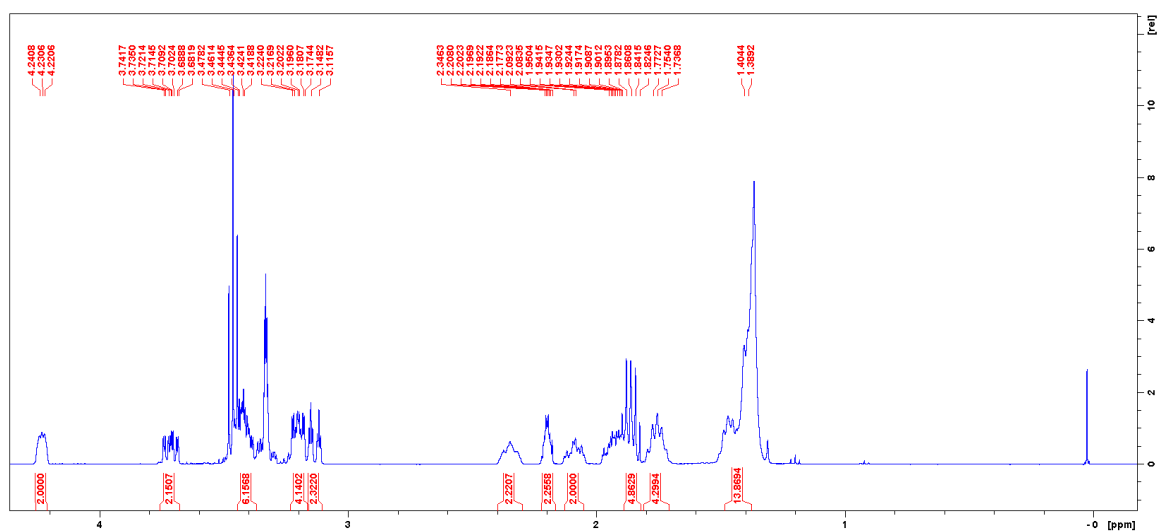
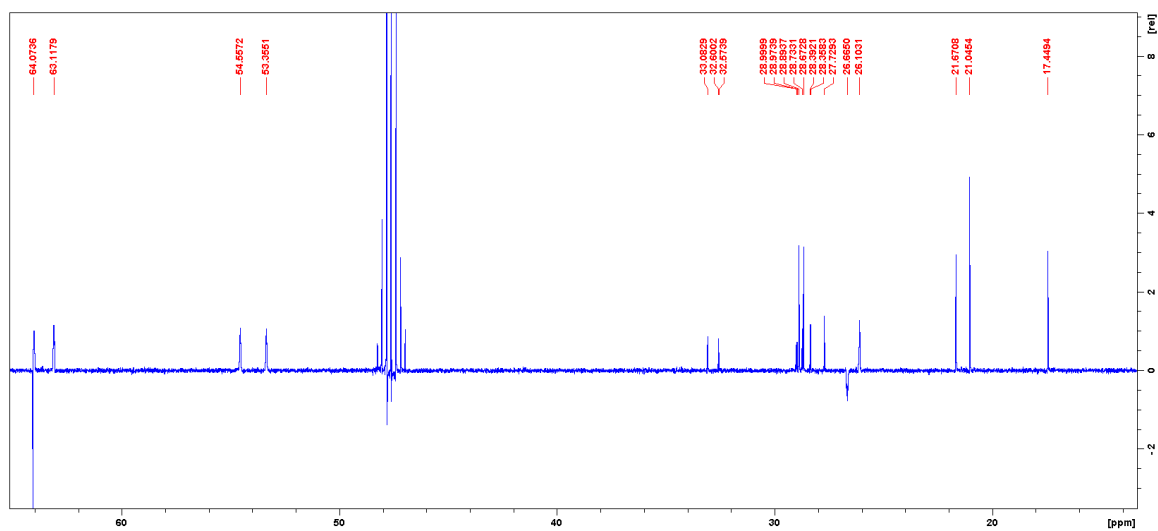


Slika D37 ¹H NMR spektar spoja 22

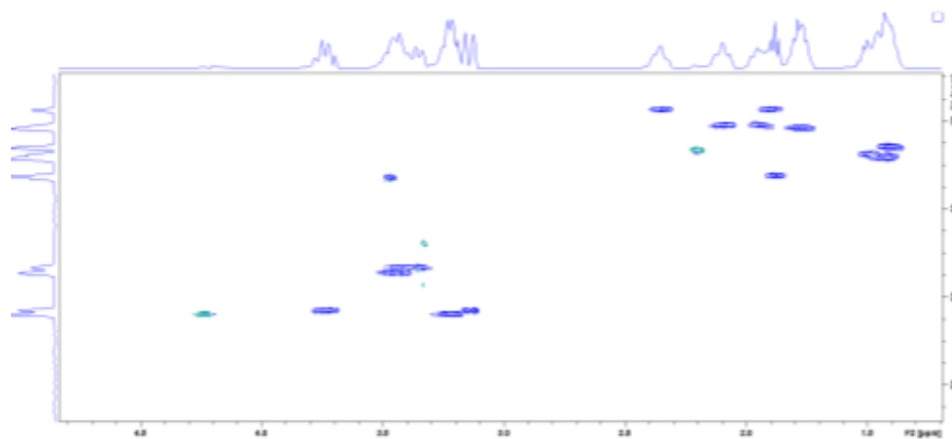


Slika D38 ¹³C NMR spektar spoja 22

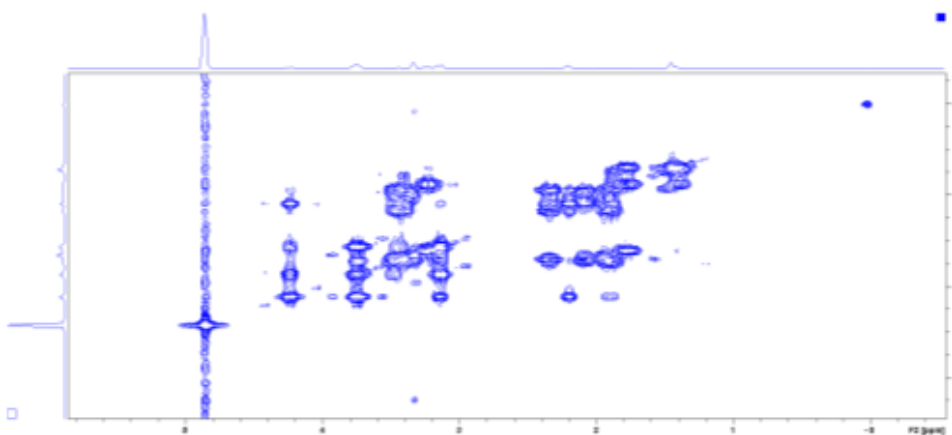
Slika D39 ¹H NMR spektar spoja 23Slika D40 ¹³C NMR spektar spoja 23

Slika D41 ^1H NMR spektar spoja **24**Slika D42 ^{13}C NMR spektar spoja **24**

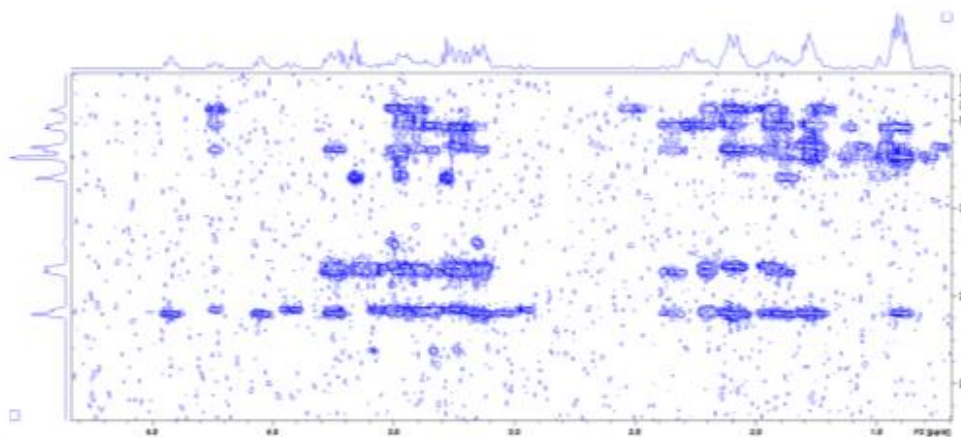
8.2. 2D NMR SPEKTRI



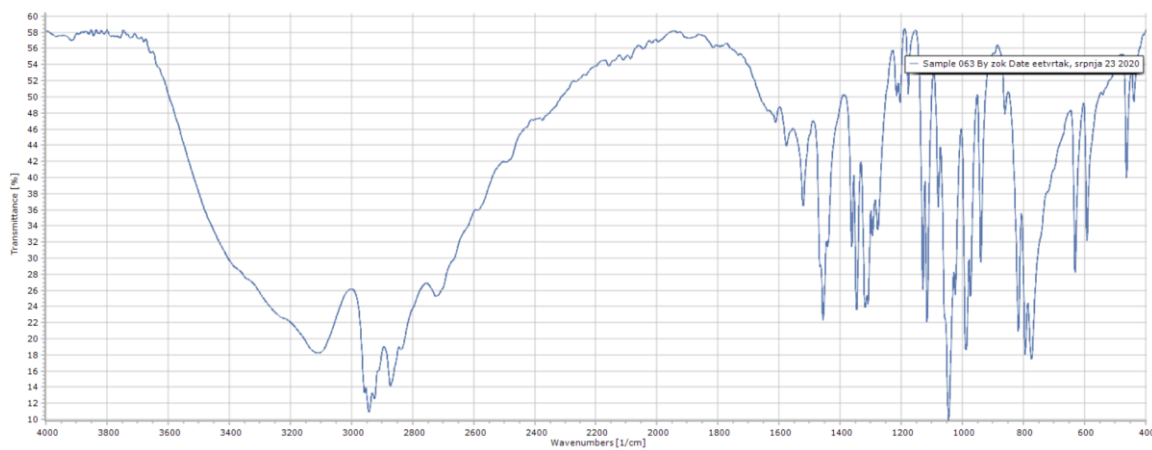
Slika D43. HSQC spektar spoja **19**

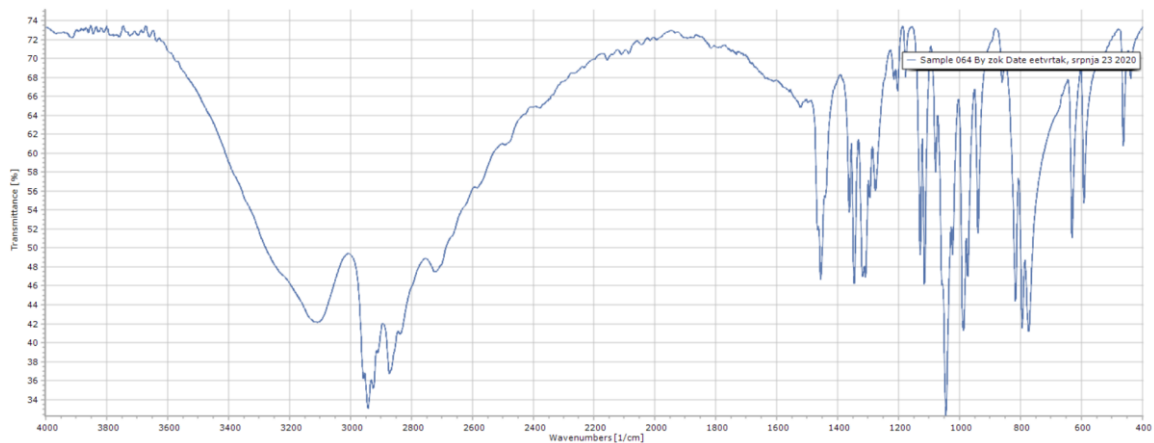


Slika D44. COSY spektar spoja **20**

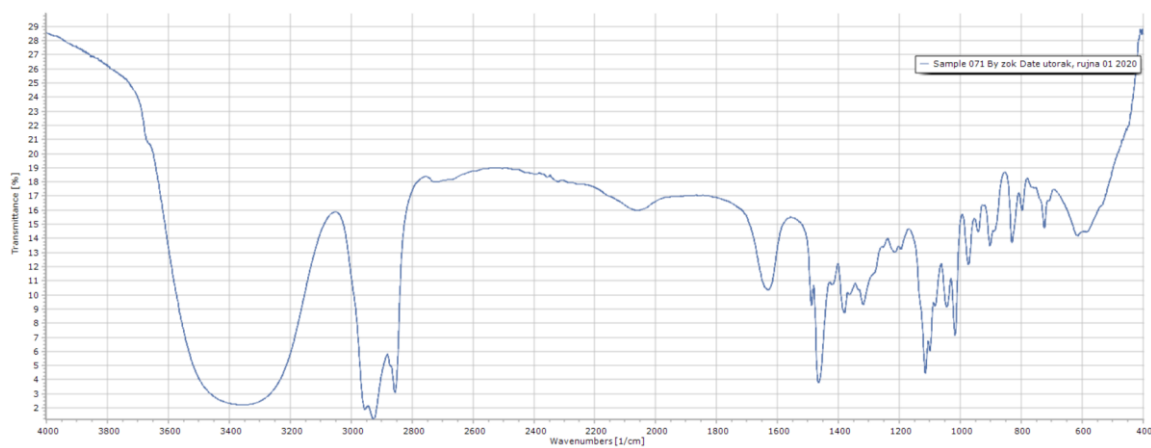
Slika D45. HMBC spektar spoja **20**

8.3. IR SPEKTRI

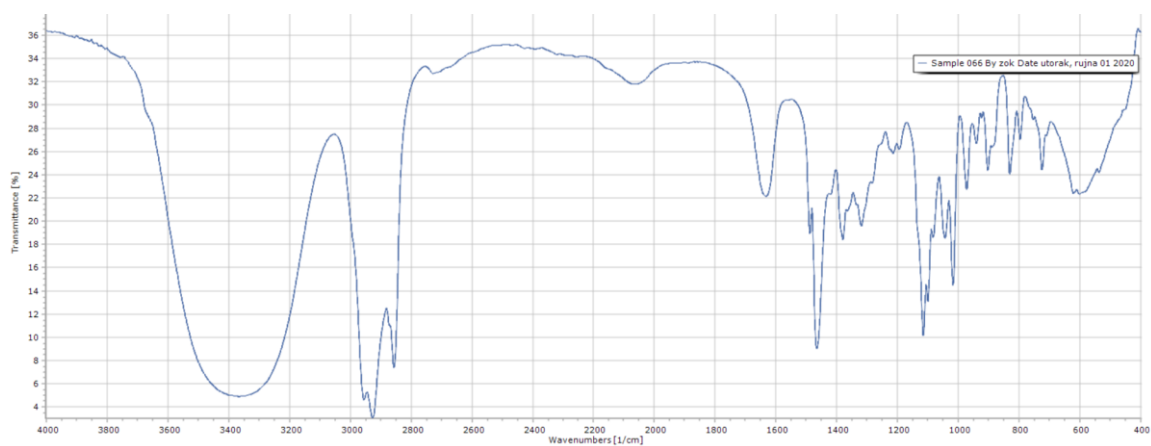
Slika D46. IR spektar spoja **2**



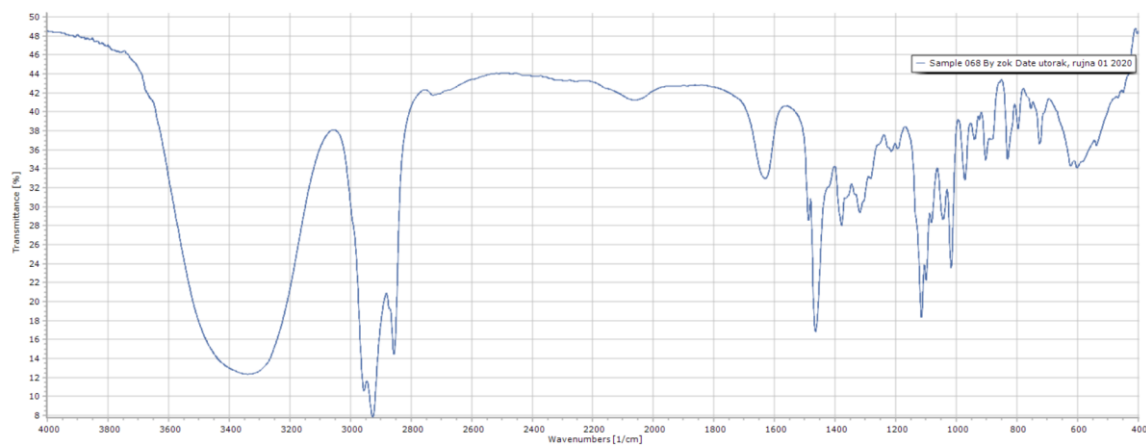
Slika D47. IR spektar spoja 3



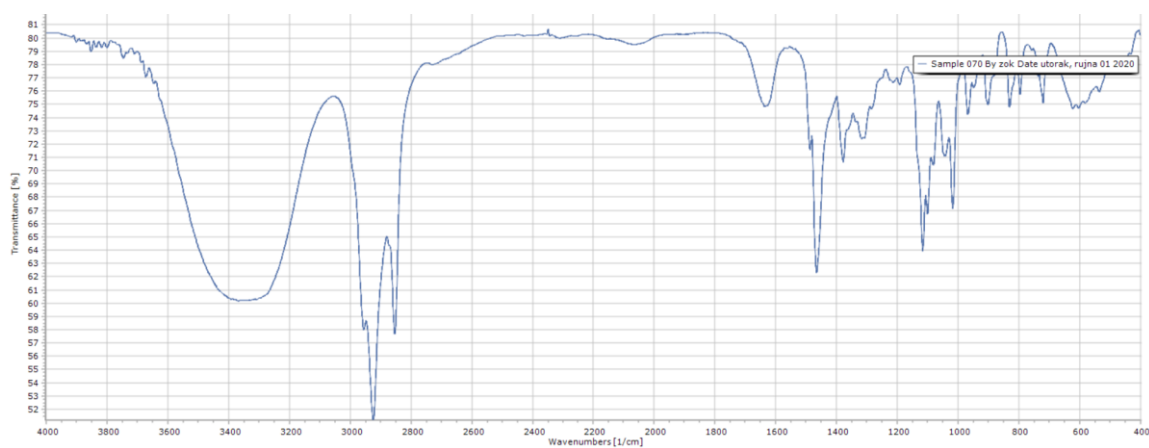
Slika D48. IR spektar spoja 4



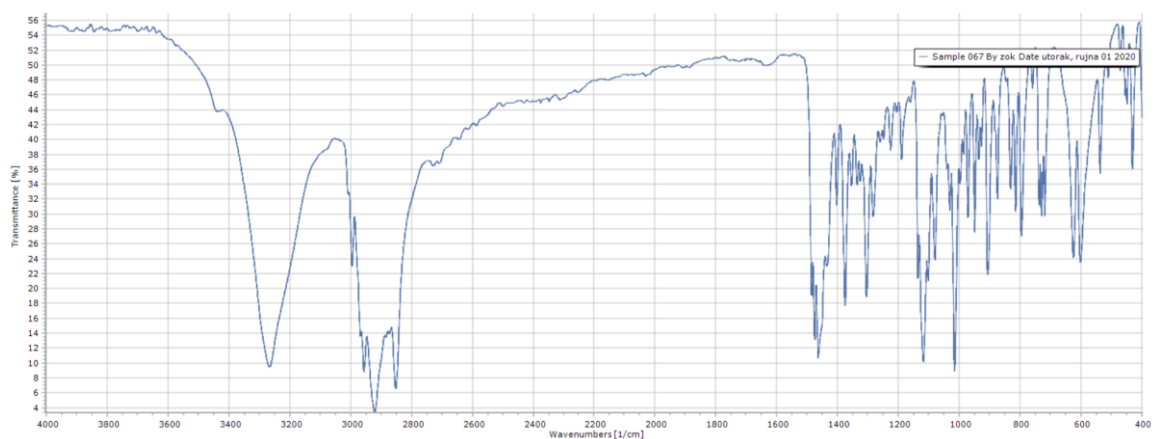
Slika D49. IR spektar spoja 5



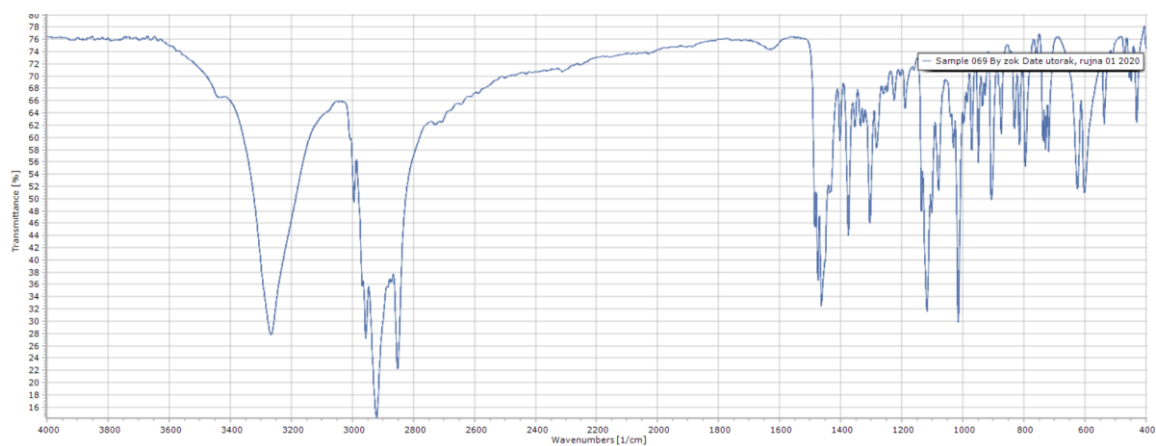
Slika D50. IR spektar spoja 6



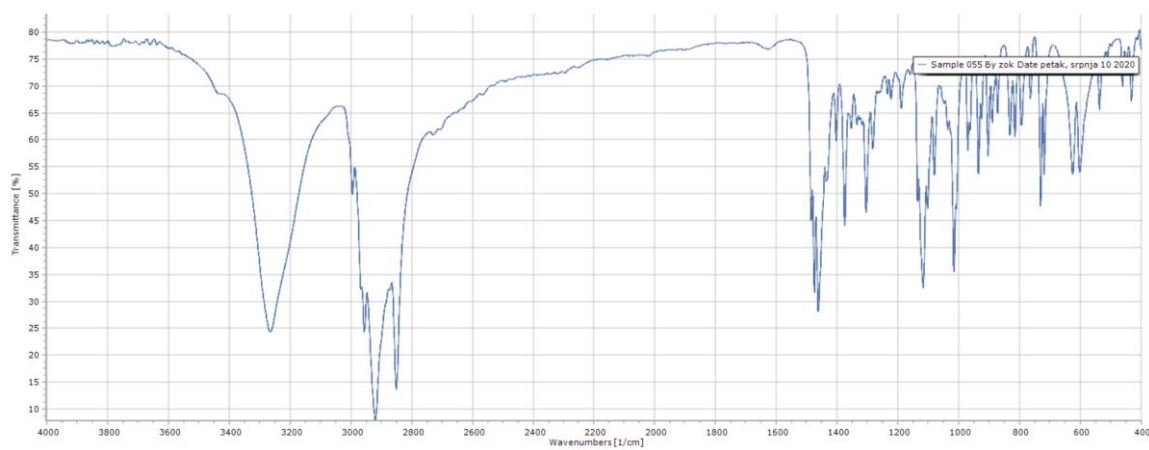
Slika D51. IR spektar spoja 7



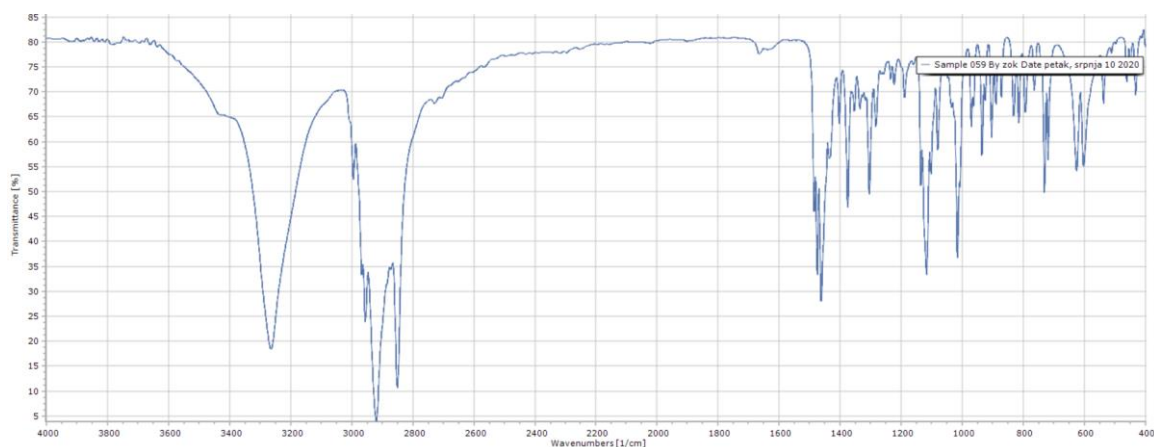
Slika D52. IR spektar spoja 8



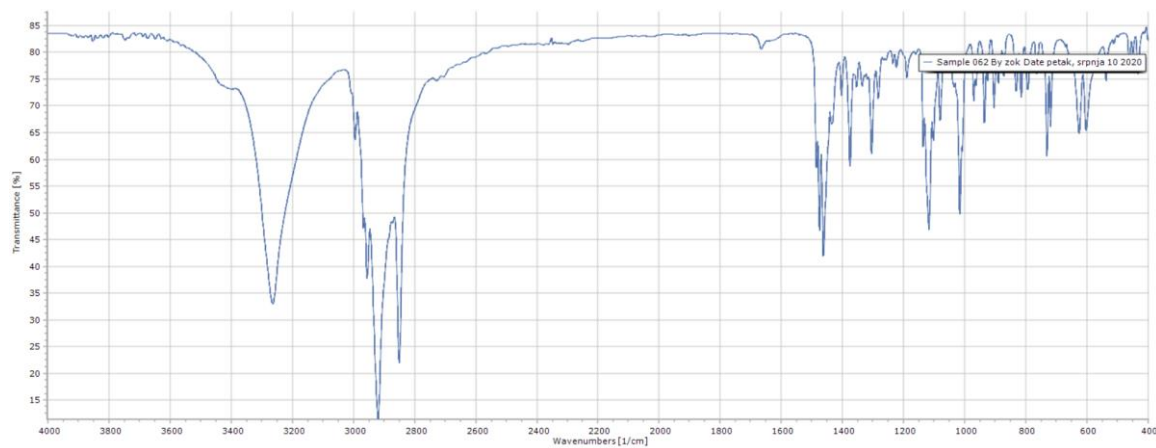
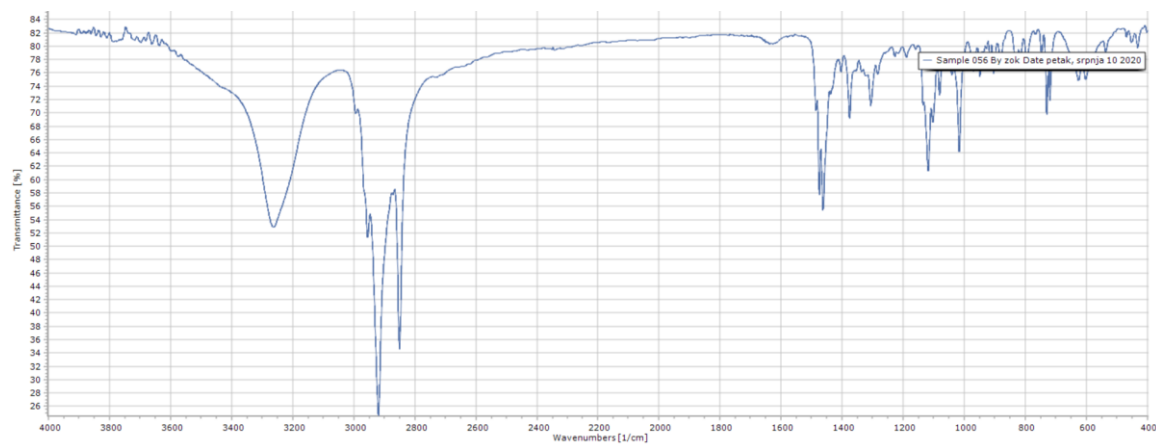
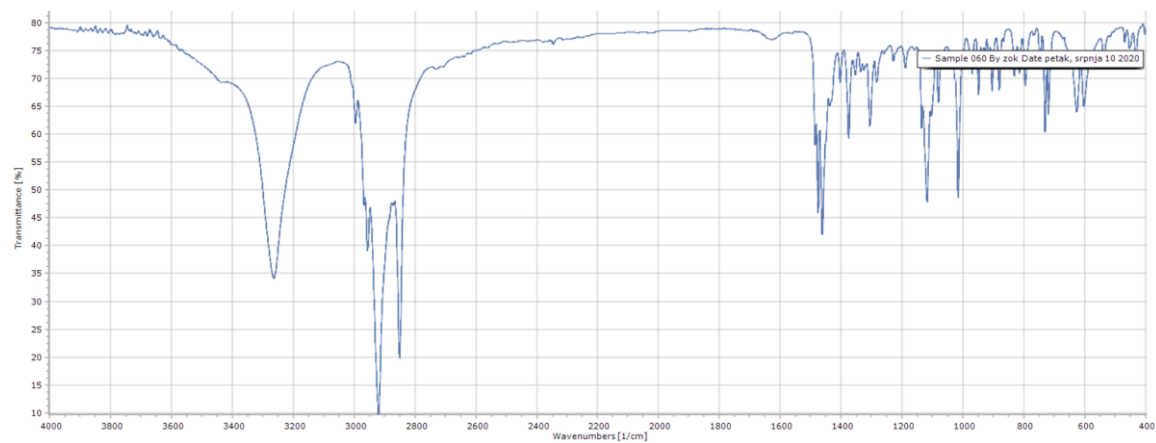
Slika D53. IR spektar spoja 9

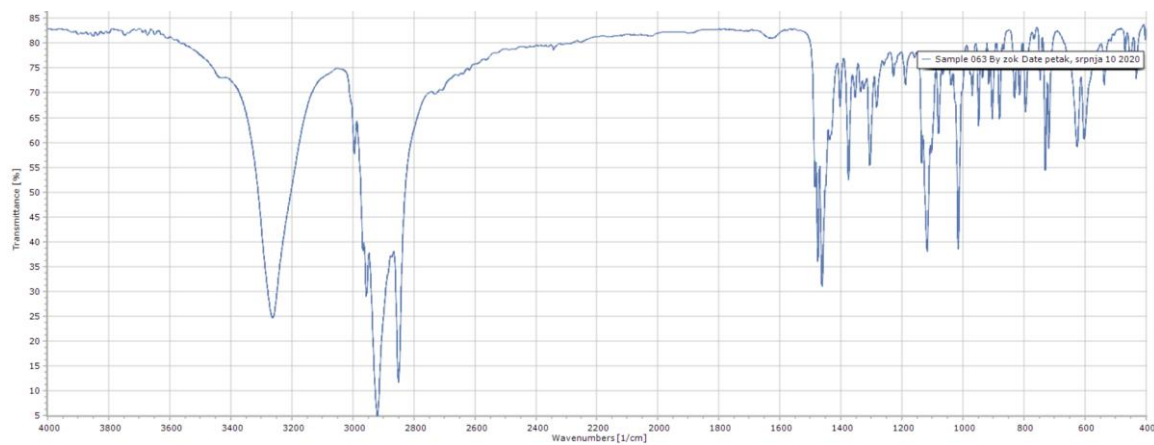


Slika D54. IR spektar spoja 10

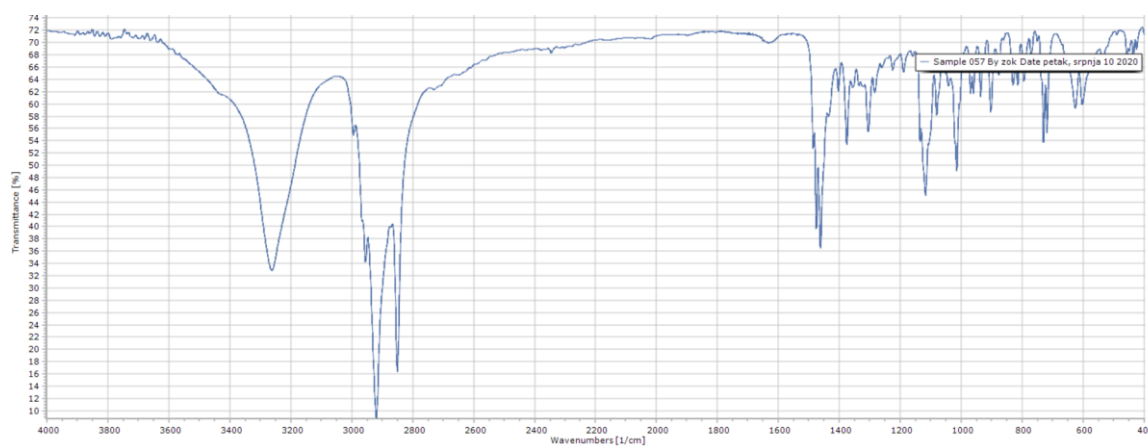


Slika D55. IR spektar spoja 11

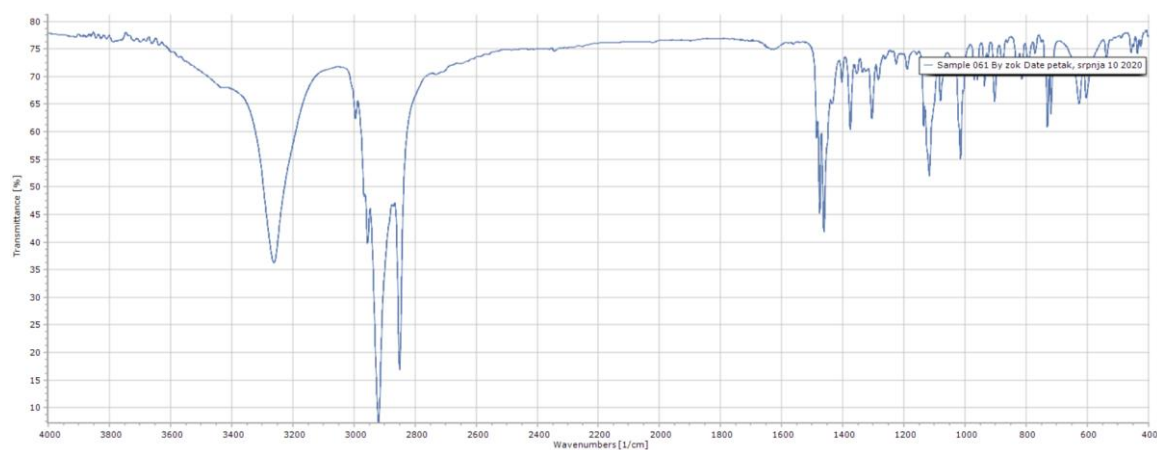
Slika D56. IR spektar spoja **12**Slika D57. IR spektar spoja **13**Slika D58. IR spektar spoja **14**



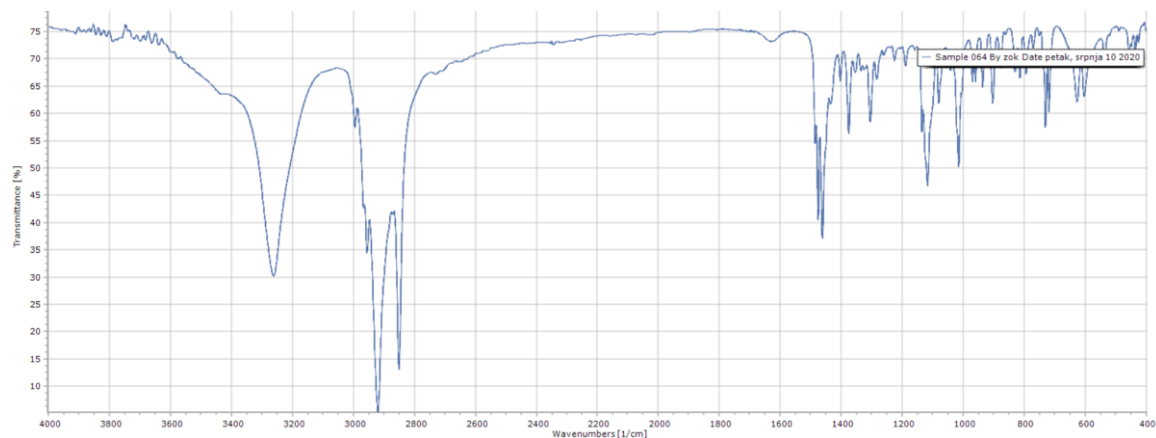
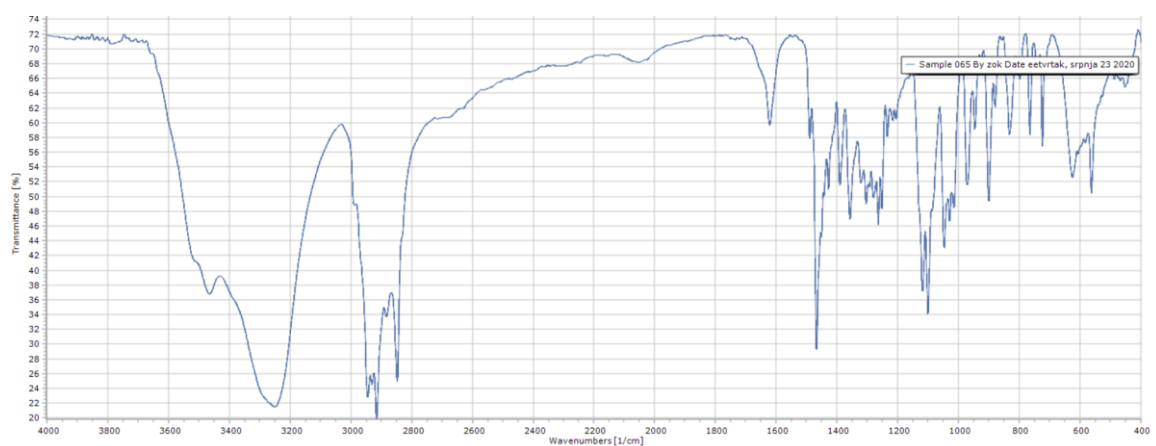
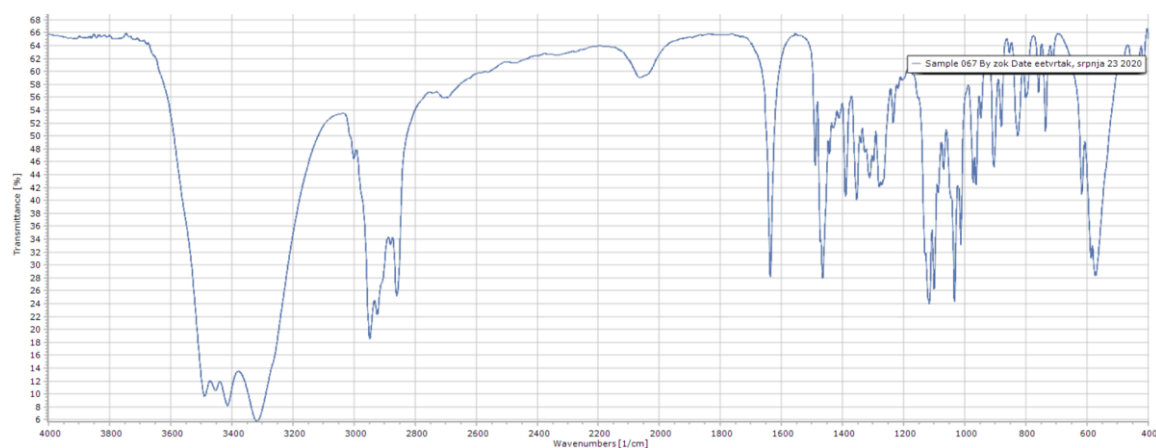
Slika D59. IR spektar spoja 15

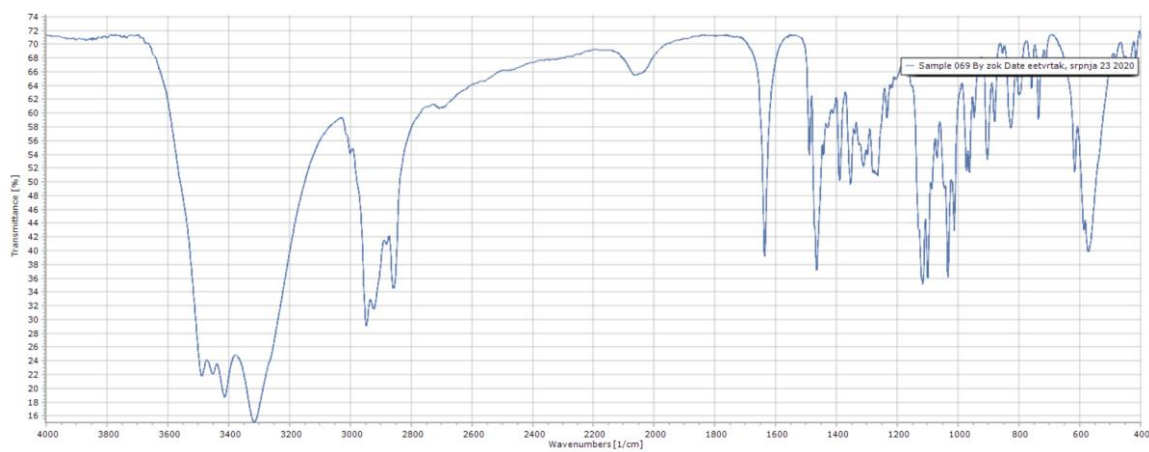


Slika D60. IR spektar spoja 16

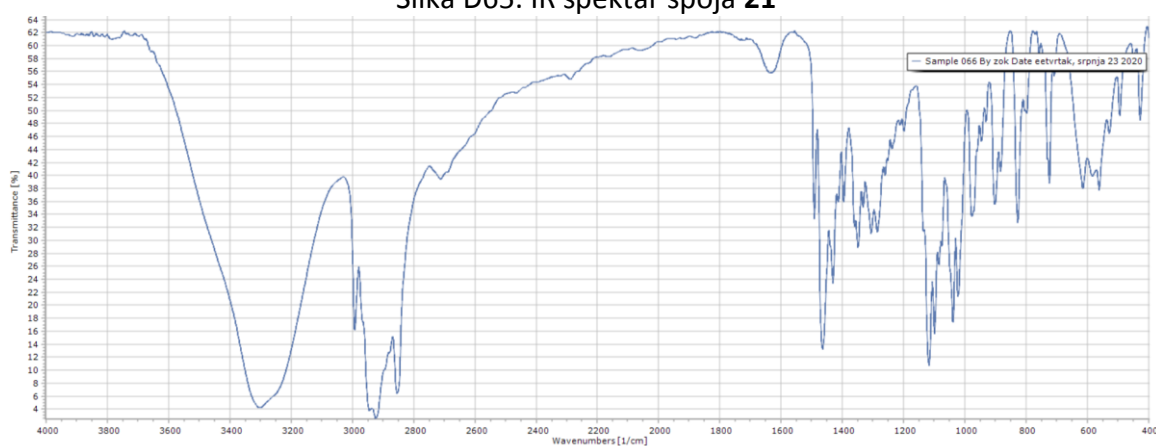


Slika D61. IR spektar spoja 17

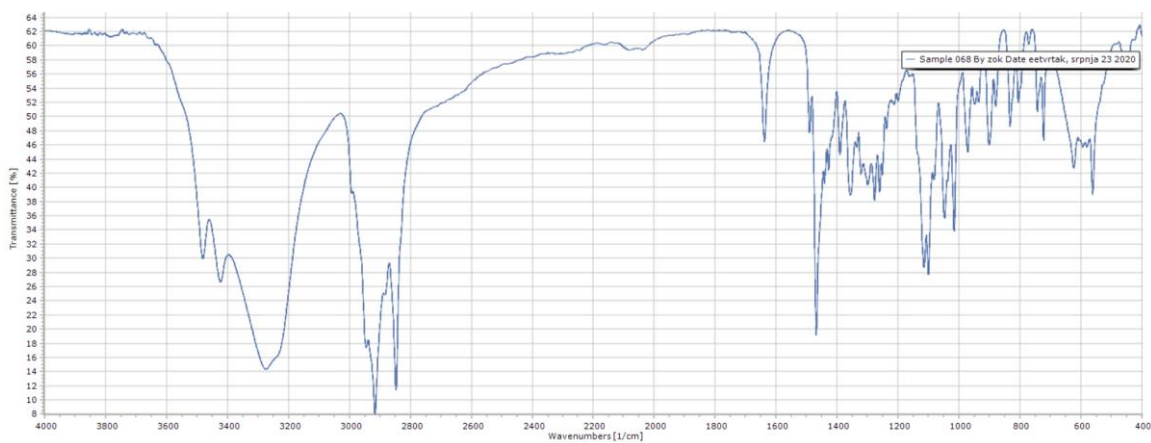
Slika D62. IR spektar spoja **18**Slika D63. IR spektar spoja **19**Slika D64. IR spektar spoja **20**



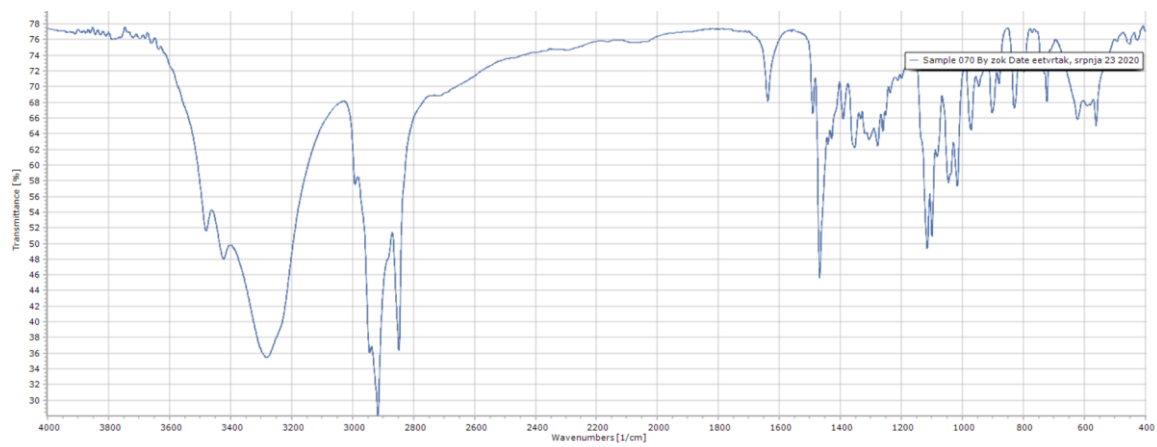
Slika D65. IR spektar spoja 21



Slika D66. IR spektar spoja 22



Slika D67. IR spektar spoja 23

Slika D68. IR spektar spoja **24**

§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Iva Brekalo

Datum rođenja: 27.10.1996.

Mjesto rođenja: Zagreb

Obrazovanje

2003–2011 Osnovna škola Tin Ujević, Zagreb

2011–2015 Srednja škola XVI. gimnazija, Zagreb

2015–2018 Preddiplomski studij kemije, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2015.-2016. Znanstvene čarolije-popularizacija znanosti,

Volonterski projekt Studentske sekcije Hrvatskog

Kemijskog društva, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

2016. 9. otvoreni dan kemije, Dan i noć na PMF-u, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 15. travnja 2016., Zagreb

2017. 10. otvoreni dan kemije, Dan i noć na PMF-u, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 7. travnja 2017. Zagreb

2018. 11. otvoreni dan kemije, Dan i noć na PMF-u, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 13. travnja 2018. Zagreb

2019. 12. otvoreni dan kemije, Dan i noć na PMF-u, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 5. travnja 2019. Zagreb

Ostale vještine

Jezici: engleski, njemački i španjolski

Sport: plivanje, odbojka, stolni tenis

Volontiranje: Crveni Križ Zagreb, Egida centar, pomoć pri učenju

Ostali hobiji: zborsko pjevanje, sviranje gitare

Postignuća

- državna prvakinja u seniorskom natjecanju prve pomoći (2017.)
- višestruka državna prvakinja u plivanju
- zlatno priznanje u natjecanju hrvatskih pjevačkih zborova
- STEM stipendija 2017. / 2018.