

Priprava i karakterizacija N-acilglicinamida

Pavlinić, Matej

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:217:214697>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-30**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Matej Pavlinić

Priprava i karakterizacija *N*-acilglicinamida

Diplomski rad

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

Zagreb, 2024.

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

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta u okviru projekta „Metom usmjerena sinteza inhibitora kolinesteraza podržana strojnim učenjem“ financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost (IP-2022-10-9525).

Zahvale

Zahvaljujem prof. dr. sc. Ines Primožič na izboru teme, ukazanom povjerenju i mogućnosti da Diplomski rad izradim u Zavodu za organsku kemiju.

Zahvaljujem asistentu Toniju Divjaku na vodstvu tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela te korisnom dobivenom znanju, uputama, podršci i ugodnom radnom okruženju.

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

Zahvaljujem obitelji na nepresušnom strpljenju, nepokolebljivoj podršci, nenadmašnom razumijevanju i vjeri, bez njih ovo ne bi bilo moguće.

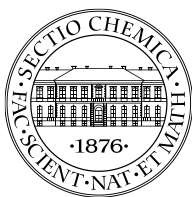
Zahvaljujem prijateljima na poticajima, onim nježnim, a i odrješitim, rukama pruženim diljem usputnih prepreka i bezbroj radosnih trenutaka što donose mir, bez njih ovo ne bi bilo moguće.

Sadržaj

SAŽETAK	VI
ABSTRACT	VII
§ 1. UVOD	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Ugijeva reakcija	3
2.2. Mehanizam Ugijeve reakcije	3
2.3. Mikrovalovima potpomognuta sinteza	4
2.4. Mehanokemijska sinteza.....	6
2.5. Reakcije kvaternizacije	7
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1. Opće napomene	9
3.2. Priprava <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida (1)	10
3.2.1. Uobičajeni postupak organske sinteze	10
3.2.2. Mikrovalovima potpomognuta sinteza	10
3.3. Priprava kvaternih spojeva <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida.....	12
3.4. Priprava <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(<i>tert</i> -butilamino)-2-oksoetil]benzamid (2).....	14
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA.....	17
4.1. Uvod	17
4.2. Priprava <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida Ugijevom reakcijom.....	17
4.3. Priprava <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(<i>tert</i> -butilamino)-2-oksoetil]benzamid.....	20
4.4. Spektroskopska karakterizacija spojeva	26
4.4.1. Spektrometrija masa	26
4.4.2. Infracrvena spektroskopija.....	27
4.4.3. Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije	29
4.4.4. Određivanje inhibitorne aktivnosti	37
§ 5. ZAKLJUČAK.....	39
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA (PREMA POTREBI)	40
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	42
§ 8. DODATAK	VIII
8.1.1. NMR spektri <i>N</i> -benzil- <i>N</i> -[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida (1)	viii

8.1.2. NMR spektri *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamid (2)..... xiii

§ 9. ŽIVOTOPIS XV



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

Priprava i karakterizacija *N*-acilglicinamida

Matej Pavlinić

U okviru ovog rada sintetizirana su dva *N*-acilglicinamida da bi se provjerila njihova inhibitorna svojstva prema enzimu butirilkolinesterazi: *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]-piridin-2-karboksamid i *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamid. Oba spoja sintetizirana su višekomponentnom Ugijevom reakcijom, koja se provodila uobičajenim sintetskim metodama, mikrovalovima potpomognutom sintezom i mehanokemijskom sintezom. Provedena je optimizacija uvjeta mikrovalovima potpomognute sinteze *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida. Pripremljenim spojevima određeno je talište te je provedena strukturna analiza korištenjem infracrvene spektroskopije, spektrometrije masa te 1D i 2D spektroskopije nuklearne magnetske rezonancije. Određen je i omjer *cis* i *trans* konformera pripremljenih *N*-acilglicinamida u otopini u protonskim i aprotionskim otapalima različite polarnosti.

(44+XV stranica, 23+D12 slika, 11 tablica, 47 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

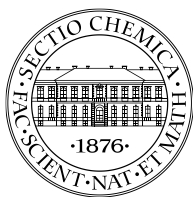
Ključne riječi: sinteza *N*-acilglicinamida, Ugijeva reakcija, mehanokemija, mikrovalovima potpomognuta sinteza

Mentor: prof. dr. sc. Ines Primožič
Neposredni voditelj: Toni Divjak, mag. chem.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Ines Primožič
 2. doc. dr. sc. Ivana Kekez
 3. doc. dr. sc. Ivan Nemet
- Zamjena: doc. dr. sc. Nikola Cindro

Datum diplomskog ispita: 31. listopada 2024.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

Preparation and characterization of *N*-acylglicine amides

Matej Pavlinić

In this diploma thesis two *N*-acylglicine amides were synthesized to obtain biactive compounds with inhibitory activity toward butyrylcholinesterase: *N*-benzyl-*N*-[2-(tosylmethyleamino)-2-oxoethyle]pyridyne-2-carboxyamide and *N*-benzyl-*N*-[2-(*tert*-buthyleamino)-2-oxoethyle]benzamide. Both compounds were synthesized via Ugi multicomponent reaction. Reactions were performed using standard synthetic techniques, microwave assisted Ugi reaction as well as mechanochemical techniques. Conditions for the microwave assisted synthesis of *N*-benzyl-*N*-[2-(*tert*-buthyleamino)-2-oxoethyle]benzamide were optimized. The melting points of the prepared compounds were determined, and the structural analysis was performed using infrared spectroscopy, mass spectrometry and 1D and 2D nuclear magnetic resonance spectroscopy. Furthermore, the ratio of *cis* and *trans* conformers of prepared *N*-acylglycinamides in solution in protic and aprotic solvents of different polarity was also determined.

(44+XV pages, 23+D12 figures, 11 tables, 47 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*-acylglicine amide synthesis, Ugi reaction, mechanochemistry, microwave assisted synthesis

Mentor: Dr. Ines Primožič, Full Professor with tenure
Assistant mentor: Toni Divjak, mag. chem.

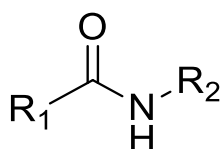
Reviewers:

1. Dr. Ines Primožič, Full Professor with tenure
 2. Dr. Ivana Kekez, Assistant Professor
 3. Dr. Ivan Nemet, Assistant Professor
- Substitute: Dr. Nikola Cindro, Assistant Professor

Date of exam: October 31, 2024.

§ 1. UVOD

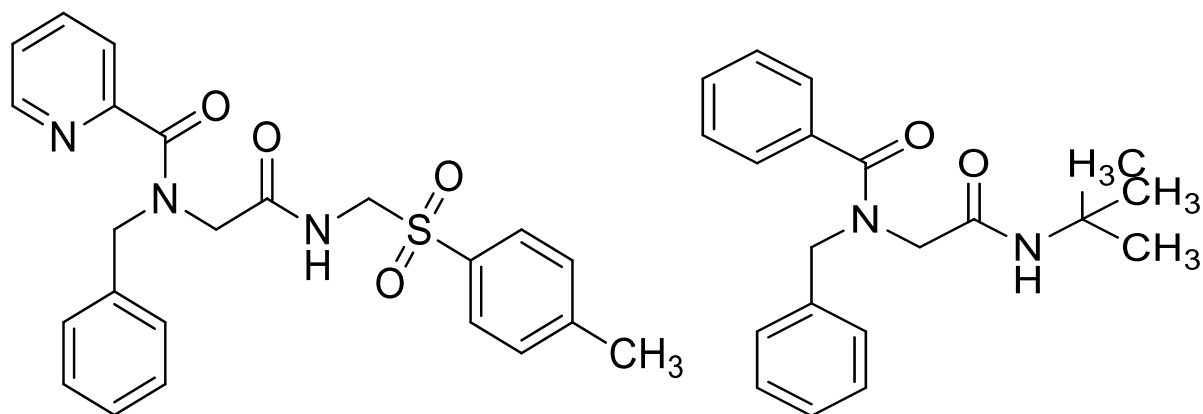
U okviru ovog rada pripravljena su dva spoja iz klase *N*-acilamida, spojeva generalne strukture prikazane na slici 1.



Slika 1. Opća struktura *N*-acilamida

Kao klasa spojeva zanimljivi su zbog svojeg utjecaja na signalne puteve u tijelu te se istražuju u kontekstu utjecaja na cijeli niz poremaćaja i bolesti poput: dijabetesa, karcinoma, poremećaja motorike i neurodegenerativnih bolesti poput Alzheimerove bolesti.^{1,2} Alzheimerovu bolest, progresivno neurodegenerativno stanje, uzrokuje serija čimbenika među kojima je i umanjena aktivnost acetilkolina.³ Lijekovi koji se trenutno primjenjuju u sklopu terapije ublažavaju simptome inhibicijom acetilkolinesteraze, enzima koji hidrolizira acetilkolin, podižući njegovu razinu u sinapsama.^{4,5}

Cilj ovog rada je pripraviti *N*-acilglicinamide Ugijevom reakcijom uobičajenim sintetskim metodama, mikrovalovima potpomognutom sintezom i mehanokemijskom sintezom. Ugijeva reakcija četverokomponentna je reakcija aldehida ili ketona, amina, karboksilne kiseline i izocijanida.^{7,8} Reakcije su praćene tankoslojnom kromatografijom (TLC), a strukture spojeva potvrđene su infracrvenom spektroskopijom (IR), 1D i 2D spektroskopijom nuklearne magnetske rezonancije (engl. *Nuclear magnetic resonance spectroscopy*, NMR), spektrometrijom masa (HRMS) te im je određeno talište i provjerena topljivost u vodi i puferu pri pH=7,4. U sklopu rada provedena je i optimizacija mikrovalovima potpomognute sinteze na *N*-acilglicinamidu pripremljenom u okviru izrade ovog rada (slika 2). U sklopu rada provedena je i kvaternizacija *N*-acilglicinamida Menšutkinovom reakcijom.

Slika 2. Pripravljene *N*-acilglicinamidi

§ 2. LITERATURNI PREGLED

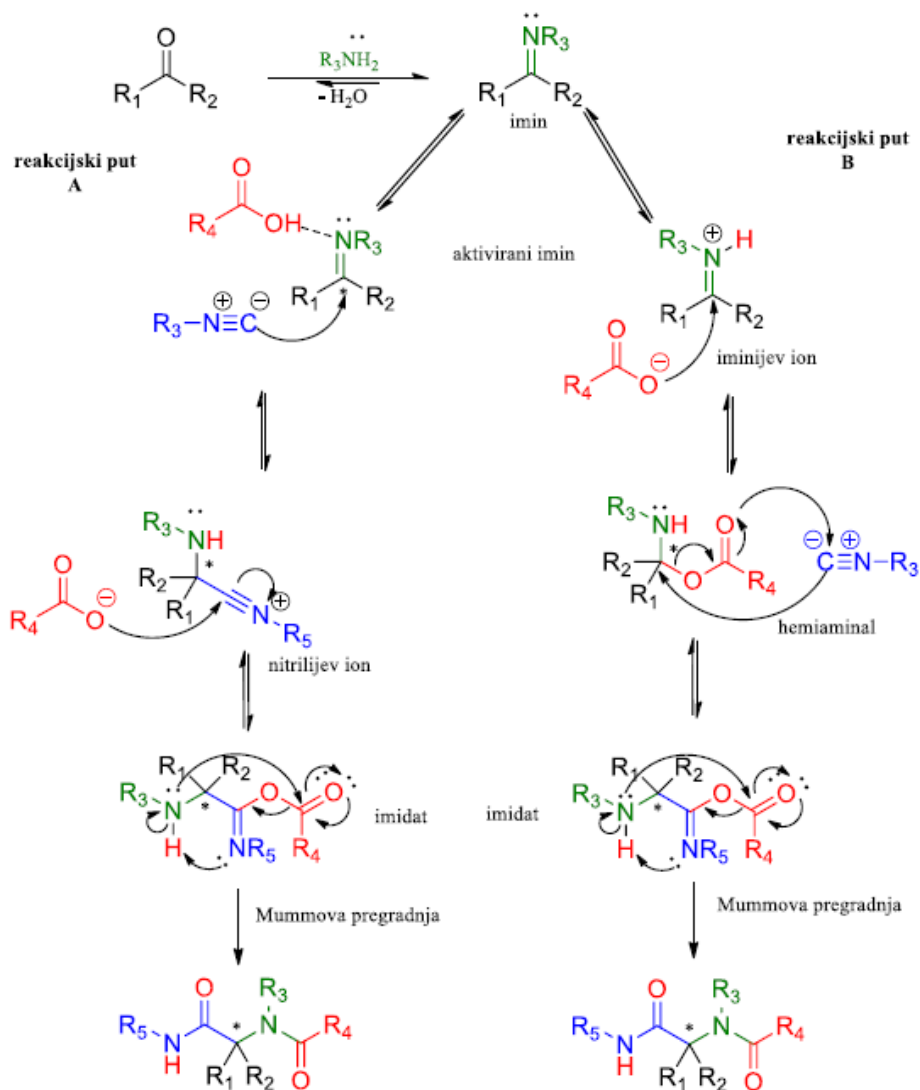
2.1. Ugijeva reakcija

Ugijevu reakciju prvi je opisao estonski kemičar Ivor Ugi 1959. godine. Ona pripada skupini višekomponentnih reakcija (eng. *multicomponent reactions*) koje ime duguju načinu izvedbe koji podrazumijeva reakciju tri ili više tvari u jednoj reakcijskoj posudi (eng. *one-pot reaction*).^{7,8} Višekomponentne reakcije rezultiraju jednom složenom molekulom i provode se bez izolacije međuprodukata. S povećanim naglaskom na načela zelene kemije ovakve reakcije dobivaju na popularnosti jer se provode u blažim uvjetima u odnosu na uobičajene sintetske postupke, produkti se lakše pročišćavaju i reakcije zahtjevaju manje otapala.⁹ Ugijeva reakcija provodi se najčešće u svojoj četverokomponentnoj inačici, u kojoj se reakcijom aldehida, amina, izocijanida i karboksilne kiseline dobivaju α -acilaminoamidi.¹⁰ Iako se reakcija može odvititi s ketonima ne proporuča se njihovo korištenje zbog niže elektrofilnosti, stoga se češće koriste aldehidi.¹¹ Također se preporuča izbjegavati amonijak kao amino komponentu jer imin koji nastaje reakcijom amonijaka i aldehida zaustavlja reakciju.¹² Ugijeva reakcija odvija se u polarnim protičnim otapalima, najčešće se koriste metanol ili etanol, pri sobnoj temperaturi. Reakcija se može odvititi i u vodi ili aprotičnim otapalima poput DMF-a, kloroforma ili THF-a¹³, ali u takvim uvjetima postoji opasnost od nastanka Passerinijevog produkta, rezultata reakcije aldehida, izocijanida i karboksilne reakcije, što smanjuje prinos i komplicira izolaciju.¹⁴

2.2. Mehanizam Ugijeve reakcije

Mehanizam Ugijeve reakcije proučava se od prvog spomena u literaturi i nije u potpunosti razjašnjen unatoč mnogim pokušajima, kako eksperimentalnim tako i računalnim. U prvom koraku dolazi do nastanka imina kondenzacijom aldehida i amina. Imin se potom aktivira ili protoniranjem ili formiranjem vodikove veze s karboksilnom kiselinom, pretpostavke se ovisno o načinu aktivacije granaju na reakcijski put A i B, slika 3. Reakcija koja se odvija reakcijskim putem A nastavlja se adicijom izocijanida na aktivirani imin pri čemu nastaje nitrilijev ion, na koji se potom adira karboksilat što rezultira imidatom. Reakcijski put B vodi do imidata adicijom karboksilata na iminijev ion uz nastanak hemiaminala koji reagira s izocijanidom. Oba

reakcijska puta nastavljaju se ireverzibilnim posljednjim korakom, Mummovom pregradnjom imidata. Rezultat reakcije naziva se Ugijevim produktom. Korištenje monosupstituiranih aldehida ili nesimetričnih ketona rezultira nastankom kiralnog središta u Ugijevom produktu, označenim asteriskom na slici 3.^{13,15,16}

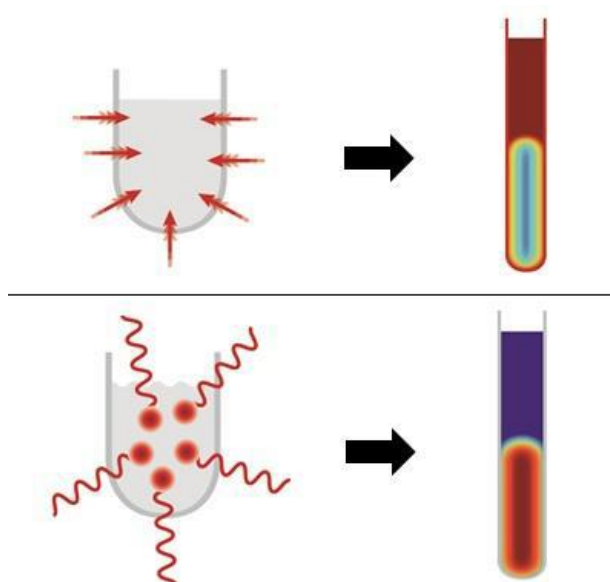


Slika 3. Predloženi mehanizmi Ugijeve reakcije.^{13,15,16}

2.3. Mikrovalovima potpomognuta sinteza

Korištenje mikrovalnog zračenja u organskim sintetskim postupcima započinja 1986. istraživanjem Richarda Gedyea i razvija se do današnjeg dana.¹⁷ Mikrovalno zračenje primjenjuje se kao alternativa zagrijavanju plamenom ili elektroničkim grijačima, pri čemu reaktanti apsorbiraju elektromagnetsko zračenje i pretvaraju ga u toplinu.¹⁸ Ovaj pristup u

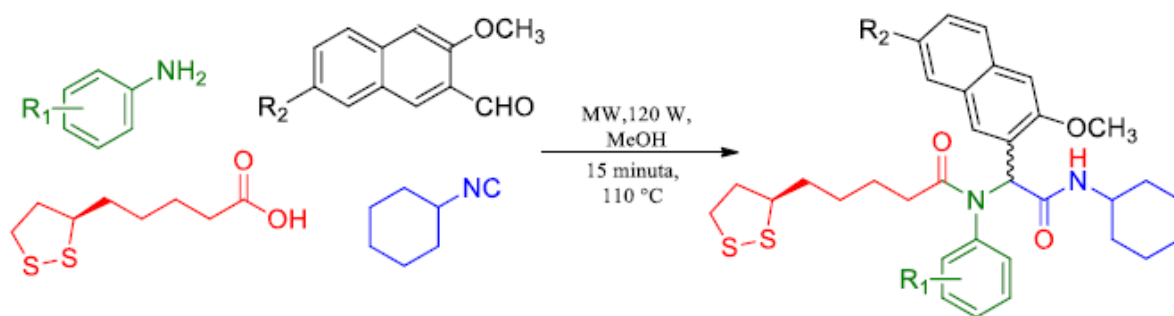
skladu je s načelima zelene kemije, jer proces je ekološki prihvatljiviji, uz smanjenu opasnost za ljudsko i zdravlje okoliša s obzirom da se reakcije odvijaju na minutnoj skali, čime se štedi energija te se koristi minimalna količina otapala što smanjuje količine otpada.¹⁹ Mikrovalno zračenje se na elektromagnetskom spektru nalazi između 30 GHz i 300 MHz (valne duljine od 1 cm do 1 m)²⁰, stoga se frekvencije mikrovalnih reaktora moraju pomno birati kako bi se izbjegla interferencija s telekomunikacijskim uređajima koji emitiraju u istom dijelu spektra. Energetski benefit ovog pristupa ostvaruje se zagrijavanjem cijelog sadržaja reakcijske posude istovremeno i ravnomjerno, za razliku od uobičajenih opcija zagrijavanja koje prvo zagrijavaju posudu pa se smjesa bliže stijenci zagrijava brže odnosno cijela se smjesa zagrijava nehomogeno, slika 4.²¹



Slika 4. Usporedba uobičajenih metoda zagrijavanja reakcijske smjese (gore) i MW zračenja (dolje)²¹

S obzirom da se cijela otopina zagrijava istovremeno i ravnomjerno reakcija se odvija znatno brže, unutar nekoliko minuta. Prvi pokusi s mikrovalovima provodili su se u kućnim mikrovalnim pećnicama, koje nisu nudile mogućnost regulacije snage zračenja niti se smjesa mogla miješati. Ovakva aparatura bila je opasna za korištenje zbog mogućih eksplozija²² stoga su razvijene dvije vrste mikrovalnih reaktora. Višefunkcijski reaktori homogeniziraju polje rotacijom reakcijskih posuda smještenih u polje mikrovalova različitih usmjerenja. Jednofunkcijski reaktori dizajnirani su tako da zračenje usmjereno pada na reakcijsku posudu koja je statična na točno određenoj udaljenosti od mikrovalnog izvora, a miješanje se provodi magnetom.²³

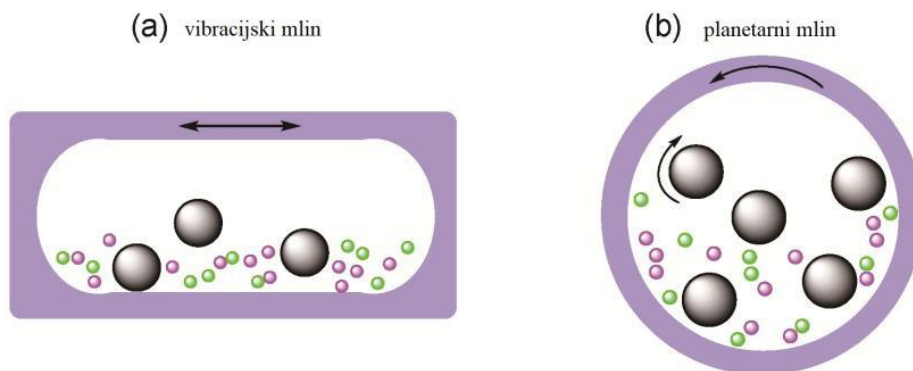
S obzirom na broj parametara koji se mogu regulirati pri mikrovalnoj sintezi (temperatura, tlak, otapala, snaga i vrijeme zagrijavanja) za provedbu pojedine reakcije vrijedi optimizirati uvjete reakcije prilagodbom jednog parametra dok se drugi ne mijenjaju. Primjer takve optimizacije izveden je u radu Tharangaraja i suradnika koji su proveli Ugijevu reakciju u mikrovalnom reaktoru sa svrhom sinteze peptidomimetika. Reakcija je optimizirana upotrebom različitih otapala i variranjem snage zračenja, slika 5.²⁴



Slika 5. Ugijeva reakcija u mikrovalnom reaktoru s naznačenim optimiziranim uvjetima reakcije.^{15,24}

2.4. Mehanokemijska sinteza

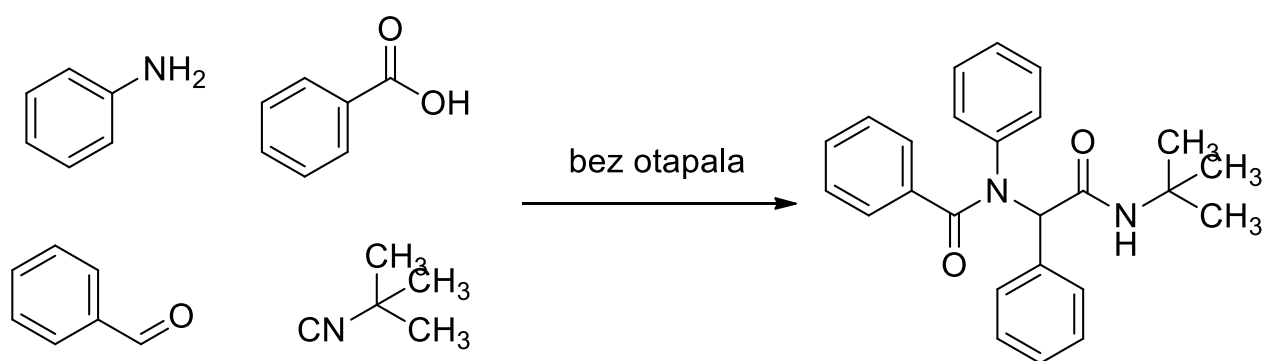
Mehanokemijska sinteza temelji se na primjeni načela mehanokemije na organske spojeve. Mehanokemija podrazumijeva bilo koju reakciju koja se odvija uz pomoć mljevenja ili trenja bez, ili uz minimalnu upotrebu otapala. Jedna od prvih takvih reakcija datira iz 4. stoljeća prije Krista, a radi se o dobivanju žive mljevenjem cinabarita odnosno rumenice, kristala živinog sulfida.²⁵ Unatoč svojoj dugovječnosti ovaj pristup kemijskim reakcijama dugo je vremena bio ograničen na reakcije netopljivih tvari s obzirom na nižu učinkovitost i manju spektar mogućnosti u odnosu na reakcije u otopini. Sredinom prošlog stoljeća ova vrsta reakcije dobiva na popularnosti razvojem automatiziranih mlinova.²⁶ Dvije su najčešće vrste automatiziranih mlinova, planetarni kuglični mlin i vibracijski kuglični mlin. U kugličnim mlinovima reaktanti se uslijed rotacija i vibracija posude sudaraju međusobno i s kuglicom koja se dodaje u posudu, slika 6. U vibracijskom kugličnom mlinu reakcijska posuda postavljena je horizontalno.²⁷



Slika 6. Shema rada vibracijskog i planetarnog kugličnog mlina

Početak 21. stoljeća mehanokemijske reakcije još se dublje istražuju s obzirom da ovakav pristup odgovara već spomenutim načelima zelene kemije.²⁸ Za potrebe ove reakcije ne koristi se otapalo ili se ono dodaje u katalitičkoj količini ukoliko se primjenjuje takozvana LAG tehnika (eng. *Liquid-assisted grinding*)²⁹ što smanjuje utjecaj na okoliš, također se primjenom mehanokemijskih reakcija u organskoj sintezi trajanje reakcija može spustiti sa 24 sata ili 48 sati na sat ili dva.³⁰

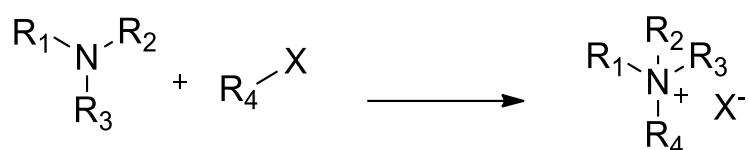
Primjer jedne takve Ugijeve reakcije rad je El-Remailyja i suradnika koji su proveli mehanokemijsku sintezu s i bez otapala postigavši iskorištenja i do 90%, reakcije čije je trajanje smanjeno s jednog dana na dva sata, slika 7.³¹

Slika 7. Mehanokemijska Ugijeva reakcija bez dodatka otapala³¹

2.5. Reakcije kvaternizacije

Kvaternizacija organska je kemijska reakcija kojom se dobivaju kvaterne amonijeve soli, organski spojevi koji sadrže pozitivno nabijeni atom dušika na koji su najčešće vezane četiri

alkilne ili arilne skupine. Pozitivan formalni naboj na dušiku posljedica je sp^3 hibridizacije, a neutraliziran je najčešće nekim halidnim ionom.³² Najčešća reakcija kvaternizacije je Menšutkinova reakcija koja svoje ime duguje svom idejnom autoru Nikolaju Menšutkinu koji ju je prvi opisao 1890. Radi se o tipičnoj S_N2 reakciji u kojoj tercijarni amin reagira s alkilirajućim reagensom u vidu alkil halogenida, slika 8.³³ Provođi se u polarnim otapalima poput alkohola ili acetonitrila i njena brzina značajno ovisi o polarnosti otapala, što je otapalo polarnije to će se reakcije brže odvijati.³⁴



Slika 8. Opća jednađžba Menšutkinove reakcije

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Korištene su komercijalno dostupne kemikalije i reagensi analitičke čistoće: pikolinska kiselina (*Sigma-Aldrich*), benzojeva kiselina (*Lach Ner*), benzilamin (*Sigma-Aldrich*), paraformaldehid (*Sigma-Aldrich*), tosilmetil-izocijanid (*Sigma-Aldrich*), *tert*-butil-izocijanid (*Sigma-Aldrich*), metil-jodid (*Sigma-Aldrich*), benzil-bromid (*Sigma-Aldrich*), *m*-brombenzil-bromid (*Sigma-Aldrich*). Korištena su otapala bez prethodnog pročišćavanja ili su pročišćena uobičajenim postupcima.³⁵

Tijek reakcija i čistoća izoliranih produkata praćeni su pomoću tankoslojne kromatografije (TLC). Za analizu tijeka reakcije korištene su aluminijske pločice s aktivnim slojem silikagela (TLC Silica gel 60 W, *Merck Darmstadt*), a za vizualizaciju komponenata smjese na pločicama korištena je UV-lampa ($\lambda = 254$ nm) i reverzibilna adsorpcija para joda. Kao sustav otapala korištena je smjesa etil-acetata (EtOAc) i heksana u omjeru 4:1 ili smjesa kloroforma i metanola u omjeru 9:1.

Mehanokemijska sinteza provedena je pomoću automatiziranog kugličnog vibracijskog mlina *IST 500 (InSolido Technologies d.o.o., Zagreb)*. Korištene su posudice od teflona volumena 7 mL u kojima se nalazila po jedna cirkonijska kuglica za mljevenje promjera 3,5 mm uz frekvenciju mljevenja od 30 Hz. Mikrovalovima potpomognuta sinteza provedena je pomoću uređaja *CEM Focused Microwave TM Synthesis System (Discover SP, Matthews, NC, SAD)*.

IR spektri snimljeni su tehnikom prigušene totalne refleksije (eng. *Attenuated total reflectance*, ATR) pomoću spektrometra *FT-IR Perkin-Elmer Spectrum Two (Perkin-Elmer, Waltham, MA, SAD)*, a snimanje je provedeno u području valnih brojeva 4000 cm^{-1} – 400 cm^{-1} . Za vizualizaciju ATR spektara korišten je program *Spectrum*, verzija 10.03.05.0099 (*PerkinElmer*).

Tališta spojeva određena su uređajem *Büchi Melting Point B-540 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Švicarska)*. Tališta spojeva izmjerena su dva puta u otvorenim kapilarama i nisu korigirana.

1D i 2D NMR spektri snimljeni su NMR spektrometrom *Bruker Avance III HD Ascend (Bruker, Billerica, MA, SAD)* pri 400 MHz za ¹H NMR i 100 MHz za ¹³C NMR. Spektri su snimani u deuteriranom metanolu (CD₃OD), deuteriranom kloroformu (CDCl₃) i deuteriranom

dimetil-sulfoksidu (DMSO-d₆). Program *TopSpin*, verzija 4.3.0. (Bruker) korišten je za vizualizaciju spektara dobivenih spektroskopijom NMR. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm (dijelovima na milijun, eng. *parts per million*) u odnosu na unutarnji standard TMS (tetrametilsilan). Konstante sprege (*J*) izražene su u Hertzima (Hz). Signali su obilježavani kao s=singlet, d=dublet, t=triplet, td=triplet dubleta i m=multiplet. Prilikom asignacije NMR spektara vodikovi i ugljikovi atomi označeni su brojevima prema ustaljenim pravilima numeriranja. Atomi benzilnog prstena označeni su s *bzl*, a atomi fenilne skupine s *Ph* te atomi piridinskog prstena s *py*. Atomi *tert*-butilne skupine označeni su s *tBu*, a atomi tosilne skupine označeni su s *Ts*. Metilenske skupine označene su s CH₂*x*, gdje je *x* oznaka od koje komponente nastaje CH₂ skupina, poput *form* (paraformaldehid), *bzl* (benzil-amin) te *Ts* (tosilmetil-izocijanid)

Struktura dobivenih spojeva potvrđena je i spektrometrijom masa pomoću sustava NanoUHPLC-MS/MS ThermoScientific Q Exactive Plus (*Thermo Fisher Scientific*, Waltham, MA, SAD).

3.2. Priprava *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida (**1**)

3.2.1. Uobičajeni postupak organske sinteze

Paraformaldehid (69 mg, 2,30 mmol) otopi se u metanolu (850 μ L) i doda benzilamin (250 μ L, 2,29 mmol). Nakon polusatnog miješanja na magnetskoj miješalici pri sobnoj temperaturi, doda se pikolinska kiselina (281 mg, 2,28 mmol) i tosilmetil-izocijanid (446 mg, 2,28 mmol). Reakcija se odvija 24 sata pri sobnoj temperaturi i 450 okretaja u minuti (eng. *revolution per minute*, rpm). Tijek reakcije prati se TLC-om u sustavu otapala EtOAc:heksan = 4:1. Nakon 24 sata produkt kristalizira, filtrira se pri sniženom tlaku i ispere hladnim metanolom. Dobiveni produkt **1** je bijela krutina (384,5 mg, 0,87 mmol, η = 38,5 %).

3.2.2. Mikrovalovima potpomognuta sinteza

U staklenu epruvetu za mikrovalnu sintezu odvaži se paraformaldehid (12,2 mg, 0,41 mmol) i doda se metanol (500 μ L) te benzilamin (44,6 μ L, 0,41 mmol). Nakon toga doda se pikolinska kiselina (50,0 mg, 0,41 mmol) i tosilmetil-izocijanid (79,6 mg, 0,41 mmol). Reakcija se podvrgne dijelovanju mikrovalnog zračenja pri slijedećim uvjetima (tablica 1).

Tablica 1. Uvjeti mikrovalne sinteze *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida

Broj eksperimenta	$t/^\circ\text{C}$	p/psi	P/W	t/min	$V(\text{MeOH})/\text{mL}$
1	140	250	250	30	0,5
2	140	250	250	10	0,5
3	110	170	170	15	0,5
4	120	250	250	10	0,3
5	120	200	250	10	0,35

Reakcijska smjesa upari se na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom, ispere zasićenom otopinom NaCl te ekstrahira kloroformom (3 puta po 5 mL). Organski ekstrakti suše se na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltriraju te se otapalo upari do suha na rotacijskom uparivaču uz snižen tlak. Dobivena je uljasta žuta smjesa produkata. Provjerom na TLC-u vidljiva je komplicirana smjesa nusprodukata pa se nisu vršili daljnji pokušaji pročišćavanja smjese.

$t_t = 138,0 - 138,5 \text{ }^\circ\text{C}$.

$t_r = 13,144 \text{ min}$, 99,4 %.

IR (ATR) $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3338 (ν N-H amid), 3030 (ν =C-H arom), 1679 (ν C=O, amid I; primarni amid), 1640 (ν C=C, arom), 1544, 1285 (ν py prsten), 1146 (ν S=O), 742 (ν =N-).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm : 2,41 (s, 3H, CH₃ Ts), 3,85, 4,03 (s, 2H, CH₂^{form}), 4,44, 4,45 (s, 2H, CH₂^{bzl}), 4,65, 4,73 (d, $J = 6,6 \text{ Hz}$, CH₂^{Ts}), 7,21 – 7,45 (m, 7H, H1 – H5 bzl, H3, H5 Ts), 7,45 – 7,53 (m, 1H, H5 py), 7,55 – 7,61 (m, 1H, H3 py), 7,65, 7,73 (d, $J = 8,2 \text{ Hz}$, H2, H6 Ts), 7,93 (td, 1H, $J = 8,4 \text{ Hz}$, $J = 2,3 \text{ Hz}$, H4 py), 8,53 – 8,58 (m, 1H, H6 py), 8,97 – 9,08 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ/ppm : 21,12 (CH₃ Ts), 46,63, 48,91 (CH₂^{form}), 50,07, 52,36 (CH₂^{bzl}), 59,96, 60,06 (CH₂^{Ts}) 123,49, 123,80 (C4 py), 124,92 (C5 py), 127,36, 127,54 (C3, C5 Ts), 128,39, 129,60 (C4 bzl), 128,51, 128,53 (C2, C6 bzl), 129,71, 129,76 (C2, C6 Ts), 134,45 (C1 bzl), 136,57, 136,73 (C1 Ts), 137,43, 137,49 (C3 py), 144,63 (C4 Ts), 147,87, 148,25 (C6 py), 153,33, 153,51 (C2 py), 167,66 (C=O py), 168,12, 168,45 (C=O Ts).

HRMS (m/z): izračunato 438,1483 (C₂₃H₂₄N₃O₄S⁺) dobiveno 438,1478.

3.3. Priprava kvaternih spojeva *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida

3.3.1. *Kvaternizacija N-benzil-N-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida s metil-jodidom*

Produkt **1** (99 mg, 0,23 mmol) se uz blago zagrijavanje otopi u suhom acetonu (3 mL) i u smjesu se doda 3 ekvivalenta metil-jodida (42,4 µL, 0,68 mmol). Tikvica se aluminijskom folijom zaštititi od utjecaja svjetla te ostavi 48 sati pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici. Željeni podukt nije izoliran, a dobivenom bijelom produktu je NMR spektar identičan je NMR spektru polaznog spoja **1**.

3.3.2. *Kvaternizacija N-benzil-N-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida s benzil-bromidom*

Produkt **1** (96 mg, 0,22 mmol) se uz blago zagrijavanje te sonificiranje u ultrazvučnoj kupelji otopi u suhom acetonu (1,5 mL) i u smjesu se doda 3 ekvivalenta benzil-bromida (77,8 µL, 0,65 mmol). Tikvica se aluminijskom folijom zaštititi od utjecaja svjetla te ostavi 96 sati pri sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici. Željeni podukt nije izoliran, a dobivena je bijela krutina koja je macerirana eterom i kojoj je NMR spektar identičan NMR spektru polaznog spoja **1**.

3.3.3. *Kvaternizacija N-benzil-N-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida s m-brombenzil-bromidom uobičajenim postupkom organske sinteze*

Sinteza je provedena prema uvjetima opisanim u tablici 2., u eksperimentima u kojima se zagrijavala reakcijska smjesa korišteno je povratno hladilo, dok je u eksperimentu provedenom pri sobnoj temperaturi tikvica bila zatvorena klor kalcijevom cijevi.

Tablica 2. Uvjeti kvaternizacije *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida s *m*-brombenzil-bromidom

Redni broj eksperimenta	<i>m</i> (product 1)/mg	<i>m</i> (<i>m</i> -BrBnBr)/mg	<i>m</i> (kvaterni spoj)/mg	η /%	<i>t</i> /sati	<i>t</i> /°C	Otapalo/V/mL
1	104,0	89,1	nije izoliran	-	72	sobna	suhi aceton, 1,75
2	60,5	69,1	nije izoliran	-	48	70	suhi acetonitril, 1
3	48,9	55,9	nije izoliran	-	48	70	suhi THF, 2
4	49,7	57,3	nije izoliran	-	48	70	suhi etil-acetat, 2

U eksperimentu rednog broja 3, produkt kvaternizacije maceriran je u toluenu pri čemu je dobiven talog spoja **1**, dekantirana tekućina uparena je, isprana toluenom i potom macerirana u eteru, odvojena su dva taloga, žuti uljasti i bijela suspenzija obje su otopljene u acetonu, bijeli talog kristalizirani je produkt **1**, dok je u žutom talogu zaostala mješavina produkta i spoja **1**. Produkt nije dalje pročišćavan.

3.3.4. Kvaternizacija *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida s *m*-brombenzil-bromidom mikrovalnom sintezom

U staklenu epruvetu za mikrovalnu sintezu odvažuje se produkt **1** (10 mg, 0,02 mmol) i otopi u otapalu. Potom se u otopinu doda *m*-brombenzil-bromid (11,4 mg, 0,04 mmol). Reakcija se podvrgne djelovanju mikrovalnog zračenja pri slijedećim uvjetima (tablica 3).

Tablica 3. Uvjeti mikrovalne kvaternizacije *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida s *m*-brombenzil-bromidom

Broj eksperimenta	<i>t</i> /°C	<i>p</i> /psi	<i>P</i> / <i>W</i>	<i>t</i> /min	otapalo
1	140	250	250	25	suhi acetonitril, 1 mL
2	80	250	250	30	suhi aceton, 1 mL
3	90	250	250	15	suhi aceton, 1 mL
4	95	250	250	15	suhi aceton, 1 mL

Dobivena je žuta smjesa. Produkt nije izoliran

3.4. Priprava *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**)

3.4.1. Opći postupak sinteze

Paraformaldehid (0,50 mmol, 1 ekvivalent) otopi se u metanolu, doda se benzilamin (0,50 mmol, 1 ekvivalent), benzojeva kiselina (0,50 mmol, 1 ekvivalent) i *tert*-butil-izocijanid (0,50 mmol, 1 ekvivalent). Tijek reakcije prati se TLC-om u sustavu otapala kloroform:MeOH = 9:1. Nakon završetka reakcije otapalo se upari na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku, a reakcijska smjesa se otopi u etil-acetatu (10 mL). Reakcijska smjesa ekstrahira se s zasićenom vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata (10 mL). Organski sloj se odvoji i ekstrahira s 5% HCl (10 mL), ponovno se odvoji organski sloj i ekstrahira zasićenom otopinom NaCl (10 mL). Organski ekstrakt osuši se na bezvodnom natrijevom sulfatu, profiltrira te se otapalo upari do suha na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak. Dobiven produkt **2** je bijela krutina.

3.4.2. Uobičajeni postupak sinteze

Paraformaldehid (18 mg, 0,60 mmol) se otopi u metanolu (500 μ L) i doda se benzilamin (54,6 μ L, 0,50 mmol). Nakon 15 minuta doda se benzojeva kiselina (62,7 mg, 0,51 mmol) i *tert*-butil-izocijanid (56,6 μ L, 0,50 mmol). Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 24 sata uz 450 rpm. Tijek reakcije prati se TLC-om u sustavu otapala kloroform:MeOH = 9:1. Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1**. Dobiven produkt **2** je bijela krutina (103,3 mg, 0,32 mmol, $\eta = 63$, 68%).

3.4.3. Mehanokemijska sinteza bez katalitičkog dodatka metanola

U teflonsku posudicu odvaže se paraformaldehid (10 mg, 0,33 mmol) i doda se benzilamin (32,7 μ L, 0,30 mmol). Zatim se doda benzojeva kiselina (38,0 mg, 0,31 mmol) i *tert*-butil-izocijanid (33,9 μ L, 0,30 mmol). U posudicu se doda cirkonijska kuglica te se posudica vagne i pripremi se druga teflonska posudica napunjena natrijevim kloridom na način da njena masa odgovara masi prve posudice. Obje posude se učvrste na mlin. Reakcija se odvija pri frekvenciji od 30 Hz pri sobnoj temperaturi tijekom 2 sata. Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju **3.4.1**. Dobiven produkt **2** je bijela krutina (32,6 mg, 0,10 mmol, $\eta = 33,6$ %).

3.4.4. *Mehanokemijska sinteza uz katalitički dodatak metanola*

U teflonsku posudicu odvaži se paraformaldehid (14,5 mg, 0,48 mmol) i doda se benzilamin (54,6 μ L, 0,50 mmol). Zatim se doda benzojeva kiselina (62,1 mg, 0,51 mmol) i *tert*-butil-izocijanid (54,6 μ L, 0,48 mmol) i metanol (30 μ L). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju 3.4.1. Dobiven produkt **2** je bijela krutina (61,5 mg, 0,19 mmol, $\eta = 37,9 \%$).

3.4.5. *Mikrovalovima potpomognuta sinteza*

U staklenu epruvetu za mikrovalnu sintezu odvaži se paraformaldehid (9 mg, 0,30 mmol) i otopi u otapalu (250 μ L) i potom se doda benzilamin (32,7 μ L, 0,30 mmol). Nakon toga doda se benzojeva kiselina (36,6 mg, 0,30 mmol) i *tert*-butil-izocijanid (33,9 μ L, 0,30 mmol). Reakcija se podvrgne dijelovanju mikrovalnog zračenja pri slijedećim uvjetima (tablica 4). Daljnji postupak obrade opisan je u poglavlju 3.4.1. Dobiven produkt **2** je bijela krutina (čija je masa i iskorištenje reakcije navedeni u tablici 4.)

Tablica 4. Uvjeti reakcije mikrovalne sinteze *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida i pripadajući rezultati.

Redni broj eksperimenta	$t/^\circ\text{C}$	p/psi	P/W	t/min	otapalo	m/mg	$\eta/\%$
1	140	250	250	10	MeOH	38,4	39,4
2	130	250	250	10	MeOH	56,5	58,1
3	120	250	250	10	MeOH	67,3	69,2
4	120	250	200	10	MeOH	69,3	71,2
5	120	250	150	10	MeOH	46,0	47,3
6	120	250	200	5	MeOH	48,3	49,6
7	120	250	200	15	MeOH	58,4	60,0
8	120	250	200	10	EtOH	59,6	61,2
9	120	250	200	10	<i>i</i> -ProOH	38,9	40,0

$t_t = 132,0 - 132,9 \text{ }^\circ\text{C}$.

$t_r = 14,507 \text{ min}$, 99,4 %.

IR (ATR) $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3292 (N-H sek amidi), 3066 (=CH, aromatski spojevi), 2969 (C-H, CH₃), 1683 (C=O, amid I, sek amidi), 1600-1430 (C=C, aromatski spojevi).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 1,33 (s, 9H, CH₃ *tBu*), 3,72, 3,97 (s, 2H, CH₂*form*), 4,64, 4,81 (s, 2H, CH₂*bzl*), 5,30, 6,17 (s, 1H, NH), 7,18 (s, 1H, H₄ *Ph*), 7,28 – 7,53 (m, 9H, H₂, H₃, H₅, H₆ *Ph*, H₂, H₃, H₄, H₅, H₆ *bzl*).

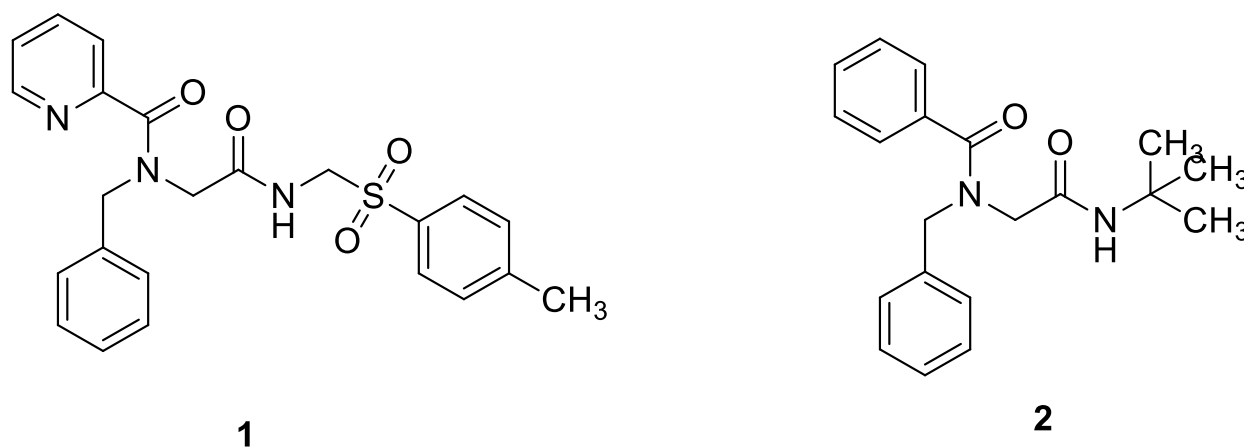
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 28,71 (CH_3 *tBu*), 35,57 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ *tBu*), 50,07, 51,31 (CH_2 *form*), 52,93, 54,06 (CH_2 *bzl*), 126,81 (C_4 *bzl*), 127,23 (C_4 *Ph*), 127,89 (C_2 , C_6 *bzl*), 128,63 (C_2 , C_6 *Ph*), 128,93 (C_3 , C_5 *bzl*), 130,09 (C_3 , C_5 *Ph*), 135,32 (C_1 *bzl*), 136,04 (C_1 *Ph*), 167,73 ($\text{C}=\text{O}$ *Ph*), 172,73 ($\text{C}=\text{O}$ *tBu*).

HRMS (m/z): izračunato 325,1911 ($\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_2^+$) dobiveno 325,1909.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

U ovom radu opisano je dobivanje dvaju *N*-acilglicinamida. Spojevi su dobiveni Ugijevom višekomponentnom reakcijom. Za sintezu spojeva korišteni su paraformaldehid i benzilamin. Za pripremu *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida (**1**) korištena je pikolinska kiselina i tosilmetil-izocijanid dok je *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamid (**2**) pripremljen korištenjem benzojeve kiseline i *tert*-butil-izocijanida. Strukture dobivenih spojeva prikazana su na slici 9.



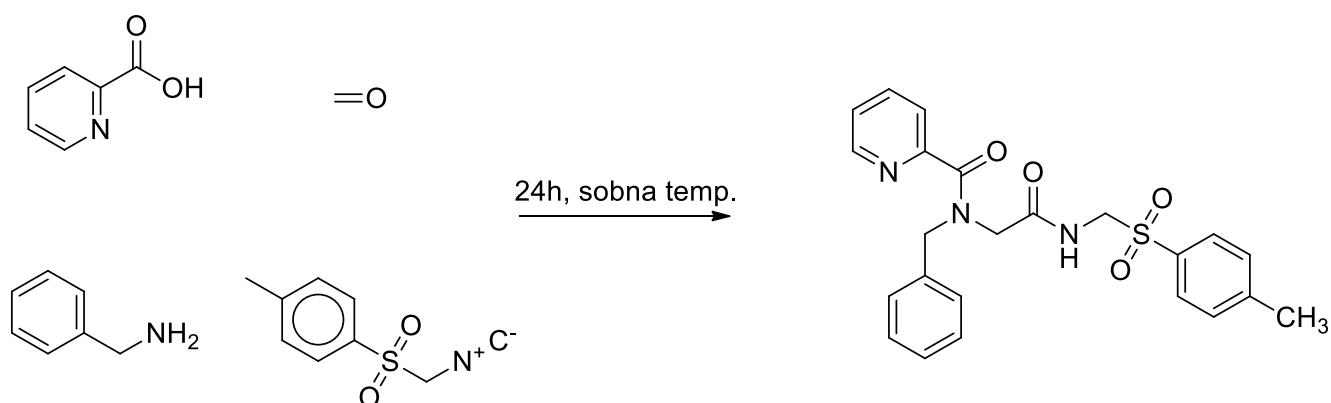
Slika 9. Strukture spojeva **1** i **2**

Za sintezu spojeva korištena je Ugijeva reakcija izvedena uobičajenim sintetskim metodama, mikrovalovima potpomognutom sintezom i mehanokemijskom sintezom. Na spoju **1** provedeni su pokušaji kvaternizacije Menšutkinovom reakcijom za što su korišteni metil-jodid, benzil-bromid i *m*-brombenzil-bromid. Na spoju **2** izvršena je optimizacija uvjeta mikrovalovima potpomognute sinteze za korištenje u Ugijevoj reakciji.

4.2. Priprava *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil] piridin-2-karboksamida Ugijevom reakcijom

4.2.1. Uobičajeni postupak sinteze *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil] piridin-2-karboksamida

Uobičajeni postupak sinteze proveden je u okrugloj tikvici u kojoj je otopljen paraformaldehid u metanolu, dodan je potom benzilamin, zatim pikolinska kiselina i na kraju TosMIC, slika 10. Reakcija se odvijala 24 sata pri sobnoj temperaturi uz miješanje. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu EtOAc:heksan = 4 : 1. Po završetku reakcije produkt je istaložio, filtriran je preko sinter lijevka i ispran hladnim metanolom. Najviše iskorištenje reakcije iznosilo je 38,5%.



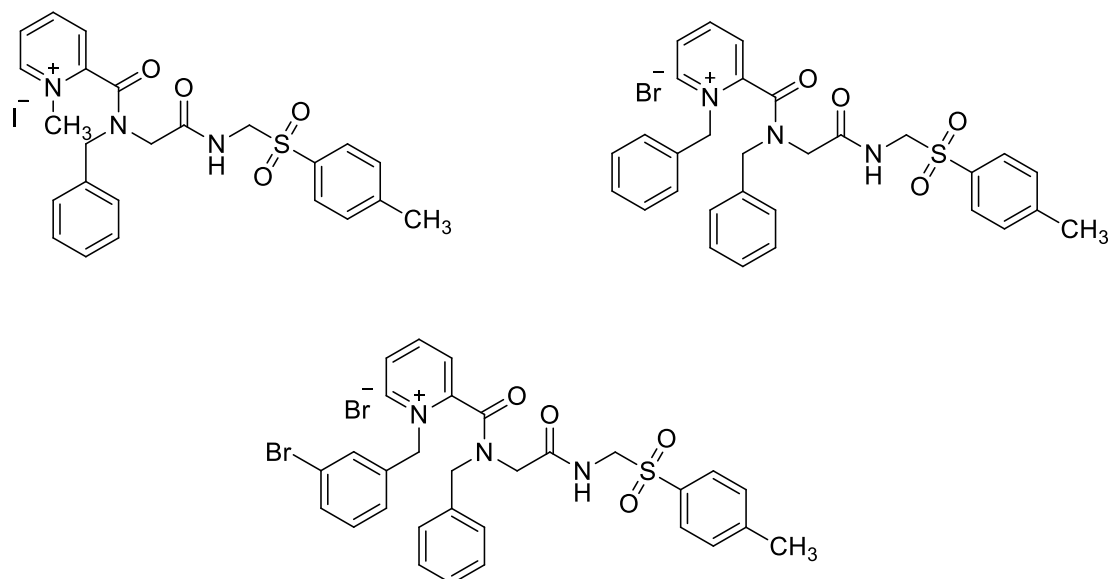
Slika 10. Sinteza *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil] piridin-2-karboksamida

4.2.2. Mikrovalovima potpomognuta sinteza *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil] piridin-2-karboksamida

Provedena je mikrovalovima potpomognuta sinteza spoja **1** s nekoliko različitih varijacija parametara mikrovalne sinteze, snage, temperature, tlaka i vremena reakcije. Svi pokušaji sinteze mikrovalno potpomognutom Ugijevom reakcijom za spoj **1** rezultirali su smjesom koja je na TCL-u pokazivala niz nusprodukata R_f vrijednosti bliskih onoj spoja **1**. Pročišćavanje takvih smjesa nije bilo moguće kromatografijom na stupcu ili drugim metodama.

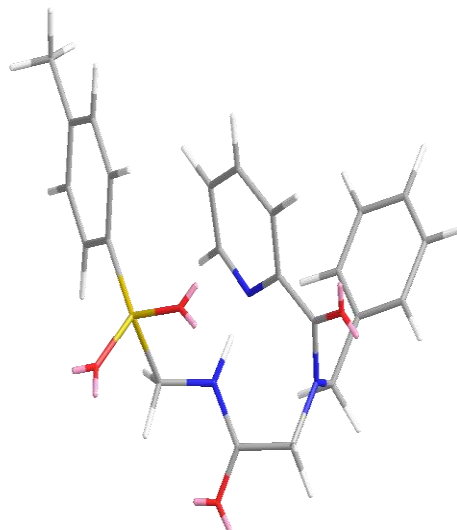
4.2.3. Kvaternizacija *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil] piridin-2-karboksamida

Provedene su reakcije kvaternizacije spoja **1** Menšutkinovom reakcijom metil-jodidom, benzil-bromidom i *m*-brombenzil-bromidom pri različitim uvjetima, uz i bez zagrijavanja te korištenjem različitih otapala. Niti jedna provedena reakcija nije rezultirala očekivanim spojem prikazanima na slici 11.



Slika 11. Očekivani spojevi reakcije Menšutkinove kvaternizacije spoja **1** s metil-jodidom, benzil-bromidom i *m*-brombenzil-bromidom

NMR spektri produkata ove reakcije pokazivali su nakon pročišćivanja, bez iznimke spektar početnog spoja **1**. Mogući razlog za inertnost ovog spoja prema Menšutkinovoj reakciji leži u prostornoj orijentaciji molekule. Ukoliko je vodikova veza koju piridinski prsten tvori preko vodika na tosilamidnom dijelu molekule dovoljno jaka, tvori se svojevrsni stabilni osmeročlani prsten koji ovisno o konformaciji može spriječiti odvijanje S_N2 reakcije (slika 12). Za vizualizaciju konformera korišten je program *Chem 3D* iz paketa *Chem Office*, verzija 12.0. (*Revvity Signals Software*, Waltham, MA, SAD)



Slika 12. Spoj **1** u konformaciji koja inhibira Menšutkinovu reakciju

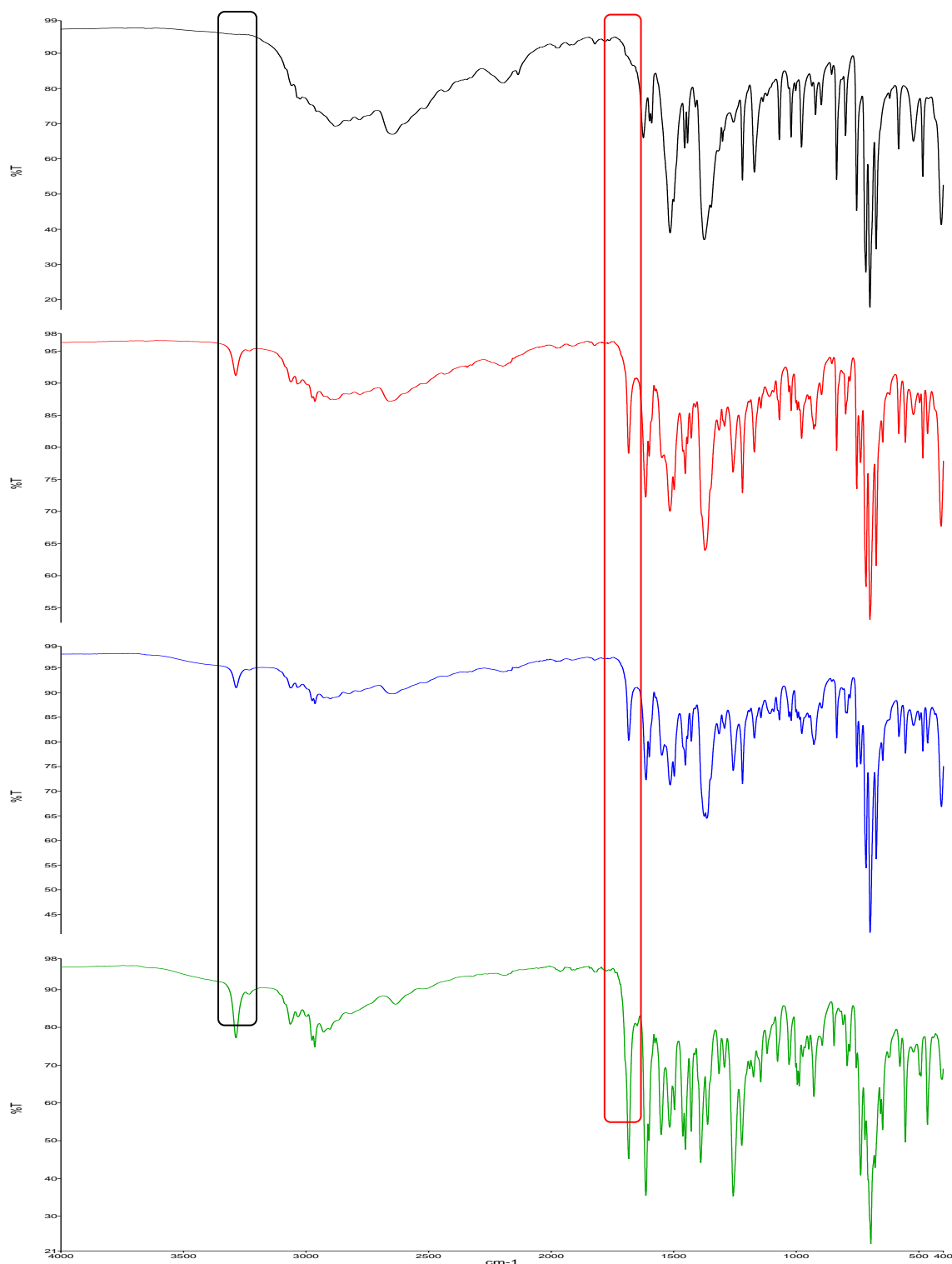
4.3. Priprava *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida

4.3.1. Uobičajeni postupak sinteze *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida

Sinteza je provedena u okrugloj tikvici uz prekondenzacija karbonilne i amino komponente, što je pozitivno utjecalo na iskorištenje reakcije, jer povećava mogućnost da su sva karbonilna i amino komponente u potpunosti reagirale, što dovodi do formiranja imina, koji je prvi korak u mehanizmu Ugijeve reakcije. Za razliku od ovakve sinteze produkta **1** po završetku reakcije smjesa je uparena, potom otopljena u etil-acetatu, zatim je provedena kiselinsko-bazna ekstrakcija čime se uklanjaju neizreagirana benzojeva kiselina i benzilamin. Dobivena je bijela krutina (produkt **2**), a najviše iskorištenje reakcije iznosilo je 63,7%

4.3.2. Mehankemijska sinteza *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida

Mehanokemijska sinteza provedena je u vibracijskom kugličnom mlinu bez otapala i s katalitičkom količinom otapala (engl. *liquid assisted grinding*, LAG). Ugijeva reakcija provedena s katalitičkom količinom otapala rezultirala je neznatno boljim iskorištenje (33,6 %), od Ugijeve reakcija provedene bez otapala (37,9 %). Mehanokemijska sinteza produkta **2** praćena je ATR-om (slika 13.). Usporede li se ATR spektri snimljeni nakon različitog vremena provedbe reakcije može se uočiti porast intenziteta istezanja N-H veze na 3287 cm^{-1} (označena crnim pravokutnikom na slici 13.) te porast intenziteta istezanja amidne skupine (C=O veze) pri 1683 cm^{-1} (označeno crvenim pravokutnikom na slici 13.), pri čemu se uočava nastajanje produkta **2**.



Slika 13. Prikaz mehanokemijske sinteze spoja 2 praćene ATR spektroskopijom: početak reakcije (crno), nakon 15 minuta (crveno), nakon 30 minuta (plavo) i nakon 90 minuta (zeleno).

4.3.3. Mikrovalovima potpomognuta sinteza *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida

Provedena je optimizacija Ugijeve sinteze potpomognute mikrovalnim zračenjem tijekom koje je provjeren utjecaj promjene temperature, snage zračenja, trajanja reakcije i izbora otapala na ishod odnosno iskorištenje reakcije (tablice 5. – 8.).

Tablica 5. Utjecaj promjene temperature pri kojoj se izvodi reakcija pripreve *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**) potpomognuta mikrovalnim zračenjem na iskorištenje reakcije pri reakcijskim uvjetima: formaldehid (0,3 mmol), benzil-amin (0,3 mmol), benzojeva kiselina (0,3 mmol), *tert*-butil-izocijanid (0,3 mmol) u MeOH (350 μ L). Reakcija je podvrgnuta MW zračenju (temperatura, 10 min, 250 W, 250 psi)

<i>t</i> /°C	<i>m</i> /mg	η /%
120	67,3	69,2
130	56,5	58,0
140	38,4	39,4

Tablica 6. Utjecaj promjene snage pri kojoj se izvodi reakcija pripreve *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**) potpomognuta mikrovalnim zračenjem na iskorištenje reakcije pri reakcijskim uvjetima: formaldehid (0,3 mmol), benzil-amin (0,3 mmol), benzojeva kiselina (0,3 mmol), *tert*-butil-izocijanid (0,3 mmol) u MeOH (350 μ L). Reakcija je podvrgnuta MW zračenju (120°C, 10 min, snaga, 250 psi)

<i>P</i> /W	<i>m</i> /mg	η /%
150	46,0	47,3
200	69,3	71,2
250	67,3	69,2

Tablica 7. Utjecaj promjene trajanja reakcije pripreve *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**) potpomognuta mikrovalnim zračenjem na iskorištenje reakcije pri reakcijskim uvjetima: formaldehid (0,3 mmol), benzil-amin (0,3 mmol), benzojeva kiselina (0,3 mmol), *tert*-butil-izocijanid (0,3 mmol) u MeOH (350 μ L). Reakcija je podvrgnuta MW zračenju (120°C, vrijeme, 200 W, 250 psi)

<i>t</i> /min	<i>m</i> /mg	η /%
5	48,3	49,6
10	69,3	71,2
15	58,4	60,0

Tablica 8. Utjecaj promjene otapala u kojem se izvodi reakcija pripreve *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**) potpomognuta mikrovalnim zračenjem na iskorištenje reakcije pri reakcijskim uvjetima: formaldehid (0,3 mmol), benzil-amin (0,3 mmol), benzojeva kiselina (0,3 mmol), *tert*-butil-izocijanid (0,3 mmol) u otapalu (350 μ L). Reakcija je podvrgnuta MW zračenju (120°C, 10 min, 200 W, 250 psi)

otapalo	<i>m</i> /mg	η /%
metanol	69,3	71,2
etanol	59,6	61,2
izopropanol	38,9	40,0

Određeni su optimalni uvjeti za sintezu *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida Ugijevom reakcijom potpomognutom mikrovalnim zračenjem (MeOH, 120°C, 10 min, 200 W, 250 psi).

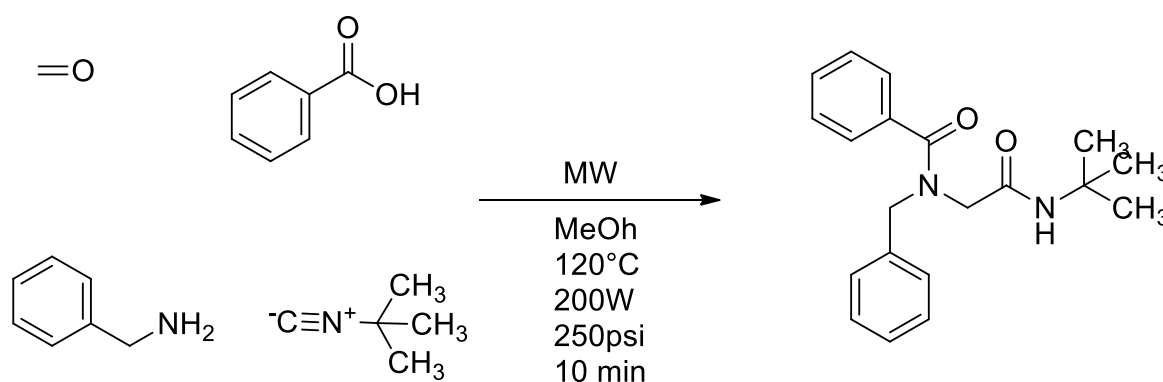
4.3.4. Usporedba uobičajenog postupka sinteze te mehanokemijskog i mikrovalnog pristupa Ugijevoj reakciji za sintezu *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida

Provođenje reakcije mehanokemijski, uz uporabu mikrovalnog zračenja te uobičajenim sintetskim postupcima za sintezu *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida omogućava usporedbu učinkovitosti pojedinih pristupa (tablica 9.)

Tablica 9. Usporedba iskorištenja reakcija sinteze Ugijevom reakcijom *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida različitim sintetskim postupcima

Vrsta sinteze	η/%
uobičajeni sintetski postupak	63,7
mehanokemijska (bez otapala)	33,6
mehanokemijska (uz katalitički dodatak otapala)	37,9
mikrovalovima potpomognuta	71,2

Iz podataka priloženih u tablici 9., vidljivo je kako je najpovoljniji način za sintezu spoja **2**, mikrovalovima potpomognuta Ugijeva reakcija. Najmanje isplativom pokazala se mehanokemijska Ugijeva reakcija, iako je i dalje u prednosti pred uobičajenim sintetskim postupkom ako se u obzir uzmu načela zelene kemije. Osim što je rezultirala najboljim iskorištenjem sinteza potpomognuta mikrovalovima ima i prednost najkraćeg trajanja, slika 14.

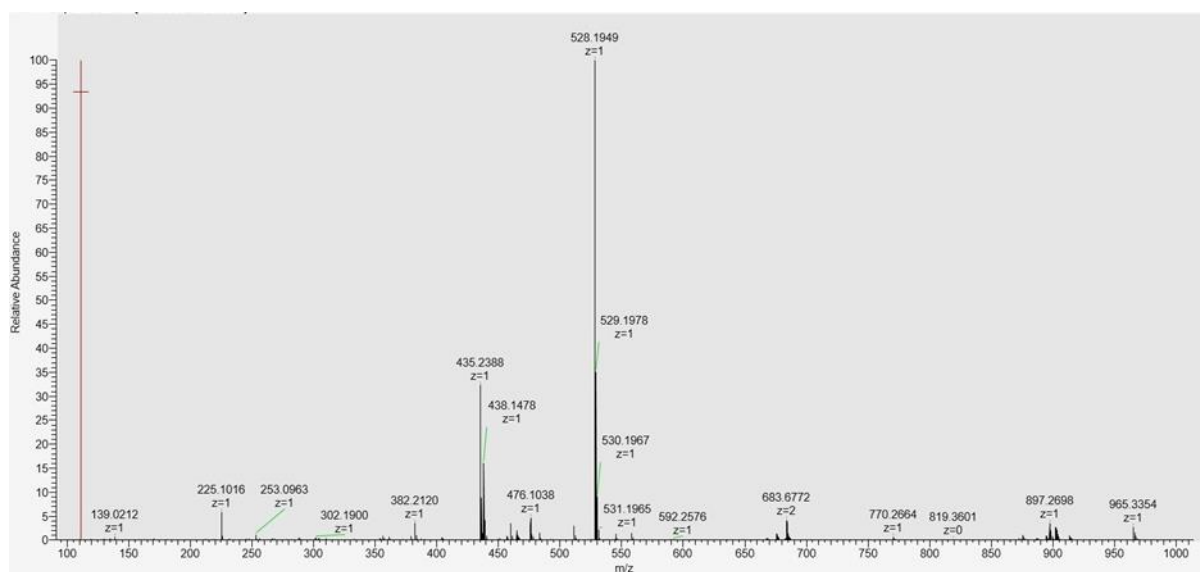


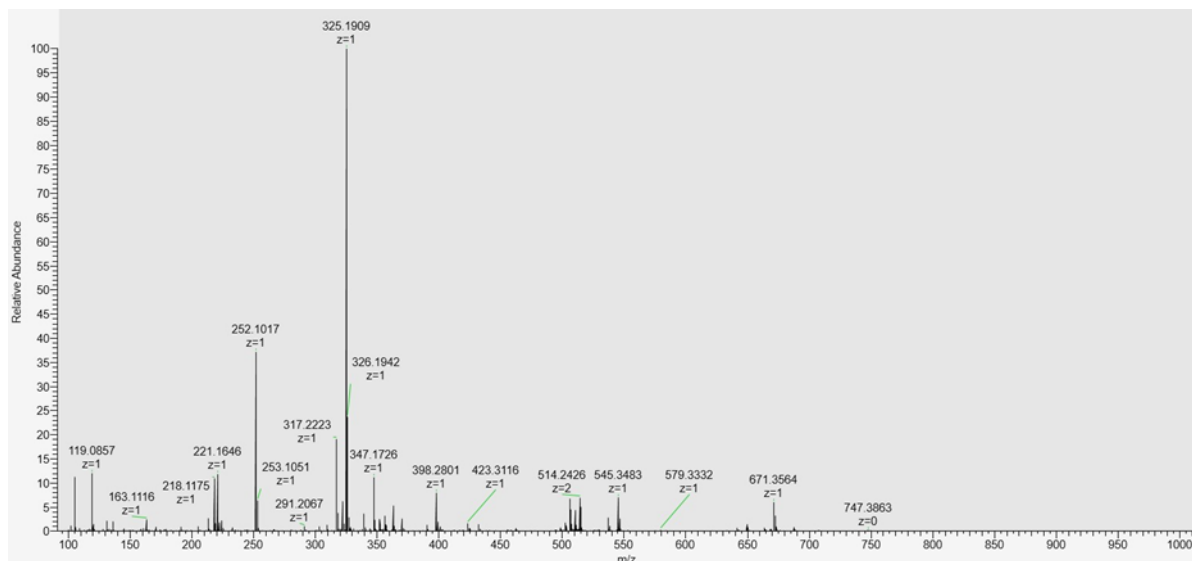
Slika 14. Optimizirana sinteza *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida potpomognuta mikrovalovima

4.4. Spektroskopska karakterizacija spojeva

4.4.1. Spektrometrija masa

Spektrometrija masa je instrumentalna analitička tehnika koristi se za određivanje omjera mase i naboja (m/z) ioniziranih molekula. Rezultat analize je spektar masa na kojem je prikazan ionski signal kao funkcija omjera mase i naboja (m/z). Ova tehnika ne temelji se na interakciji tvari i elektromagnetskog zračenja već na ionizaciji i fragmentaciji molekula uzorka. Spektri masa pripremljenih spojeva snimljeni su pomoću spregnutog sustava nanoUHPLC-MS/MS. Uzorci su pripremljeni u metanolu LC-MS čistoće, a kao tehnika ionizacije korišteno je elektroraspršenje. Snimljeni spektri masa (slika 15) potvrđuju molekulsku formulu pripremljenih spojeva.^{36,37}

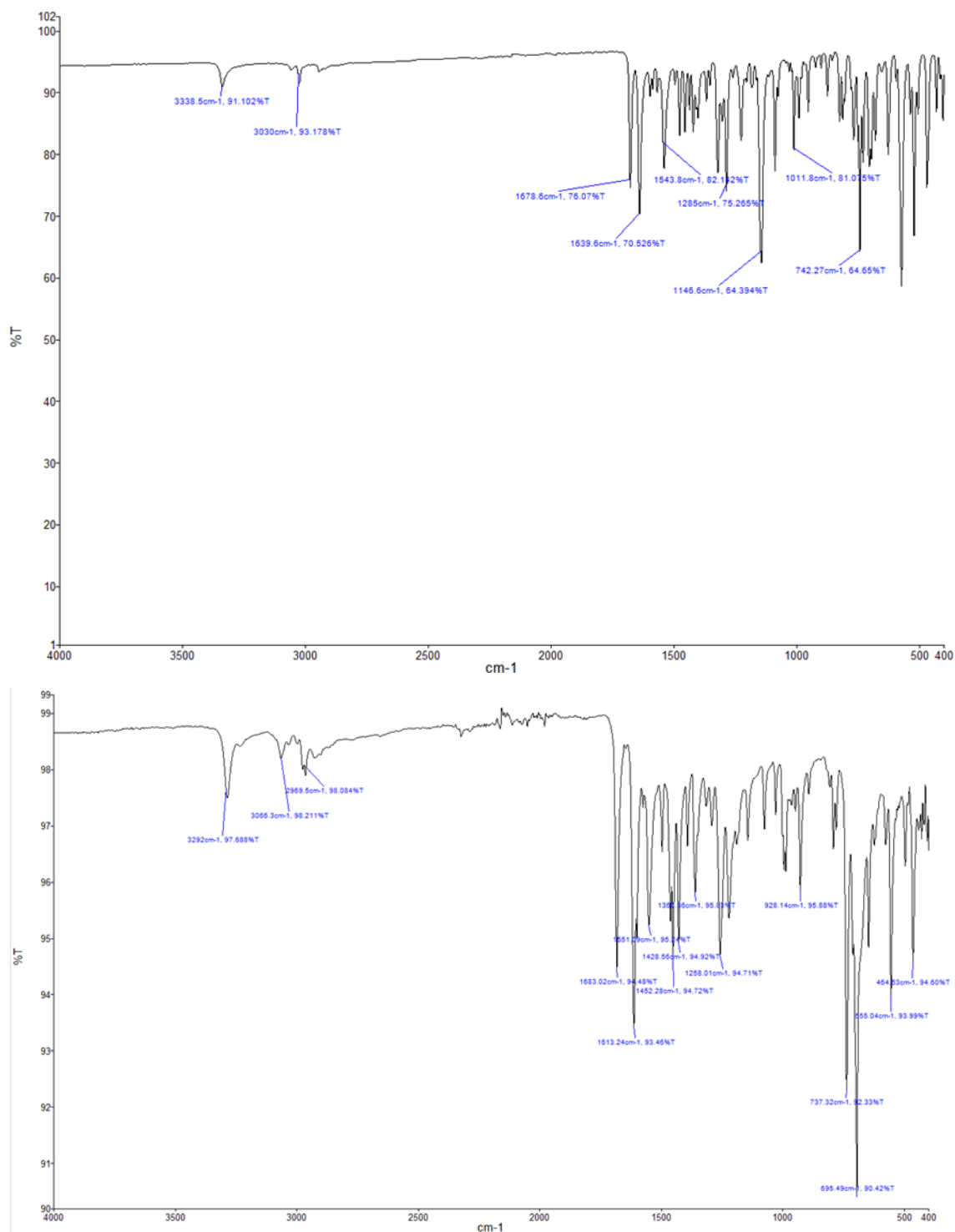




Slika 15. a) HRMS spektar *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil] piridin-2-karboksamida (1) i b) HRMS spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (2).

4.4.2. Infracrvena spektroskopija

Infracrvena spektroskopija koristi se za analizu određenih funkcijskih skupina u molekuli. IR zračenje predstavlja dio spektra elektromagnetskog zračenja između vidljivog i mikrovalnog područja (raspon valnih brojeva $12500-10\text{ cm}^{-1}$), a interakcijom tvari i EM zračenja u infracrvenom području spektra pobuđuju se vibracije, istezanja veza i/ili savijanja kutova između veza u molekuli. Vibracije se mjere u frekvencijama te izražavaju u valnim brojevima (recipročna vrijednost valne duljine izražena u cm^{-1}). U IR spektru opažaju se samo one vibracije kod kojih dolazi do promjene dipolnog momenta. Spektar prikazuje ovisnost transmitancije o valnom broju, signali se nazivaju vrpčama, a područje spektra može se podijeliti na područje funkcijskih skupina ($4000 - 1400\text{ cm}^{-1}$) i područje otiska prsta ($1400 - 400\text{ cm}^{-1}$).³⁷ Spektri su snimljeni tehnikom prigušene totalne refleksije ATR, čiji dijamantni refleksijski element ne apsorbira IR zračenje u promatranom području što ga čini univerzalnim nosačem.³⁹

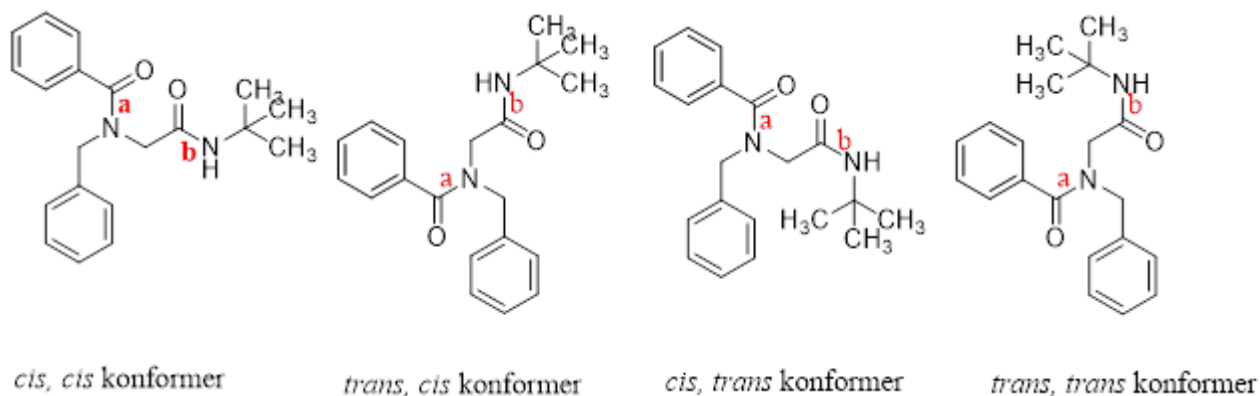


Slika 16. a) ATR spektrar *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida (1) i b) ATR spektrar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (2).

4.4.3. Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije

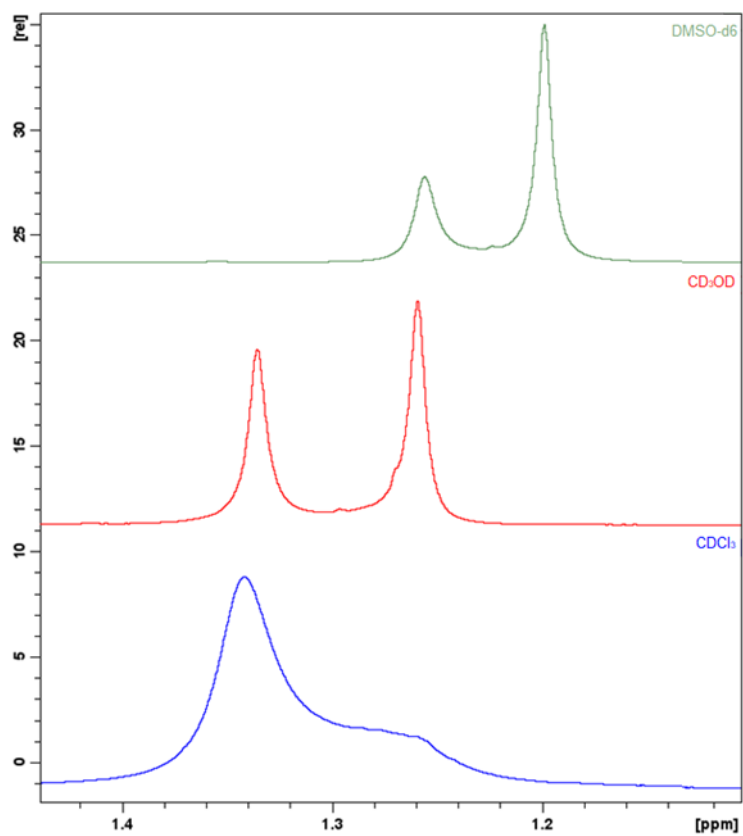
Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije jedna je od najčešće korištenih tehnika za određivanje strukture organskih molekula. Uzorci se otapaju u deuteriranim otapalima jer deuterij ne pokazuje signal u ^1H NMR spektrima. Najčešće korištena otapala su deuterirani kloroform, dimetil-sulfoksid, dimetilformamid, benzen, metanol i voda. Kemijski pomak (δ) predstavlja položaj pojedine jezgre u spektru NMR i definira se s obzirom na signal nekog referentnog spoja. Najčešće korišteni referentni spoj za ^1H i ^{13}C NMR je tetrametilsilan, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ (TMS) i definiran je pri 0 ppm. Površina ispod signala ^1H NMR spektra proporcionalna je broju protona koji doprinose tom signalu, a kod ^{13}C NMR spektara taj broj nije proporcionalan broju ugljika. Intenzitet signala proporcionalan je broju apsorbiranih protona, a spin-spin sprega daje informaciju o broju susjednih nekvivalentnih protona. Tehnika DEPT (engl. *Distortionless enhancement by polarisation transfer*) koristi se za editiranje spektara ugljikovih jezgri (^{13}C) prema multiplicitetu tj. broju susjednih protona.³⁸

U ^1H i ^{13}C NMR spektrima Ugijevih produkata **1** i **2** primjećuju se dvostruki signali metilnih i metilenskih skupina. Dvostruki signali pojedinih skupina u ^1H i ^{13}C NMR spektrima mogu se pojaviti zbog zakočene rotacije oko dvije amidne veze. Ovaj fenomen je opisan u literaturi⁴⁰⁻⁴⁴ i povezan je s parcijalnim dvostrukim karakterom amidne veze koji sprječava slobodnu rotaciju. Ograničena rotacija dovodi do pojave 4 različita konformera, koji se mogu razlikovati u NMR spektrima, stvarajući dvostruke signale za iste atome vodika ili ugljika (slika 17).

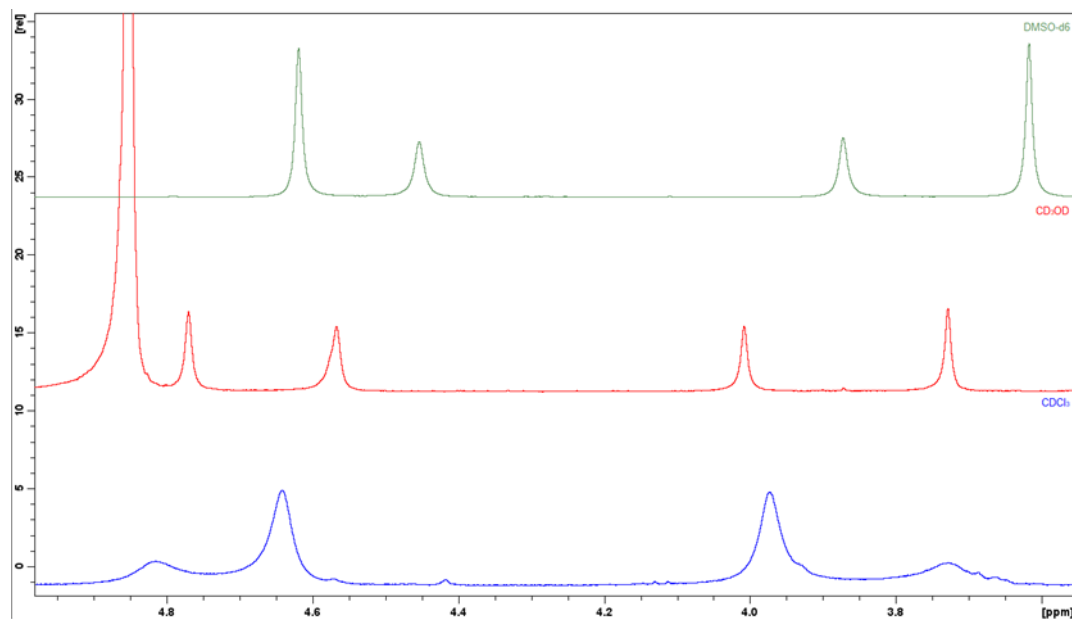


Slika 17. Mogući konformeri spoja **2**. Prva oznaka za svaki konformer označava konformaciju amidne veze (označena slovom a) koja povezuje fenilnu i *N*-benzilnu skupinu, dok druga oznaka za svaki konformer označava konformaciju amidne veze (označena slovom b) koja povezuje metilensku i *N*-*tert*-butilnu skupinu.

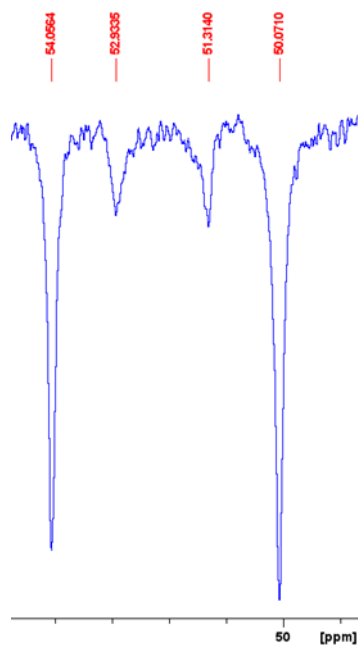
Prosječan omjer *cis* i *trans* konformera procenjen je usporedbom opaženih dvostrukih signala metilnih ili metilenskih skupina (slika 18 a), b), c) tablica 10.), koji ovisi o otapalu u kojem je snimljen NMR spektar.³⁸



Slika 18. a) Dio ^1H NMR spektra (400 MHz) produkta **2** u različitim organskim otapalima koji prikazuju dvostruke signale metilnih skupina.



b) Dio ^1H NMR spektra (400 MHz) produkta **2** u različitim organskim otapalima koji prikazuju dvostruke signale metilenskih skupina.



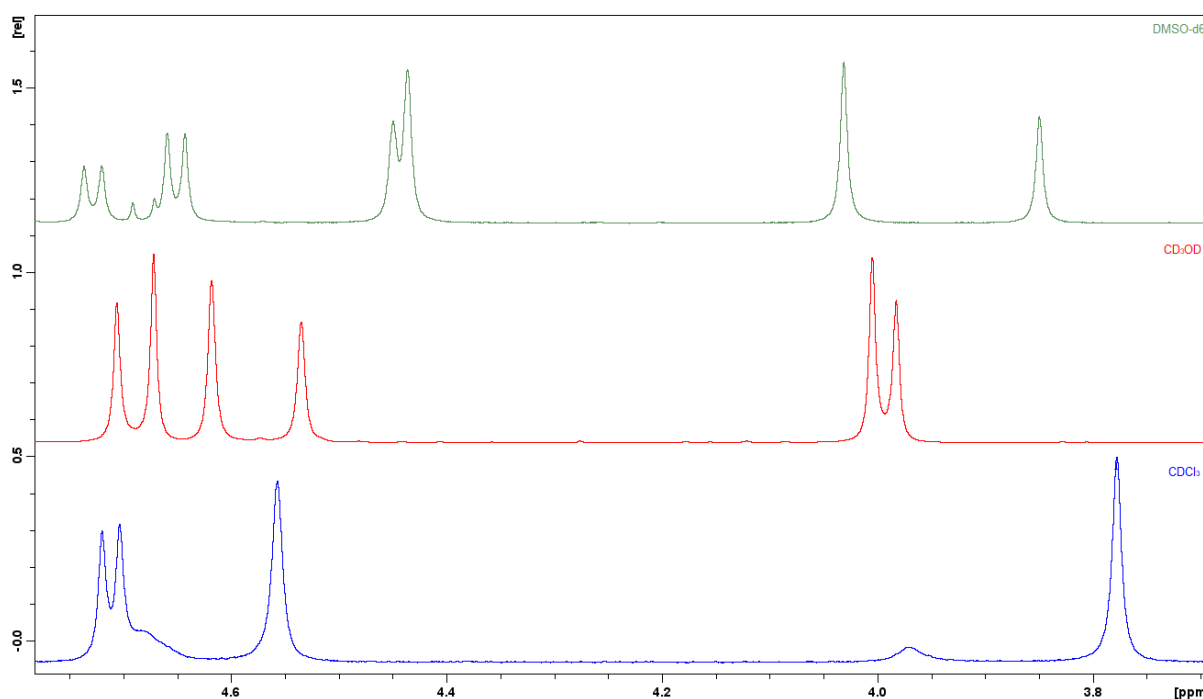
c) Dio ^{13}C NMR spektra (100 MHz, CDCl_3) produkta **2** koji prikazuje dvostruke signale metilenskih skupina. Usporedbom integrala vrpci određeno je da udio *cis* i *trans* konformera iznosi 21:79 (slično primijećeno i u ^1H NMR)

Tablica 10. Omjer *cis* i *trans* konformera opažen u ^1H NMR^{a,b} i ^{13}C NMR^c spektrima spoja **2**.

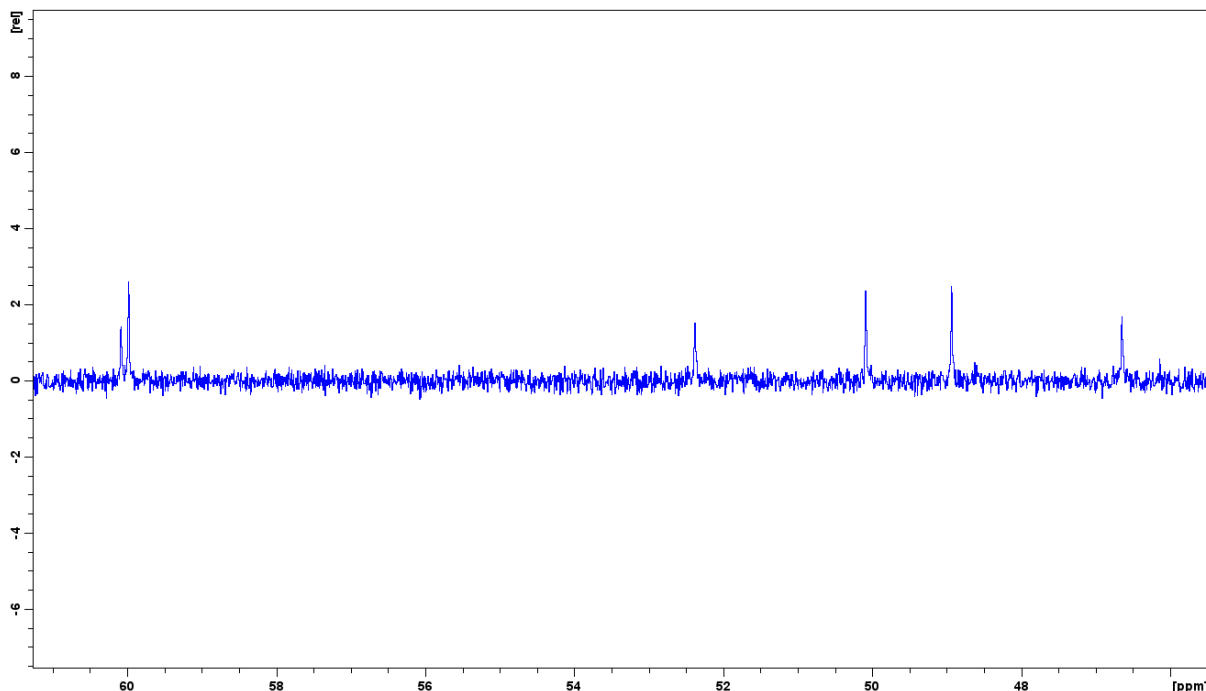
Konformer	<i>cis</i> : <i>trans</i> ^a	<i>cis</i> : <i>trans</i> ^b
DMSO-d6	66 : 34	35 : 65
CD ₃ OD	46 : 54	49 : 51
CDCl ₃	/	30: 70 ^b ; 21 : 79 ^c

- a) Prosječni omjer *cis* i *trans* konformera (amidne veze označene oznakom **a** na slici) procijenjen usporedbom opaženih dvostrukih signala metilenske skupine koja potječe od benzil-amina
- b) Prosječni omjer *cis* i *trans* konformera (amidne veze označene oznakom **b** na slici) procijenjen usporedbom opaženih dvostrukih signala metilnih skupina
- c) Prosječni omjer *cis* i *trans* konformera (^{13}C NMR, 100 MHz, CDCl₃, amidne veze označene oznakom **a** na slici) procijenjen usporedbom dvostrukih signala metilenske skupine koja potječe od benzil-amina

Slično tome, u ^1H i ^{13}C NMR spektrima Ugijevog produkta **1** opaženi su dvostruki signali metilenskih skupina (slika 19., 20., tablica 11.), no nije uvijek bilo moguće procijeniti omjer *cis* i *trans* konformera (zbog preklapanja pojedinih signala).



Slika 19. Dio ^1H NMR spektra (400 MHz) produkta **1** u različitim organskim otapalima koji prikazuju dvostruke signale metilenskih skupina.



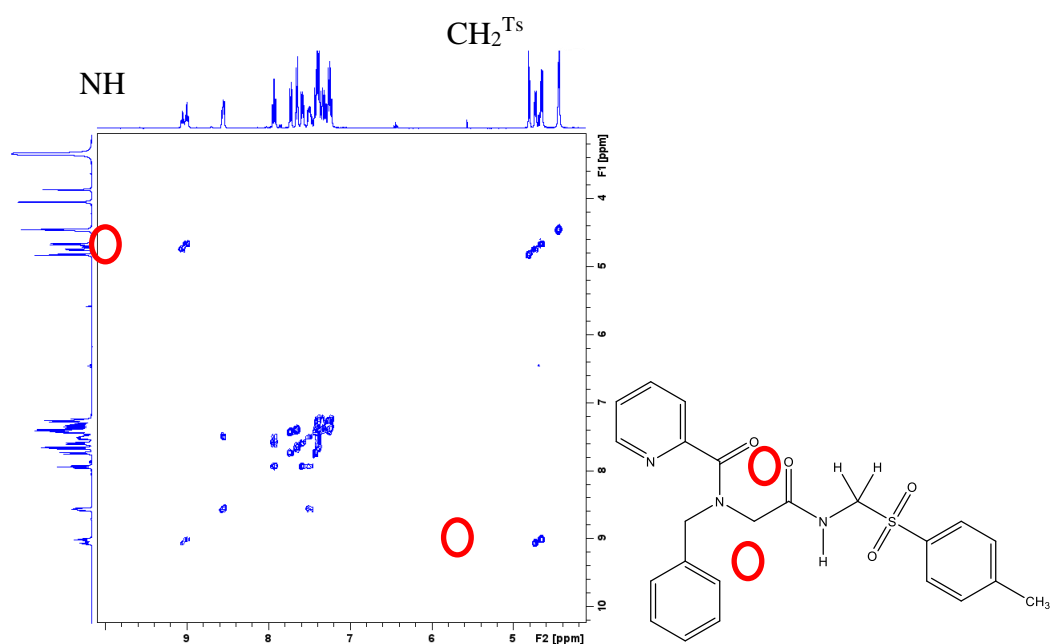
Slika 20. Dio ^{13}C NMR spektra (100 MHz, DMSO- d_6) produkta **1** koji prikazuju dvostruke signale metilenskih skupina.

Tablica 11. Omjer *cis* i *trans* konformera opažen u ^1H NMR^{a,b} i ^{13}C NMR^c spektrima spoja **1**.

Konformer	<i>cis</i> : <i>trans</i> ^a	<i>cis</i> : <i>trans</i> ^b
DMSO- d_6	preklapanje signala; 45 : 55 ^c	39 : 61 ^b ; 39 : 61 ^c
CD_3OD	43 : 57	43 : 57
CDCl_3	preklapanje signala	preklapanje signala

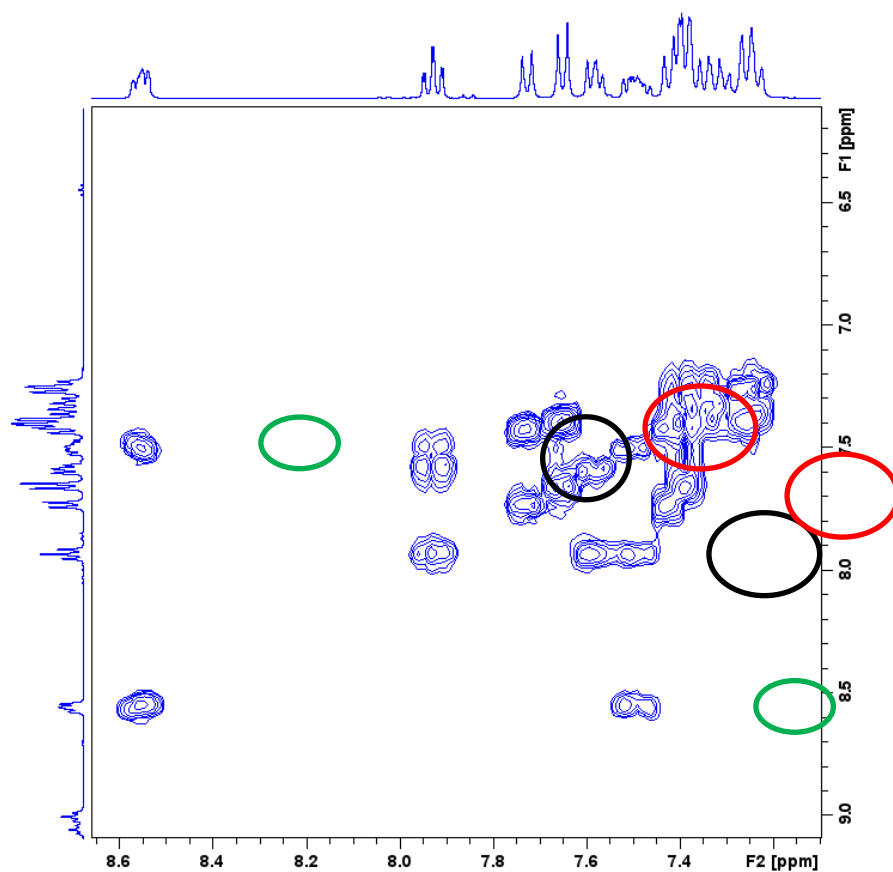
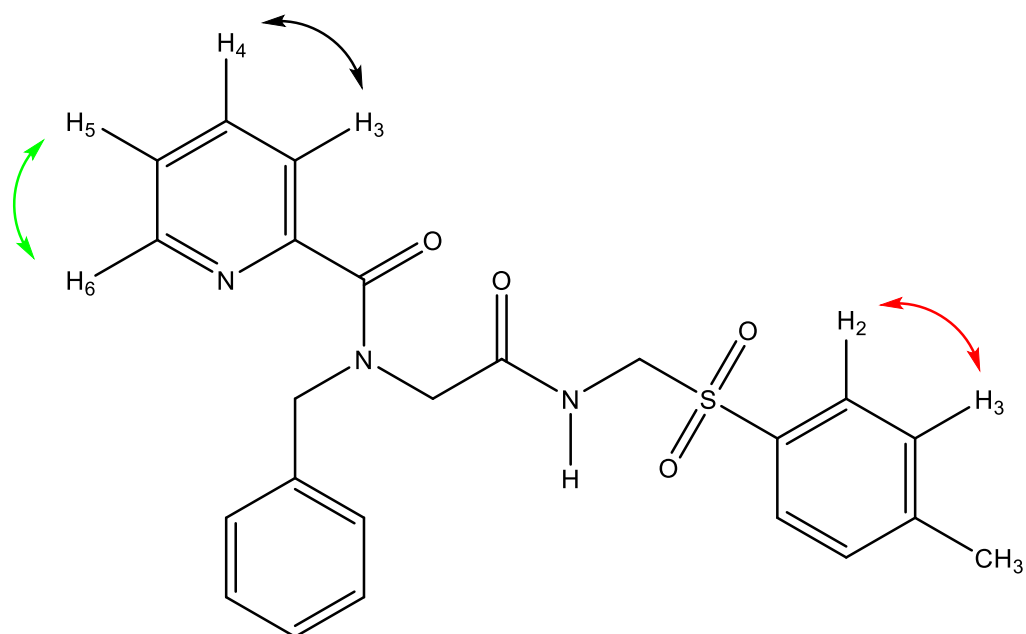
- Prosječni omjer *cis* i *trans* konformera procijenjen usporedbom opaženih dvostrukih signala metilenske skupine koja potječe od benzil-amina
- Prosječni omjer *cis* i *trans* konformera procijenjen usporedbom opaženih dvostrukih signala metilenske skupine koja potječe od izocijanida.
- Prosječni omjer *cis* i *trans* konformera (^{13}C NMR, 100 MHz, DMSO- d_6) procijenjen usporedbom dvostrukih signala metilenske skupine koja potječe od benzil-amina

Ugijevom produktu **1** snimljeni su 2D NMR tehnike s ciljem potpune karakterizacije molekule. Tehnika COSY (engl. *Correlation spectroscopy*) daje informacije o strukturi molekule putem sprezanja protona kroz dvije ili tri kemijske veze.³⁸ U COSY spektru se uočava sprezanje amidnog protona (pri 9,02 ppm) i metilenske skupine (dva dubleta pri 4,65 i 4,73 ppm) koja potječe iz tosilmetil-izocijanida (zaokruženo crveno na slici 21.).



Slika 21. Dio 1H-1H COSY spektra (400 MHz, DMSO-d₆) produkta **2** koji prikazuju sprezanje amidnog protona i metilenske skupine koja potječe iz tosilmetil-izocijanida (zaokruženo crveno).

Osim toga, u aromatskom području vidljive su sprege aromatskih protona na položajima 2 i 3 koje potječu iz tosilmetil-izocijanida (multiplet pri 7,21 – 7,45 i dubleti 7,65, 7,73 označenih crveno na slici 22.) te piridinskog prstena u položaju 3 i 4 (multiplet pri 7,55 – 7,61 i triplet dubleta pri 7,93, označeno crno na slici x), odnosno 5 i 6 (multiplet pri 7,45 – 7,53 i 8,53 – 8,58 označeno plavo na slici 22.).



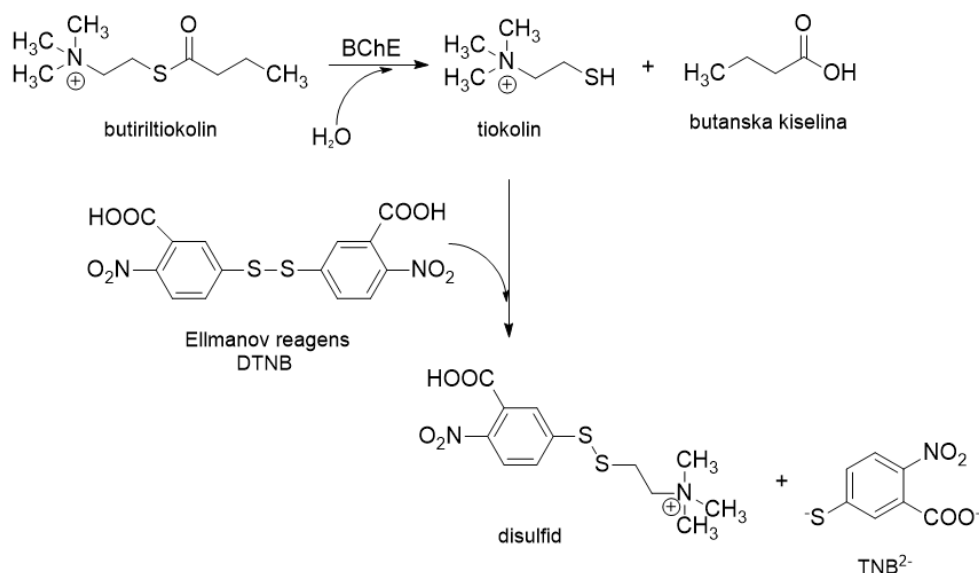
Slika 22. Dio ¹H-¹H COSY spektra (400 MHz, DMSO-d₆) produkta **2** koji prikazuju sprezanje aromatskih protona na položajima 2 i 3 koje potječu iz tosilmetil-izocijanida

(označenih crveno) te piridinskog prstena u položaju 3 i 4 (označeno crno), odnosno 5 i 6 (označeno zeleno).

Tehnika HSQC (engl. *Heteronuclear single quantum coherence*) koristi se za detekciju heteronuklearnih sprega kroz jednu vezu između protona i ugljikovih atoma, dok tehnika HMBC (engl. *Heteronuclear multiple bond coherence*) daje informacije o korelaciji između protona i ugljikovih atoma preko dvije, tri ili četiri kemijske veze.³⁸ HSQC i HMBC NMR spektri spoja **1** priloženi su u Dodatku.

4.4.4. Određivanje inhibitorne aktivnosti

Provedeno je mjerenje inhibitorne aktivnosti (određivanje IC₅₀ vrijednosti) spojeva **1** i **2** prema enzimu butirilkolinesterazi izoliranoj iz konjskog seruma Ellmanovom metodom.⁴⁵ Ellmanova spektrofotometrijska metoda temelji se na određivanju koncentracije tiolnih skupina iz tiokolinskih estera kako bi se odredila aktivnost kolinesteraze (slika 23.). Ellmanov reagens (5,5-ditiobis-(2-nitrobenzojeva kiselina), DTNB) reagira s tiolnim skupinama koje nastaju djelovanjem enzima butirilkolinesteraze, što dovodi do stvaranja 2-nitro-5-merkaptobenzoata (TNB²⁻), koji je intenzivno žute boje (apsorpcijskog maksimuma pri 414 nm).⁴⁶



Slika 23. Ellmanova spektrofotometrijska metoda.⁴⁶

Spoju **1** određena je IC_{50} vrijednost koja iznosi $25,9 \mu\text{M} \pm 5,7 \mu\text{M}$, dok je spoju **2** određena IC_{50} vrijednost $115,9 \mu\text{M} \pm 8,5 \mu\text{M}$. Usporede li se navedene IC_{50} vrijednosti s komercijalno dostupnim inhibitorima kolinesteraza s donepezilom (IC_{50} vrijednost $1,9 \mu\text{M} \pm 0,3 \mu\text{M}^{47}$), može se zaključiti da pripremljeni *N*-acilglicinamidi pokazuju odgovarajuću bioaktivnost.

§ 5. ZAKLJUČAK

Pripravljena su dva *N*-acilglicinamida, *N*-benzil-*N*-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamid, spoj **1** i *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamid spoj **2**. Oba spoja pripravljena su Ugijevom višekomponentom reakcijom. Reakcija se provodila na tri načina, uobičajenim postupcima organske sinteze, mehanokemijskom sintezom i mikrovalovima potpomognutom sintezom.

U slučaju spoja **1** najučinkovitijom se pokazao uobičajeni pristup sintezi koji osim zadovoljavajućeg prinosa ima i prednost iznimno lake obrade i čišćenja spoja koji taloži tijekom reakcije. Mikrovalovima potpomognuta sinteza pokazala se neadekvatnom s obzirom da se tijekom reakcije nastaje serija nusprodukata. Provedena je kvaternizacija spoja **1** Menšutkinovom reakcijom. Niti jedan produkt nije uspješno izoliran. Spoj **1** ne reagira s alkilnim donorima u Menšutkinovoj reakciji.

U slučaju spoja **2** najučinkovitijom se pokazala mikrovalovima potpomognuta sinteza. Provedena je optimizacija uvjeta mikrovalne sinteze ovog spoja koja je rezultirala porastom iskorištenja od gotovo 10% u odnosu na uobičajeni pristup sintezi i 40% u odnosu na izvorne uvjete mikrovalovima potpomognute Ugijeve reakcije. Mehanokemijski pristup pokazao je najniži prinos, ali reakcija je rezultirala čistim produktom bez, ili uz minimalan utrošak otapala.

Strukture dobivenih spojeva potvrđene su IR spektroskopijom te 1D i 2D NMR spektroskopskim tehnikama i spektrometrijom masa. Pripravljene spojevi **1** i **2** prisutni su u otopini kao smjesa *cis* i *trans* konformera izračunatoj na temelju integrala signala u ^1H i ^{13}C NMR spektru u protonskim i aprotonskim otapalima različite polarnosti.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

ATR- prigušena totalna refleksija

COSY- korelacijska spektroskopija

DEPT- Pojačanje prijenosom polarizacije bez distorzije

DMF- dimetilformamid

DMSO- dimetil-sulfoksid

DTNB- 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzojeva kiselina)

HMBC- heteronuklearna spektroskopija višestrukih korelacija

HRMS- spektrometrija masa visoke razlučivosti

HSQC- heteronuklearna spektroskopija jedne kvantne sprege

IR- infracrveno

LAG- mljevenje potpomognuto tekućinom

LC- tekućinska kromatografija

MeOD- deuterirani metanol

MeOH- metanol

MW- mikrovalno

NMR- nuklearna magnetska rezonancija

NOESY- spektroskopija nuklearnog Overhouserovog efekta

THF- tetrahidrofur

TLC- tankoslojna kromatografija

TMS - tetrametilsilan

TosMIC- tosilmetil-izocijanid

UHPLC- ultra-visokoučinkovita tekućinska kromatografija

§ 7. LITERATURNI IZVORI

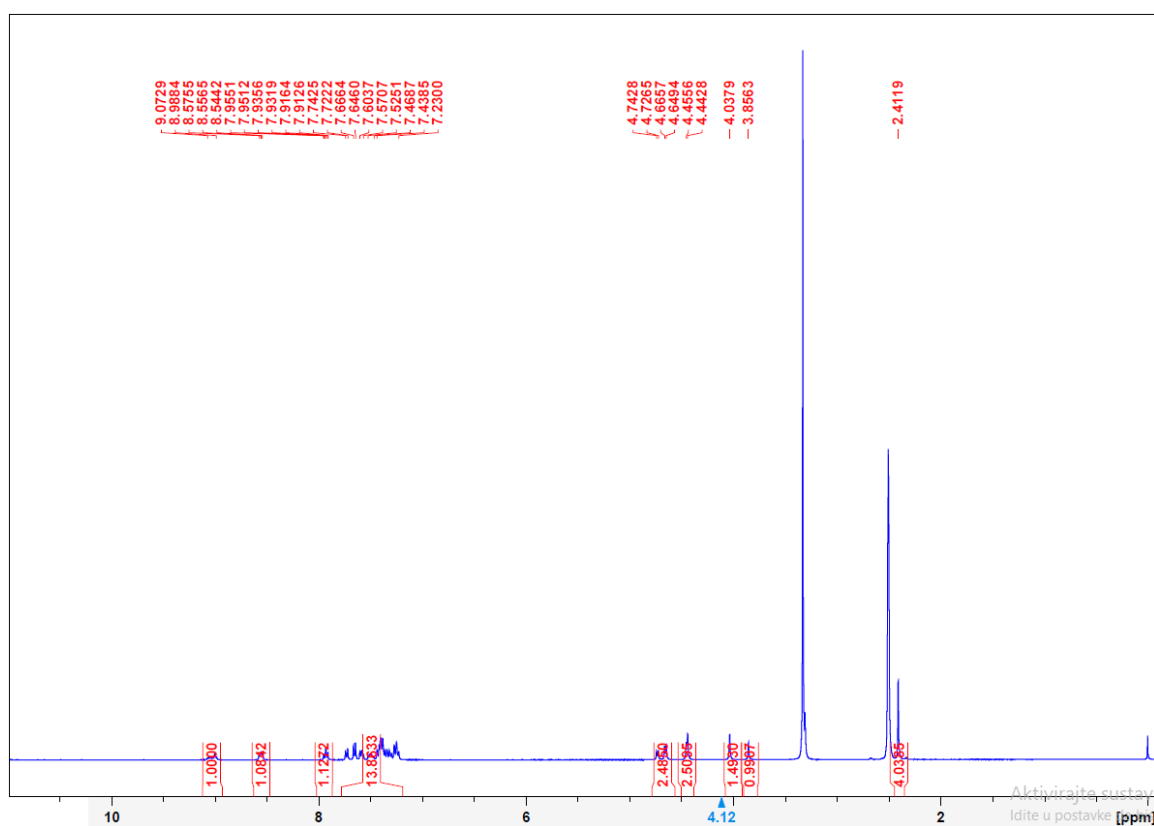
1. D. P. Waluk, *Biosynthesis and physiological functions of N-acyl amino acids*, Doktorski rad, Sveučilište u Stockholmu, 2012, str. 9–10.
2. H. B. Bradshaw, J. M. Walker, *Br. J. Pharmacol.* **144** (2005) 459–465.
3. P. Sharma, P. Srivastava, A. Seth, P. N. Tripathi, A. G. Banerjee, S. K. Shrivastava, *Prog. Neurobiol.* **174** (2019) 53–89.
4. A. Contestabile, *Behav. Brain Res.* **221** (2011) 334–340.
5. J. Cummings, G. Lee, A. Ritter, M. Sabbagh, K. Zhong, *Alzheimer's Dementia* **6** (2020) 12050.
6. M. Wu, J. Ma, L. Ji, M. Wang, J. Han, Z. Li, *Eur. J. Med. Chem.* **177** (2019) 198–211.
7. A. Dömling, *Chem. Rev.* **106** (2006) 17–89.
8. S. Marcaccini, T. Torroba, *Nat. Protoc.* **2** (2007) 632–639.
9. H. G. O. Alvim, E. N. da Silva Júnior, B. A. D. Neto, *RSC Adv.* **4** (2014) 54282–54299.
10. J. C. Flores-Reyes, A. Islas-Jácome, E. Gonzáles-Zamora, *Org. Chem. Front.* **8** (2021) 5460–5515.
11. R. O. Rocha, M. O. Rodrigues, B. A. D. Neto, *ACS Omega* **5** (2020) 972–979.
12. M. J. Thompson, B. Chen, *J. Org. Chem.* **74** (2009) 7084–7093.
13. M. Glavaš, *Endiinski spojevi u višekomponentnim reakcijama*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2020, str. 24–26.
14. A. Dömling, *J. Org. Chem.* **88** (2022) 5242–5247.
15. T. Divjak, *Dizajn i priprava imidazolnih, pirazolnih i 5-metilisatinskih reaktivatora acetilkolinesteraze*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2023, str. 18–23.
16. N. Chéron, R. Ramozzi, L. El Kaïm, L. Grimaud, P. Fleurat-Lessard, *J. Org. Chem.* **77** (2012) 1361–1366.
17. R. Gedye, F. Smith, K. Westway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge, J. Rousell, *Tetrahedron Lett.* **27** (1986) 279–282.
18. A. Mishra, R. Dubey, *Green Chemistry for Environmental Remediation*, poglavlje u knjizi: R. Sanghi, V. Singha (ur), *Green Chemistry for Environmental Remediation*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New York, SAD, 2011, 379–424.

19. J. Clark, D. Macquarrie, M. Gronnow, V. Budarin, u K. Boodhoo, A. Harvey (ur.), *Process Intensification for Green Chemistry: Engineering Solutions for Sustainable Chemical Processing*, Vol. 2, Wiley Interscience, West Sussex, 2013, str. 33–37.
20. <https://api.izzi.digital/preview/page/105333> (datum pristupa 30. kolovoza 2024.)
21. X. J. Zhang, S. F. Ye, Y. Zhang, H. Y. Meng, M. Q. Zhang, W. L. Gao, Q. D. You, *Synth. Commun.* **42** (2012) 2952–2958.
22. A. Loupy, A. Petit, J. Hamelin, F. Texier-Boullet, P. Jacquault, D. Mathé, *Synthesis* **1998** (1998) 1213–1234.
23. I. Zrinski, M. Eckert-Maksić, *Kem. Ind.* **54** (2005) 469–476.
24. M. Thangaraj, R. Moonsamy Gengan, B. Ranjan, R. Muthusamy, *J. Photochem. Photobiol., B.* **178** (2018) 287–295.
25. A. Lucić, B. Radić, M. Peraica, M. Mesić, I. Primožič, Z. Binenfeld, *Arch. Toxicol.* **71** (1997) 467–470.
26. L. Takacs, *Chem. Soc. Rev.* **42** (2013) 7649–7659.
27. M. Leonardi, M. Villacampa, J. C. Menéndez, *Chem. Sci.* **9** (2018) 2042–2064.
28. R. B. N. Baig, R. S. Varma, *Chem. Soc. Rev.* **41** (2012) 1559–1584.
29. T. Friščić, W. Jones, *Cryst. Growth Des.* **9** (2009) 1621–1637.
30. V. Štrukil, I. Sajko, *Chem. Commun.* **53** (2017) 9101–9104.
31. M. El-Remaily, A. Soliman, O. Elhady, *ACS Omega* **5** (2020) 6194–6198.
32. S. Giri, R. I. Rivera, B. Herrera, A. S. Nunez, F. Lund, A. Toro-Labbé, *J. Mol. Mod.* **20** (2014) 2353.
33. https://en.wikipedia.org/wiki/Menshutkin_reaction (datum pristupa 5. rujna 2024.)
34. H. T. Turan, S. Brickel, M. Meuwly, *J. Phys. Chem. B* **126** (2022) 1951–1961.
35. A. I. Vogel, *Practical organic chemistry*, Longman Scientific & Technical, New York, 1989, str. 395–413.
36. <https://www.enciklopedija.hr/clanak/masena-spektrometrija> (datum pristupa 12. rujna 2024.)
37. J. T. Watson, O. D. Sparkman, *Introduction to mass spectrometry*, Wiley Interscience, West Sussex, 2007, str. 1–52.
38. P. Novak, T. Jednačak, *Strukturna analiza spojeva spektroskopskim metodama*, TIVA Tiskara Varaždin, Varaždin, 2013, str. 5–49.
39. M. Milošević, *Appl. Spectrosc. Rev.* **39** (2004) 365–384.

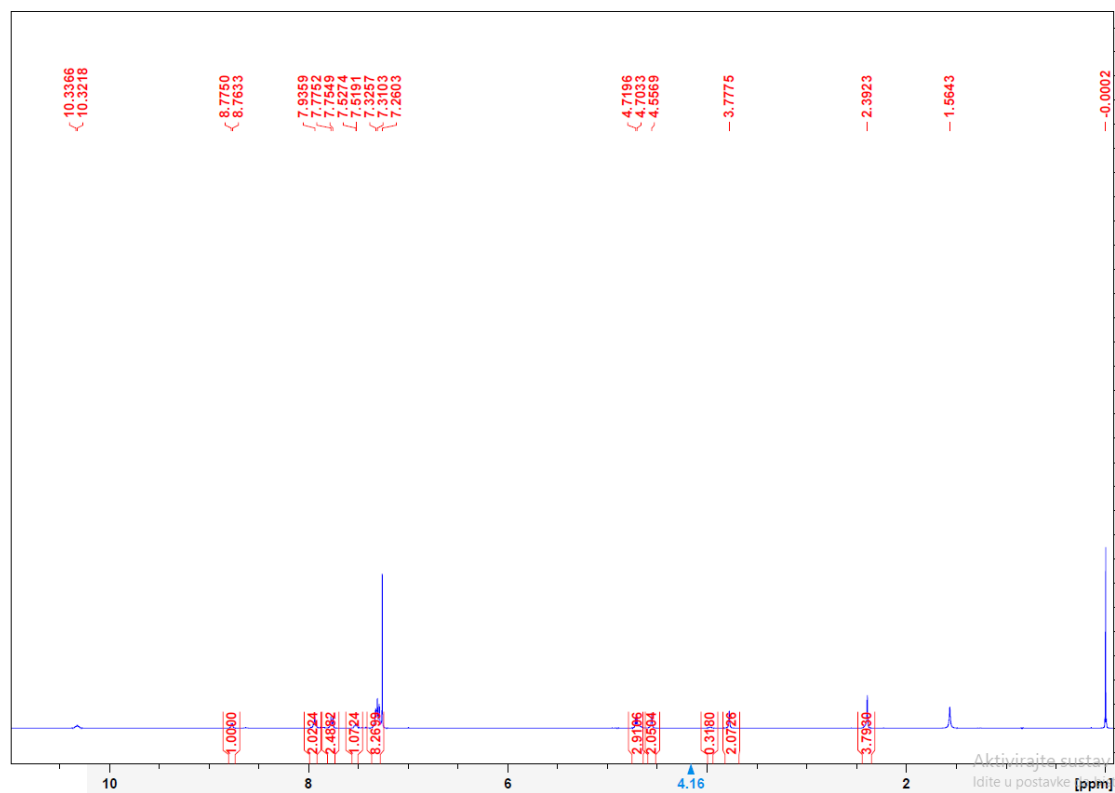
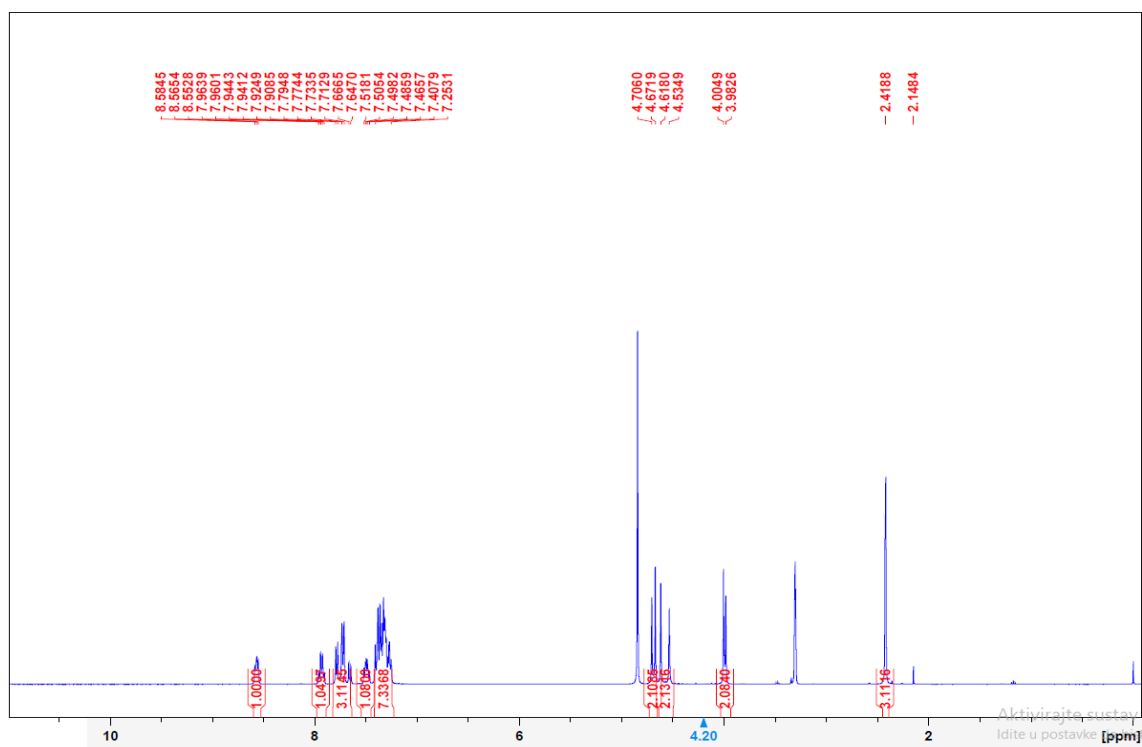
40. Q. Sui, D. Borchardt, D. L. Rabenstein, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 12042–12048.
41. H. Jangra, M. H. Haindl, F. Achraimer, J. Hioe, R. M. Gschwind, H. Zipse, *Chem. - Eur. J.* **22** (2016) 13328–13335.
42. S. Banerjee, S. K. Gupta, E. N. Prabhakaran, *ChemistrySelect* **8** (2023) 202301105
43. M. Pollastrini, F. Lipparini, L. Pasquinelli, F. Balzano, G. U. Barretta, G. Pescitelli, G. Angelici, *J. Org. Chem.* **86** (2021) 7946–7954.
44. M. C. de Koning, M. J. A. Joosen, F. Worek, F. Nachon, M. van Grol, S. D. Klaassen, D. P. W. Alkema, T. Wille, H. M. de Bruijn, *J. Med. Chem.* **60** (2017) 9376–9392.
45. G. L. Ellman, D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **7** (1961) 88–99.
46. J. Zeman, D. Vetchý, A. Franc, S. Pavloková, V. Pitschmann, L. Matějovský, *Eur. J. Pharm. Sci.* **109** (2017) 548–555.
47. M. Catto, L. Pisani, F. Leonetti, O. Nicolotti, P. Pesce, A. Stefanachi, S. Cellamare, A. Carotti, *Bioorg. Med. Chem.* **21** (2013) 146–152.

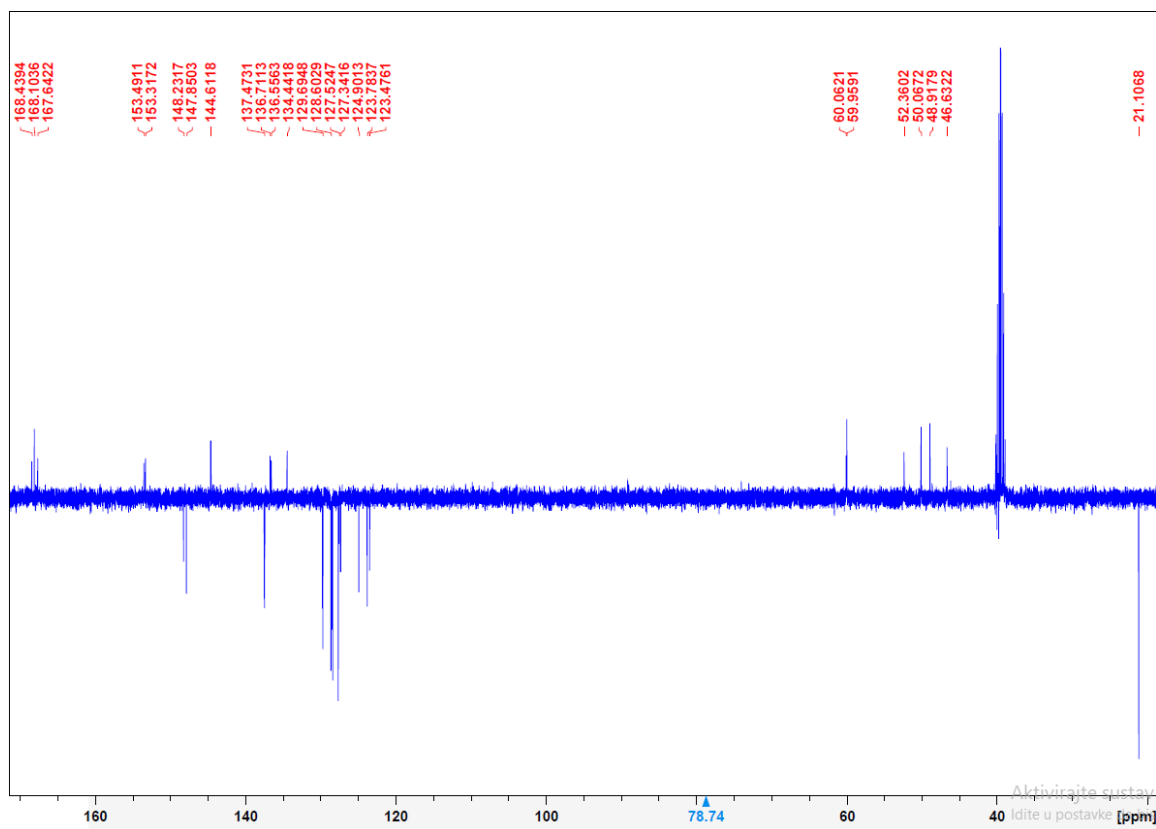
§ 8. DODATAK

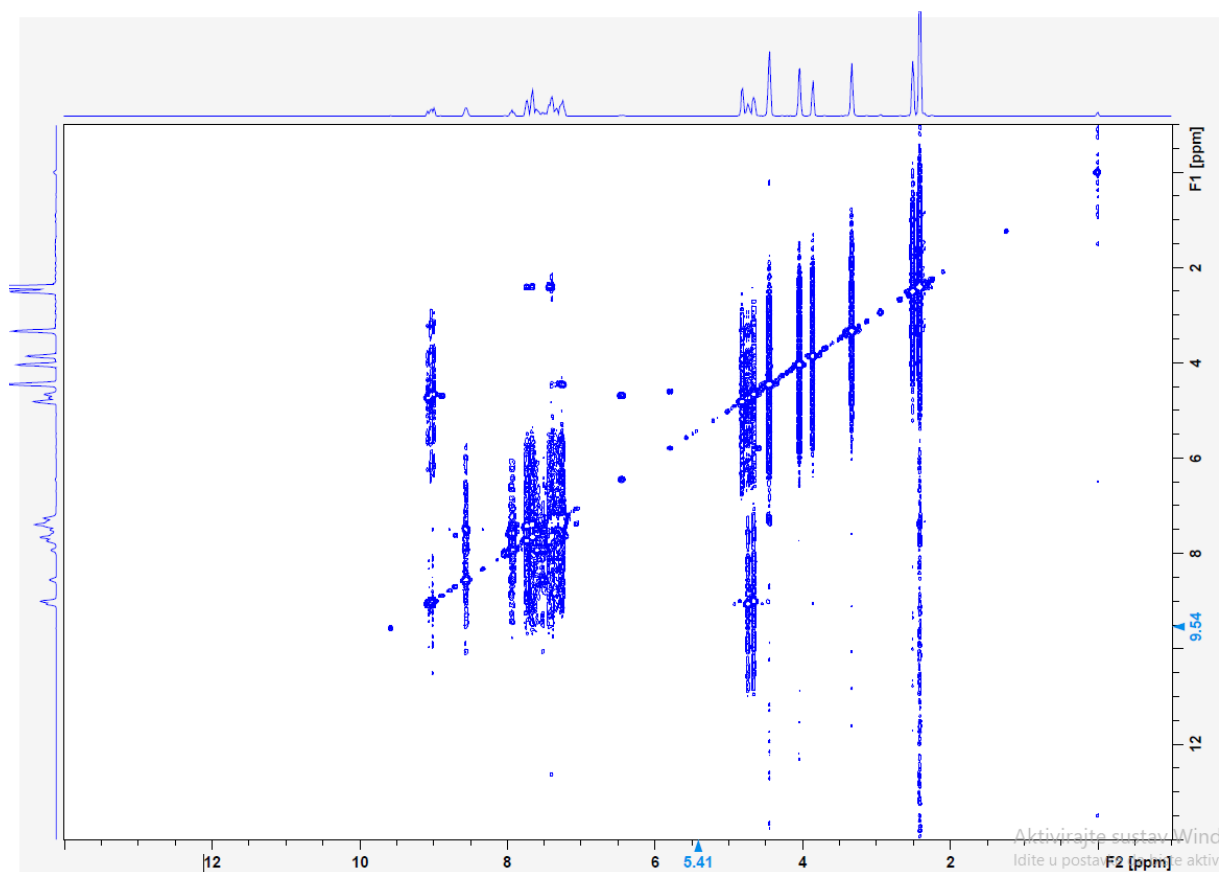
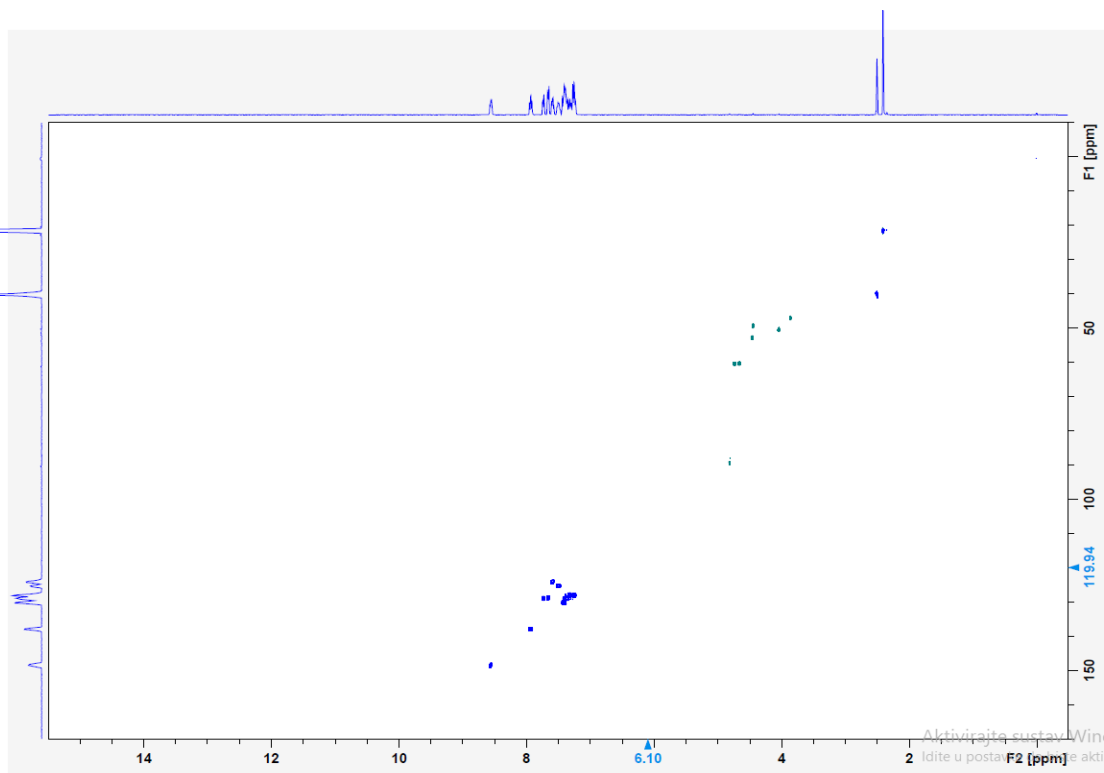
8.1.1. NMR spektri N-benzil-N-[2-(tosilmetilamino)-2-oksoetil]piridin-2-karboksamida (**1**)

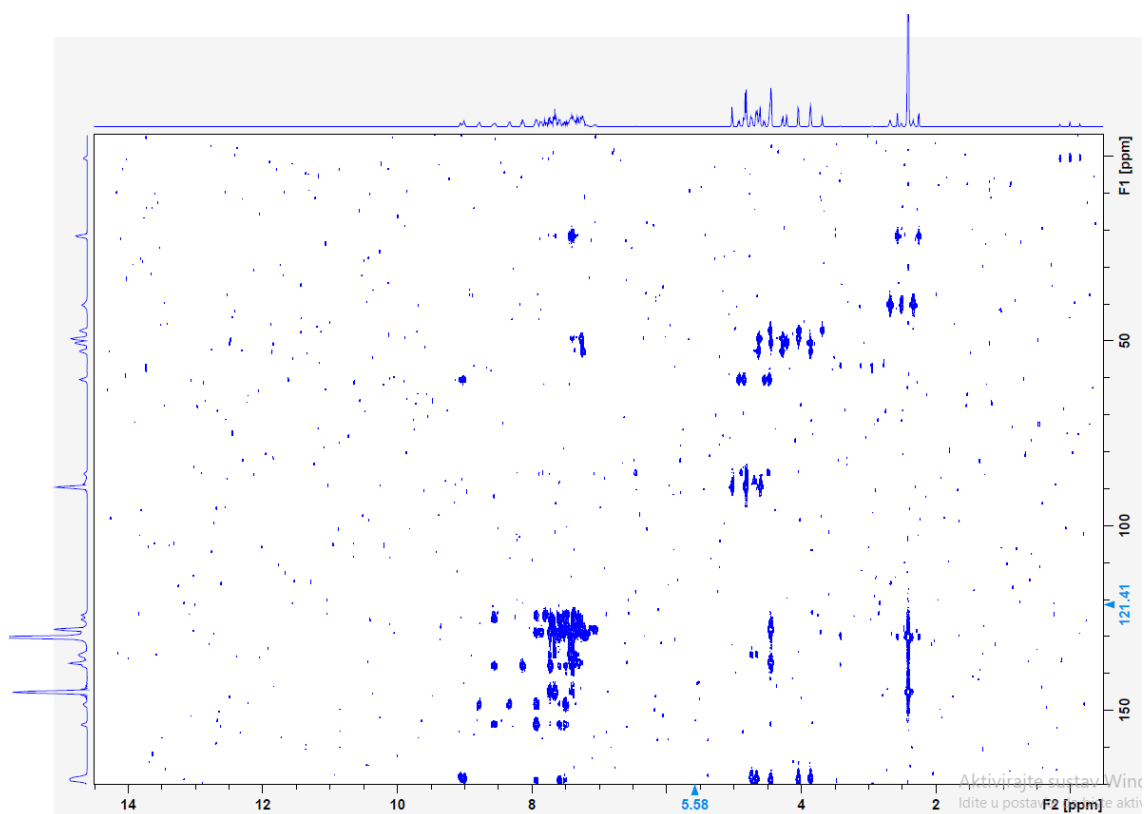
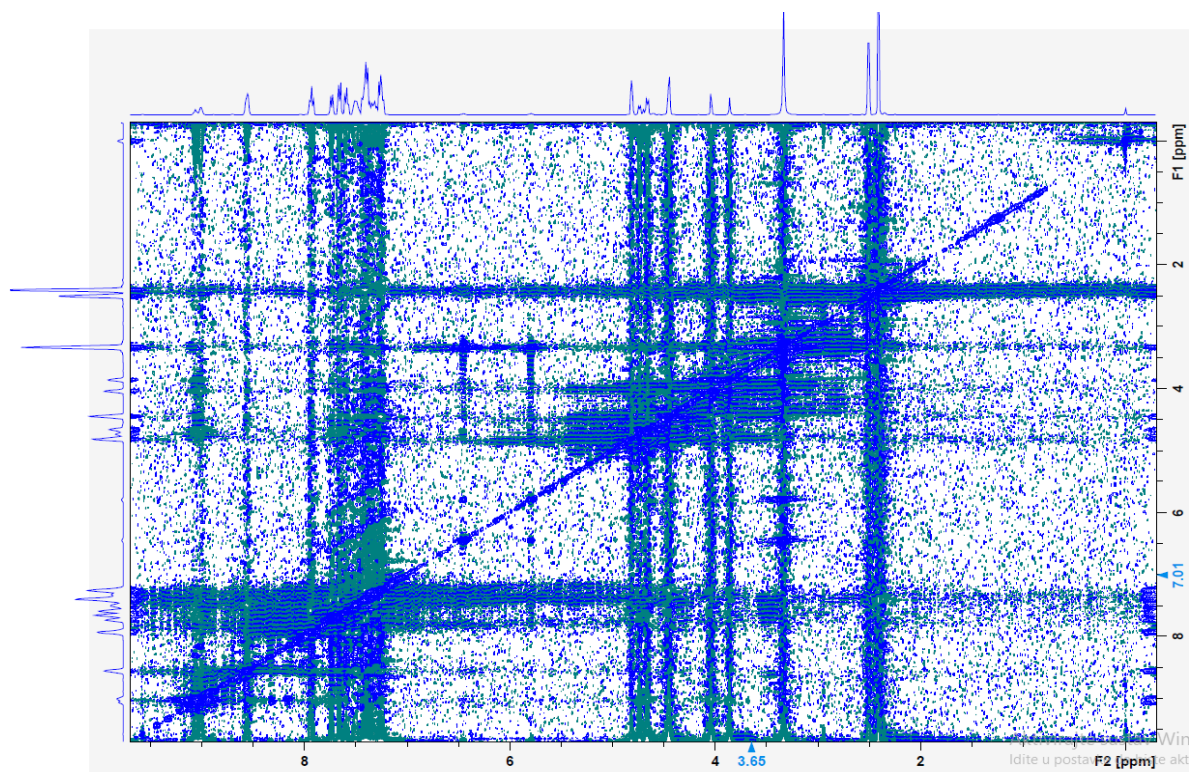


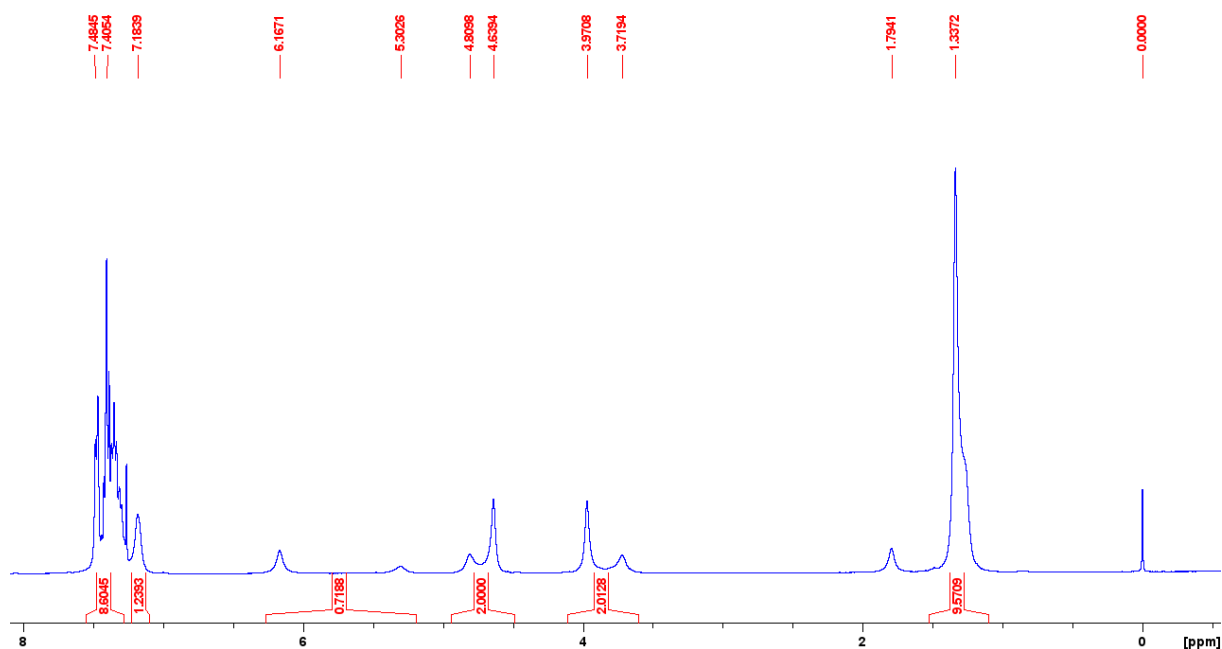
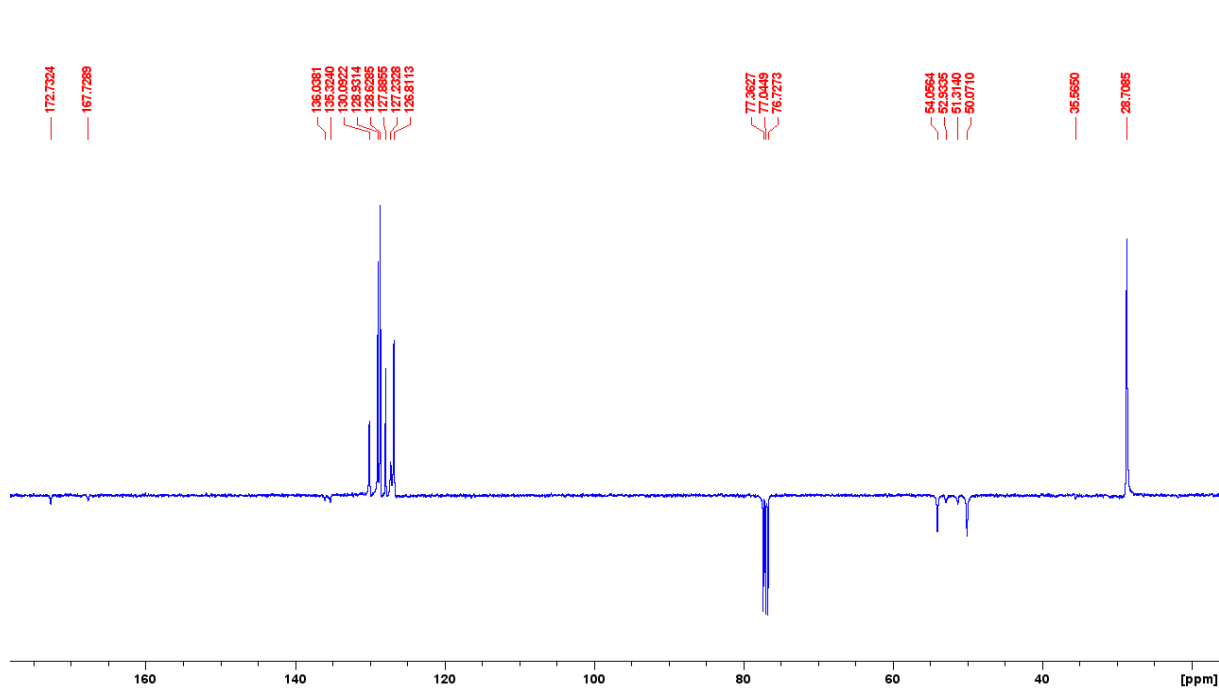
Slika D1. ^1H NMR spektar spoja **1** u DMSO.

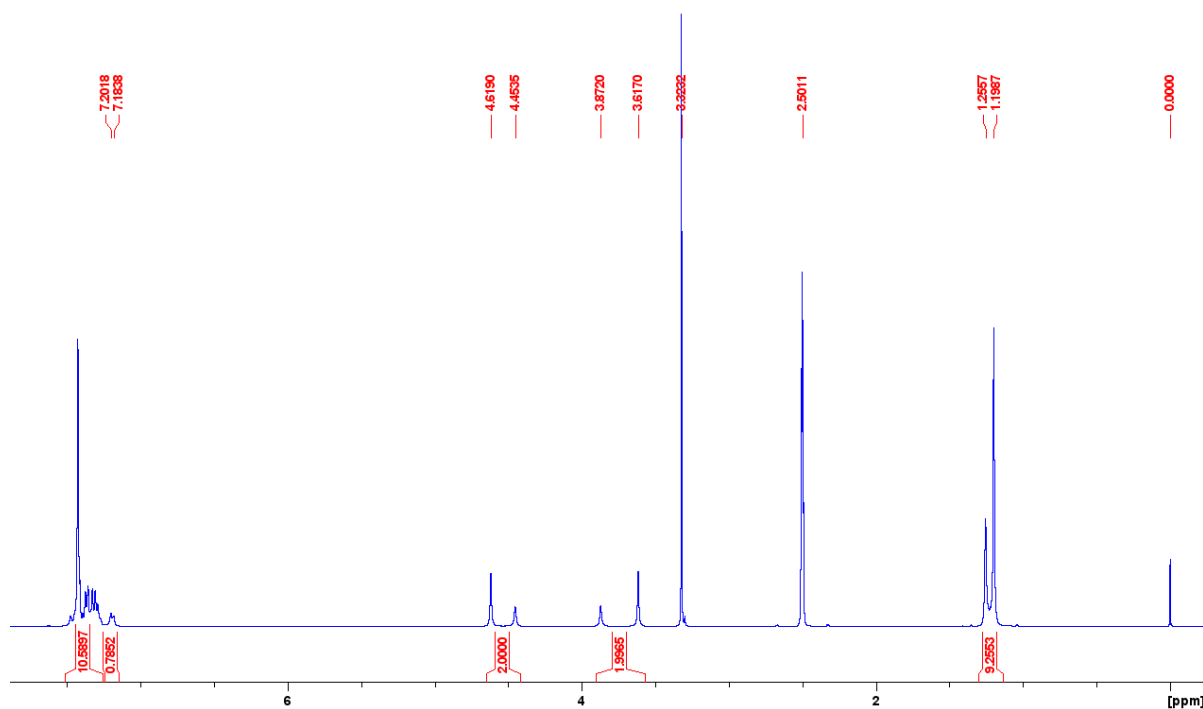
Slika D2. ^1H NMR spektar spoja **1** u CDCl_3 .Slika D3. ^1H NMR spektar spoja **1** u MeOD.

Slika D4. DEPT-Q NMR spektar spoja **1** u DMSO.

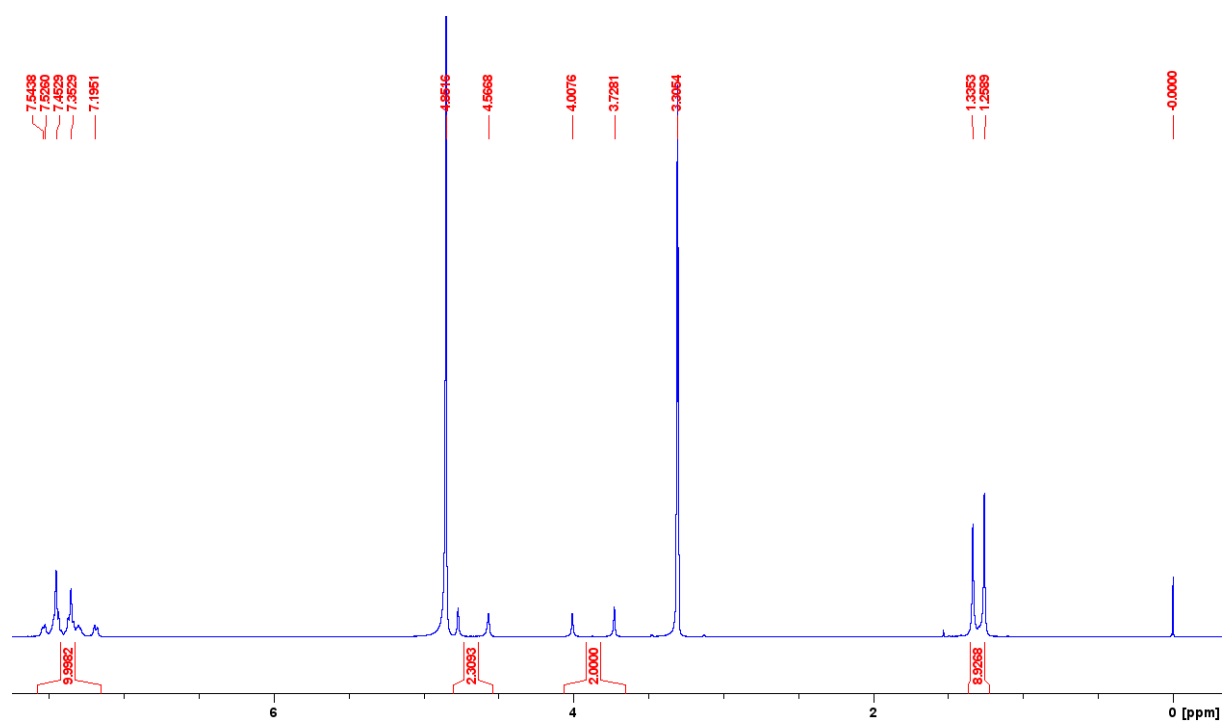
Slika D5. COSY NMR spektar spoja **1** u DMSO.Slika D6. HSQC NMR spektar spoja **1** u DMSO.

Slika D7. HMBC NMR spektar spoja **1** u DMSO.Slika D8. NOESY NMR spektar spoja **1** u DMSO.

8.1.2. NMR spektri *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**)Slika D9. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**).Slika D10. ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**).



Slika D11. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**).



Slika D12. ¹H NMR (400 MHz, MeOD) spektar *N*-benzil-*N*-[2-(*tert*-butilamino)-2-oksoetil]benzamida (**2**).

§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Matej Pavlinić

Datum rođenja: 21. lipnja 1995.

Mjesto rođenja: Zagreb

Obrazovanje

2002. – 2010. Osnovna škola Dragutin Domjanić, Zagreb

2010. – 2014. Srednja škola Gimnazija Lucijana Vranjanina, Zagreb

2014. – 2021. Prijediplomski studij sveučilišni prijediplomski studij Kemija, Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

2021. – Diplomski studij - sveučilišni diplomski studij Kemija, Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2019. Dan i noć na PMF-u, Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima - postersko priopćenje

1. T. Divjak, M. Pavlinić, I. Primožič, *Microwave-assisted synthesis of α -acylamino benzamide*, 8. simpozij studenata doktorskih studija PMF-a, Zagreb, 2024, Zbornik radova, str. 87.