

# Priprava para-supstituiranih N-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-onskih alfa-manozida s esterskom vezom na piridinonu

---

Rimac, Antonija

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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:217:338230>

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

Antonija Rimac

**PRIPRAVA *PARA* SUPSTITUIRANIH  
*N*-ARIL-3-HIDROKSI-2-METILPIRIDIN-4-  
ONSKIH  $\alpha$ -MANOZIDA S ESTERSKOM  
VEZOM NA PIRIDINONU**

**Diplomski rad**

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistre kemije

Zagreb, 2017.



Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Vesne Petrović Peroković i neposrednim vodstvom dr. sc. Željke Car.

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom *Sinteza, strukturna analiza i biološka evaluacija peptidomimetika i glikokonjugata* (IP-2014-09-7899).



## Zahvale

*Željela bih se zahvaliti mentorici izv. Prof. Vesni Petrović Peroković na svom uloženom vremenu i trudu te na stručnom vodstvu i savjetima koji su mi uvelike pomogli prilikom pisanja diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se neposrednoj voditeljici dr. sc. Željki Car na uloženom trudu, pruženoj pomoći i podršci tijekom izrade eksperimentalnog dijela rada.*

*Veliko hvala Marini, Ivani, Davoru, Tei, Mateji, Anđeli i Zlati na mnogobrojnim druženjima, savjetima i pozitivnim mislima koje su me uveseljavali svo ovo vrijeme.*

*Hvala svim kolegama i prijateljima koji su mi uljepšali dane studiranja.*

*Veliko hvala Goranu na neizrecivoj potpori i razmijevanju i na tome što si uvijek uz mene.*

*Na kraju, zahvaljujem se svojoj obitelji na potpori i pruženim savjetima.*

*Zagreb, prosinac 2017.*

*Antonija Rimac*



# Sadržaj

SAŽETAK.....	IX
ABSTRACT .....	XI
§ 1. UVOD .....	1
1.1. Cilj i svrha rada .....	3
§ 2. LITERATURNI PREGLED .....	5
2.1. Piridinoni .....	5
2.2. Hidroksipiridinoni .....	7
2.2.1. Sinteza 3-hidroksipiridin-4-ona (3,4-HP) .....	8
2.3. Manokonjugati.....	12
2.3.1. Antiadhezijski učinak manokonjugata .....	12
2.3.2. Piridinonski manokonjugati .....	13
2.4. Metode pripreve estera .....	14
2.4.1. Fischerova esterifikacija .....	15
2.4.2. Steglichova metoda .....	16
2.4.3. Transesterifikacija.....	19
2.4.4. Priprava estera reakcijom alkohola i acil-halogenida ili kiselinskih anhidrida.....	20
2.4.5. Mitsunobu reakcija.....	21
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	23
3.1. Materijali i metode .....	23
3.2. Priprava <i>para</i> supstituiranih derivata <i>N</i> -aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona ( <b>1-4</b> ) .....	24
3.2.1. Općeniti postupak pripreve spojeva <b>1-4</b> .....	24
3.2.1.1. Priprava 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-ona ( <b>1</b> ).....	24
3.2.1.2. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-( <i>p</i> -metilfenil)piridin-4-ona ( <b>2</b> ).....	25
3.2.1.3. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-( <i>p</i> -metoksifenil)piridin-4-ona ( <b>3</b> ).....	26
3.2.1.4. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-( <i>p</i> -nitrofenil)piridin-4-ona ( <b>4</b> ).....	27
3.3. Priprava 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze ( <b>5</b> ).....	28
3.4. Priprava 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze ( <b>6</b> ) .....	28
3.5. Priprava <i>tert</i> -butil-2-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetata ( <b>7</b> ).....	29
3.6. Priprava 2-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)octene kiseline ( <b>8</b> ).....	30
3.7. Pokušaj pripreve piridinonskog manozida <b>9</b> iz spojeva <b>2</b> i <b>8</b> – sintetski put a).....	31
3.7.1. Reakcija u prisutnosti EDC $\times$ HCl/DMAP .....	32
3.7.2. Reakcija u prisutnosti EDC $\times$ HCl/HOBt .....	33



3.7.3. Reakcija u prisutnosti DCC/DMAP .....	33
3.7.4. Reakcija u prisutnosti DCC.....	34
3.7.5. Reakcija u prisutnosti DCC/HOBt.....	34
3.8. Pokušaj pripreve piridinonskog estera <b>11</b> – novog prekursora za sintezu spoja <b>9</b> sintetskim putem b) .....	35
3.8.1. Reakcija spoja <b>2</b> i bromoctene kiseline uz EDC×HCl/DMAP.....	35
3.8.2. Reakcija spoja <b>2</b> i bromacetil-bromida .....	36
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA.....	37
4.1. Uvod.....	37
4.2. Priprava 3,4-HP .....	39
4.3. Priprava manoznih prekursora.....	411
4.3.1. Priprava 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze ( <b>5</b> ).....	41
4.3.2. Priprava 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze ( <b>6</b> ).....	42
4.3.3. Priprava <i>tert</i> -butil-2-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetata ( <b>7</b> )..	43
4.3.4. Priprava 2-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)octene kiseline ( <b>8</b> )....	45
4.4. Pokušaji pripreve piridinonskih manozida .....	46
4.4.1. Pokušaj pripreve piridinonskog manozida <b>9</b> iz spojeva <b>2</b> i <b>8</b> – sintetski put a).....	47
4.4.1.1. Reakcije u prisutnosti EDC×HCl kao karbodiimidnog reagensa.....	47
4.4.1.2. Reakcije u prisutnosti DCC kao karbodiimidnog reagensa.....	49
4.4.2. Pokušaj pripreve piridinonskog estera <b>11</b> – novog prekursora za sintezu piridinonskog manozida <b>9</b> sintetskim putem b) .....	49
§ 5. ZAKLJUČAK.....	51
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	53
§ 7. LITERATURNI IZVORI .....	55
§ 8. ŽIVOTOPIS.....	LIX



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Diplomski rad

## SAŽETAK

### PRIPRAVA *PARA* SUPSTITUIRANIH *N*-ARIL-3-HIDROKSI-2-METILPIRIDIN-4-ONSKIH $\alpha$ -MANOZIDA S ESTERSKOM VEZOM NA PIRIDINONU

Antonija Rimac

U ovom diplomskom radu opisane su sinteze osnovnih prekursora za pripravu *para* supstituiranih *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-onskih  $\alpha$ -D-manozida s esterskom vezom na piridinonu. Piridinonski prekursori **1-4** priređeni su izravnim postupkom iz maltola i anilina ili *p*-supstituiranih derivata anilina (*p*-metil-, *p*-metoksi- i *p*-nitroanilina) uz dodatak kiselog katalizatora (*p*-TsOH) zagrijavanjem u zatvorenoj staklenoj cijevi. Manozna podjedinica 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)octena kiselina, spoj **8**, priređena je u nekoliko koraka iz polazne D-manoze. Ispitane su mogućnosti esterifikacije manozilirane octene kiseline **8** s odabranim piridinonskim alkoholom, spojem **2**, uz karbodiimidne reagense (EDC×HCl, DCC) i nukleofilne katalizatore (DMAP, HOBt). U reakcijama spojeva **2** i **8** uz DCC i DCC/DMAP nastaje u tragovima acetylirani produkt **9**, 2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-il-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetat, čija je struktura potvrđena spektrometrijom masa. Reakcijom istih spojeva uz EDC×HCl/DMAP ili EDC×HCl/HOBt nastao je neželjeni produkt, spoj **10**, metil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetat.

Strukture svih priređenih spojeva određene su spektroskopijom NMR ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ ) i/ili spektrometrijom masa (MS).

(57 + XIV stranica, 16 slika, 40 shema, 44 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: *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-oni, esterifikacija, manozilirana octena kiselina, piridinonski  $\alpha$ -D-manokonjugati

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković  
Neposredni voditelj: Dr. sc. Željka Car, stručni savjetnik

Ocjenitelji:

1. Izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković
  2. Izv. prof. dr. sc. Željka Soldin
  3. Izv. prof. dr. sc. Sanda Rončević
- Zamjena: Doc. dr. sc. Ivana Biljan

Datum diplomskog ispita: 18.12.2017





University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### PREPARATION OF *PARA* SUBSTITUTED *N*-ARYL-3-HYDROXY-2-METHYLPYRIDIN-4-ONE $\alpha$ -MANNOSIDES WITH ESTER BOND ON PYRIDINONE PART

Antonija Rimac

The syntheses of the main precursors needed for the preparation of the *para* substituted *N*-aryl 3-hydroxy-2-methylpyridin-4-one  $\alpha$ -D-mannosides with the ester bond on the pyridinone part were described in this diploma thesis. Pyridinone derivatives **1-4** were prepared first using direct approach from maltol and aniline or *p*-substituted aniline derivatives (*p*-methyl-, *p*-methoxy- and *p*-nitroaniline) with the addition of the acid catalyst (*p*-TsOH) in an autoclave. Mannose subunit 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)acetic acid, compound **8**, was prepared in several steps from D-mannose. The esterification of mannosylated acetic acid **8** with the selected pyridinone alcohol, compound **2**, was explored through several synthetic pathways using carbodiimide reagents (EDC $\times$ HCl, DCC) and nucleophilic catalysts (DMAP, HOBt). An unwanted byproduct, compound **10**, methyl 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)acetate, has formed in the reactions of derivatives **2** and **8** with EDC $\times$ HCl/DMAP or EDC $\times$ HCl/HOBt as reagents.

Structures of all prepared compounds were determined using NMR spectroscopy ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ ) and/or mass spectrometry (MS).

(57 + XIV pages, 16 pictures, 40 schemes, 44 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: *N*-aryl 3-hydroxy-2-methylpyridin-4-ones, esterification, mannosylated acetic acid, pyridinone  $\alpha$ -D-mannoconjugates

Mentor: Dr. Vesna Petrović Peroković, Associate Professor  
Assistant mentor: Dr. Željka Car

Reviewers:

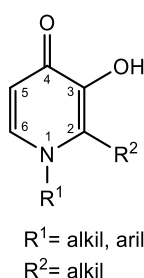
1. Dr. Vesna Petrović Peroković, Associate Professor
  2. Dr. Željka Soldin, Associate Professor
  3. Dr. Sanda Rončević, Associate Professor
- Substitute: Dr. Ivana Biljan, Assistant Professor

Date of exam: December 18<sup>th</sup>, 2017



## § 1. UVOD

Hidroksipiridinoni (HP) su skupina heterocikličkih aromatskih spojeva s dušikovim atomom u prstenu te hidroksilnom skupinom i keto-skupinom vezanima na prsten. S obzirom na položaj ovih dviju skupina u odnosu na dušikov atom u prstenu, hidroksipiridinone dijelimo na 1-hidroksipiridin-2-one (1,2-HP), 3-hidroksipiridin-2-one (3,2-HP) i 3-hidroksipiridin-4-one (3,4-HP).<sup>1,2</sup> Najproučavanija skupina hidroksipiridinona su 3,4-HP kod kojih su hidroksilna skupina i keto-skupina vezane na položaje 3 i 4 prstena. Dušikov atom u prstenu može biti supstituiran alkilnim ili arilnim supstuentima (Slika 1).<sup>3</sup>



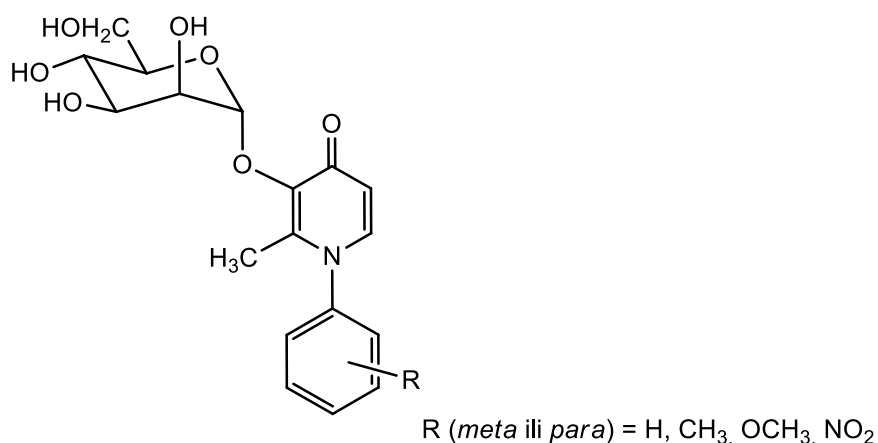
Slika 1: Općenita strukturalna formula 3-hidroksipiridin-4-ona (3,4-HP)

Derivati hidroksipiridinona, posebno 3,4-HP, pokazuju različite biološke učinke poput antibakterijskog, antitumorskog, antimalarijskog učinka, djeluju kao antidementici što se povezuje i s njihovim antioksidativnim djelovanjem.<sup>3,4,5</sup> Osim toga, 3,4-HP dobri su kelatori metala, poput Fe<sup>3+</sup> ili Al<sup>3+</sup>, ali i brojnih drugih. Svojstvo keliranja ima svoju primjenu pri uklanjanju metalnih iona koji se prekomjerno nakupljaju u organizmu kod nekih oboljenja, primjerice Fe<sup>3+</sup> kod talasemije, te stoga kažemo da su dobri kelatoterapeutici. Njihov kelirajući učinak može se koristiti i za spektrofotometrijsko određivanje odgovarajućih metalnih iona.<sup>6</sup>

Nekoliko posljednjih godina u fokusu istraživanja koja se provode na Zavodu za organsku kemiju su strukturne modifikacije 3,4-HP koje idu u dva smjera. Jedan dio istraživanja usmjeren je ka pripravi lipofilnih derivata 3,4-HP, prvenstveno adamantilnih, koji pokazuju antitumorsko djelovanje.<sup>7</sup> Drugi dio istraživanja usmjeren je ka pripravi 3,4-HP manozida, odnosno vezanju manoze na piridinonske alkohole glikozidnom vezom na stereospecifičan način tako da nastaju  $\alpha$ -manozidi kojima se ispituje antiadhezijski učinak.<sup>8,9</sup> Antiadhezijski učinak  $\alpha$ -manozida s aromatskim aglikonima proučava se kao alternativni

pristup liječenju infekcija urinarnog trakta (engl. *urinary tract infections*, UTIs) koju izaziva Gram-negativna uropatogena bakterija *Escherichia coli* (engl. *uropathogenic Escherichia coli*, UPEC). Vezanje ove bakterije na površinu endotelih stanica urinarnog trakta ostvaruje se interakcijom bakterijskog lektina (proteina) FimH i  $\alpha$ -D-manopiranozidnih ostataka *N*-vezanog glikoproteina uroplakina Ia (UPIa) s površine napadnute stanice.<sup>10</sup> Sinteza spojeva – inhibitora koji bi mogli blokirati FimH i spriječiti adheziju patogena na stanice domaćina temelj je antiadhezijske terapije. Imajući u vidu sve veću rezistentnost na antibiotike te nedostatak novih antibiotika na tržištu, antiadhezijska terapija postaje značajna alternativa upotrebi antibiotika.

Poznato je da efikasni FimH antagonisti u svojoj strukturi osim  $\alpha$ -manoze trebaju sadržavati aromatski aglikon koji stupa u povoljne  $\pi$ - $\pi$  interakcije s aromatskim bočnim ograncima dvaju tirozinskih ostataka (Tyr48 i Tyr137) smještenih na ulazu u vezno mjesto za manozu (tzv. *tirozinska vrata*). Pokazalo se da biciklička piridinonska struktura u tom smislu pokazuje dosta potencijala te ostavlja mjesta dizajnu još boljih FimH antagonista. U dosadašnjim istraživanjima provedenim na Zavodu za organsku kemiju pripravljeno je nekoliko  $\alpha$ -manozida s *meta* i *para* supstituiranim *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-onima kao aromatskim aglikonima koji su pokazali umjeren do znatan antiadhezijski učinak (Slika 2).<sup>8,11</sup> U ovim je manozidima manozna podjedinica izravno vezana na piridinon  $\alpha$ -glikozidnom vezom.

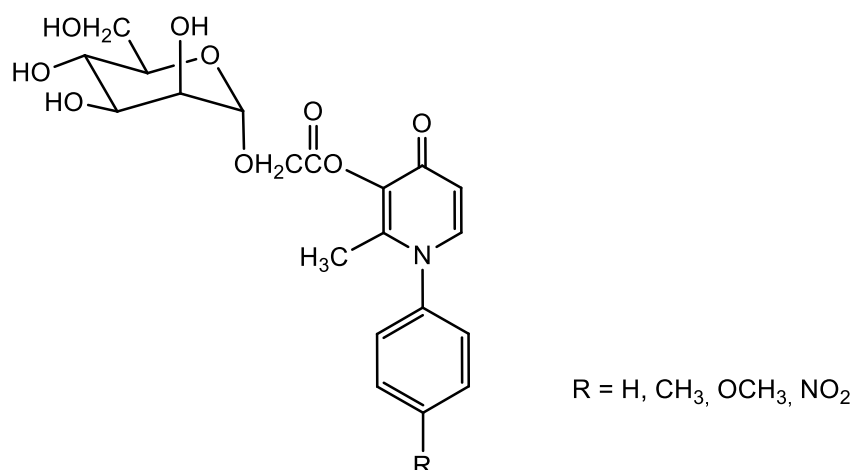


Slika 2: Općenita strukturna formula dosad pripremljenih piridinonskih  $\alpha$ -manozida koji su pokazali antiadhezijski učinak<sup>8,11</sup>

Jedan od smjerova u dizajnu novih potencijalnih FimH antagonista sugerira produljenje poveznice između šećernog i aromatskog aglikonskog dijela čime bi se postigla veća fleksibilnost između glikona i aglikona što bi moglo pozitivno utjecati na biološki odgovor.<sup>12</sup> Na tom tragu su dizajnirane i molekule čija će se sinteza pokušati provesti u sklopu ovog diplomskog rada.

## 1.1. Cilj i svrha rada

Cilj ovog diplomskog rada jest ispitati mogućnost pripreme novih piridinonskih  $\alpha$ -manozida s octenom kiselinom kao C2 poveznicom između manoze i piridinona i esterskom vezom na piridinonu (Slika 3). U sintezi ciljnih molekula koristit će se dva sintetska puta: primarni sintetski put a) koji uključuje najprije povezivanje manoze i bromoctene kiseline, a zatim reakciju s piridinonom i alternativni sintetski put b) kod kojeg će se najprije nastojati povezati piridinon i bromoctena kiseline, a zatim uvesti manozna podjedinica.



Slika 3. Općenita strukturna formula ciljnih molekula – piridinonskih  $\alpha$ -manozida s octenom kiselinom kao poveznicom i esterskom vezom na piridinonu

Kao polazni piridinonski derivati pripravit će se *para* supstituirani *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-oni (**1-4**). Sinteza polaznih piridinona **1-4** kreće iz 3-hidroksi-2-metilpiran-4-ona (maltola) kao osnovne pironске strukture i aromatskih amina – anilina i *para* supstituiranih derivata anilina: *p*-metilanilina, *p*-metoksianilina i *p*-nitroanilina. Acetilima zaštićena manozna sa slobodnom anomernom hidroksilnom skupinom pripravit će se



acetiliranjem manoze, a zatim selektivnim uklanjanjem acetila s položaja 1. Kao poveznica između ova dva strukturna motiva koristit će se komercijalno dostupni *tert*-butil-bromacetat.

U pristupu sintezi a) na odabrani derivat 3,4-HP, spoj **2**, pokušat će se esterskom vezom vezati prethodno manozilirana octena kiselina, spoj **8**, kojoj su hidroksilne skupine na manози zaštićene acetilima. Reakcijom Williamsonove sinteze iz *tert*-butil-bromacetata kao izvora octene kiseline i prethodno acetilirane manoze **6** sa slobodnom hidroksilnom skupinom na anomernom ugljikovom atomu u uvjetima Williamsonove sinteze najprije nastaje esterski derivat **7** koji će se kiselom hidrolizom prevesti u karboksilnu kiselinu **8**. Reakcija esterifikacije tako pripravljene manozilirane karboksilne kiseline **8** i piridinonskog alkohola **2** provest će se u literaturno poznatim uvjetima sinteze estera uz karbodiimidn reagens i nukleofilni katalizator kako bi se pokušali optimirati uvjeti esterifikacije te se kasnije primijeniti na ostale piridinonske prekursore.

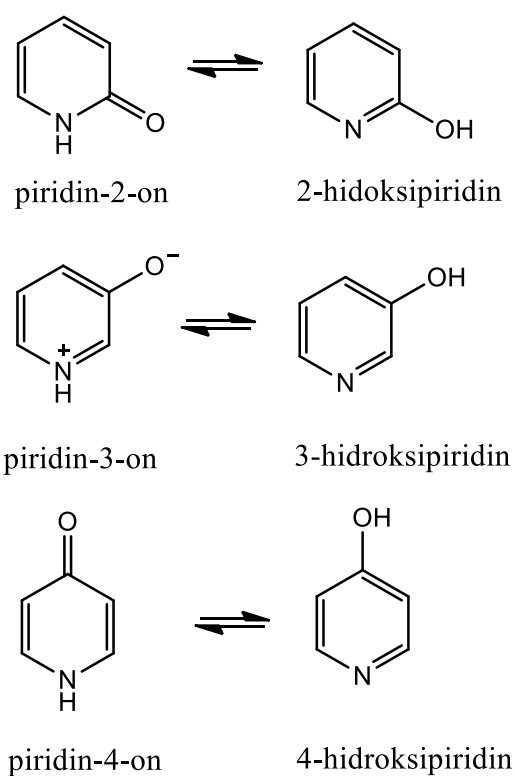
Paralelno će se pristupom b) bromoctena kiselina ili njezin reaktivni derivat bromacetil-bromid pokušati esterskom vezom vezati na odabrani piridinonski derivat **2** kako bi se priredio piridinonski ester bromoctene kiseline, spoj **11**, nakon čega se planira u uvjetima Williamsonove sinteze etera na spoj **11** uvesti tetraacetilirana manozu, spoj **6**.

Zadnji korak u oba sintetska puta bio bi uklanjanje acetila s manoze čime bi se povećala topljivost pripremljenog manokonjugata što je bitno za planirano ispitivanje biološkog učinka.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Piridinoni

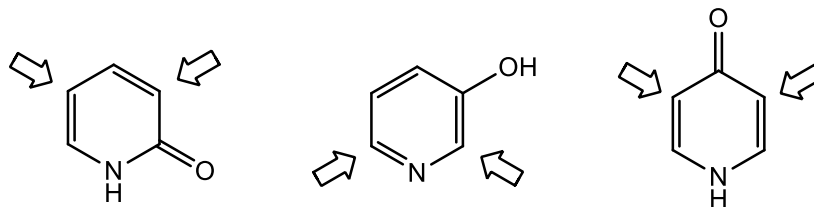
Piridinoni su skupine heterocikličkih spojeva koji posjeduju dušikov atom u šesteročlanom prstenu te jednu keto-skupinu. Postoje tri izomera u kojima se keto-skupina nalazi na poziciji 2- (piridin-2-on), 3- (piridin-3-on) ili 4- (piridin-4-on). Oni predstavljaju karbonilne tautomerne oblike hidropiridina. Tijekom tautomerizacije dolazi do izmjene vodikovog atoma između atoma dušika i kisika (Shema 1).<sup>13</sup>



Shema 1. Tautomerni oblici piridinona

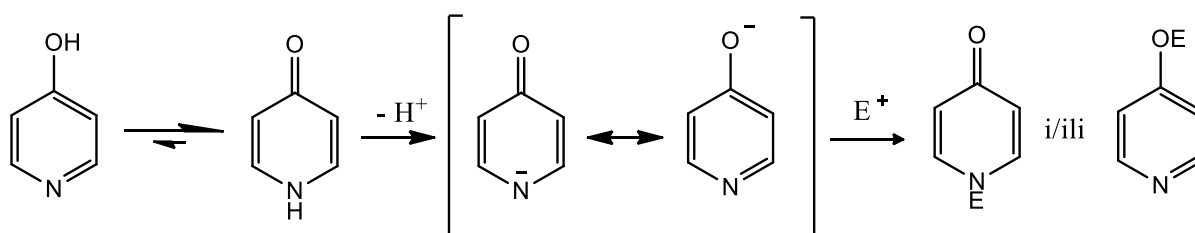
Postoji velika razlika u svojstvima između ovih izomera. Pri normalnim uvjetima 2- i 4- izomeri u potpunosti se javljaju u karbonilnim tautomernim oblicima. Enolni-tautomeri javljaju se u jako razrijeđenim otopinama nepolarnih otapala (petroleter) i u plinovitoj fazi. 3-hidoksipiridinon je u ravnoteži s odgovarajućim *zwitterionskim* tautomerom, a točan omjer vrsta ovisi o otapalu. Polariziranoj formi piridinona pogoduje solvatacija.

Piridinoni podliježu reakcijama elektrofilne i nukleofine supstitucije te elektrofilne adicije. Elektrofilna supstitucija se odvija na *ortho* i *para* pozicijama u odnosu na kisikov atom (Slika 4).



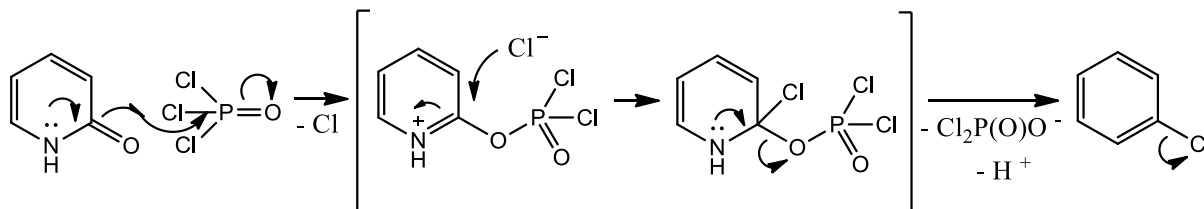
Slika 4. Mjesta elektrofilne aromatske supstitucije piridin-2-ona, 3-hidroksipiridina i piridin-4-ona

Lako formiraju anione otpuštajući vodik s dušikovog atoma i zbog toga sudjeluju i u reakcijama elektrofilne adicije. Anion može reagirati s elektrofilom preko kisikovog ili dušikovog atoma, ovisno o uvjetima reakcije (Shema 2).<sup>14</sup>



Shema 2. Elektrofilna adicija na atome kisika i/ili dušika na primjeru piridin-4-ona

U reakcijama s reaktantima tipa  $\text{POCl}_3$  dolazi do nukleofilne aromatske supstitucije kisika halogenim elementom i formiranja klorpiridina, kao što je prikazano na primjeru piridin-2-ona (Shema 3).<sup>15</sup>

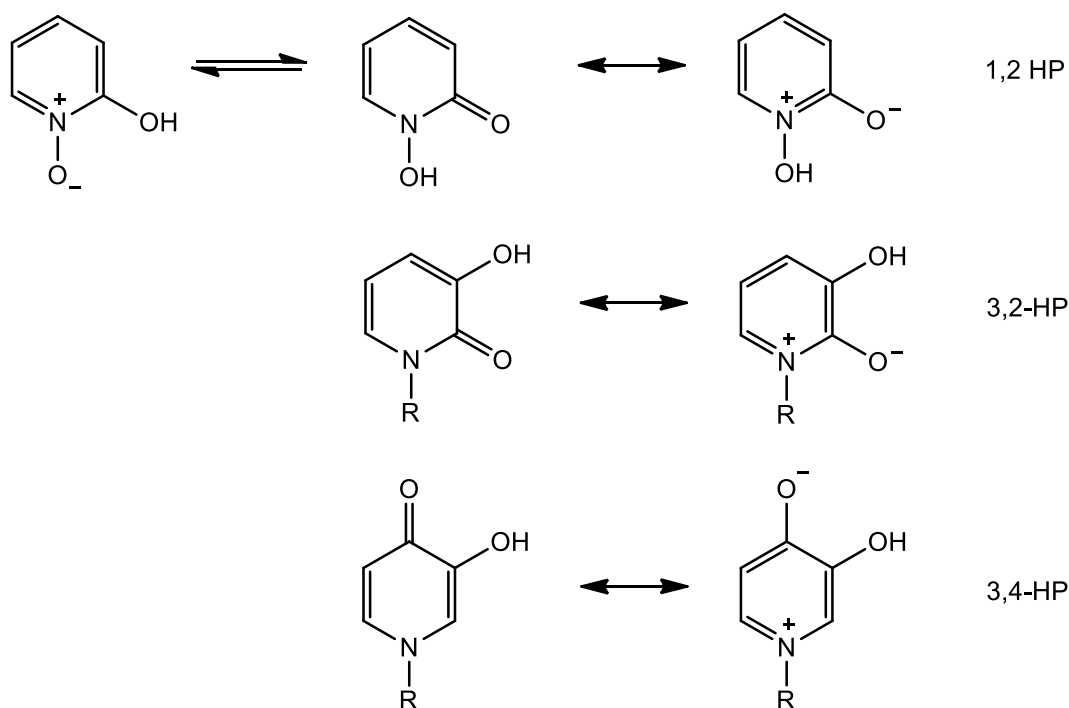


Shema 3. Mehanizam nukleofilne aromatske supstitucije na primjeru piridin-4-ona i fosfonil-klorida

Derivati piridinona imaju mnogo primjena u farmaceutskoj industriji. Mogu se koristiti kao ligandi za kelatiranje biometala, kao organometalni lijekovi za terapijske svrhe te za dijagnostičke primjene.<sup>4</sup>

## 2.2. Hidroksipiridinoni

Hidroksipiridinoni (HP) su aromatski *N*-heterociklički spojevi koji posjeduju hidroksilnu i keto-skupinu vezanu na prsten. Zbog svojih svojstava (specifične koordinacije metala, jednostavne mogućnosti derivatizacije i biokompatibilnosti) obećavajući su prekursori za sinteze novih lijekova.<sup>4</sup> S obzirom na položaj hidroksilne i karbonilne skupine u odnosu na dušikov atom dijelimo ih u tri skupine: 1-hidroksipiridin-2-one (1,2-HP), 3-hidroksipiridin-2-one (3,2-HP) i 3-hidroksipiridin-4-one (3,4-HP)(Shema 4).<sup>5</sup> Zbog visoke bazičnosti ( $pK_a$  9-9,5) i velike elektronske gustoće na koordinirajućim atomima najbolje su istraženi 3,4-HP.<sup>4</sup>



Shema 4. Tautomerni oblici i rezonantne strukture hidroksipiridinona:

1,2-HP, 3,2-HP, 3,4-HP

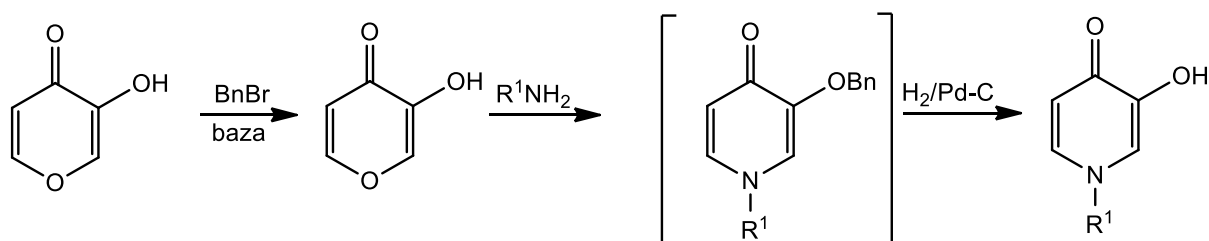
Postoje četiri položaja na 3,4-HP prstenu na koje se može uvesti supstituent. Najlakše uvođenje supstituenata ide na dušikov atom 3,4-HP (položaj 1). Sintaza takvih derivata sa

supstituiranim C2 položajem započinje iz komercijalno dostupnog maltola ili kojične kiseline. Supstitucija 3,4-HP na položaju C5 koji je u susjedstvu bidentatne kelirajuće regije poboljšava kelirajuća svojstva. Zbog manje reaktivnosti u odnosu na poziciju C2 do sada je predloženo samo par sintetičkih pristupa. Za uvođenje funkcijske skupine na poziciju C6 koristi se kojična kiselina kao polazni materijal.<sup>16</sup>

### 2.2.1. Sinteza 3-hidroksipiridin-4-ona (3,4-HP)

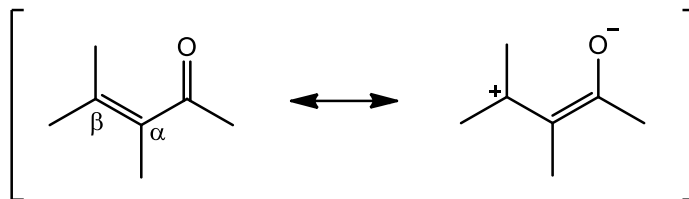
3,4-HP se sintetiziraju reakcijom odgovarajućeg hidroksipirona (maltol, alomaltol, kojična kiselina) s amonijakom ili primarnim aminima uključujući i aminokiseline. Poznate su dvije metode sinteze 3,4-HP: izravna metoda<sup>5</sup> koja se odvija u jednom koraku, i Harrisova metoda, koja se odvija u više koraka.<sup>17</sup>

Harrisova metoda najprimjenjiviji je pristup u sintezi 3,4-HP. Odvija se u tri koraka. Prvi korak je zaštita hidroksilne skupine odgovarajućeg 3-hidroksipiran-4-ona benzilnom zaštitom koja se najčešće uvodi reakcijom s benzil-bromidom. Zaštićeni 3-hidroksipiran-4-on zatim reagira s primarnim aminom  $R^1NH_2$  dajući odgovarajući 3-hidroksipiridin-4-on. Zadnji korak je uklanjanje benzilne zaštite hidrogenolizom u kiselim, baznim ili neutralnim uvjetima (Shema 5).<sup>17</sup>



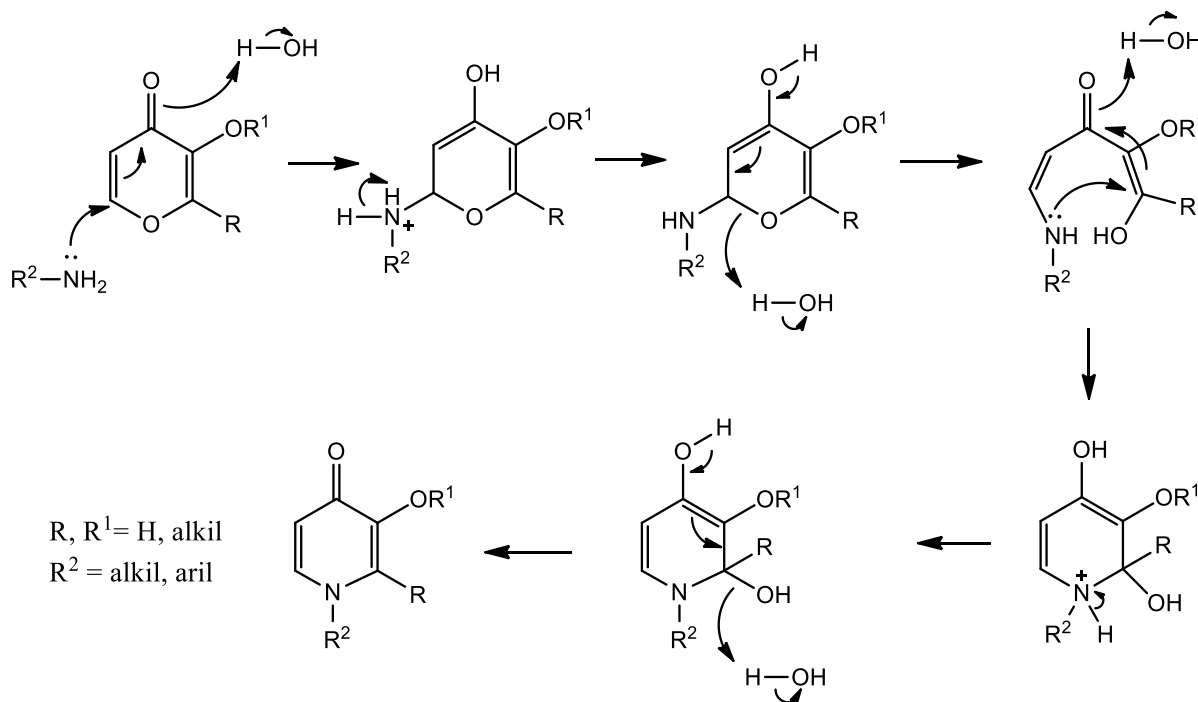
Shema 5. Sinteza 3-hidroksipiridin-4-ona Harrisovom metodom

Reakcija primarnog amina i odgovarajućeg hidroksipirana uključuje Michaelovu konjugiranu adiciju koja uzrokuje otvaranje i zatvaranje prstena. Primarni amin (nukleofil) je Michaelov donor, a  $\alpha,\beta$ -nezasićeni hidroksipiranski sustav je Michaelov akceptor (elektrofil). Rezonantna stabilizacija  $\alpha,\beta$ -nezasićenog karbonilnog spoja dovodi do osiromašenja  $\beta$ -ugljika elektronima čime se povećava njegova elektrofilnost te je podložan nukleofilnom napadu (Shema 6).



Shema 6. Rezonantne strukture  $\alpha,\beta$ -nezasićenog karbonilnog spoja

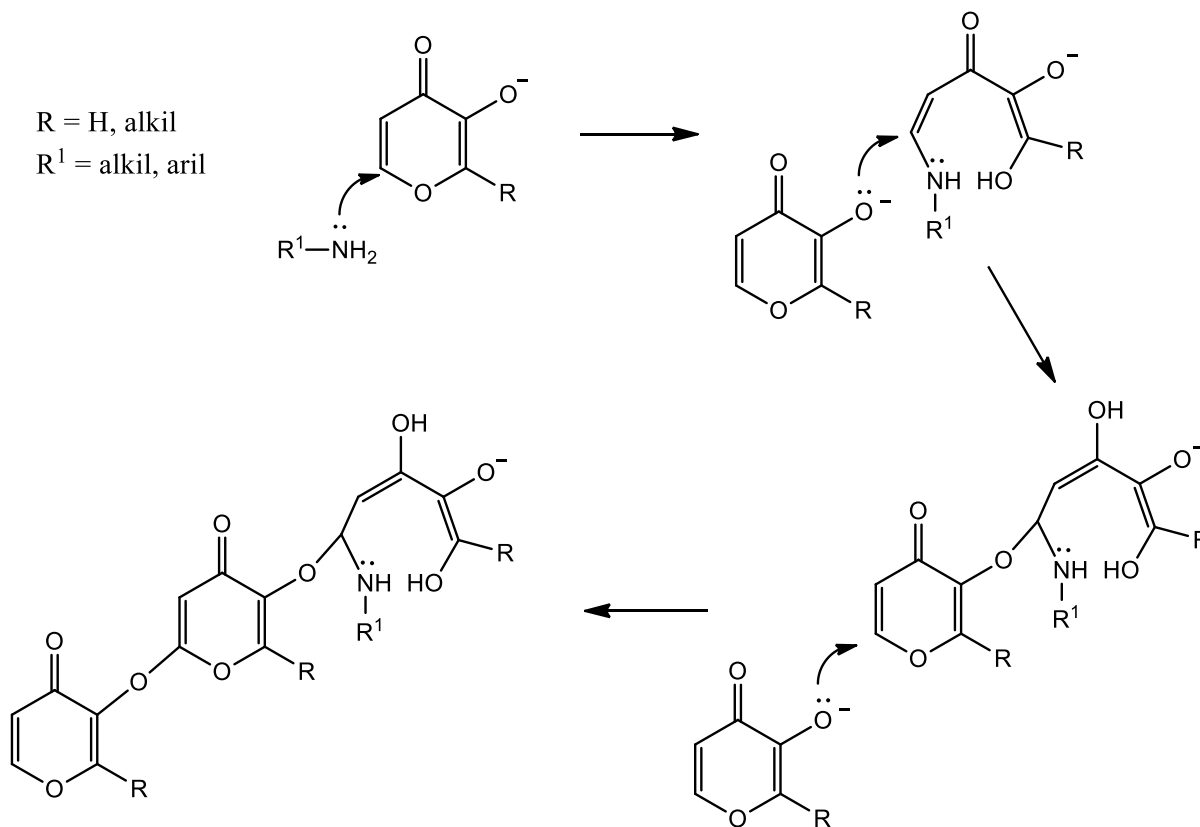
Hidroksipiranon posjeduje dvije  $\alpha,\beta$ -nezasićene karbonilne skupine. Dvostrukim nukleofilnim napadom primarnog amina na pozicije 2- i 6-  $\alpha,\beta$ -nezasićenog hidroksipiranonskog sustava dovodi do formiranja 3-hidroksipiridin-4-ona uz gubitak jedne molekule vode (Shema 7).<sup>18</sup>



Shema 7. Mehanizam sinteze 3,4-HP Michaelovom adicijom iz 3-hidroksipiran-4-ona i primarnog amina

U reakcijama s razgranatim primarnim aminima potrebno je zaštititi hidroksilnu skupinu. Bazični uvjeti reakcije aminacije dovode do deprotoniranja hidroksilne skupine 3-hidroksipiran-4-ona. Deprotonirana, nezaštićena hidroksilna skupina postaje dobar nukleofil i napada  $\alpha,\beta$ -nezasićeni karbonilni sustav međuprodukta koji je nastao tijekom aminacijskog

koraka (Shema 8). Michaelova konjugirana adicija na aminirani 3-hidroksipiran-4-on dovodi do formiranja neželjenoga kondenzacijskog nusprodukta čime se smanjuje ukupnu prinos reakcije.<sup>19</sup>



Shema 8. Mehanizam formiranja neželjenog kondenzacijskog nusprodukta

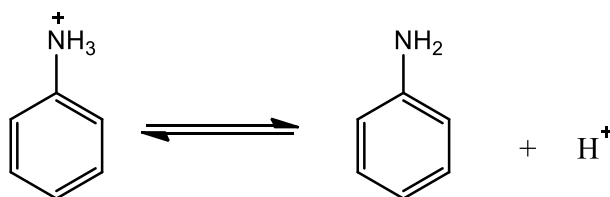
Što je supstituent na aminu voluminozniji, prinos reakcije je manji.<sup>17</sup> Zaštita hidroksilne skupine 3-hidroksipiran-4-ona rješava problem formiranja neželjenog produkta i dovodi do formiranja željenog produkta u prihvatljivim prinosima. Sintaza odgovarajućih piridinona s malim primarnim alkil-aminima može se izvesti bez zaštićivanja hidroksilne skupine na položaju 3 u jednom koraku. U tom su slučaju prinosi reakcija otprilike 40 %, dok su u reakciji s aminima s duljim ili razgranatijim supstituentima prinosi manji od 10 %.

Druga metoda priprave 3-hidroksipiridin-4-ona je izravna metoda u kojoj se pomiješaju 3-hidroksipiran-4-on i amonijak ili primarni amin (uključujući aminokiseline). Komponente se zagrijavaju u zatvorenoj staklenoj cijevi. Reakcijski prinosi ove metode su vrlo niski.<sup>5</sup> Prinos reakcije sinteze 1-fenil-2-metil-3-hidroksipiridin-4-ona izravnom metodom

iznosi 22 %, za reakciju sinteze 1-(3-klorfenil)-2-metil-3-hidroksipiridin-4-on 11 % dok za sintezu 1-(3-hidroksifenil)-2-metil-3-hidroksipiridin-4-ona prinos iznosi 14 %.<sup>19</sup>

Moguća su dva načina sprječavanja sekundarnih neželjenih reakcija: već spomenuta zaštita hidroksilne skupine 3-hidroksipiran-4-ona (Harrisonova metoda) ili izravna metoda uz korištenje kiselog katalizatora.<sup>6</sup>

U kiselim uvjetima hidroksilna skupina je protonirana, stoga u reakciji aminacije nezaštićena hidroksilna skupina ne podliježe Michaelovoj reakciji s međuproduktima nastalim u prvom koraku aminacije. Primjećuje se da u kiselim uvjetima arilni amini, za razliku od alkilnih, nisu u potpunosti protonirani te dolazi do uspostave ravnoteže između protoniranih i deprotoniranih vrsta (Shema 9). S obzirom da nisu u potpunosti protonirani, arilni amini se ponašaju kao nukleofili.



Shema 9. Uspostava ravnoteže između protonirane i deprotonirane vrste arilnih amina

Sinteza 3-hidroksipiridin-4-ona zahtjeva zagrijavanje reakcijske smjese, vodene otopine reaktanata u ekvimolarnim količinama u zatvorenoj staklenoj cijevi, pri 150 °C dva dana. Istraživanjem optimalnih uvjeta sinteze pokazano je da se kao kiseli katalizatori mogu koristiti *p*-TsOH te HCl. Dobiveni prinosi reakcija su 65 % te 52 % nakon dva dana grijanja. U slučaju *p*-TsOH uočeno je povećanje iskorištenja u odnosu na nekataliziranu reakciju. Izolacija i pročišćavanje dobivenog produkta provodi se jednostavnim filtranjem i rekristalizacijom.<sup>6</sup> Iako je prinos reakcije sinteze piridinona u jednom koraku manji u odnosu na Harrisovu metodu, ova metoda je znatno jednostavnija te se temelji na jeftinim i lako dostupnim polaznim materijalima.<sup>6,19</sup>

3,4-HP obitelj heterocikličkih spojeva su opsežno proučavani zbog širokog polja primjene u terapijske i dijagnostičke svrhe, tekućinskoj ekstrakciji te kemijskoj analizi. Posjeduju izvrsna kelirajuća svojstva prema tvrdim metalima kao što su  $\text{Fe}^{3+}$  i predstavljaju



obećavajući strukturni motiv u dizajniranju novih kelirajućih lijekova. Strukturne modifikacije heterocikličkog prstena na različitim pozicijama uključujući kisikov atom 3-hidroksilne skupine može utjecati na različita svojstva 3,4-HP.<sup>8</sup>

## 2.3. Manokonjugati

### 2.3.1. Antiadhezijski učinak manokonjugata

Istraživanja u području glikobiologije pokazala su da je molekularno prepoznavanje proteina lektina koji se nalazi na površini stanice bakterije i komplementarnih ugljikohidrata na stanicama domaćina od esencijalne važnosti u mnogim biološkim procesima.<sup>11</sup>

Adhezija patogenih organizama na tkivo domaćina najčešći je uzrok infektivnih bolesti. Važnu ulogu u procesu adhezije stanica i mikroba imaju interakcije ugljikohidrata i proteina. Protein lektin, koji se nalazi na infektivnim organizmima, ima tendenciju vezanja komplementarnog šećera koji se nalazi na površini tkiva domaćina. Koncept antiadhezijske terapije mikrobijalnih bolesti bazira se na principu sprječavanja interakcija između lektina i ugljikohidrata na tkivu domaćina unošenjem odgovarajućih ugljikohidratnih inhibitora.<sup>20</sup> Ovaj koncept nameće se kao obećavajuća alternativa standardim metodama liječenja infekcija upotrebom antibiotika. S obzirom na veliki rastući problem bakterijske otpornosti na antibiotike korištenje antiadhezijskih lijekova za liječenje infektivnih bolesti može umanjiti taj problem.

Jedna od najčešćih bakterijskih infekcija jest infekcija urinarnog trakta (UTI) uzrokovana patogenom *Escherichia coli*.<sup>8</sup>

Najbolje istraženi lektin koji je prisutan na površini uropatogene *E. coli* i ostalih bakterija iz obitelji *Enterobacteriaceae* jest manozno-specifičan protein FimH koji se nalazi na vrhu tip 1 fimbrije bakterije. Zadnjih 30-ak godina kreirano je mnogo manoznih liganada FimH proteina te su provedeni testovi inhibicije aglutinacije. Istraživanja su bila fokusirana na multivalentne manozide koji imaju veliki afinitet vezanja na FimH što dovodi do inhibicije aglutinacije eritrocita. Međutim, zbog velike molarne mase multivalentnih manozida, velike

polarnosti i male permeabilnosti kroz gastrointestinalni trakt ti spojevi nisu pogodni za oralnu uporabu.<sup>21</sup>

Antiadhezijski potencijal FimH antagonista određuje se testovima inhibicije hemaglutinacije. U testu se koriste crvene krvne stanice zamorčića. Kada crvene krvne stanice dođu u doticaj s bakterijskim lektinom FimH, dolazi do adhezije te do hemaglutinacije. Bakterijski lektin FimH je receptor, a prirodni ligand je glikolizirana površina stanice. Sintetizirani manokonjugati su kompetitivni inhibitori koji inhibiraju adheziju zbog čega hemaglutinacija izostaje. Najčešće se koriste eritrociti, a ne cijele stanice jer takav test izravno pokazuje sposobnost spoja za prevenciju bakterijske adhezije gdje se antagonist natječe s oligo- i polisaharidnim lancima prisutnim na površini eritrocita.<sup>8,12</sup>

### 2.3.2. Piridinonski manokonjugati

Rentgenska strukturna analiza D-manoze,<sup>22</sup> *n*-butil manozida<sup>23</sup> te oligomanoze<sup>24</sup> vezanih za FimH omogućila je smisljeni dizajn odgovarajućih FimH inhibitora. Poznata strukturna svojstva FimH pokazala su da se u aktivno mjesto smješta jedan  $\alpha$ -manozilni ostatak. Uočeno je da se na ulazu u aktivno mjesto FimH nalaze dva aromatska ostatka, Tyr48 i Tyr137, koja čine tzv. *tirozinska vrata*. Literaturno je poznato da je manozna vezana na aromatski aglikon (*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-manozid ili 5-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-manozid) dobar inhibitor hemaglutinacije. Kristalna struktura *n*-butil-manozida vezanog na FimH ukazuje da je ulaz u hidrofobno aktivno mjesto FimH proteina formiran od Tyr48, Tyr137 i Ile52 te mu se ne može pristupiti sa samo jednim aromatskim prstenom. Aglikon mora imati dva arilna sustava kao što je slučaj kod bifenila. Dva aromatska sustava na aglikonu induciraju  $\pi$ - $\pi$  interakcije s tirozinskim vratima čime se povećava afinitet aromatskog manozida prema FimH u odnosu na jedan aromati.<sup>11</sup>

S obzirom na dosadašnja saznanja, od velikog je interesa istraživanje monovalentnog FimH manozida s *N*-aril-supstituiranim 3-hidroksipiridin-4-onkim aglikonima kao inhibitorima hemaglutinacije *E. coli*. 3,4-HP posjeduju potrebne strukturne karakteristike – hidrofobni biciklički aglikon načinjen od 3,4-HP jezgre s arilnim produžetkom.

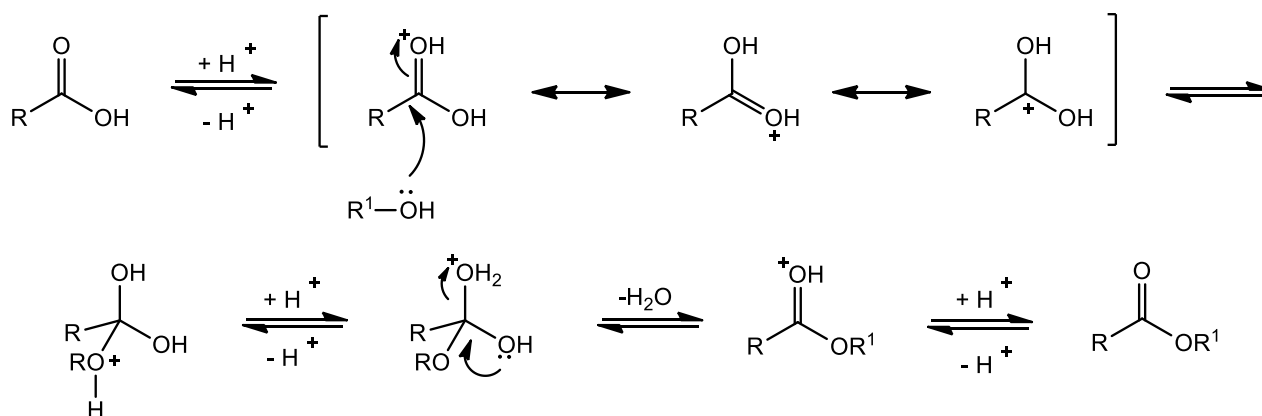
Testovima inhibicije hemaglutinacije dobivene su IT vrijednosti koje predstavljaju minimalnu koncentraciju testiranog spoja potrebnog za prevenciju adhezije *E. coli* i eritrocita. Da bi se riješio problem ovisnosti testova o uvjetima izvođenja eksperimenata i apsolutnih koncentracija, izabran je referentni spoj metil- $\alpha$ -D-manozid (Me-Man) te se svi rezultati iskazuju u odnosu na njega i izražavaju kao referentni inhibični titar (eng. *relative inhibition titer*, RIT).<sup>25</sup> Istraživanja su pokazala da *N*-aril supstituirani hidroksipiridinonski  $\alpha$ -D-manozidi pokazuju bolja inhibičijska svojstva u odnosu na referentni spoj, Me-Man. Derivati sa supstituentima u *meta* i *para* položajima na fenilnom prstenu pokazuju bolju aktivnost u odnosu na fenilni prsten bez supstituenata što ukazuje na važnost supstituenata u arilnom dijelu molekule za mogućnost vezanja u aktivno mjesto. Višu IT vrijednost pokazali su manozidi s metoksi- i nitro- supstituentima u *para* položaju u odnosu na *meta* položaj derivata. Dobiveni rezultati istraživanja i rezultati molekularnog modeliranja<sup>8</sup> serije *para* supstituiranih 3,4-HP- $\alpha$ -manozida pokazuju da se stvara vodikova veza između *p*-metoksi- ili *p*-nitro-skupine s hidroksilnom skupinom Tyr137 u veznom mjestu FimH. Zamjena skupina iz *para* u *meta* poziciju nepovoljno utječe na stvaranje veze s Tyr137, a s time se i smanjuje efektivnost vezanja na FimH. S druge strane derivat s *meta* metilnom skupinom pokazao je dva puta bolje inhibiciju nego isti *para* supstituirani manozid. Ovo ukazuje da hidrofobni supstituent u *meta* položaju pozitivno utječe na vezanje 3,4-HP manozida u vezno mjesto FimH. Na temelju dobivenih podataka osmišljena je sinteza još efikasnijih 3,4-HP derivata *E. coli* adheziva koja bi išla u smjeru uvođenja alkilnih supstituenata na *meta* poziciju i supstituenata koji mogu formirati vodikovu vezu s hidroksilnom skupinom Tyr137 u *para* položaju na arilnom dijelu.<sup>11</sup>

## 2.4. Metode priprave estera

Esteri, spojevi općenite formule RCOOR', derivati su karboksilnih kiselina u kojima je hidroksilna (-OH) skupina zamjenjena s alkoksilnom skupinom (-OR').<sup>26</sup> U biološkim sustavima najrasprostranjeniji esteri su masti. Masti imaju tri esterske skupine, a nastaju iz alkohola glicerola koji ima tri hidroksilne skupine i tri molekule masnih kiselina reakcijom esterifikacije. U prirodi lako hlapljivi esteri daju ugodan voćni miris i arome po mnogim biljkama (banane, jabuke, ananas, jagode i sl.) zbog čega se koriste u industriji mirisa i aroma.<sup>27</sup>

### 2.4.1. Fischerova esterifikacija

Fischerova esterifikacija je klasična sinteza estera u kojoj ester nastaje reakcijom karboksilne kiseline i alkohola u prisutnosti kiselog katalizatora. Za reakciju su najpogodniji primarni i sekundarni alkoholi, dok tercijarni podliježu kompetitivnoj reakciji eliminacije i formiranju alkena. Kao kiseli katalizatori koriste se sumporna kiselina, *para*-toluensulfonska kiselina te Lewisove kiseline.<sup>28</sup> U prvom koraku protonira se karbonylni kisikov atom čime se povećava elektrofilnost karbonylnog ugljika. Zatim dolazi do nukleofinog napada molekule alkohola i formiranja tetraedarskog međuprodukta. Sljedeći korak je otpuštanje molekule vode i deprotoniranje nastalog estera (Shema 10).

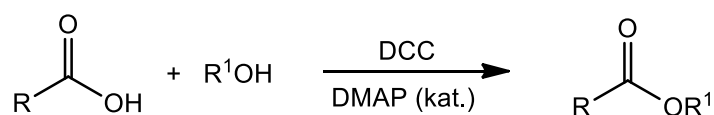


Shema 10. Mehanizam Fisherove esterifikacije

Reakcija je reverzibilna, a ravnoteža se može pomaknuti prema formiranju estera dodatkom reaktanata u suvišku (najčešće alkohola), dodatkom nekog sredstva za dehidriranje (sumporna kiselina, molekulska sita itd.). Ako se reakcija odvija u nevodenim organskim otapalima, primjerice benzen ili toluen, pomicanje ravnoteže prema esteru može se izvesti uklanjanjem vode pomoću Dean-Starkovog nastavka. Voda se fizički uklanja iz azeotropne smjese dok se organska faza kontinuirano vraća u reakcijsku tikvicu. Ukoliko su reaktanti osjetljivi na kiseli katalizator, umjesto kiseline se mogu koristiti kationski izmjenjivači.<sup>29</sup>

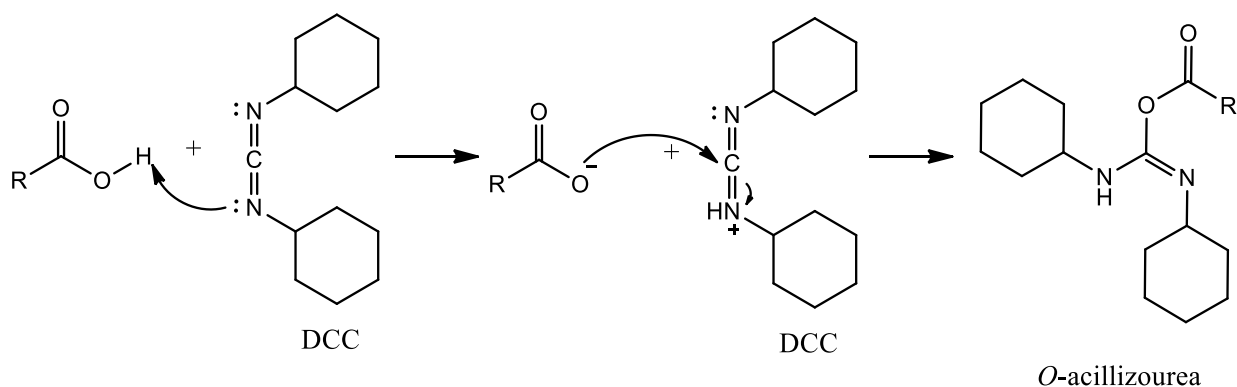
### 2.4.2. Steglichova metoda

Steglichova metoda je uobičajena metoda esterifikacije karboksilnih kiselina alkoholima i tiolima u blagim uvjetima. U reakciji sudjeluju alkohol, karboksilna kiselina uz nukleofilni katalizator (DMAP, HOBt) te karbodiimidni reagens (DCC ili EDC) (Shema 11). Njezin uspjeh ovisi o učinkovitosti nukleofilnih katalizatora u reakcijama transfera skupina.<sup>30</sup> Esterifikacija se izvodi bez prethodne pripreme reaktanata. Nije potreba aktivacija reaktanata niti korištenje aktiviranih derivata. Izvodi se pri sobnoj temperature u blago bazičnim uvjetima. Kao otapalo se najčešće koristi diklormetam, no pogodna su i ostala aprotionska otapala slične polarnosti kao što su dietil-eter, tetrahidrofuran i acetonitril. Reakcija se može provesti s različitim kiselinama i alkoholima uključujući poliole, estere  $\alpha$ -hidroksikarboksilnih kiselina, a čak se mogu koristiti i vrlo kiseli labilni alkoholi kao što je vitamin A.<sup>31</sup>



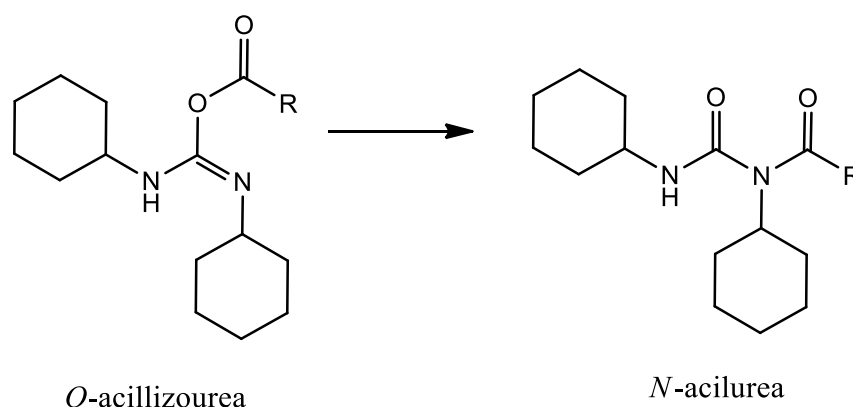
Shema 11. Steglichova esterifikacija

U prvom koraku reakcije dolazi do deprotoniranja karboksilne kiseline i nastanka nukleofilnog karboksilatnog aniona. Karboksilatni anion napada DCC čime se formira *O*-acilizourea kao međuprodukt - aktivirani derivat karboksilne kiseline (Shema 12).



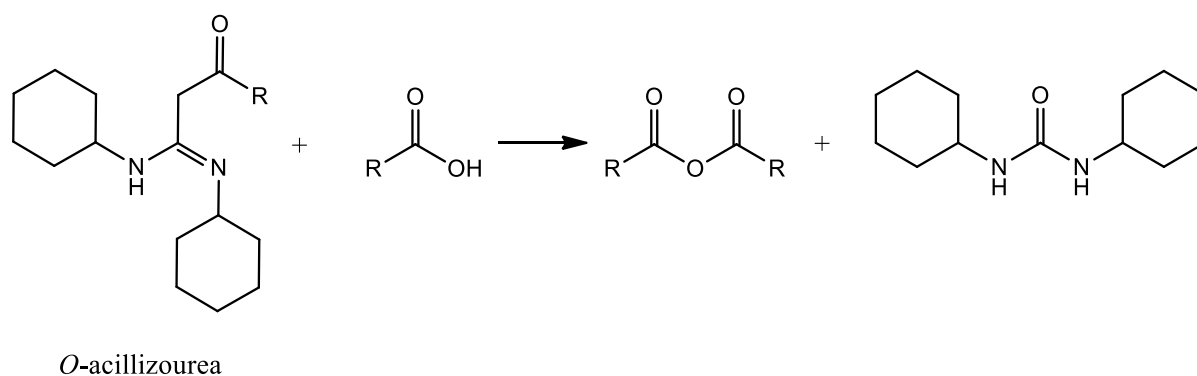
Shema 12. Aktiviranje karboksilne kiseline - stvaranje *O*-acilizouree

*O*-acilizourea podliježe 1,3-pregradnji u *N*-acilureu koja ne reagira s alkoholom (Shema 13).



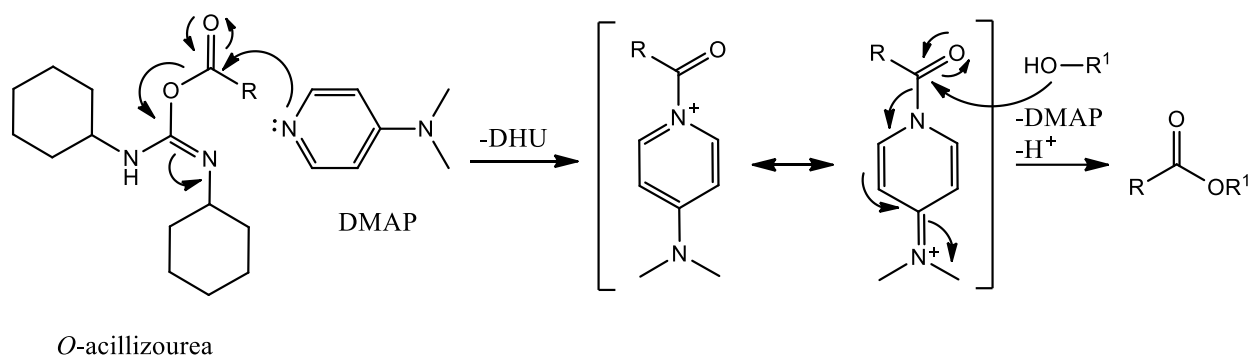
Shema 13. Pregradnja *O*-acilizouree u *N*-acilureu

Ukoliko su u reakciji dva ekvivalenta karboksilne kiseline, *O*-acilizourea reagira s drugim ekvivalentom karboksilne kiseline i nastaje odgovarajući simetrični anhidrid (Shema 14). Dodatkom DMAP-a sprječava se stvaranje neželjenih nusprodukata, a sam DMAP se ponaša kao reagens za prijenos acilne skupine.



Shema 14. Nastajanje odgovarajućeg smetričnog anhidrida reakcijom *O*-acilizouree s drugim ekvivalentom karboksilne kiseline

U sljedećem koraku DMAP, koji je jači nukleofil od alkohola, napada *O*-acillizoureu formirajući reaktivni međuprodukt - amid koji reagira s alkoholom i daje željeni ester i dicikloheksilureu (DHU) (Shema 15).<sup>32</sup>



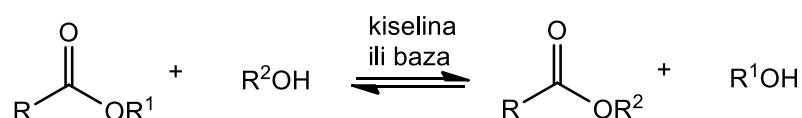
Shema 15. Adicija alkohola na DMAP-om aktivirani amid i formiranje estera

Osim DMAP-a u sintezi peptida koriste se i derivati hidrosilamina: 1-hidroksibenzotriazol (HOBt), 7-aza-1-hidroksibenzotriazol (HOAt), *N*-hidroksisukcinimid (HOSu), derivati 1-hidroksi-1,2,3-triazola i slično.<sup>33</sup> DMAP i slični spojevi pokazani su kao efikasni katalizatori mnogih reakcija uključujući aciliranje, alkiliranje, sililiranje i kondenzacije. Npr. acetiliranje određenih sterički zahtjevnih alkohola ili amina korištenih u farmaceutskim formulacijama gdje je vrlo važno osigurati da svi tragovi katalizatora budu uklonjeni iz reakcijske smjese. Zbog velike katalitičke aktivnosti DMAP se može koristiti za aciliranje sterički ometanih tercijarnih alkohola s anhidridima karboksilnih kiselina ili acil-halogenidima.<sup>34</sup>

Steglichova metoda jednostavna je metoda esterifikacije karboksilnih kiselina. Unatoč uspješnoj uporabi u sintezama šećera i derivata aminokiselina, DCC metoda nije generalno prihvaćena kao metoda pripreve karboksilata i tiolata zbog varijabilnih prinosa reakcija koji su prihvatljivi samo u slučaju fenola i tiofenola te tendencije stvaranja neželje *N*-acil uree. U takvim reakcijama se kao favorizirani piridinski katalizator pokazao DMAP kao korisni reagens tijekom esterifikacije karboksilnih kiselina. Korištenjem DMAP-a reakcije se ubrzavaju u odnosu na DCC kataliziranu esterifikaciju karboksilnih kiselina sa alkoholima i tiolima te ne dolazi do nastanka neželjenih nusprodukata čak i kod sterički zahtjevnih estera i to pri sobnoj temperaturi.<sup>31</sup>

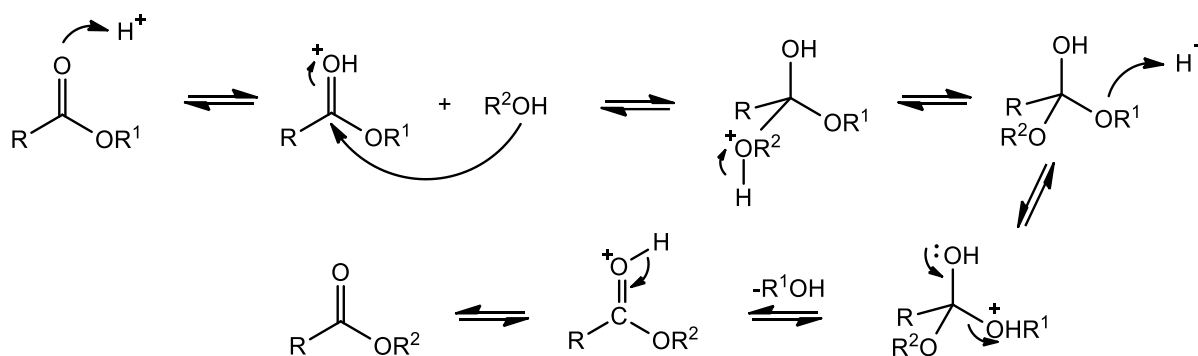
### 2.4.3. Transesterifikacija

Transesterifikacija je proces u kojemu se ester transformira u drugi ester pri čemu dolazi do izmjene alkoksidnog dijela molekule. Reakcija je ravnotežni proces stoga se izvodi jednostavnim miješanjem alkohola i estera uz kiseli ili bazni katalizator (Shema 16).



Shema 16. Reakcija transesterifikacije

Kao kiseli katalizatori se koriste sumporna, sulfonska, fosforna i klorovodična kiselina.<sup>35</sup> U prvom koraku dolazi do protoniranja karbonilnog kisika što dovodi do povećanja elektrofilnosti karbonilnog ugljikovog atoma. Alkohol nukleofilno napada karbonilni ugljik te dolazi do otpuštanja drugog alkohola (Shema 17).<sup>27</sup>



Shema 17. Mehanizam transesterifikacije

Reakcija je reverzibilna stoga je potrebno ravnotežu pomaknuti na stranu stvaranja produkta. To se može postići dodavanjem alkohola u suvišku ili uklanjanjem (destilacijom) oslobođenog alkohola.

Transesterifikacija se koristi u brojnim laboratorijskim i industrijskim procesima. U nekim slučajevim pogodnija je metoda pripreve estera od sinteze iz karboksilne kiseline i alkohola. Neke karboksilne kiseline slabo su topljive u organskim otapalima dok su esteri topljivi u većini organskih otapala. Jedna od prednosti je i ta da su neki esteri, pogotovo metilni i etilni



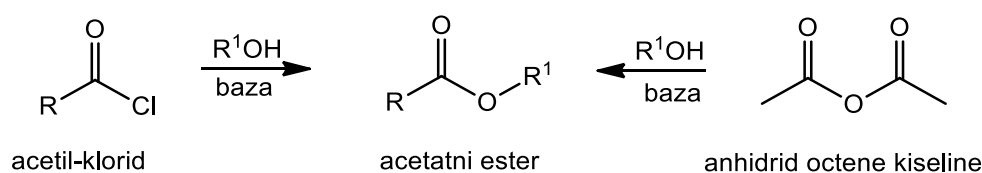
esteri, komercijalno dostupni stoga su pogodni kao polazni materijali. Reakcija se može odvijati u bezvodnim uvjetima što pogoduje reaktantima osjetljivim na vlagu.

Transesterifikacija se koristi u organskim sintezama, polimerizaciji te u industriji, u proizvodnji ulja i masti, industriji boje.<sup>35</sup>

#### 2.4.4. Priprava estera reakcijom alkohola i acil-halogenida ili kiselinskih anhidrida

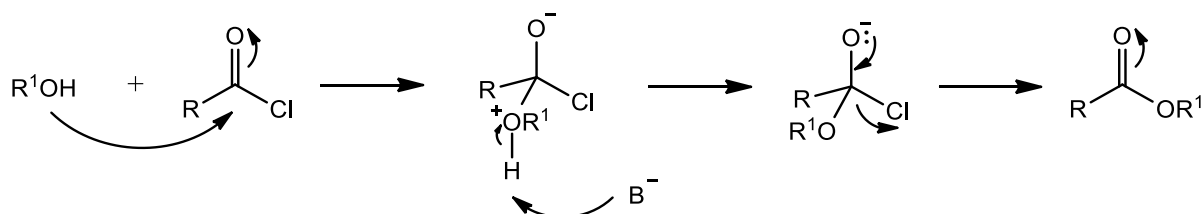
Najčešće korišteni acil-halogenidi koji se koriste za dobivanje estera i amida su acil-kloridi. To su derivati karboksilnih kiselina kod kojih je hidroksilna skupina zamijenjena atomom klora. Vrlo su reaktivni te ih se ne može naći u prirodi.

Acetil-klorid reagira s alkoholom u prisutnosti baze i daje acetatni ester. Isti produkt se dobije ukoliko se umjesto acetil-klorida koristi anhidrid octene kiseline (Shema 18). Baza je potrebna jer uklanja proton sa alkohola koji nukleofilno napada karbonilnu skupinu.<sup>29</sup>



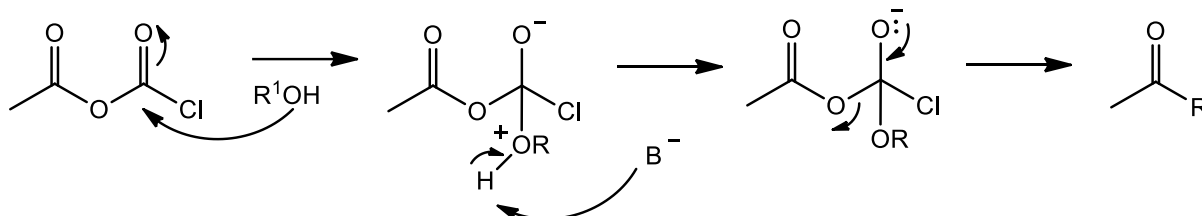
Shema 18. Dobivanje acetatnog estera iz acetil-klorida ili iz anhidrida octene kiseline

U prvom koraku reakcije dolazi do nukleofilne adicije alkohola na elektrofilnu karbonilnu skupinu acil-klorida. Baza uklanja proton s alkohola i nastaje nestabilni alkoksidni međuprodukt. U sljedećem koraku dolazi do reakcije eliminacije u kojoj dolazi do odcjepljenja kloridnog iona kao izlazne skupine i formiranja estera (Shema 19).



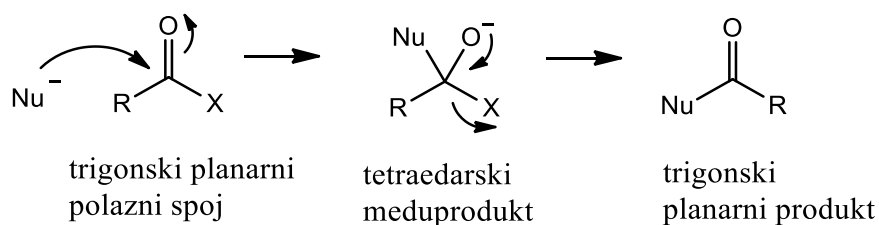
Shema 19. Priprava estera reakcijom acil-klorida i alkohola u baznim uvjetima

Priprava estera iz anhidrida octene kiseline i alkohola slijedi isti mehanizam. Adicijom nukleofila nastaje nestabilni međuprodukt koji podliježe reakciji eliminacije. U ovom slučaju gubitkom karboksilatnog aniona nastaje ester (Shema 20).



Shema 20. Priprava estera reakcijom anhidrida octene kiseline i alkohola u baznim uvjetima

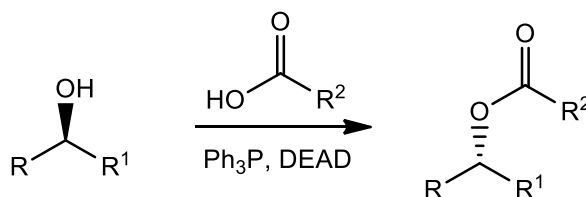
Nestabilni međuprodukti u ovim reakcijama se nazivaju tetraedarski intermedijeri jer trigonski  $sp^2$  ugljikov atom karbonilne skupine postaje tetraedarski  $sp^3$  ugljikov atom (Shema 21).<sup>27</sup>



Shema 21. Supstitucija na trigonskoj karbonilnoj skupini se odvija preko tetraedarskog međuprodukta

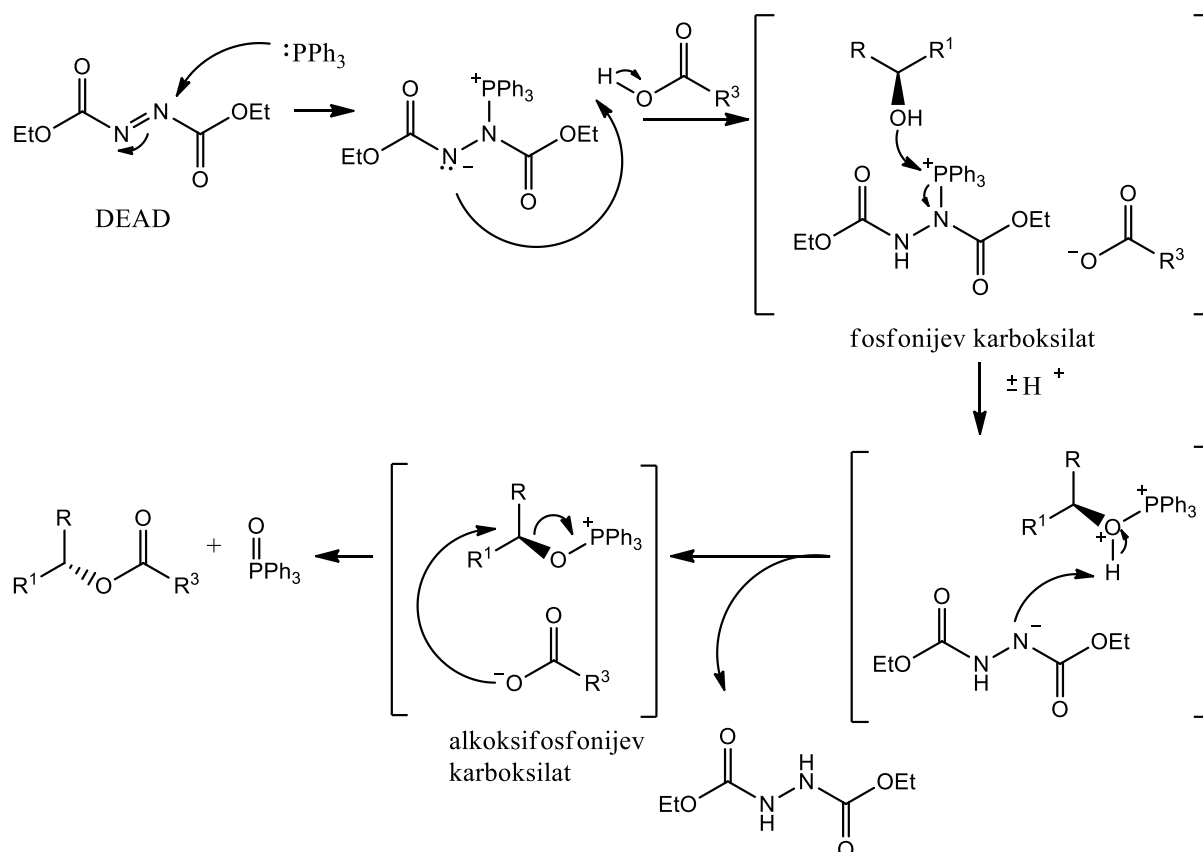
#### 2.4.5. Mitsunobu reakcija

Mitsunobu reakcija se koristi za prevođenje primarnih i sekundarnih alkohola u estere, fenilne etere, tioetere uz trifenilfosfin i dietil-azodikarboksilat (DEAD). Reakcija je zanimljiva jer dolazi do inverzije konfiguracije sekundarnih alkohola koji posjeduju stereogeni centar.<sup>36</sup> Reakcija fosfina sa dietil-karboksilatom se izvodi u prisutnosti karboksilne kiseline i alkohola (Shema 22).



Shema 22. Mitsunobu reakcija

Reakcija se odvija u više koraka. Prvi korak je nukleofilni napad trifenilfosfina na DEAD. Nastaje intermedijer koji deprotonira karboksilnu kiselinu i formira fosfonijev karboksilat. Alkohol je bolji nukleofil od karboksilatnog aniona te napada fosfonijev karboksilat formirajući alkoksifosfonijev karboksilat iz kojeg se formira ester karboksilne kiseline i fosfin-oksid (Shema 23).<sup>37</sup>



Shema 23. Mehanizam Mitsunobu reakcije na primjeru sekundarnog alkohola koji posjeduje stereogeni centar. Alkohol se prevodi u ester uz inverziju konfiguracije

Reakcija se odvija uz inverziju konfiguracije stereogenog centra sekundarnih alkohola što Mitsunobu reakciju čini vrlo primjenjivom metodom za inverziju stereogenih centara u sintezama prirodnih spojeva.

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali i metode

U sintezama su korišteni komercijalno dostupni spojevi, reagensi i otapala: 3-hidroksi-2-metilpiran-4-on (maltol, *Sigma-Aldrich*), anilin (*Kemika*), *p*-toluidin (*Merck*), *p*-anisidin (*Sigma-Aldrich*), *p*-nitroanilin (*Sigma-Aldrich*), *p*-toluensulfonska kiselina monohidrat (*p*-TsOH×H<sub>2</sub>O, *Merck*), D-(+)-manozna (*Sigma-Aldrich*), jod (*Kemika*), acetanhidrid (*Kemika*), natrijev tiosulfat pentahidrat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>×5H<sub>2</sub>O, *Alkaloid*), natrijev karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *Merck*), morfolin (*Sigma-Aldrich*), klorovodična kiselina (HCl, *Carlo Erba*), natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO<sub>3</sub>, *Fluka*), natrijev klorid (NaCl, *Alkaloid*), kalijev karbonat (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *Kemika*), N,N-dimetilformamid (DMF, *Kemika*), tert-butil bromacetat (*Sigma-Aldrich*), trifluoroctena kiselina (*Merck*), natrijev sulfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Merck*), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbiimid hidroklorid (EDC × HCl, *Sigma-Aldrich*), 4-dimetilaminopiridin (DMAP, *Sigma-Aldrich*), 1-hidroksibenzotriazol hidrat (HOBt × H<sub>2</sub>O, *Sigma-Aldrich*), trietilamin (*Merck*), bromoctena kiselina (*Sigma-Aldrich*), bromacetil-bromid (*Sigma-Aldrich*), diklormetan (DCM, *Sigma-Aldrich*), etil-acetat (*Fluka*), dioksan (*Sigma-Aldrich*), dietil-eter (*Kemika*), aceton (*Merck*), *n*-heksan (*Carlo Erba*), metanol (*Merck*), acetonitril (*Sigma-Aldrich*), kloroform (*Carlo Erba*). Sva korištena otapala su pročišćavana i sušena prema uobičajenim postupcima.<sup>29</sup>

Tijek pojedinih reakcija, kontrola čistoće spojeva te preliminarna identifikacija spojeva pratila se tankoslojnom kromatografijom na silikagelu (60 F 254, 0,25, *Fluka*) u različitim sustavima otapala. Detekcija spojeva postignuta je apsorbacijom UV zračenja (254 nm), reverzibilnom adicijom joda te prskanjem pločice odgovarajućim reagensom (10 %-tna sumporna kiselina uz zagrijavanje), ovisno o vrsti spoja.

Za pročišćavanje spojeva korištena je kromatografija na stupcu punjena silikagelom kao stacionarnom fazom (0,063-0,200 mm, *Sigma Aldrich*). Kao mobilna faza su korišteni sljedeći sustavi otapala:

etil-acetat (EtOAc) : *n*-heksan = 1 : 1

etil-acetat (EtOAc) : metanol (MeOH) = 5 : 1

etil-acetat (EtOAc) : metanol (MeOH) = 5 : 2

diklormetan (DCM): acetonitril (CH<sub>3</sub>CN) = 3 : 1

kloroform (CHCl<sub>3</sub>) : metanol (MeOH) = 15 : 1

kloroform (CHCl<sub>3</sub>) : acetonitril (CH<sub>3</sub>CN) = 3 : 1

acetonitril (CH<sub>3</sub>CN) : voda (H<sub>2</sub>O) = 5 : 1

Strukture spojeva su potvrđene metodama nuklearne magnetske rezonancije te pomoću spektrometrije masa. Uzorcima su snimljeni spektri <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR pri 400 i 100 MHz u deuteriranom kloroformu kao otapalu. Kemijski pomaci su izdraženi prema tetrametilsilanu (TMS) kao unutarnjem standardu u ppm vrijednostima. Maseni spektri snimani su uz tehniku ionizacije elektroraspršenjem (ESI).

### 3.2. Priprava *para* supstituiranih derivata *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (1-4)

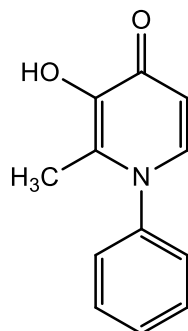
#### 3.2.1. Općeniti postupak priprave spojeva 1-4

U staklenoj cijevi pomiješa se maltol (1 g, 7,93 mmol) i ekvimolarna količina anilina ili derivata *p*-supstituiranog anilina. Doda se *para*-toluensulfonska kiselina monohidrat (*p*-TsOH×H<sub>2</sub>O, 151 mg, 0,793 mmol) te destilirana voda (20 mL). Cijev se dobro zatvori, stavi u metalni nosač autoklava te se zagrijava 48 sati pri 150°C.

Nakon 48 sati reakcijska smjesa se profiltrira preko Büchnerovog lijevka uz sniženi tlak. Ukoliko je potrebno, dobiveni kristali se isperu dietil-eterom ili prekrizaliziraju iz odgovarajućeg otapala. Tijek reakcije se prati tankoslojnom kromatografijom na silikagelu u sustavu otapala EtOAc : MeOH = 5 : 1 uz detekciju apsorpcijom UV zračenja pri valnoj duljini 254 nm.

##### 3.2.1.1. Priprava 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-ona (1)

Reakcijom maltola (1 g, 7,93 mmol) i anilina (724 µL, 7,93 mmol) uz *p*-TsOH×H<sub>2</sub>O i vodu prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. i nakon prekrizalizacije iz metanola dobiven je blijedožuti igličasti kristalni produkt **1** (764 mg, 48 %) (Slika 5).

Slika 5. Strukturna formula spoja **1**

*t.t.* = 221,0-221,9 °C (metanol), lit.<sup>38</sup> 222 °C.

*R<sub>f</sub>* = 0,45 (etil-acetat : metanol = 5 : 1)

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ 7,58-7,60 (m, 4 H, 3 H-Ar, H-6), 7,40-7,41 (m, 2 H, 2 H-Ar), 6,47 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H, H-5), 2,11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

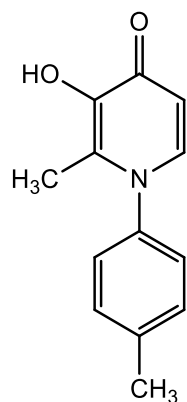
DEPTQ NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ 171,56 (C=O), 146,87 (C-3), 143,25 (C-N), 139,36 (C-6), 132,95 (C-2), 131,10 (2 CH-Ar), 130,90 (CH-Ar), 127,99 (2 CH-Ar), 112,56 (C-5), 13,80 (CH<sub>3</sub>).

ESI-MS: *m/z* 202,2 [M+H]<sup>+</sup>.

HRMS: izračunato za C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> 202,0861, dobiveno 202,0868.

### 3.2.1.2. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-ona (**2**)

Reakcijom maltola (1 g, 7,93 mmol) i *p*-toluidina (850 mg, 7,93 mmol) uz *p*-TsOH×H<sub>2</sub>O i vodu prema postupku opisanom postupku u poglavlju 3.2.1. Dobiveno je 1,09 g žutog pahuljastog kristalnog produkta **2** uz iskorištenje od 64 % (Slika 6).

Slika 6. Strukturna formula spoja **2**

*t.t.* = 252,5-253,9 °C (etil-acetat), lit.<sup>38</sup> 253 °C.

*R<sub>f</sub>* = 0,41 (etil-acetat : metanol = 5 : 1)

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7,50 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H, H-6), 7,36 (d, *J* = 8,2 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 7,32 (d, *J* = 8,3 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 6,19 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H, H-5), 2,39 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-Ar), 1,95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

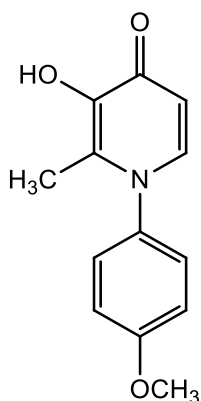
DEPTQ NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 169,44 (C=O), 144,88 (C-3), 139,11 (C-N), 138,60 (Ar-C-CH<sub>3</sub>), 137,84 (C-6), 129,93 (2 CH-Ar), 128,54 (C-2), 126,60 (2 CH-Ar), 110,65 (C-5), 20,51 (CH<sub>3</sub>-Ar), 13,18 (CH<sub>3</sub>).

ESI-MS: *m/z* 216,2 [M+H]<sup>+</sup>.

HRMS: izračunato za C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> 216,2020, dobiveno 216,2016.

### 3.2.1.3. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksifenil)piridin-4-ona (3)

Reakcijom maltola (1 g, 7,93 mmol) i *p*-anisidina (976,6 mg, 7,93 mmol) uz *p*-TsOH×H<sub>2</sub>O i vodu prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. dobiven je smeđi igličasti kristalni produkt **3** (1,19 g, 65 %) (Slika 7).



Slika 7. Strukturna formula spoja **3**

*t.t.* = 245,5-247,7 °C (etanol), lit.<sup>38</sup> 249 °C.

*R<sub>f</sub>* = 0,38 (etil-acetat : metanol = 5 : 1)

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7,49 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H, H-6), 7,36 (d, *J* = 8,8 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 7,07 (d, *J* = 8,8 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 6,19 (d, *J* = 7,3 Hz, 1 H, H-5), 3,83 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 1,95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

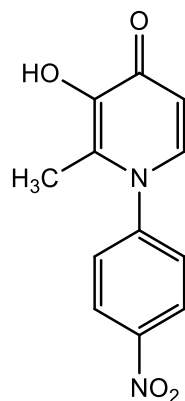
**DEPTQ NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>): 169,38 (C=O), 159,18 (C-OCH<sub>3</sub>), 144,79 (C-3), 138,04 (C-6), 134,42 (C-N), 128,79 (C-2), 128,01 (2 CH-Ar), 114,48 (2 CH-Ar), 110,50 (C-5), 55,38 (OCH<sub>3</sub>), 13,10 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:** *m/z* 232,1 [M+H]<sup>+</sup>.

**HRMS:** izračunao za C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub> 232,0969, dobiveno 232,0972.

#### 3.2.1.4. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-(p-nitrofenil)piridin-4-ona (4)

Reakcijom maltola (1 g, 7,93 mmol) i *p*-nitroanilina (1,1 g, 7,93 mmol) uz *p*-TsOH×H<sub>2</sub>O i vodu prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. dobiveno je 820,1 mg narančasto-smeđeg kristalnog produkta **4** uz iskorištenje 42 % (Slika 8). Kristali su dodatno isprani s malo dietil-etera.



Slika 8. Strukturna formula spoja **4**

*t.t.* = 296-297 °C, lit.<sup>38</sup> 293-295 °C.

*R<sub>f</sub>* = 0,41 (etil-acetat : metanol) = 5 : 1

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,39 (d, *J* = 8,9 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 7,79 (d, *J* = 8,9 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 7,62 (d, *J* = 7,4 Hz, 1 H, H-6), 6,27 (d, *J* = 7,4 Hz, 1 H, H-5), 2,01 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

**DEPTQ NMR** (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 169,86 (C=O), 147,20 (C-NO<sub>2</sub>), 146,44 (C-3), 145,13 (C-N), 137,54 (C-6), 128,60 (2 CH-Ar), 128,12 (C-2), 124,81 (2 CH-Ar), 111,34 (C-5), 13,38 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:** *m/z* 247,0 [M+H]<sup>+</sup>.

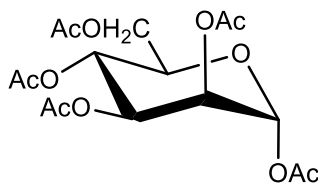
**HRMS:** izračunato za C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 247,0714, dobiveno 247,0706.



### 3.3. Priprava 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze (5)

Manoza (1 g) se otopi u acetanhidridu (7 mL) i doda se jod (60 mg). Reakcijska smjesa se miješa 30 minuta na magnetskoj miješalici pri sobnoj temperaturi. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa se razrijedi s diklormetanom (50 mL) te se ekstrahira sa zasićenom otopinom natrijeva tiosulfata (50 mL). Slojevi se odijele te se organski sloj tri puta ekstrahira s zasićenom otopinom natrijeva karbonata (50 mL). Nakon ekstrakcije s natrijevim karbonatom, organski sloj se ispere s destiliranom vodom (50 mL). Isprani organski sloj se suši na bezvodnom natrijevom sulfatu. Sredstvo za sušenje se odfiltrira, a otapalo upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Zbog nemogućnosti potpunog uparavanja dodan je toluen (3 mL) da se dobije azeotropna smjesa. Azeotropnu smjesu se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Postupak se ponovi tri puta.

Dobiveno je 1,83 g žutog uljastog produkta **5** uz iskorištenje od 85 % (Slika 9).



Slika 9. Strukturna formula spoja **5**

$R_f(\mathbf{5}) = 0,39$  (EtOAc : *n*-heksan = 1 : 1).

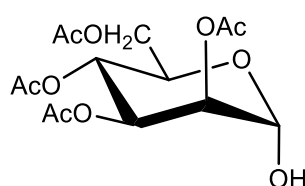
$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 6,09 (d, 1H,  $J = 1,8$  Hz, H-1 $\alpha$ ), 5,35 (m, 2H, H-3, H-4), 5,26 (m, 1H, H-2), 4,29 (dd, 1H,  $J = 4,8$  Hz,  $J = 12,4$  Hz, H-6a), 4,06-4,14 (m, H-5, H-6b), 2,18 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,10 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,06 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,01 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$\text{DEPTQ NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 170,64, 169,99, 169,74, 169,55, 168,09 (5 C=O, Ac), 90,61 (C1); 70,62, 68,76, 68,35, 65,55 (C2-C5), 62,11 (C6), 20,85, 20,76, 20,71, 20,66, 20,63 (5  $\text{CH}_3$ , Ac).

### 3.4. Priprava 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze (6)

Spoj **5** (1,0367 g, 2,66 mmol) otopi se u suhom diklormetanu (4 mL) i doda morfolin (0,8 mL). Reakcijska smjesa se ohladi u ledenoj kupelji uz miješanje na magnetskoj miješalici. Tijek reakcije prati se tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala kloroform : acetonitril

= 3 : 1 uz prskanje 10 %-tnom sumpornom kiselinom i zagrijavanje. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa se razrijedi s diklormetanom (50 mL) te se ekstrahira s klorovodičnom kiselinom (2M, 50 mL). Donji organski sloj se ispusti i ekstrahira sa zasićenom otopinom natrijeva hidrogenkarbonata te sa zasićenom otopinom natrijeva klorida. Vodeni sloj natrijeva klorida se dodatno tri puta ekstrahira s diklormetanom. Organski ekstrakti se spoje, prebace u tikvicu i suše na bezvodnom natrijevom sulfatu. Otopina se profiltrira, a otapalo se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Dobiveno je 876,4 mg žutog uljastog produkta **6** uz iskorištenje od 95 % (Slika 10)



Slika 10. Strukturna formula spoja **6**

**R<sub>f</sub>** (**6**) = 0,41 (diklormetan : acetonitril = 3 : 1)

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 5,42 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3,2$  Hz,  $J_{3,4} = 10,0$  Hz, H-3), 5,34-5,24 (m, 3H, H1, H-4, OH), 4,29-4,12 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 3,71 (d, 1H,  $J_{2,3} = 3,9$  Hz, H2), 2,17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

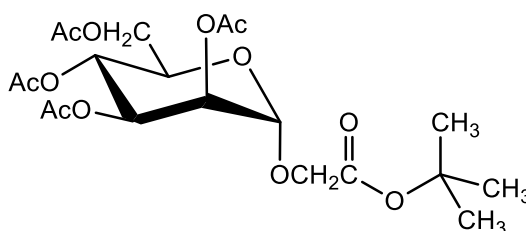
**DEPTQ NMR** (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 170,86, 170,21, 170,05, 169,80 (4 C=O, Ac), 92,13 (C1), 70,00, 68,73, 68,44, 66,14 (C2-C5), 62,54 (C6), 20,88, 20,74, 20,68, 20,67 (4 CH<sub>3</sub>, Ac).

**ESI-MS:**  $m/z$  371,1 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 3.5. Priprava *tert*-butil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetata (**7**)

Spoj **6** (0,8263 g, 2,372 mmol) se otopi u suhom *N,N*-dimetilformamidu (6 mL). Dodaju se 5 ekvivalenata prethodno izarenog kalijeva karbonata (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1,693 g, 11,86 mmol) te 1,5 ekvivalenta *tert*-butil-bromacetata (536,2  $\mu$ L, 3,56 mmol). Kalijev karbonat se žari pola sata na temperaturi od 150 °C. Reakcijska smjesa se miješa 2,5 h na sobnoj temperaturi u tikvici zatvorenoj staklenim čepom. Tijek reakcije se prati tankoslojnom kromatografijom uz sustav otapala kloroform : acetonitril = 3 : 1 uz detekciju karboniziranjem s 10 %-tnom sumpornom

kiselinom. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa se profiltrira preko Büchnerovog lijevka uz sniženi tlak. Tikvica se ispere s malo dietil-etera i profiltrira. Matičnica se prebaciti u lijevak za odjeljivanje i tri puta ispere s vodom ( $3 \times 60$  mL). Organski sloj se prebaci u tikvicu i suši na bezvodnom natrijevom sulfatu. Otopina se profiltrira, a otapalo upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Dobiveno je 996 mg spoja **7** u obliku žute uljaste tekućine uz iskorištenje od 91 % (Slika 11).



Slika 11. Strukturna formula spoja **7**

**R<sub>f</sub>** (**7**) = 0,71 (diklormetan : acetonitril = 3 : 1)

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>) δ / ppm: 5,41-5,28 (m, 3H, H-2, H-3, H-4); 4,96 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1,0$  Hz; H-1); 4,30 (dd, 1H,  $J_{5,6} = 4,8$  Hz,  $J_{6a,6b} = 12,2$  Hz, H-6b); 4,20 - 4,02 (m, 4H, H-5, H-6a, OCH<sub>2</sub>); 2,26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,04 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,48 (s, 9H; CH<sub>3</sub>; *t*-Bu).

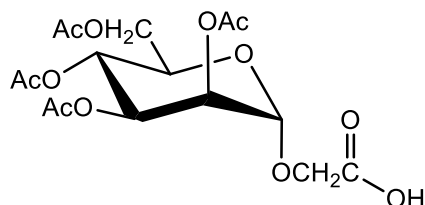
**DEPTQ NMR** (CDCl<sub>3</sub>) δ / ppm: 170,62, 169,78, 169,75, 169,69, 168,17 (5 C=O), 97,70 (C1), 82,30 (C, *t*-Bu), 69,32, 69,03, 68,87, 65,92 (C2, C3, C4, C5), 64,89, 62,29 (C6, OCH<sub>2</sub>), 28,03 (CH<sub>3</sub>, *t*-Bu), 20,84, 20,73, 20,68, 20,64 (4 CH<sub>3</sub>).

**ESI-MS:**  $m/z$  485,2 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 3.6. Priprava 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)octene kiseline (**8**)

Spoj **7** (0,9960 g, 2,154 mmol) otopi se u suhom diklormetanu (4 mL) te se doda trifluoroctena kiselina (2 mL). Reakcijska smjesa se miješa na magnetskoj miješalici pri sobnoj temperaturi 4 sata zatvorena s klor-kalcijevom cjevčicom. Tijek reakcije prati se tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala kloroform : acetonitril = 3 : 1 uz detekciju prskanjem 10 %-tnom sumpornom kiselinom uz zagrijavanje. Nakon završetka reakcije, doda se dietil-eter radi pospješavanja kristalizacije. Otapalo se upari na rotacijskom uparivaču, a

sirovi produkt **8** izolira se kromatografijom na stupcu silikagela uz kloroform : acetonitril = 3 : 1 kao eluens. Dobiveno je 607,1 mg čistog produkta **7** u obliku bezbojne uljaste tekućine uz iskorištenje od 69 % (Slika 12).



Slika 12. Strukturna formula spoja **8**

$R_f = 0,51$  ( $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{CN} = 3 : 1$ )

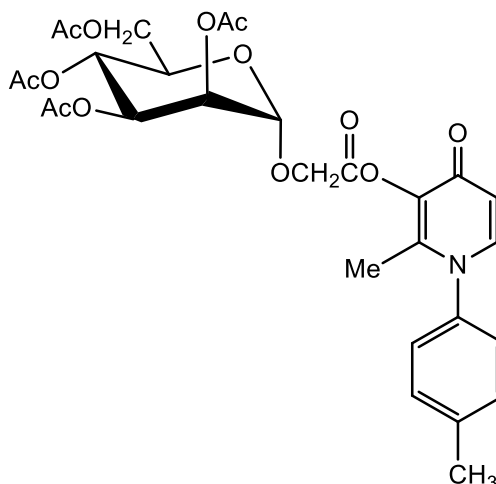
$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  / ppm: 5,35-5,25 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4,95 (d, 1H,  $J_{1,2} = 0,9$  Hz; H-1), 4,58 (s, <1H, OH), 4,32-4,16 (m, 4H, H-5, H-6a,  $\text{OCH}_2$ ), 4,11 (dd, 1H,  $J_{5,6} = 1,7$  Hz,  $J_{6a,6b} = 11,5$  Hz, H-6b), 2,14 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,06 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,04 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,96 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$\text{DEPTQ NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  / ppm: 172,45, 172,57, 171,50 (5 C=O), 99,17 (C1), 70,69, 70,49, 70,42, 67,16 (C2, C3, C4, C5), 63,50 (C6,  $\text{OCH}_2$ ), 20,68, 20,65, 20,60 (4  $\text{CH}_3$ ).

$\text{ESI-MS}$ :  $m/z$  429,2 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ .

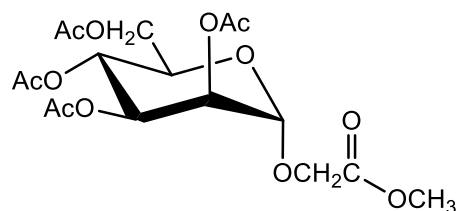
### 3.7. Pokušaj pripreve piridinonskog manozida **9** iz spojeva **2** i **8** – sintetski put a)

Pokušana je priprava odabranog piridinonskog manozida **9** (Slika 13) iz spojeva **2** i **8** u prisutnosti karbodiimidnih reagensa ( $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$ , DCC) i/ili nukleofilnih katalizatora (DMAP, HOBt).

Slika 13. Strukturna formula spoja **9**

### 3.7.1. Reakcija u prisutnosti EDC×HCl/DMAP

Spoj **2** (200 mg, 0,929 mmol) otopi se u suhom diklormetanu (4 mL). U otopinu se doda spoj **8** (377,5 mg, 0,929 mmol) i DMAP (11,35 mg, 0,0929 mmol). Tikvica se zatvori s klor-kalcijevom cjevčicom. Reakcijska smjesa se ohladi na ledenoj kupelji uz miješanje na magnetskoj mješalici. U ohlađenu reakcijsku smjesu doda se EDC×HCl (195,9 mg, 1,022 mmol) i ostavi miješati preko noći. Tijek reakcije prati se tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala acetonitril : voda = 5 : 1 uz detekciju apsorpcijom UV zračenja i uz prskanje 10 %-tnom sumpornom kiselinom i prženje. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa se razrijedi s diklormetanom (15 mL) te se dva puta ekstrahira s klorovodičnom kiselinom (0,5 mol dm<sup>-3</sup>; 2 × 20 mL). Slojevi se odijele, a organski sloj se dva puta ekstrahira sa zasićenom otopinom natrijeva hidrogenkarbonata (2 × 20 mL) te se ispere s vodom (25 mL). Organski sloj se suši na bezvodnom natrijevom sulfatu. Otopina se profiltrira, a diklormetan se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Sirovi produkt se pročisti kromatografijom na stupcu punjenom silikagelom uz smjesu otapala acetonitril : voda = 5 : 1 kao eluens. Dobiveno je 202 mg smeđeg uljastog produkta spoja **10**, metil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetata, uz iskorištenje od 52 % (Slika 14).

Slika 14. Strukturna formula spoja **10**

$R_f(\mathbf{10}) = 0,71$  (EtOAc : MeOH = 5 : 1)

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 5,4-5,37 (m, 2H, H-2, H-4), 5,33-5,28 (m, 1H, H-3), 4,94 (s, 1H, H-1), 4,30 - 4,08 (m, 5H, H-5, H-6a, H-6b,  $\text{OCH}_2$ ), 3,77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2,16 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , Ac), 2,11 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , Ac), 2,05 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , Ac), 2,00 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , Ac).

$\text{DEPTQ NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 170,59, 169,82, 169,78, 169,69, 169,45 (5 C=O), 97,93 (C1), 69,21, 69,14, 68,82, 65,89 (C2, C3, C4, C5), 64,61, 62,31 (C6,  $\text{OCH}_2$ ), 52,06 (C,  $\text{OCH}_3$ ), 20,82, 20,71, 20,67, 20,63 (4  $\text{CH}_3$ , Ac).

$\text{ESI-MS}$ :  $m/z$  443,0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 3.7.2. Reakcija u prisutnosti EDC×HCl/HOBt

Spoj **8** (100 mg, 0,246 mmol) se otopi u suhom diklormetanu (3 mL). Tikvica se zatvori s klor-kalcijevom cjevčicom i miješa na magnetskoj miješalici uronjena u ledenu kupelj. Nakon što se smjesa ohladi, doda se EDC×HCl (61,3 mg, 0,320 mmol) te trietilamin (3 ekvivalenta u odnosu na EDC×HCl). Nakon pola sata miješanja reakcijske smjese i hlađenja na ledenoj kupelji doda se HOBt (16,6 mg, 0,123 mmol). Nakon 2 h doda se 3 ekvivalenta spoja **2** (158,9 mg, 0,738 mmol), suhi diklormetan (3 mL) i suhi 1,4-dioksan (3 mL) radi poboljšanja topljivosti. Reakcija se ostavi miješati još 48 sati. Tijek reakcije prati se u dva sustava otapala etil-acetat : voda = 5: 1 te acetonitril : voda = 5 : 1. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa se ekstrahira dva puta s klorovodičnom kiselinom ( $2 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $2 \times 20 \text{ mL}$ ). Slojevi se odijele i organski sloj se ekstrahira još dva puta sa zasićenom otopinom natrijeva hidrogenkarbonata ( $2 \times 20 \text{ mL}$ ) te se ispere vodom (25 mL). Organski sloj se suši na bezvodnom natrijevom sulfatu. Otopina se profiltrira, a otapalo se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Na temelju  $R_f$  vrijednosti i spektra MS sirove reakcijske smjese ustanovljeno je da se radi o spoju **10** koji nije dodatno pročišćavan.

$\text{ESI-MS}$ :  $m/z$  443,0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 3.7.3. Reakcija u prisutnosti DCC/DMAP

Spoj **2** (100 mg, 0,464 mmol) se otopi u suhom diklormetanu (3 mL) i suhom 1,4-dioksanu (1 mL). U reakcijsku smjesu se doda spoj **8** (188,8 mg, 0,464 mmol), DMAP (5,7 mg, 0,0464 mmol) te DCC (105,4 mg, 0,511 mmol). Reakcijska smjesa se miješa 24 sata na magnetskoj miješalici pri sobnoj temperaturi. Nakon 24 sata doda se još suhog diklormetana (9 mL) i suhog 1,4-dioksana (3 mL) te se ostaviti miješati. Nakon dva dana doda se još DCC (50 mg).

Tijek reakcije prati se tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala etil-acetat : metanol = 5 : 1. Nakon tri dana otapalo se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Reakcijska smjesa se otopi u diklormetanu i ekstrahira dva puta s klorovodičnom kiselinom ( $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ;  $2 \times 20 \text{ mL}$ ). Organski sloj se ekstrahira dva puta sa zasićenom otopinom natrijeva hidrogenkarbonata ( $2 \times 20 \text{ mL}$ ) te se ispere s vodom (30 mL). Organski ekstrakt suši se na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltrira i otapalo upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Na temelju spektra MS sirove reakcijske smjese potvrđeno je nastajanje produkta **9** u tragovima, no kromatografsko pročišćavanje nije bilo uspješno.

**ESI-MS:**  $m/z$  635,1  $[M+MeOH]^+$ .

#### 3.7.4. Reakcija u prisutnosti DCC

Spoj **2** (50 mg, 0,232 mmol) se otopi u suhom diklormetanu (3 mL) i suhom 1,4-dioksanu (1 mL). Otopini je dodana ekvimolarna količina spoja **8** (94,3 mg, 0,232 mmol) i DCC (52,72 mg, 0,256 mmol). Reakcijsku smjesu se ostavi miješati 24 sata. Nakon 24 sata doda se suhi diklormetan (3 mL) i suhi 1,4-dioksan (1 mL) i ostavi miješati još 24 sata. Tijek reakcije se prati tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala etil-acetat : metanol = 5 : 1. Nakon 48 sati otapalo se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Uparena reakcijska smjesa se otopi u diklormetanu i ekstrahira dva puta s klorovodičnom kiselinom ( $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ), dva puta s zasićenom otopinom natrijeva hidrogenkarbonata te se ispere s vodom (30 mL). Organski ekstrakt se suši na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltrira i otapalo upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Na temelju spektra MS sirove reakcijske smjese potvrđeno je nastajanje produkta **9** u tragovima, no kromatografsko pročišćavanje nije bilo uspješno.

**ESI-MS:**  $m/z$  635,1  $[M+MeOH]^+$ .

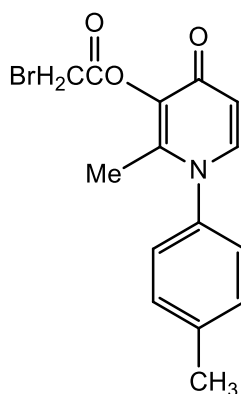
#### 3.7.5. Reakcija u prisutnosti DCC/HOBt

Spoj **8** (31,5 mg, 0,077 mmol) otopi se u suhom diklormetanu (3 mL) i suhom 1,4-dioksanu (1 mL). Reakcijska smjesa se ohladi u ledenoj kupelji uz miješanje na magnetskoj miješalici. U ohlađenu reakcijsku smjesu najprije se doda trietilamin (41,86 mL, 0,302 mmol) i DCC (20,77 mg, 0,101 mmol), a nakon pola sata i HOBt (5,2 mg, 0,00387 mmol). Reakcijska smjesa se hladi dva sata na ledenoj kupelji uz miješanje nakon čega se doda spoj **2** (50 mg, 0,232 mmol), suhi diklormetan (1 mL) i suhi 1,4-diokosan (1 mL). Reakcijska smjesa se

miješa 24 sata. Tijek reakcije prati se tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala etil-acetat : metanol = 5 : 1. Reakcijska smjesa je uparena i snimljen joj je maseni spektar kojim je potvrđena prisutnost samo neizreagiranog spoja **2**.

### 3.8. Pokušaj pripreve piridinonskog estera **11** – novog prekursora za sintezu spoja **9** sintetskim putem b)

Paralelno s pokušajima pripreve spoja **9** esterifikacijom iz spojeva **2** i **8** pokušalo se prirediti novi prekursor za sintezu spoja **9**, ester **11** (Slika 15) na kojeg bi se poslije vezao spoj **6**, tetraacetat manoze.



Slika 15. Reakcija pripreve estera **11**

#### 3.8.1. Reakcija spoja **2** i bromoctene kiseline uz EDC×HCl/DMAP

Spoj **2** (100 mg, 0,465 mmol) se otopi u suhom diklormetanu (3 mL) i dioksanu (1 mL). U ohlađenu reakcijsku smjesu se doda bromoctena kiselina (64,6 mg, 0,465 mmol) i DMAP (5,7 mg, 0,046 mmol). Tikvica se zatvori s klor-kalcijevom cjevčicom i miješa uz hlađenje na ledenoj kupelji. U reakcijsku smjesu se zatim doda EDC×HCl (97,97 mg, 0,511 mmol) i nastavi miješati preko noći. Sljedeći dan u reakcijsku smjesu se doda suhi DMF (2 mL) i ostavi miješati još 24 sata. Tijek reakcije prati se tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala etil-acetat : metanol = 5 : 1. Nakon dva dana reakcijska smjesa je uparena do suha. Sirovi produkt se otopi u etil-acetatu i ekstrahira vodom (2×20 mL). Organski sloj se suši na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltrira i otapalo se upari na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Sirovoj reakcijskoj smjesi snimljen je spektar MS u kojem je potvrđena prisutnost samo neizreagiranog spoja **2**.

**ESI-MS:**  $m/z$  216,0 [M+H]<sup>+</sup>.



### 3.8.2. Reakcija spoja 2 i bromacetil-bromida

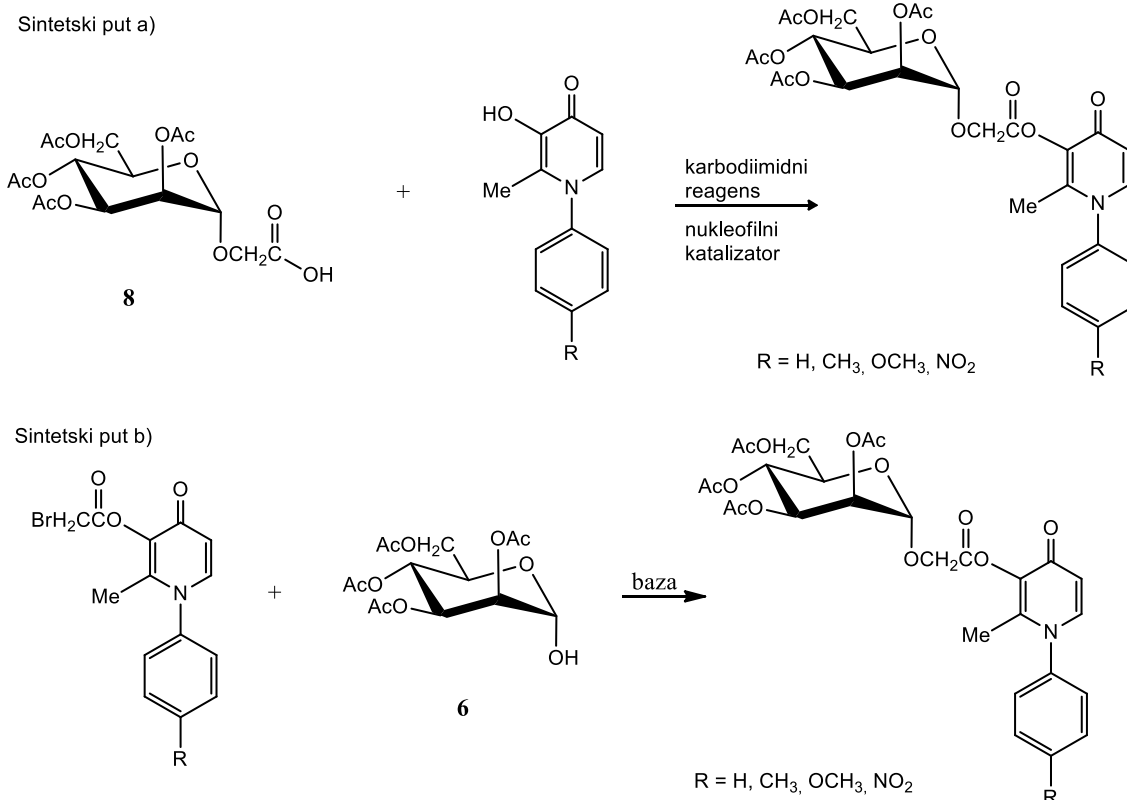
Spoj 2 (100 mg, 0,465 mol) se otopi u suhom diklormetanu (3 mL) i 1,4-dioksanu (1 mL) te se doda trietilamin (96,75  $\mu$ L, 0,698 mmol). Reakcijska smjesa miješa se uz hlađenje suhim ledom na -78 °C. Kroz injekciju se dokapa bromacetil-bromid (41  $\mu$ L, 0,465 mmol). Tijek reakcije se prati tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala etil-acetat : metanol = 5 : 1. Nakon završetka reakcije produkt se ekstrahira tri puta vodom (3 $\times$ 15 mL). Kromatografskim pročišćavanjem reakcijske smjese izoliran je samo neizreagirani polazni spoj 2.

**ESI-MS:**  $m/z$  216,0 [M+H]<sup>+</sup>.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Uvod

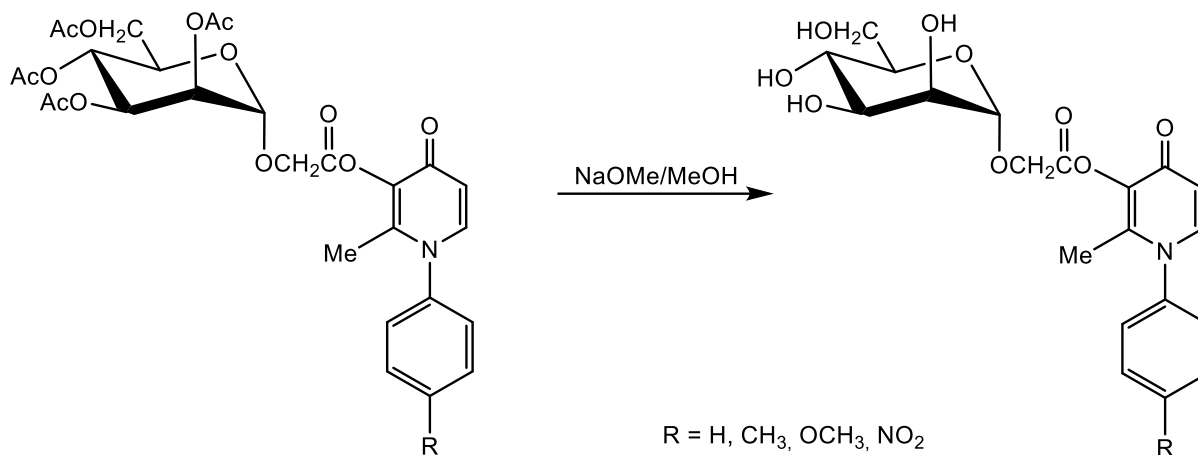
U sklopu ovog diplomskog rada ispitivane su mogućnosti priprave piridinonskih  $\alpha$ -manozida s octenom kiselinom kao C2 poveznicom između manoze i piridinona. Za sintezu ciljnih molekula razrađena su dva sintetska puta. Sintetski put a) uključivao je priprevu manoznog prekursora **8** koji će se u uvjetima Steglichove esterifikacije uz odgovarajuće karbodiimidne reagense (*N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilkarbodiimid hidroklorid, EDC $\times$ HCl i *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimid, DCC) i nukleofilne katalizatore (4-dimetilaminopiridin, DMAP i 1-hidroksibenzotriazol, HOBT) najprije pokušati povezati s odabranim piridinonskim alkoholom, spojem **2** (Shema 24), a nakon optimiranja postupka i s ostalim piridinonima, spojevima **1**, **3** i **4**. U sintetskom putu b) ideja je bila polazni piridinonski alkohol najprije povezati s bromoctenom kiselinom postupkom Steglichove esterifikacije, a zatim na dobiveni ester vezati manozni prekursor **6** (Shema 24). Kao piridinonski alkohol koji će poslužiti za optimiranje postupka priprave estera bromoctene kiseline i u ovom je sintetskom putu poslužio spoj **2**.



Shema 24. Odabrani sintetski putevi za priprevu piridinonskih  $\alpha$ -manozida:

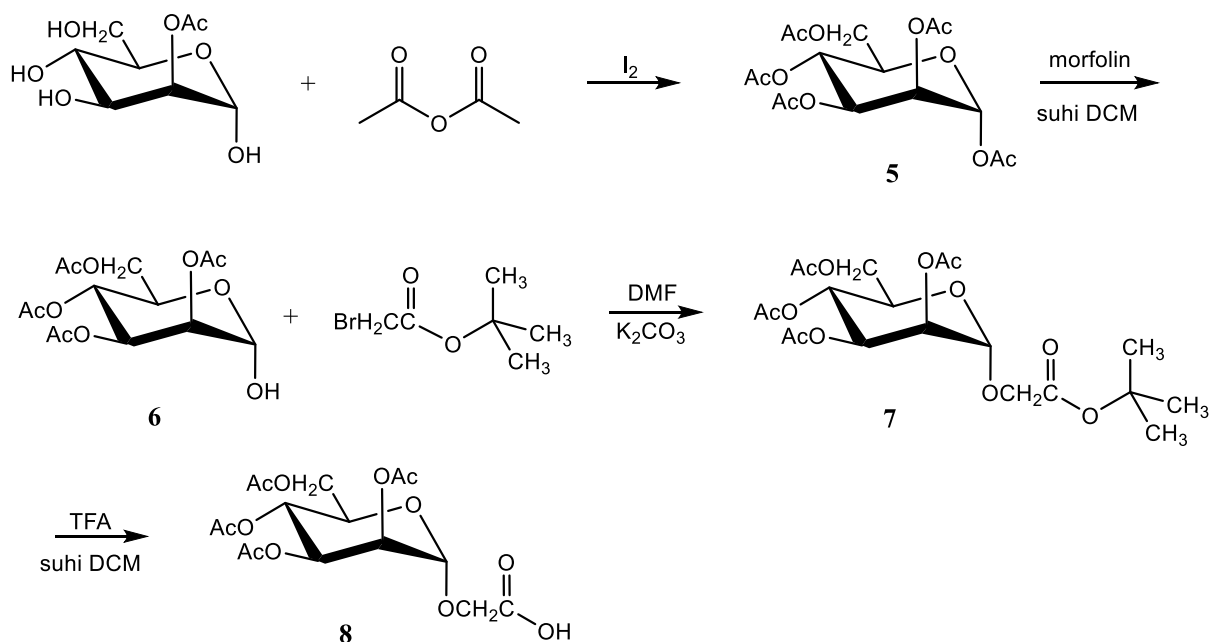
sintetski putevi a) i b)

Zadnji korak u oba sintetska puta uključivao bi uklanjanje acetilne zaštite s hidroksilnih skupina manoze Zemplénovim postupkom transesterifikacije u prisutnosti natrijevog metoksida u metanolu (Shema 25).



Shema 25. Uklanjanje acetilne zaštite s acetiliranih piridinonskih  $\alpha$ -manozida Zemplénovim postupkom

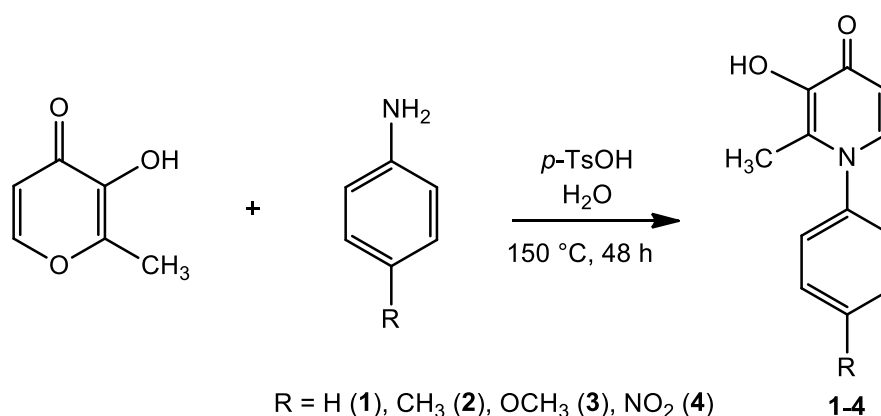
Za oba sintetska puta bilo je potrebno pripraviti odgovarajuće manozne prekursore, spojeve **6** i **8**. Sinteza kreće od manoze i prikazana je na shemi 26, a detaljno je komentirana u poglavlju 4.3.. Spoj **6** je međuprodukt u sintetskom putu pripreve spoja **8**.



Shema 26: Priprava manoznih prekursora **6** i **8**

## 4.2. Priprava 3,4-HP

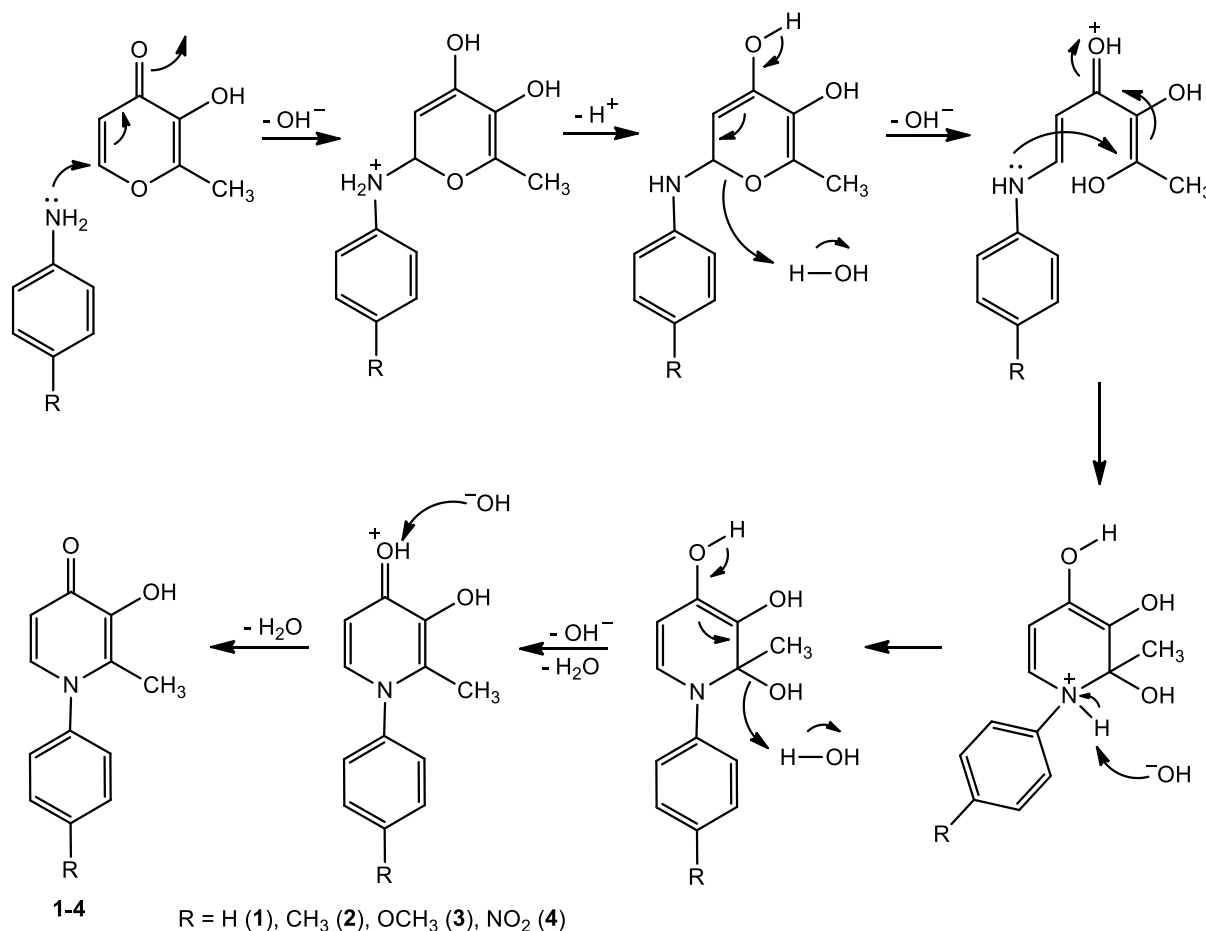
3,4-HP se mogu pripremiti na dva načina, Harrisovom metodom<sup>17</sup> i izravnom metodom.<sup>39,40</sup> U ovome radu za sintezu *para* supstituiranih 3,4-HP odabrana je izravna metoda. Spojevi **1-4** pripremljeni su sintezom iz polaznog piranonskog spoja, maltola, i anilina ili odgovarajućeg derivata *para*-supstituiranog anilina uz dodatak *para*-toluensulfonske kiseline (*p*-TsOH) kao katalizatora. Pripremljena vodena otopina reaktanata i katalizatora zagrijava se na 150 °C u autoklavu 48 sati (Shema 27).



Shema 27. Priprava spojeva **1-4** izravnom metodom

Budući su amini koji se koriste u ovoj reakciji i baze, kao što je ranije spomenuto, moguće je deprotoniranje hidroksilne skupine maltola i nastanak kompetitivnog nukleofila, alkoksida. Nastanak alkoksida dovodi do neželjene sporedne reakcije – polimerizacije alkoksida (Shema 8). Stvaranjem polimera smanjuje se prinos koji je za ove reakcije ionako umjeren do nizak. Da bi se spriječilo deprotoniranje hidroksilne skupine i stvaranja alkoksida moguće je ili zaštititi hidroksilnu skupinu te onemogućiti njeno deprotoniranje ili dodati kiseli katalizator.<sup>1</sup> U tu je svrhu u ovome radu kod pripreve derivata 3,4-HP korištena *p*-TsOH kao katalizator.

Mehanizam pripreve 3,4 HP uključuje dvostruku Michaelovu adiciju na C-2 i C-6 atome maltola. Nukleofil je anilin ili odgovarajući *para* supstituirani derivat anilina (Shema 28).



Shema 28. Mehanizam konverzije piranonskog prstena u 3,4-HP

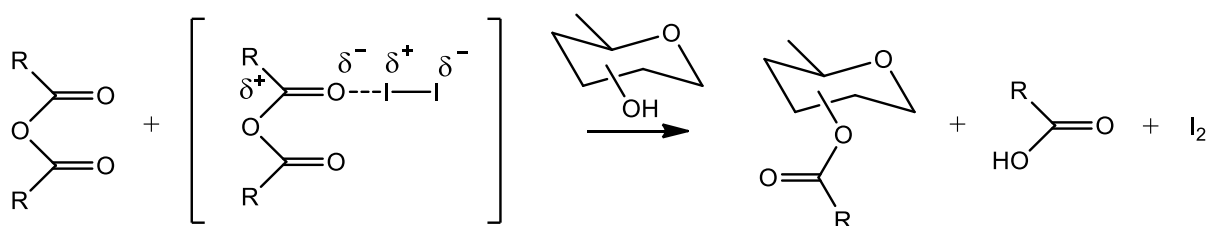
Reakcijom maltola i anilina, *p*-metilanilina (*p*-toluidina), *p*-metoksianilina (*p*-anisidina) i *p*-nitroanilina u opisanim reakcijskim uvjetima pripravljena su četiri derivata 3,4-HP i to redom: 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-on (**1**) u prinosu od 48 %, 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on (**2**) u prinosu od 64 %, 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksifenil)piridin-4-on (**3**) u prinosu od 65 % te 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on (**4**) s prinosom od 42 %. Svi su spojevi izolirani u čvrstom agregacijskom stanju te su prema potrebi prekrizalizirani kao što je opisano u literaturi.<sup>7</sup> Od pripremljenih derivata 3,4-HP spoj **2** izoliran je u najčišćem obliku te je poslužio za optimiranje postupka pripreve piridinonskih  $\alpha$ -manozida s idejom da se kasnije ovaj postupak primijeni i na ostale derivate 3,4-HP.

### 4.3. Priprava manoznih prekursora

Za vezanje manozne podjedinice na piridinonske alkohole bilo je potrebno pripraviti odgovarajuće manozne prekursore, spojeve **6** i **8**. Spoj **6**, 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoza, koristit će se kao manozni prekursor u sintetskom putu b). Osim toga, iz njega je u daljnja dva reakcijska koraka pripremljen spoj **8**, 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)octene kiseline, manozni prekursor u sintetskom putu a).

#### 4.3.1. Priprava 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoze (5)

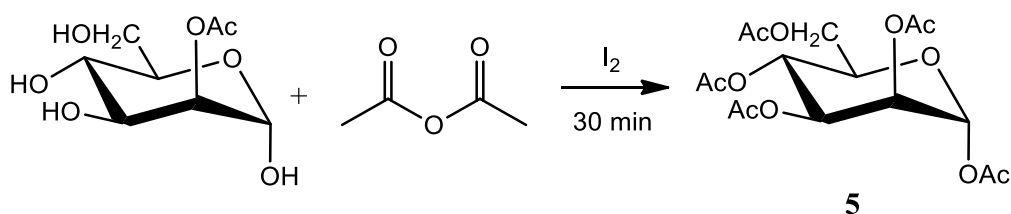
Aciliranje je najčešće korištena metoda zaštite hidroksilnih skupina ugljikohidrata. Hidroksilne skupine ugljikohidrata uobičajno se prevode u estere octene ili benzojeve kiseline, pa govorimo o acetiliranju i benzoiliranju. Kao donori acila koriste se odgovarajući anhidridi ili kiselinski halogenidi u prisutnosti različitih promotora. Najčešće se u tu svrhu koristi piridin koji služi i kao otapalo i kao sredstvo koje veže izlazne skupine acilnog donora, karboksilat kod upotrebe anhidrida odnosno halogenid, najčešće klorid, ako je izvor acila kiselinski halogenid (klorid). Kod acetiliranja druga je popularna metoda korištenje natrijeva acetata i anhidrida octene kiseline uz refluks. Obje metode imaju određene nedostatke te je metoda acetiliranja uz jod kao promotor posebno popularna zbog jednostavnosti i lakog rukovanja.<sup>41</sup> Jod je Lewisova kiselina koja polarizira karbonilnu skupinu anhidrida octene kiseline čime se povećava elektrofilnost ugljikovog atoma karbonilne skupine anhidrida i time pospješuje nukleofilni napad alkohola (Shema 29).



Shema 29. Aciliranje uz jod kao promotor

Acetiliranje manoze u ovome radu prevedeno je korištenjem acetanhidrida uz jod kao promotor. Manozna je otopljena u anhidridu octene kiseline, koji služi i kao reaktant i kao otapalo, te je dodan jod pri čemu je reakcijska smjesa poprimila crveno-smeđu boju. Otopina se miješala 30 minuta na magnetskoj mješalici na sobnoj temperaturi. Nakon završetka

reakcije reakcijska smjesa razrijeđena je s diklormetanom te ekstrahirana sa zasićenom otopinom natrijeva tiosulfata pri čemu dolazi do obezbojenja reakcijske smjese zbog uklanjanja joda. Organski sloj nadalje se ekstrahira sa zasićenom vodenom otopinom natrijeva karbonata pri čemu dolazi do burne reakcije u kojoj se uklanja acetanhidrid što je praćeno otpuštanjem ugljikovog dioksida. Nakon uparavanja otapala dobiven je sirovi produkt **5** u visokom prinosu od 85 % čija je struktura potvrđena spektroskopijom NMR (Shema 30).

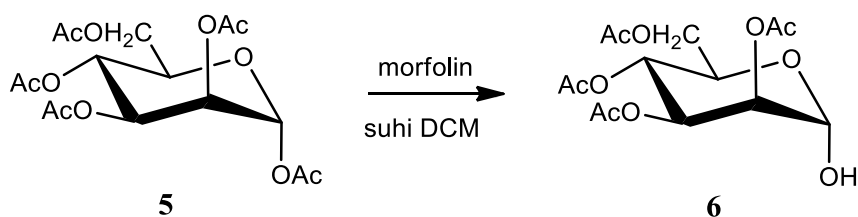


Shema 30. Priprava spoja **5**

#### 4.3.2. Priprava 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoze (**6**)

Spoj **6** se dobije uklanjanjem acetilne zaštitne skupine s primarne hidroksilne skupine spoja **5** (Shema 31). Acetilna zaštitna skupina uklanja se u blagim bazičnim uvjetima no može se ukloniti i kiselo kataliziranom solvolizom (tranesterifikacija).<sup>42</sup> Reakcija deacetiliranja s anomerne hidroksilne skupine već se provodila na Zavodu za organsku kemiju korištenjem cinkova acetata. Glavni nedostatak ovog pristupa bio je relativno niski prinos te nešto zahtjevnija obrada reakcijske smjese zbog prisutnosti metala.

Acetilna zaštita s primarne hidroksilne skupine peracetilirane manoze **5** u ovome radu regioselektivno je uklonjena hidrolizom u blagim bazničnim uvjetima korištenjem morfolina u suhom diklormetanu.



Shema 31. Priprava spoja **6**

Reakcija je ponavljana više puta kako bi se optimirali reakcijski uvjeti. Provođena je pri sobnoj temperaturi i uz hlađenje u ledenoj kupelji, varirano je vrijeme trajanja reakcije, a tijekom reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Na temelju TLC se pokazalo da je reakcija pri sobnoj temperaturi neselektivna jer se osim acetila s primarnog položaja na molekuli manoze počinju uklanjati i acetili s ostalih hidroksilnih skupina što rezultira nastankom smjese produkata koju je teško pročititi kolonskom kromatografijom. Reakcija na sobnoj temperaturi pokazuje željenu selektivnost samo ako se pusti kratko, primjerice 30-ak minuta, no u tom je slušaju niska konverzija reaktanta u produkt, odnosno slab prinos. S druge strane, pri sniženoj temperaturi reakcija je znatno selektivnija. Kontrolom vremena trajanja reakcije moguće je postići i visok prinos i visoku selektivnost. Na temelju provedenih pokusa može se zaključiti da su optimalni uvjeti za ovu reakciju postignuti hlađenjem reakcijske smjese i provođenjem reakcije u trajanju 2,5 sata. Reakcijska smjesa se obrađuje višestrukim ekstrakcijama te nije potrebno dodatno kromatografsko pročišćavanje prije daljnjeg korištenja. Prinos produkta **6** malo je varirao ovisno o masi polaznog spoja **5** koji se koristio u deacetiliranju, no uvijek je bio iznad 80 %. Ono što je posebno važno istaknuti jest da reakcija pokazuje i visoku stereoselektivnost te je na temelju spektara NMR potvrđeno nastajanje samo željenog  $\alpha$ -anomera, dok je  $\beta$ -anomer nastao u tragovima.

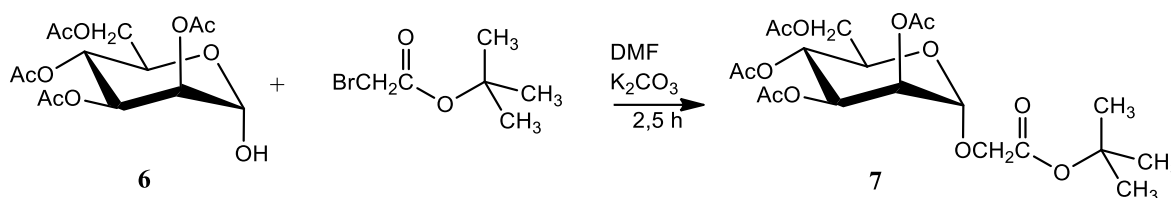
Pripravom spoja **6** dobiven je prekursor za sintetski put b). Daljnjim modificiranjem iz spoja **6** dobiven je spoj **8**, manozni prekursor za sintetski put a).

#### 4.3.3. Priprava tert-butil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetilmanopiranoziloksi)acetata (**7**)

Spoj **7** pripravljen je vezanjem spoja **6** i estera bromoctene kiseline preko eterske veze (Shema 32). Eteri se najčešće pripravljaju dehidratiranjem alkohola ili reakcijom halogenalkana s alkoholom u bazičnom mediju (Williamsonova sinteza). U ovome radu za stvaranje eterske veze između estera bromoctene kiseline i tetraacetata manoze **6** korištena je Williamsonova sinteza uz kalijev karonat kao bazu u DMF-u kao otapalu. Mehanizam sinteze je mehanizam nukleofilne bimolekulske supstitucije,  $S_N2$  reakcije. Reakcija se odvija u jednom koraku. Pogodni supstrati za sintezu su primarni i sekundarni halogenalkani jer imaju dobru izlaznu skupinu čime se izbjegava neželjena konkurentna reakcija eliminacije (E2). Ukoliko se radi o terciarnom supstratu, prednost ima reakcija eliminacije.<sup>43</sup> Kao primarni

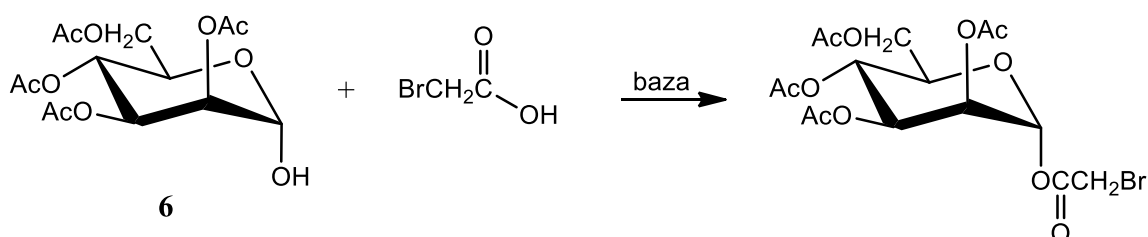


halogenalkan korišten je *tert*-butil-bromacetat. U prisutnosti kalijeva karbonata kao baze deprotonira se slobodna hidroksilna skupina tetraacetilirane manoze **6** dajući pogodni nukleofil, alkoksid. Nukleofil napada ugljikov atom molekule halogenalkana pri čemu uz izlazak bromida kao dobre izlazne skupine dolazi do nastajanja spoja **7**. Ova reakcija zapravo predstavlja glikoziliranje tetraacetata manoze, spoja **6**, te je nastali produkt spoj **7** glikozid. S obzirom da se reakcija ne odvija na anomernom ugljikovom atomu manoze, već je kisikov atom molekule manoze nukleofil, ne dolazi do promjene konfiguracije na anomernom centru i glikozid **7** ima zadržanu željenu  $\alpha$ -konfiguraciju. Prinos ove reakcije je visok, uglavnom oko 90 %.



Shema 32. Priprava spoja **7**

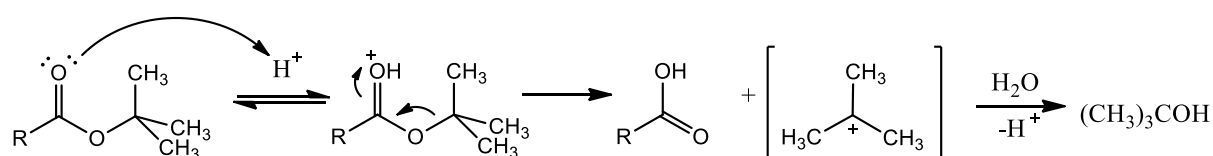
Za sintezu spoja **7** korišten je *tert*-butil-bromacetat, ester bromoctene kiseline. *Tert*-butilna skupina u ovome slučaju služi kao zaštitna skupine karboksilne skupine bromoctene kiseline jer je poznato da bi korištenjem nezaštićene bromoctene kiseline došlo do neželjene sporedne reakcije esterifikacije i formiranja estera bromoctene kiseline i tetraacetata manoze kao alkohola (Shema 33). Zaštitom karboksilne skupine sterički je onemogućen napad nukleofila na karbonilni ugljikov atom karbonylne skupine te je spriječena neželjena sporedna reakcija.



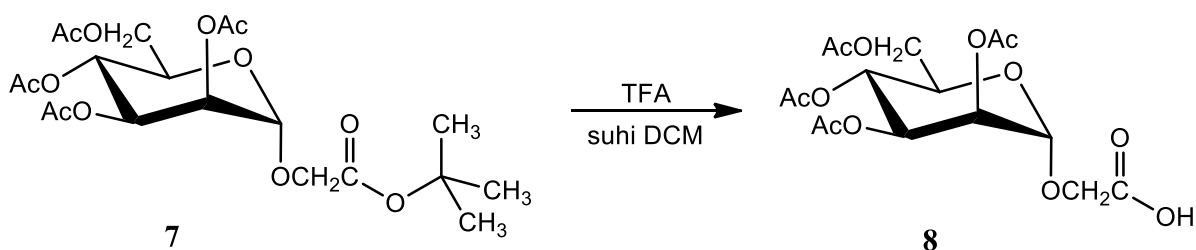
Shema 33. Mogući produkti u reakciji s nezaštićenom bromoctenom kiselinom

4.3.4. Priprava 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)octene kiseline (**8**)

Karboksilne skupine mogu se zaštititi na dva načina: steričkim blokiranjem karboksilne skupine čime se sprječavaju reakcije s bazama i nukleofilima (esterska i amidna zaštita) te blokiranjem karboksilne skupine kako bi se osim reakcije s bazom i nukleofilom spriječila i enolizacija (ortoesterska zaštita). Za steričko blokiranje često se koristi *tert*-butilni ester koji je stabilan u baznim uvjetima što je presudno za daljnji tijek naše sinteze. *Tert*-butilna zaštita uklanja se u kiselim reakcijskim uvjetima  $A_{AL}1$  mehanizmom (Shema 34). Kao kiseline uobičajno se koriste TFA, HBr ili HCl u AcOH.<sup>42</sup>

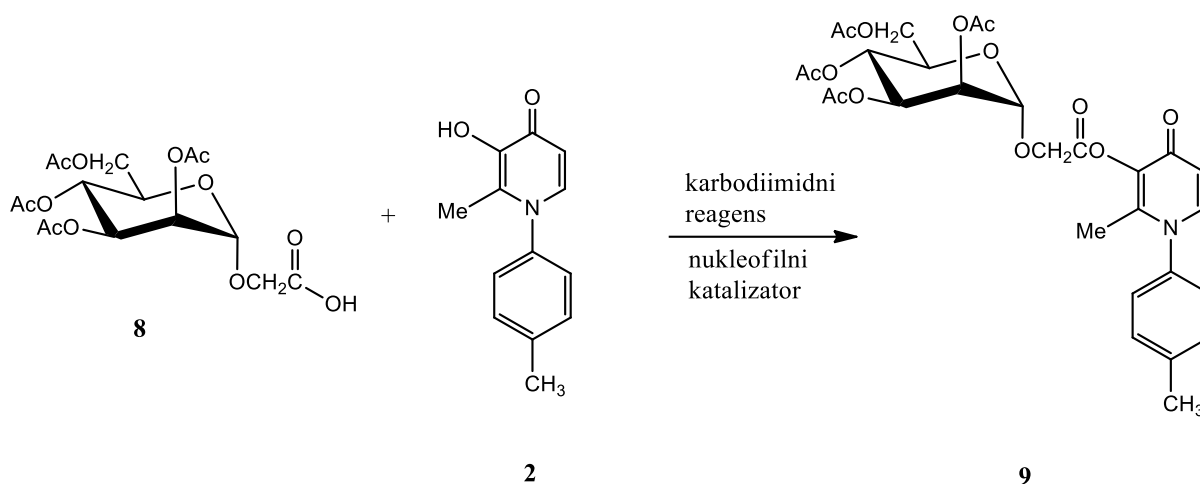
Shema 34.  $A_{AL}1$  mehanizam<sup>44</sup>

Uklanjanje *tert*-butilne zaštite izvedeno je pomoću trifluorooctene kiseline uz miješanje reakcijske smjese na magnetskoj mješalici (Shema 35). Dobiveni sirovi produkt **8** potrebno je pročititi kromatografijom na stupcu silikagela. Korišteno je više sustava otapala jer se pokazalo da se produkt reakcije, karboksilna kiselina **8**, dosta slabo eluira s kromatografske kolone zbog čvrstog vezanja na silikagel, pa je kolonu nakon kromatografije bilo potrebno ispirati s polarnim metanolom. Kao optimalni sustav otapala za kromatografiju pokazao se diklormetan : acetonitril = 3 : 1 pri čemu je prinos produkta **8** dosegnuo zadovoljavajućih 69 %.

Shema 35. Priprava spoja **8**

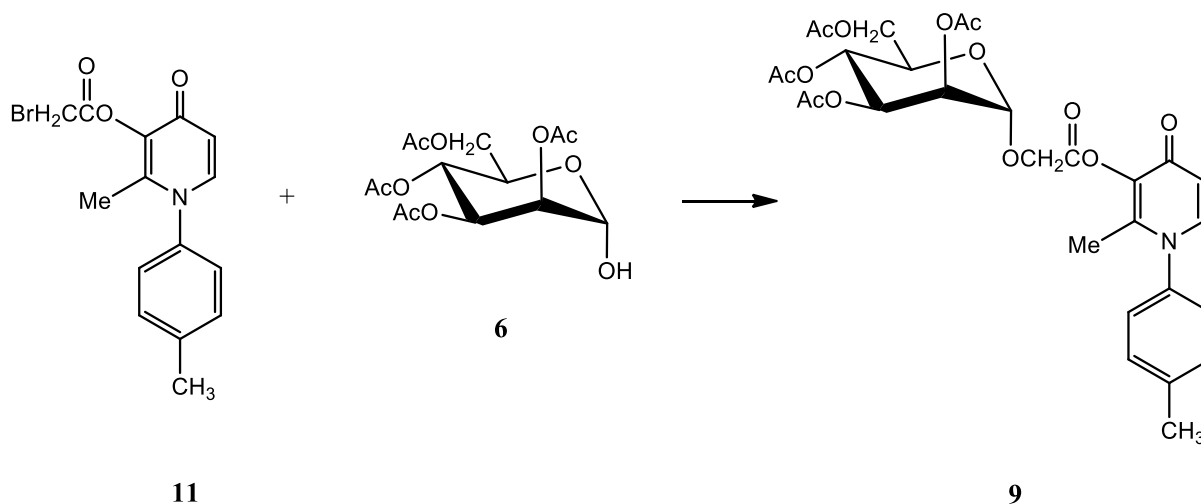
#### 4.4. Pokušaji priprave piridinonskih manozida

Za pripravu piridinonskih manozida primarno je razrađen sintetski put a) koji uključuje vezanje manozilirane octene kiseline, spoja **8**, na piridinon kao alkohol postupkom Steglichove esterifikacije (Shema 36). Steglichova esterifikacija je metoda priprave estera iz karboksilne kiseline i alkohola uz karbodiimidni reagens koji aktivira karboksilnu skupinu i nukleofilni katalizator poput DMAP-a, HOBt-a i drugih, čija je temeljna uloga spriječiti brzu pregradnju *O*-acilizouree u *N*-acilureu (poglavlje 2.4.2, Shema 13). Za optimiziranje postupka vezanja manozilirane octene kiseline **8** na piridinon kao alkohol odabran je piridinon **2** radi njegove visoke čistoće.



Shema 36. Priprava spoja **9** Steglichovom metodom esterifikacije iz spojeva **2** i **8** – sintetski put a)

Osim ovog sintetskog puta, razrađen je i alternativni put b) u kojem je najprije trebalo sintetizirati piridinonski ester bromoctene kiseline, spoj **11**, kao novi prekursor na kojeg će se naknadno vezati tetraacetat manoze, spoj **6** (Shema 37). Za pripravu estera **11** ponovno je odabran Steglichov postupak esterifikacije, dok bi vezanje tetraacetata **6** na piridinonski ester **11** trebalo ići Wiliamsonovom sintezom etera, na način analogan prvom koraku u sintetskom putu a).



Shema 37. Priprava spoja **9** iz prekursora **11** i spoja **6** – sintetski put b)

#### 4.4.1. Pokušaj priprave piridinonskog manozida **9** iz spojeva **2** i **8** – sintetski put a)

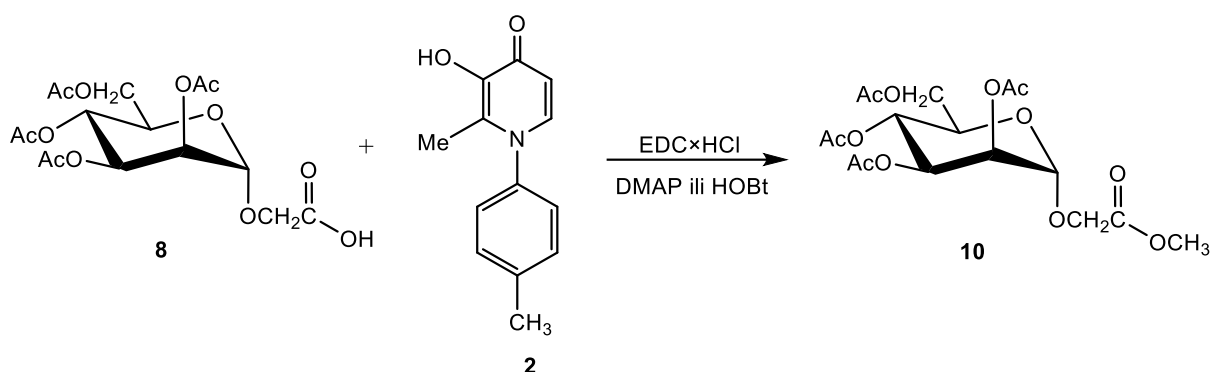
##### 4.4.1.1. Reakcije u prisutnosti EDC×HCl kao karbodiimidnog reagensa

Za pripravu spoja **9** u uvjetima Staglicheve esterifikacije najprije je odabran EDC kao karbodiimidni reagens umjesto uobičajno korištenog DCC-a. Osnovna prednost korištenja EDC-a jest ta što reakcijom iz EDC-a nastaje u vodi topljiva urea. Ona se nakon provedene reakcije lako uklanja iz reakcijske smjese u obradi ekstrakcijom, ostaje otopljena u vodi. Urea koja nastaje iz DCC u istoj vrsti reakcije pokazuje određenu topljivost u velikom broju organskih otapala koja se mogu koristiti u ekstrakciji, pa se teško uklanja iz reakcijske smjese što otežava izolaciju produkta.

Kao nukleofilni katalizatori korišteni su DMAP odnosno HOBt. Reaktanti, spojevi **2** i **8**, u reakciju se stavljaju u ekvimolarnom omjeru, dok se DMAP-a ili HOBt-a kao nukleofilnih katalizatora doda 0,1 molarni ekvivalent, a EDC×HCl se doda 1,1 molarni ekvivalent. Reakcija se provodi u suhom DCM-u, no zbog relativno slabe topljivosti piridinona **2** dodaje se i suhi 1,4-dioksan koji poboljšava topljivost. Reakcijska smjesa se isprva hladi na ledenoj kupelji, a zatim se ostavi miješati preko noći na sobnoj temperaturi.

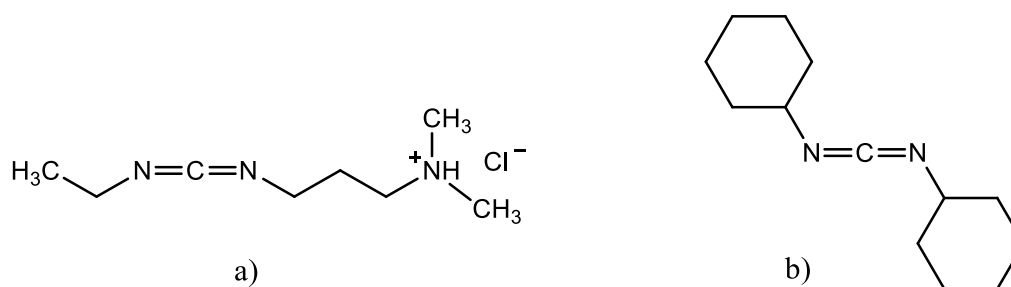
Tijek obiju reakcija praćen je TLC-om te je u oba slučaja osim mrlja reaktanata uočeno nastajanje još jedne mrlje koja se nije uočavala pri detekciji s UV svjetlom, ali se je

pržila pri detekciji sumpornom kiselinom uz zagrijavanje. S obzirom da bi se očekivani produkt **9** trebao detektirati i pod UV svjetlom i pri detekciji sumpornom kiselinom uz zagrijavanje, moglo se već na temelju TLC-a zaključiti da željeni produkt **9** nije nastao. Nakon što su obje reakcijske smjese obrađene i kromatografski pročišćene struktura nastalog produkta potvrđena je i spektroskopijom NMR i spektrometrijom masa. U oba slučaja reakcijom spojeva **2** i **8** nastao je sporedni neželjeni produkt metil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetat, spoj **10** (Shema 38).



Shema 38. Nastajanje sporednog produkta **10** iz spojeva **2** i **8** u uvjetima Steglichove esterifikacije u EDC×HCl kao karbodiimidni reagens

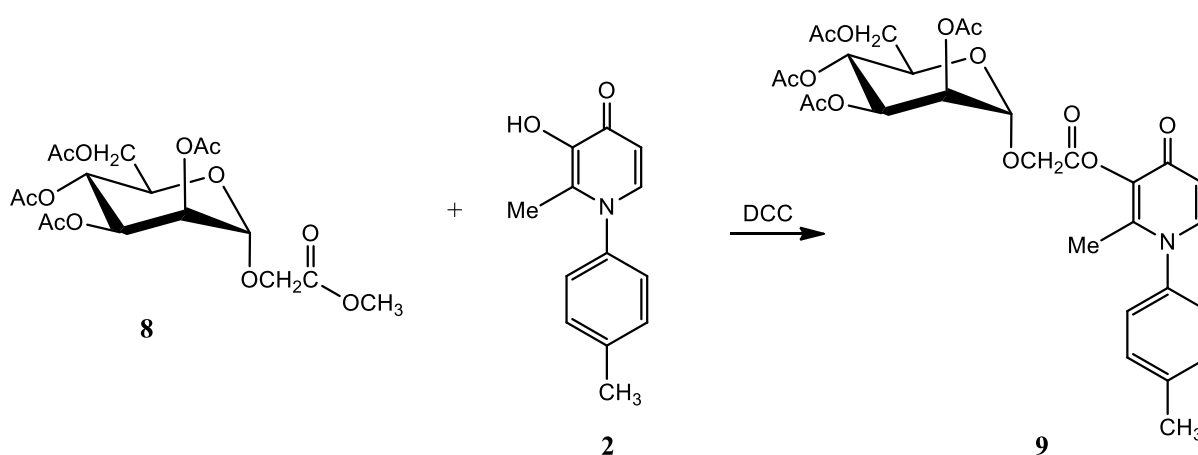
Reakcijom spojeva **2** i **8** u navedenim uvjetima došlo je do nastanka metilnog estera manozilirane octene kiseline **8**, spoja **10**, te je izostala željena reakcija spoja **8** sa spojem **2**. Budući da je spoj **10** dobiven i kod reakcije u prisutnosti DMAP-a i kod reakcije u prisutnosti HOBT-a zaključeno je da je izvor metila u obje reakcije bio EDC te je u nastavku istraživanja EDC zamijenjen drugim karbodiimidnim reagensom DCC-om u čijoj strukturi nema metilirane amino-skupine (Slika 16).



Slika 16. Strukturne formule molekula: a) EDC×HCl i b) DCC

#### 4.4.1.2. Reakcije u prisutnosti DCC kao karbodiimidnog reagensa

Nakon nastanka neželjenog produkta **10** u reakcijama u kojima je korišten EDC kao karbodiimidni reagens, spoj **9** se pokušalo pripraviti iz spojeva **2** i **8** korištenjem drugog karbodiimidnog reagensa, dicikloheksilkarbodiimida (DCC), sa ili bez dodatka nukleofilnog katalizatora, DMAP-a i HOBt-a. Provedene su tri reakcije (Shema 39). U reakcijama provedenima u prisutnosti DCC i DMAP-a te samo DCC-a tankoslojnom kromatografijom uočeno je nastajanje nove vrste, ali u tragovima. Stoga su reakcijske smjese obrađene na opisani način i bez dodatnog pročišćavanja analizirane spektrometrijom masa te je potvrđeno nastajanje željenog produkta reakcije. MS analizom obje reakcijske smjese uočeno je nastajanje iona pri  $m/z$  635,1 što odgovara masi  $[M+MeOH]^+$ . Isti molekularski ion nije uočen kod reakcije u prisutnosti HOBt-a kao nukleofilnog katalizatora.



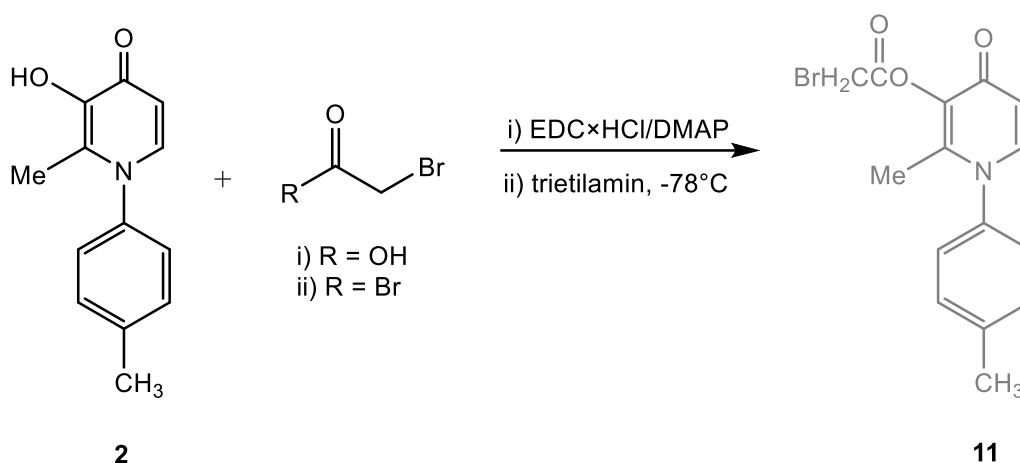
Shema 39. Priprava spoja **9** iz spojeva **2** i **8** uz DCC kao karbodiimidni reagens

U nastavku istraživanja potrebno je optimirati uvjete reakcija u kojima je uočeno nastajanje željenog produkta **9** te na sličan način sintetizirati i ostale manokonjugate iz pripremljenih piridinona **1**, **3** i **4**.

#### 4.4.2. Pokušaj pripreve piridinonskog estera **11** – novog prekursora za sintezu piridinonskog manozida **9** sintetskim putem b)

Nakon poteškoća u pripremi spoja **9** sintetskim putem a) pristupilo se planiranju sinteze alternativnim putem b) (Shema 24). Prvi korak u sintezi jest priprava piridinonskog estera bromoctene kiseline **11** (Shema 40) na kojeg bi se zatim vezala manozna, odnosno tetraacetat

manoze **6** u uvjetima Williamsonove sinteze etera. Za preliminarna ispitivanja ponovno je odabran piridinon **2**. Ispitane su dvije reakcije: reakcija spoja **2** s bromoctenom kiselinom u uvjetima Steglichove esterifikacije u prisutnosti EDC×HCl/DMAP, te reakcija reaktivnog derivata octene kiseline, bromacetil-bromida, sa spojem **2** u prisutnosti trietilamina kao baze i uz hlađenje na -78 °C. Zbog ranije navedenih problema s topljivošću piridinona **2**, u obje je reakcije kao otapalo korištena smjesa suhog DCM-a i 1,4-dioksana u volumnom omjeru 3 : 1.



Shema 40. Priprava spoja **11**

Niti jedan od pokušaja esterifikacije bromoctene kiseline piridinonom **2** kao alkoholom nije rezultirao nastankom estera **11**. Tijek reakcija praćen je TLC-om i nije uočeno nastajanje željenog produkta što je kasnije potvrđeno i spektrometrijom masa reakcijskih smjesa gdje je u oba slučaja zabilježen samo signal molekuskog iona neizreagirano piridinona **2** pri  $m/z$  216,0. Zbog neuspješne priprave spoja **11** planiranu reakciju spoja **11** s tetraacetatom manoze **6** nije bilo moguće provesti. Reakcije priprave spoja **11** provedene su samo preliminarno tako da bi ih trebalo dodatno ponoviti kako bi se nešto više moglo reći o razlozima njihovog neuspjeha.

## § 5. ZAKLJUČAK

- Izravnom metodom, u jednom reakcijskom koraku, iz maltola i ekvimolarne količine anilina i derivata *p*-supstituiranog anilina uz kiseli katalizator (*p*-TsOH) priređeni su *p*-supstituirani *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-oni:
  - 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-on (**1**),
  - 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on (**2**),
  - 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on (**3**) i
  - 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-ona (**4**).
- Iz manoze i acetanhidrida uz jod kao promotor priređena je 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- $\alpha$ -D-manopiranoza (**5**).
- U blago baznim uvjetima uz morfolin selektivno je uklonjena acetilna zaštitna skupina s primarne hidroksilne skupine spoja **5** te je dobivena je 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoza (**6**).
- Williamsonovom sintezom iz spoja **6** i *tert*-butil-bromacetata pripremljen je *tert*-butil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mano-piranoziloksi)acetat (**7**).
- Kiselom hidrolizom uz trifloroocetenu kiselinu uklonjena je *tert*-butilna zaštitna skupina sa spoja **7** i dobivena je 2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)ocetna kiselina (**8**).
- Ispitane su mogućnosti esterifikacije manozilirane octene kiseline **8** s odabranim piridinonskim alkoholom, spojem **2**, uz karbodiimidne reagense (DCC, EDC $\times$ HCl) i nukleofilne katalizatore (DMAP, HOBT) (sintetski put a)) u svrhu pripreve spoja **9**, 2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-il-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetata.
- Reakcijama spojeva **2** i **8** uz DCC i DCC/DMAP nastaje u tragovima željeni acetilirani produkt **9**



- Reakcijom uz EDC×HCl/DMAP ili EDC×HCl/HOBt nastaje sporedni produkt, spoj **10**, metil-2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-manopiranoziloksi)acetat. Nastajanje spoja **10** posljedica je transfera metila sa EDC×HCl na slobodnu karboksilnu skupinu spoja **8**, stoga EDC×HCl nije pogodan kabrodiimidni reagens za ovu sintezu.
- U drugom sintetskom putu (sintetski put b)) ispitane su mogućnosti esterifikacije bromoctene kiseline piridinom **2** kao alkoholom u uvjetima Steglichove esterifikacije (EDC×HCl/DMAP) te reakcija bromacetyl-bromida sa spojem **2** u svrhu pripreme spoja **11**. Oba ispitana puta nisu rezultirala nastakom spoja **11** te daljnje vezanje manozne podjedinice nije bilo moguće provesti.
- Strukture svih pripremljenih spojeva potvrđene su spektroskopijom NMR ( $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ ) i/ili spektrometrijom masa (ESI-MS).
- U daljnjim istraživanjima bit će potrebno dodatno optimirati uvjete za pripravu piridinonskih  $\alpha$ -manozida u kojima su piridinonska i manozna podjedinica povezane C2 razmaknicom u obliku octene kiseline s esterskom vezom na piridinonu.

## § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

1,2-HP	1-hidroksipiridin-2-on
3,2-HP	3-hidroksipiridin-2-on
3,4-HP	3-hidroksipiridin-4-on
Ac	acetil
Bn	benzil
BnBr	benzil-bromid
CDCl <sub>3</sub>	deuterirani kloroform
CH <sub>3</sub> Cl	kloroform
CH <sub>3</sub> CN	acetonitril
DCC	<i>N,N'</i> -dicikloheksilkarbodiimid
DCM	diklormetan
DEAD	dietil-azodikarboksilat
DHU	dicikloheksilurea
DMAP	4-dimetilaminopiridin
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDC×HCl	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilkarbodiimid hidroklorid
ESI	ionizacija elektroraspršenjem (eng. <i>electrospray ionization</i> )
EtOAc	etil-acetat
HCl	klorovodična kiselina
HOAt	7-aza-1-hidroksibenzotriazol
HOBt	1-hidroksibenzotriazol
HOSu	<i>N</i> -hidroksisukcinimid
HP	hidroksipiridinon
MeOH	metanol
MS	spektrometrija masa
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
POCl <sub>3</sub>	fosforov(III) klorid
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -toluensulfonska kiselina
<i>R<sub>f</sub></i>	faktor zaostajanja
	RIT

---

TFA	relativni inhibitorni titar (eng. <i>relative inhibition titer</i> )
TLC	trifluoroctena kiselina
TMS	tankoslojna kromatografija (engl. <i>thin layer chromatography</i> )
Tyr	tetrametilsilan
UPEC	tirozin (engl. <i>tyrosine</i> )
UPIa	uropatogena <i>E. coli</i> (engl. <i>uropathogenic E. coli</i> )
UTI	uroplakin
UV-zračenje	infekcija urinarnog trakta (eng <i>urinary tract infection</i> ) ultraljubičasto zračenje (engl. <i>ultraviolet</i> )

## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. Ž. Car, V. Petrović Peroković, S. Tomić Pisarović, *Kem. Ind.* **65** (2016) 595–604.
2. Ž. Car, V. Petrović Peroković, S. Tomić Pisarović, *Kem. Ind.* **66** (2017) 17–28.
3. M. A. Santos, S. Chaves, *Future Med. Chem.* **7** (2015) 383–410.
4. M. A. Santos, S. M. Marques, S. Chaves, *Coord. Chem. Rev.* **256** (2012) 240–259.
5. W. Kandioller, A. Kurzwernhart, M. Hanif, S. M. Meier, H. Henke, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *J. Organomet. Chem.* **696** (2011) 999–1010.
6. V. Petrović Peroković, A. Gojmerac Ivšić, Ž. Car, S. Tomić, *Croat. Chem. Acta* **87** (2) (2014) 103–109.
7. V. Petrović Peroković, Ž. Car, T. Opačak-Bernardi, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, S. Tomić, *Mol. Div.* **21** (2017) 881–891.
8. Ž. Car, T. Hrenar, V. Petrović Peroković, R. Ribić, M. Seničar, S. Tomić, *Chem. Biol. Drug Des.* **84** (2014) 393–401.
9. I. Primožič, T. Hrenar, K. Baumann, L. Krišto, I. Križić, S. Tomić, *Croat. Chem. Acta* **87** (2) (2014) 153–160.
10. N. Sharon, I. Ofek, *Glycoconj. J.* **17** (2000) 659–664.
11. V. Petrović Peroković, R. Ribić, Ž. Car, S. Tomić, *Croat. Chem. Acta* **89** (2016) 237–242.
12. O. Schwardt, S. Rabbani, M. Hartmann, D. Abgottspon, M. Wittwer, S. Kleeb, A. Zalewski, M. Smieško, B. Cutting, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 6454–6473.
13. A. Monastyrski, D. E. Kyle, R. Manersch, *Curr Top Med Chem.* **14** (14) (2014) 1693–1705.
14. J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, 5th edition, Wiley, 2010, str. 141–143.
15. Clayden, Greeves, Warren, Wothers, *Organic chemistry*, Oxford university press, 2001, str. 1151–1152.
16. Y. M. Ma., R. C. Hider, *Tetrahedron Lett.* **51** (2010) 1415–1418.
17. R. L. N. Harris, *Aust. J. Chem.* **29** (1976) 1329–1334.
18. L. S. Dehkordi, Z.D. Liu, R.C. Hider, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 1035–1047.
19. L. Saghaie, M. M. Sadeghi, A. Nikazma, *Res. Pharm. Sci.* **1** (2006) 40–48.
20. I. Kahane, I. Ofek, *Toward anti-adhesion therapy of microbial diseases*, Plenum Press, New York, 1996, str. 1–288.

21. I. Ofek, D. L. Hasty, N. Sharon, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **38** (2003) 181–191.
22. C. S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. Defusco, C. G. Auguste, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman, S. J. Hultgren, *Mol. Microbiol.* **44** (2002) 903–195.
23. J. Bouckaert, J. Berglund, M. Schembri, E. De Genst, L. Cools, M. Wuhrer, C. S. Hung, J. Pinkner, R. Slättegård, A. Zavialov, D. Choudhury, S. Langermann, S. J. Hultgren, L. Wyns, P. Klemm, S. Oscarson, S. D. Knight, H. De Greve, *Mol. Microbiol.* **55** (2005) 441–455.
24. A. Wellens, C. Garofalo, H. Nguyen, N. Van Gerven, R. Slättegård, J.-P. Hernalsteens, L. Wyns, S. Oscarson, H. De Greve, S. Hultgren, J. Bouckaert, *PLoS One* **3** (2008) 1.
25. S. Kötter, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, T. K. Lindhorst, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1** (1998) 2193–2200.
26. <https://goldbook.iupac.org/html/E/E02219.html> (datum pristupa 15.08.2017.)
27. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Organic Chemistry*, Oxford University Press, Oxford 2000.
28. E. Fischer, A. Speier, *Chemische Berichte* **28** (1895) 3252–3258.
29. I. Vogel, A. R. Tatchell, B. S. Furnis, A. J. Hannaford, P. W. G. Smith, *Vogel's Textbook of practical Organic Chemistry*, Longman, London 1989.
30. C. Gilon, Y. Klausner, A. Hassner, *Tetrahedron Lett.* **40** (1979) 3811–3814.
31. B. Neises, W. Steglich, *Org. Syn. Col.* **7** (1990) 93.
32. <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/steglich-esterification.shtm> (preuzeto 29.09.2017)
33. T. I. Al-Warhi, H. M.A. Al-Hazimi, A. El-Faham, *J. Saudi Chem. Soc.* **16** (2012) 97–116
34. G. Höfle, W. Steglich, H. Vorbrüggen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* **17** (1978) 569–583.
35. J. Otera, *Chem. Rev.* **93** (1993) 1449–1470.
36. O. Mitsunobu, Y. Yamada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **40** (10) (1967) 2380–2382.
37. D. Camp, I. D. Jenkins, *J. Org. Chem.* **54** (13) (1989) 3045–3049.
38. Z. Zhang, S.J. Rettig, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **30** (1991) 509–515.
39. B. Tamhina, K. Jakopčić, F. Zorko, M. J. Herak, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **36** (1974) 1855–1857.
40. K. Jakopčić, B. Tamhina, F. Zorko, M. J. Herak, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **39** (1977) 1201–1203.

41. K. P. R. Kartha, R. Field, *Tetrahed. Lett.* **53** (1997) 11753–11766.
42. P. J. Kocienski, *Protecting Groups*, 2005., 3rd Edition, Thieme, str. 323.
43. T. W. Graham Solomons, C. B. Fryhle, *Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., USA, 2011., 10th edition
44. R. Bruckner, *Organic Mechanisms: Reactions, Stereochemistry and Synthesis*, Springer Science & Business Media, 2010, str. 289.



## § 8. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Antonija Rimac

Datum rođenja: 19.10.1991.

Mjesto rođenja: Villingen-Schwenningen, Njemačka

### Obrazovanje

1998.–2006. Osnovna škola Sesevski Kraljevec, Sesevski Kraljevec

2006.–2010. Srednja škola Sesvete, opća gimnazija, Sesvete

2010.–2015. Preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

2015.-2017. Diplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, istraživački smjer, grane: analitička i organska kemija

### Nagrade i priznanja

2013. Posebna rektorova nagrada za organizaciju i provedbu 6. Otvorenog dana Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta

### Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2013. sudjelovanje na Otvorenom danu Kemijskog odsjeka

2014. sudjelovanje na Otvorenom danu Kemijskog odsjeka

2015. sudjelovanje na Otvorenom danu Kemijskog odsjeka

2017. sudjelovanje na Otvorenom danu Kemijskog odsjeka

2017. volontiranje u Znanstvenim čarolijama