

Adicija triazolnih reagenasa na trostruku vezu derivata propinske kiseline: sinteza i karakterizacija

Gojšić, Tomislav

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:217:783304>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Tomislav Gojšić

**Adicija triazolnih reagenasa na trostruku vezu
derivata propinske kiseline: sinteza i karakterizacija**

Diplomski rad

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

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je u laboratoriju za kemiju čvrstog stanja i kompleksnih spojeva pod mentorstvom dr. sc. Srećka Kirina i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Saše Opačka. Nastavnik imenovan od strane Kemijskog odsjeka je prof. dr. sc. Ines Primožič.

Zahvale

Zahvalio bih se mentoru Srećku Kirinu i neposrednom voditelju Saši Opačku za neizbrojive savjete i izvrsnu radnu atmosferu prilikom izrade ovog Diplomskog rada.

Za snimanje rendgenskih struktura bih se zahvalio Zoranu Štefaniću i Aleksandru Višnjevcu, te za njihovo riješavanje Berislavu Periću.

Saša Opačak zaslužuje dodatnu zahvalu za dobivanje kristalne strukture spoja **2** i **5**, dok Dominiku Grafu zahvaljujem na dobivanju kristalne strukture spoja **6**.

Zahvalio bih se i članovima NMR centra za snimanje svih NMR spektara u ovom radu, te Lidiji Brkljačić na snimanju masenih spektara.

Za ugodnu i zanimljivu radnu atmosferu također moram zahvaliti i preostalim članovima laboratorija za kemiju čvrstog stanja i kompleksnih spojeva, Mariji Bakiji, Nataliji Pantaloni Juraj i Ernestu Sandersu.

Za savjete i pregled ovog rada se zahvaljujem članovima komisije Ines Primožič, Ivi Juranović Cindrić i Vladimiru Stilinoviću.

Za savjete i znanja se zahvaljujem dvama učiteljima, Paladi i Grimu.

Naravno najveću zahvalu moram dati svojim prijateljima i obitelji.

Zahvaljujem svima koji smatraju da zahvalu trebaju dobiti i manju zahvalu dajem svima koji čitaju ovu zahvalu i predlažem im da nastave čitati ovaj rad, jer znanje kemije povećava vjerojatnost da dobiju još zahvala u budućnosti.

Sadržaj

SAŽETAK.....	IX
ABSTRACT	XI
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Sinteza amida	3
2.1.1. Amidni derivat karboksilne kiseline.....	3
2.1.2. Sinteza amida pomoću acil-halogenida	4
2.1.3. Aditivi u sintezi amida.....	8
2.1.4. Uronijeve i aminijeve soli	9
2.1.5. Reagensi bazirani na oksimima	12
2.2. Hidroaminacija alkina.....	14
2.2.1. Hidroaminacija.....	14
2.2.2. Kataliza metalnim kompleksima	15
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1. Materijali i metode.....	22
3.1.1. Opće napomene.....	22
3.2. Reakcije R1.....	22
3.2.1. Opći propis R1	22
3.2.2. Detaljni opis R1	23
3.2.3. Produkti reakcija R1	24
3.3. Reakcije R2.....	25
3.3.1. R2.1 reakcija	25
3.3.2. R2.2 reakcija	25
3.3.3. R2.3 reakcija	26
3.4. Kristalografski podaci	27
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. Uvod	29
4.2. Reakcije metil-propiolata, R1	30
4.2.1. Sintetski postupci R1	30
4.2.2. Strukture produkata R1	32
4.3. Reakcije propinske kiseline, R2	40
§ 5. ZAKLJUČAK	45

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	46
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	47
§ 8. DODATAK.....	XV
§ 9. ŽIVOTOPIS	XXX



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

Adicija triazolnih reagenasa na trostruku vezu derivata propinske kiseline: Sinteza i karakterizacija

Tomislav Gojšić

U ovom radu su istražene adicije triazolnih reagensa 1-hidroksibenzotriazol (HOBt), *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(1*H*-benzotriazol-1-il)uronijev heksafluorofosfat (TBTU) i *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-triazolo-[4,5-*b*]piridin-1-ilmetilen]-*N*-metilmetanaminijev heksafluorofosfat *N*-oksid (HATU) na trostruku vezu propinske kiseline i njenog metilnog estera, te sinteza peptidne veze propinske kiseline uz navedene triazolne reagense i uz netriazolni reagens (1-cijano-2-etoksi-2-oksoetilidenaminooksid)dimetilaminomorfolinokarbonijev heksafluorofosfat (COMU). Adicija je proučena na reakciji s metil-propiolatom, dobiven je produkt *O*- adicije i na propinskoj kiselini u tandemu s sintezom peptidne veze s (1*S*,2*S*)-*trans-N*-Boc-1,2-diaminocikloheksanom, te je dobiven i produkt *N*- adicije. U reakciji HOBt i metil-propiolata je sintetiziran i pseudo-dimer, nastao od jedne molekule HOBt i dvije molekule metil-propiolata. Utvrđeno je da je HOBt primarno odgovoran za adiciju. *O*- adicije su uočene u reakcijama s metil-propiolatom, dok je *N*- adicija uočena u reakciji s propinskom kiselinom. NMR spektri upućuju na nastanak jednog produkta *N*- adicije u reakcijama s metil-propiolatom. Korištenjem reagensa COMU-a sintetiziran je ciljani peptid s terminalnom trostrukom vezom.

(75 stranica, 52 slika, 3 tablica, 19 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: hidroaminacija, HOBt, propiolat, *klik* -kemija, sinteza peptidne veze

Mentor: dr. sc. Srećko Kirin, zn. sur.

Neposredni voditelj: dr. sc. Saša Opačak

Nastavnik (imenovan od strane Kemijskog odsjeka): prof. dr. sc. Ines Primožič

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Ines Primožič
 2. prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić
 3. izv. prof. dr. sc. Vladimir Stilinović
- Zamjena: izv. prof. dr. sc. Ivica Đilović

Datum diplomskog ispita: 1. lipnja 2021.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

Addition of triazole reagents to triple bonds of propiolic acid derivatives: Synthesis and characterisation

Tomislav Gojšić

The subject of this thesis is the addition of triazolic reagents 1-hydroxybenzotriazole (HOBt), *N,N,N',N'*-tetramethyl-*O*-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate (TBTU) and *N*-[(dimethylamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-*b*]pyridin-1-ylmethylene]-*N*-methylmethanaminium hexafluorophosphate *N*-oxide (HATU) to the triple bond of propiolic acid and its methyl ester, and peptide coupling of propiolic acid with either mentioned triazolic reagents or non-triazolic reagent (1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (COMU). The addition has been observed in the reaction with methyl-propiolate, where *O*- addition products have been isolated, and in the reaction with propiolic acid in tandem with peptide coupling with (1*S*,2*S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocyclohexane, where *N*- addition product has been isolated. In the reaction of HOBt and methyl-propiolate a pseudo dimer has been isolated, consisting of one molecule of HOBt and two molecules of methyl-propiolate. HOBt has been observed to be susceptible for the addition. *O*- additions were observed in reactions with methyl-propiolate, while *N*- addition was observed in reaction with propiolic acid. NMR spectra indicated that one product in the reactions with methyl-propiolate is a product of *N*- addition. By using reagent COMU the target peptide has been synthesized.

(75 pages, 52 figures, 3 tables, 19 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: click chemistry, coupling reagents, hydroamination, HOBt, propiolate

Mentor: dr. sc. Srećko Kirin, Research Associate

Assistant mentor: dr. sc. Saša Opačak

Supervisor (appointed by the Department of Chemistry): Dr. Ines Primožič, Full Prof.

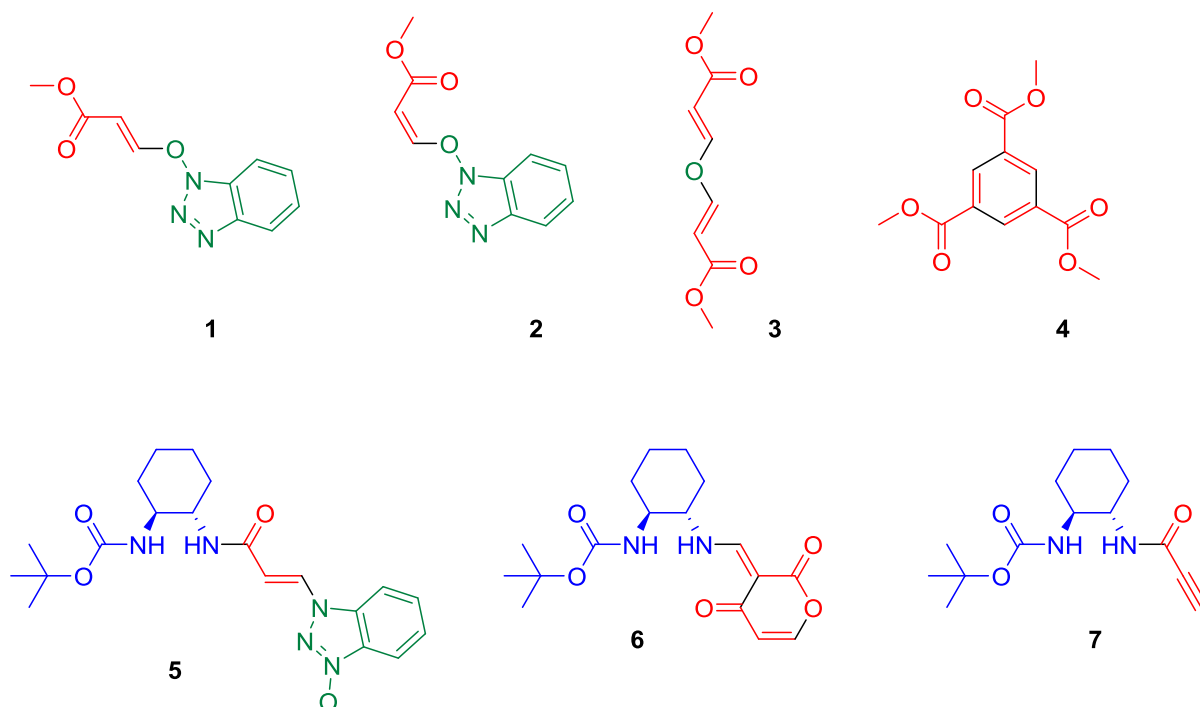
Reviewers:

1. Dr. Ines Primožič, Full Prof.
 2. Dr. Iva Juranović Cindrić, Full Prof.
 3. Dr. Vladimir Stilinović, Assoc. Prof.
- Substitute: Dr. Ivica Đilović, Assoc. Prof.

Date of exam: June 1th, 2021.

§ 1. UVOD

Sinteza peptida je područje od velikog interesa za organsku kemiju, te ima široku primjenu kako u znanstveno-istraživačkim laboratorijima tako i u gospodarstvu. Triazolni reagensi za sintezu peptida, prije svega par 1-hidroksibenzotriazol (HOBt)/ *N,N,N,N*-tetrametil-*O*-(1*H*-benzotriazol-1-il)uronijev heksafluorofosfat (TBTU), stekli su golemu popularnost zbog blagih uvjeta u kojima se reakcija odvija, relativno niske cijene i činjenice da kiselinu nije potrebno izolirati prije dodavanja amina u reakciju (*one pot* reakcije). Propinska kiselina je najjednostavnija karboksilna kiselina koja sadrži trostruku ugljik-ugljik vezu. Sinteza amidnih derivata propinske kiseline je pogodna za dobivanje pseudo-peptida, koji sadrže trostruku vezu ($-C\equiv CH$), te se potom mogu koristiti u reakcijama u *click* kemiji. U literaturi je već opisana reakcija adicije triazola na dvostruku ugljik-ugljik vezu alkena, no nije opisan slučaj u kojem se adicija i stvaranje amidne veze (peptidni *coupling*) događaju u tandemu, kao ni adicija triazolnog reagensa, kao HOBt ili TBTU, na trostruku ugljik- ugljik vezu u alkinima, koji su opisani u ovom radu. Spojevi **1** - **7** pripremljeni i karakterizirani u ovom radu prikazani su na **slici 1**.



Slika 1: Spojevi **1** - **7** pripremljeni i okarakterizirani u ovom radu

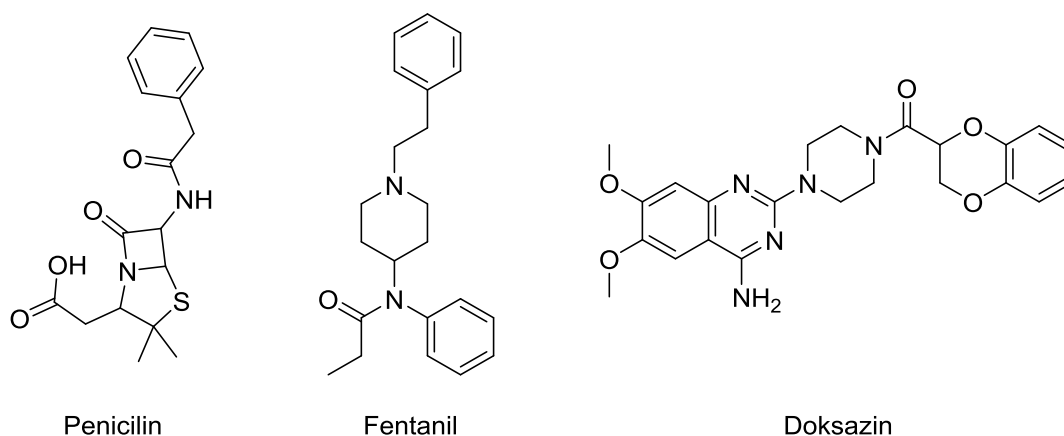
Cilj ovog rada je prvo istražiti adiciju benzotriazolnih reagenasa na trostruku ugljik-ugljik vezu metil-propiolata, te karakterizirati produkte te reakcije. U drugom dijelu rada provedena je i opisana tandemna reakcija adicije triazola na trostruku vezu propinske kiseline i formiranja amida. Naposljetku, korištenjem (1-cijano-2-etoksi-2-oksoetilidenaminooksi)-dimetilamino-morfolino-karbonijeva heksafluorofosfata (COMU) kao reagensa je priređen propinskom kiselinom modificirani amid, koji ne sadrži triazolne skupine (spoj **7**, **slika 1**). Primarna metoda za identifikaciju strukture dobivenih produkata je difrakcija rendgenskog zračenja na monokristalu, za karakterizaciju je također obilno korištena ^1H i ^{13}C NMR spektroskopija.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. *Sinteza amida*

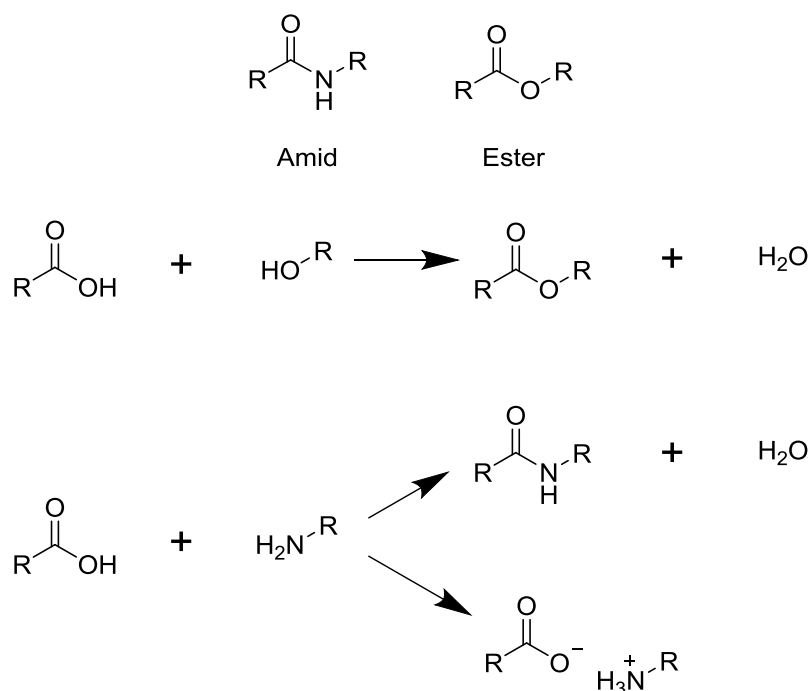
2.1.1. *Amidni derivat karboksilne kiseline*

Amidna veza, koja se često zove i peptidna veza, je sveprisutna u prirodi. U živim organizmima su najpoznatiji primjer proteini koji su osnovni građevni elementi svih živih bića. Enzimi, koji kataliziraju gotovo sve reakcije važne za život stanice, su većinom proteini. Metaloprotein hemoglobin je ključan u transportu kisika kroz većinu životinjskih organizama, dok protein keratin izgrađuje kosu, nokte, krzno i rogove.¹ U farmaceutskoj industriji mnogi lijekovi, primjerice penicilin, fentanil, i doksazin sadrže amidnu vezu (**slika 2**).^{2, 3, 4} Pojavljuje se i u razvoju umjetnih materijala, primjerice kevlara.



Slika 2: Primjeri lijekova koji sadrže amidnu vezu

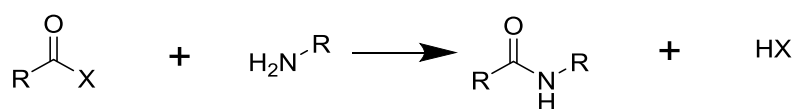
Reakcija sinteze amida, je zbog široke primjene područje od velikog interesa za organsku sintezu. Amidi su, kao i esteri, derivati karboksilnih kiselina (**slika 3**), te dijele slične reakcije sinteze. Oba derivata je moguće dobiti pomoću kondenzacijske reakcije (reakcija u kojoj nastaje voda) karboksilne kiseline, i alkohola za estere, ili amina za amide (**slika 3**). Metode opisane u ovom poglavlju se mogu upotrijebiti za sintezu i estera i amida. Iako amidna veza općenito nije sklona hidrolizi, prilikom kondenzacijske reakcije nastajanja amida ravnoteža je na strani karboksilne kiseline i amina, a samoj reakciji kompetira i nastajanje soli amina i karboksilne kiseline (**slika 3**), zbog čega ta metoda općenito nije funkcionalna za sintezu amida.⁵ Kako bi se izbjegao taj problem, karboksilne kiseline se tipično prije reakcije s aminom prevode u reaktivniji oblik, tj. aktiviraju.



Slika 3: Opća struktura amida i estera (gore) i usporedba kondenzacijskih reakcija nastajanja amida i estera (dolje)

2.1.2. Sinteza amida pomoću acil-halogenida

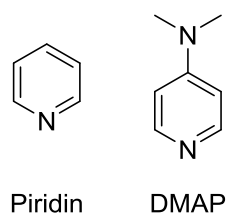
Jedna od najstarijih metoda aktivacije karboksilnih kiselina za stvaranje amidne veze je prevođenje u acil-halogenide. Metoda uključuje korištenje relativno jeftinih reagensa i daje uglavnom visoka iskorištenja, no često uključuje racemizaciju na α ugljikovom atomu karboksilne kiseline. Ta metoda aktivacije je stoga korisna za slučajeve kad su u aminu prisutne veće steričke smetnje, te kad potencijalni gubitak kiralnosti nije važan faktor u sintezi.⁶ Opća shema reakcije sinteze amida iz acil-halogenida je prikazana na **slici 3**.



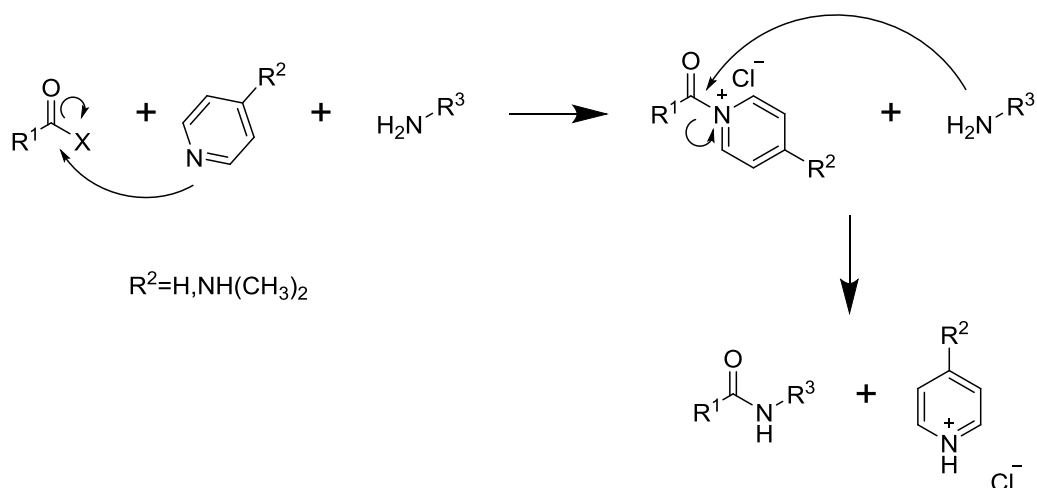
Slika 4: Sinteza amida iz acil-halogenida

Halogenovodik koji nastaje u reakciji se tipično neutralizira bazom. Ukoliko je acil-halogenid dovoljno stabilan, reakcija se može provesti u vodi uz anorgansku bazu, kao NaOH, ili u Schotten-Baumannovim uvjetima. Schotten-Baumannove reakcije se provode u dvofaznim sustavima; organskom otapalu, primjerice diklormetanu, i bazičnoj vodenoj otopini. Stvaranje amidne veze se

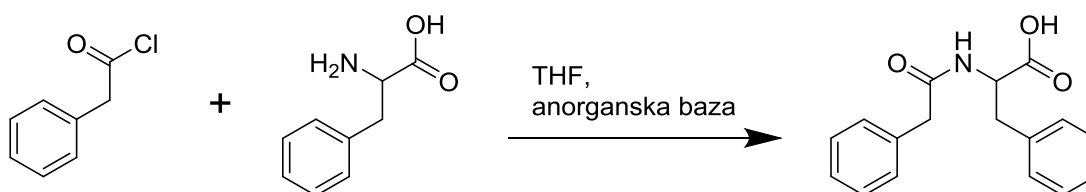
dogada u organskoj fazi, te nastali klorovodik prelazi u vodenu fazu, gdje je neutraliziran bazom.⁷ Kako su acil-halogenidi podložniji hidrolizi u kiselim uvjetima, baza u tim reakcijama ima dodatnu ulogu stabilizacije acil-halogenida. Neki acil-halogenidi su previše podložni hidrolizi za vodene uvjete pa se mogu koristiti organske baze kao piridin u suhim organskim otapalima. Neke baze, primjerice piridin i 4-(dimetilamino)piridin (DMAP) (**slika 5**) mogu također i katalitički utjecati na reakciju stvaranjem aktivnog međuproducta, što će detaljnije biti objašnjeno u idućem poglavlju, no na **slici 6** je prikazan mehanizam katalize. Nukleofilnom supstitucijom na acil-halogenidu u prvom koraku mehanizma nastaje spomenuti aktivni međuproduct, koji je reaktivniji, te u idućem koraku drugom nukleofilnom supstitucijom nastaje amid.⁵ Na **slikama 7 i 8** su prikazani primjeri tih reakcija. Korištenje anorganskih baza u sintezi amida su ispitali Zhang i suradnici na reakciji na **slici 7**.⁸ Na **slici 8** je prikazana reakcija koju su proveli Gani i suradnici, kako bi ispitali sintezu amida iz sterički ometenih amina uz korištenje tionil-klorida kao klorirajućeg reagensa.^{6,9}



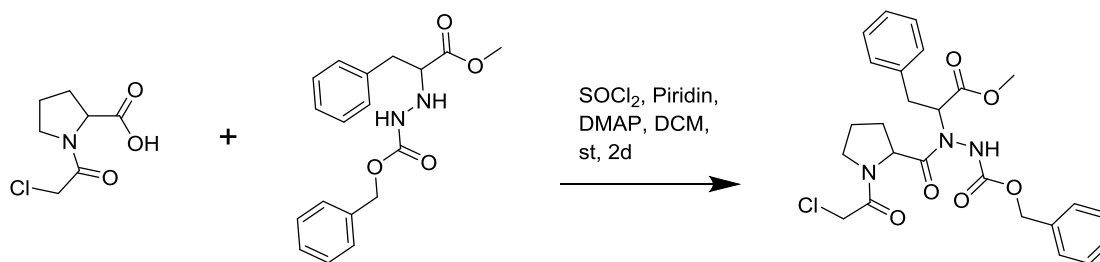
Slika 5: Strukture piridina i DMAP-a



Slika 6: Mehanizam katalize uz piridin ili DMAP kao bazu

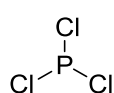


Slika 7: Reakcija fenilalanina i 2-fenilacetil klorida

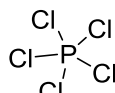


Slika 8: Sinteza amida uz aktivaciju kiseline prevođenjem u acil-klorid i piridin/DMAP

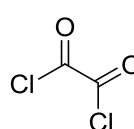
Neki acil-halogenidi su dovoljno stabilni da mogu biti komercijalno dostupni, što omogućuje preskočiti korak aktivacije kiseline prilikom sinteze. Reagensi za prevođenje karboksilnih kiselina u acil-halogenide su dobro poznati i često se koriste u analognim reakcijama sinteze estera, s tionil-kloridom, fosforovim(III) i fosforovim(V) kloridom kao značajnijim primjerima. Među reagensima koji nisu često u upotrebi je i oksalil-klorid, koji se izbjegava jer prilikom reakcije nastaje ugljični monoksid. Postoji i cijeli niz manje poznatih reagensa, kao cijanuril-klorid, CDMT, BTC i slični koji imaju specijaliziranu primjenu (slika 9).^{5,6}



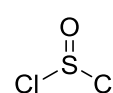
fosforov (III) klorid



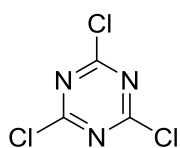
fosforov (V) klorid



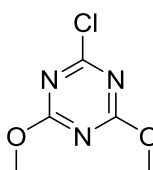
oksalil-klorid



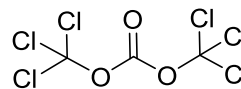
tionil-klorid



cijanurni-klorid



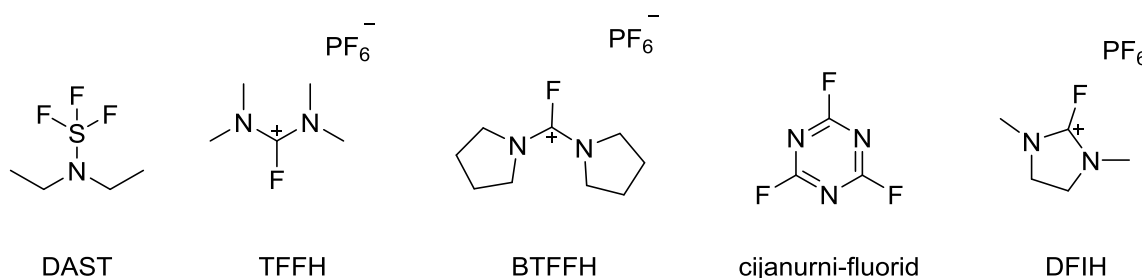
CDMT



BTC

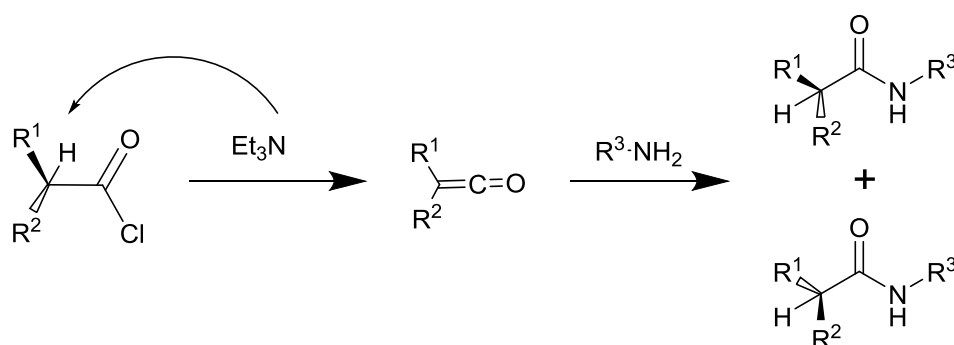
Slika 9: Klorirajući reagensi

Acil-fluoridi se ponekad koriste umjesto acil-klorida kao aktivirane karboksilne kiseline, jer pokazuju manju sklonost sporednim reakcijama, smanjenu osjetljivost na vlagu i bazično okruženje te su manje skloni racemizaciji i reaktivniji prema aminima. Cijanurni fluorid je postao svojevrsni standard za prevođenje karboksilnih kiselina u acil-fluoride, no postoje i drugi reagensi, kao TFFH, DAST, DFIH i slični (slika 10).¹⁰



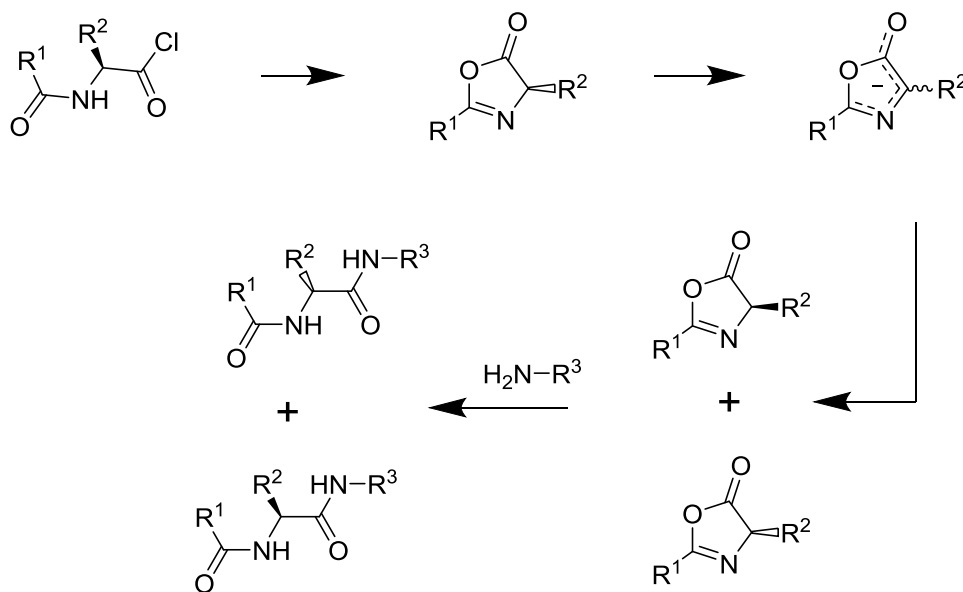
Slika 10: Fluorirajući reagensi

Nedostatak korištenja acil-halogenida je mogućnost racemizacije na α ugljikovom atomu karboksilne kiseline. Jedan od načina za racemizaciju je deprotonacija acil-halogenida bazom, čime nastaje keten (slika 11). Ta reakcija se često događa kada se koriste tercijski amini, poput Et_3N ili etildiizopropilamina (DIPEA) kao baze. Iako iz ketena adicijom amina nastaje amid, dolazi do racemizacije jer se kiralna informacija gubi prilikom prelaska tetraedarskog α ugljikovog atoma acil-klorida u trigonalno koordiniran α ugljikov atom ketena. Do stvaranja ketena dolazi jer su α vodikovi atomi u acil-kloridima kiseliji nego u srodnim spojevima zbog snažnog elektron odvlačećeg karaktera kloroformilne (COCl) skupine, zbog čega se ti vodikovi mogu ukloniti relativno snažnim organskim bazama koje se koriste u ovoj vrsti reakcija.



Slika 11: Racemizacija stvaranjem ketena

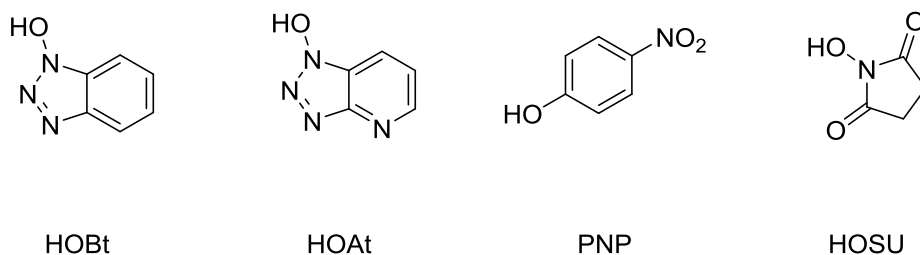
Racemizacija ovog tipa se može izbjeći korištenjem slabijih anorganskih baza, kao KOAc , Na_2HPO_4 ili K_2CO_3 .⁸ Drugi način racemizacije do kojeg može doći je reakcija stvaranja oksazolona (slika 12). Stvaranje oksazolona je dobro poznati problem u sintezi peptida, te se može izbjeći uvođenjem zaštitne skupine na C kraj i sintezom s N kraja peptida.⁵



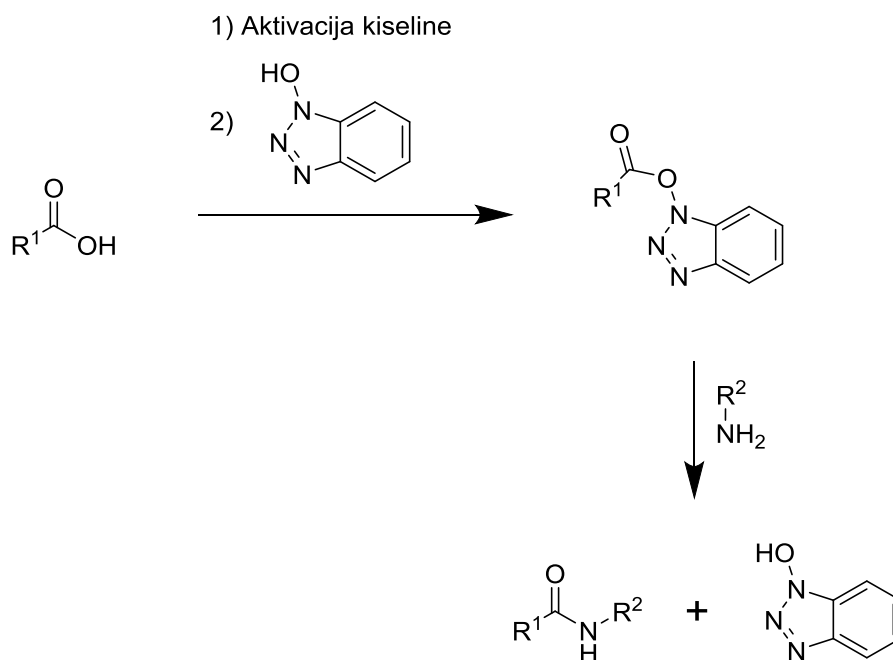
Slika 12: Racemizacija stvaranjem oksazolona

2.1.3. Aditivi u sintezi amida

Kako racemizacija na α ugljikovom atomu može predstavljati veliki problem u sintezi amida, a metode za sprječavanje racemizacije opisane u prijašnjem poglavlju ponekad nisu upotrebljive u sintezi, razvijeni su aditivi za sprječavanje racemizacije. Najpoznatiji aditivi su triazoli HOBt i 1-hidroksi-7-azabenzotriazol (HOAt) (slika 13).⁵ Mehanizam stvaranja amidne veze uz HOBt kao aditiv je prikazan na slici 14, te se mogu uočiti sličnosti tog mehanizma sa mehanizmom katalize piridinom (Slika 6). HOBt sa aktiviranom kiselinom stvara aktivni ester, koji u idućem koraku reagira sa aminom, dajući amid.¹⁰



Slika 13: Primjeri često korištenih alkohola u aktivnim esterima

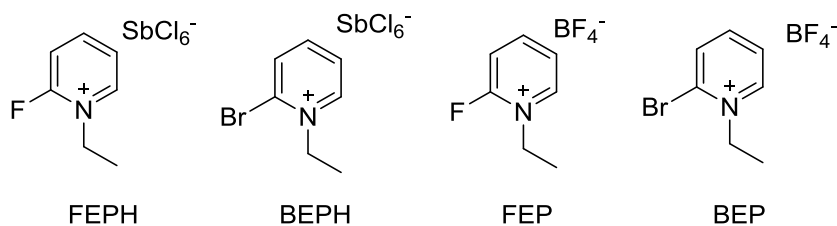


Slika 14: Djelovanje HOBt-a kao aditiva u stvaranju amidne veze

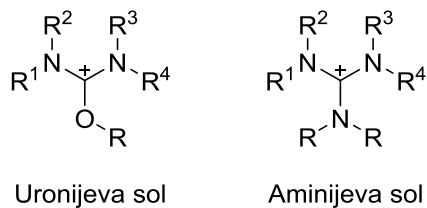
Aktivni esteri su najčešće esteri aromatskih alkohola (slika 14), koji su podložniji hidrolizi od alifatskih estera poput metilnog, etilnog ili benzilnog, što ubrzava formiranje amidne veze čime se umanjuje racemizacija i povećava iskorištenje reakcije. Nedostatak je uvođenje novog spoja u reakciju, koji može stvarati neželjene produkte ili probleme u izolaciji.^{5,6}

2.1.4. Uronijeve i aminijeve soli

Sinteza peptida uz formiranje aktivnih estera povisuje iskorištenja i smanjuje racemizaciju u reakcijama sinteze amida zbog čega su logičan izbor za sintezu amida. Ipak, podložnost hidrolizi znatno otežava sintezu aktivnih estera direktno iz alkohola i karboksilnih kiselina, a visoka reaktivnost ih čini slabo komercijalno dostupnima. Iako je aktivne estere moguće dobiti reakcijom s nekim reagensima baziranim na organohalogenim derivatima, primjerice piridina (slika 15), češće se koriste alternative.^{5,6,10} Uronijeve i aminijeve soli (slika 16) predstavljaju jedan od zaobilaznih načina za dobivanje aktivnih estera u *one pot* reakcijama.

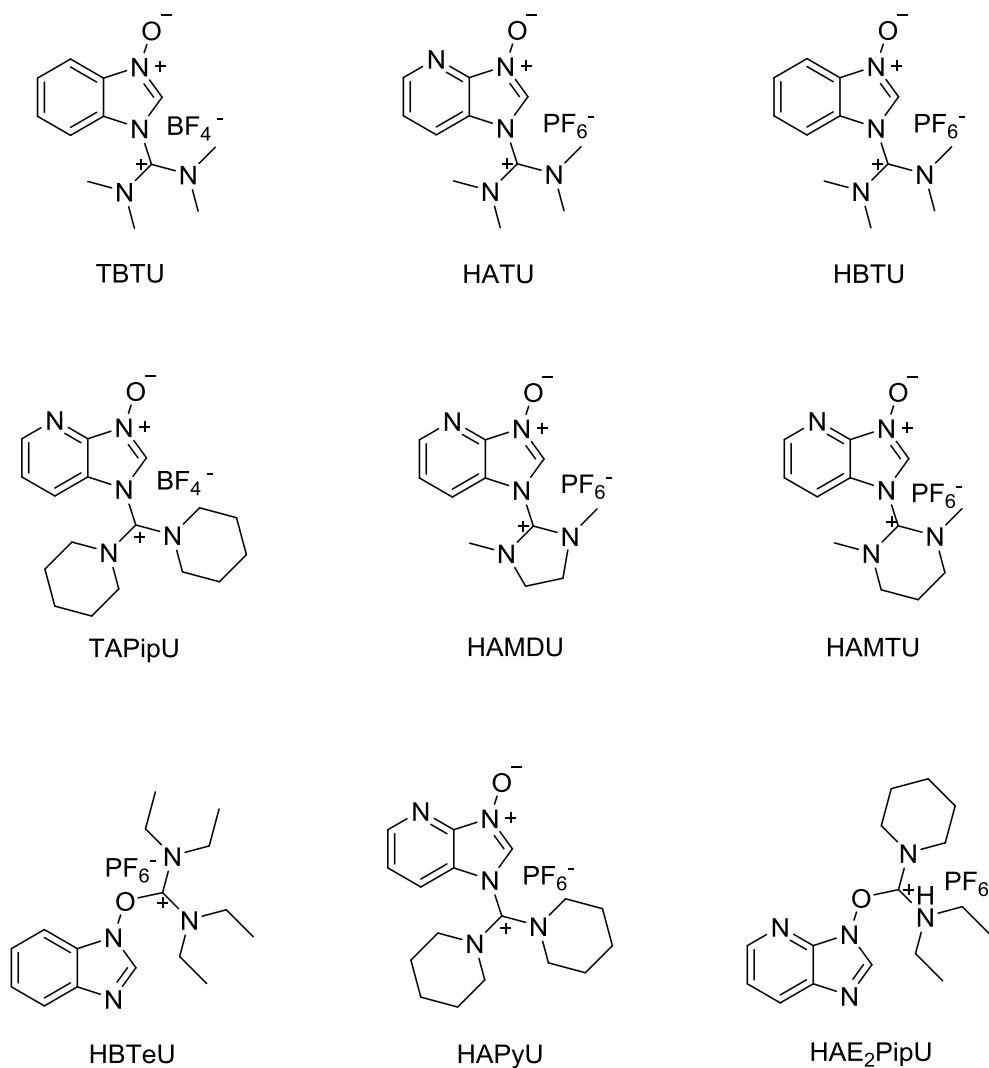


Slika 15: Organohalogeni derivati piridina



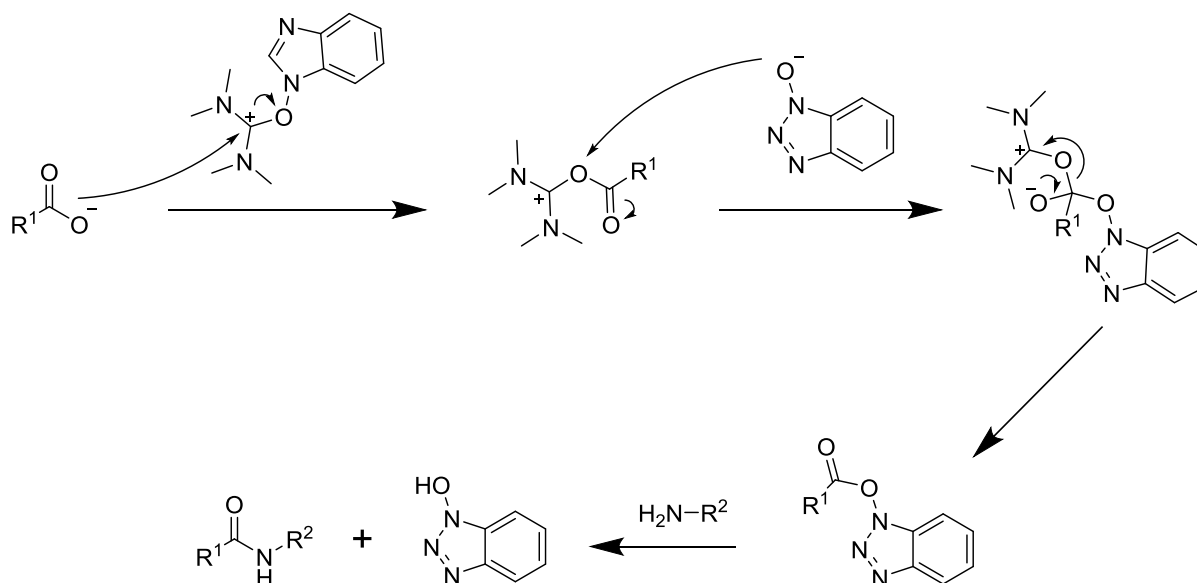
Slika 16: Strukture uronijeve i aminijeve soli

U slučaju soli baziranih na HOBt-u i HOAt-u obje strukture su teoretski moguće, te za mnoge od tih soli nije sa sigurnošću utvrđeno o kojem se izomeru radi, pa se često skupno zovu uronijeve soli. Primjeri uronijevi/aminijevih soli baziranih na HOBt-u i HOAt-u koji se koriste u sintezi amida se nalaze na **slici 17**.¹⁰



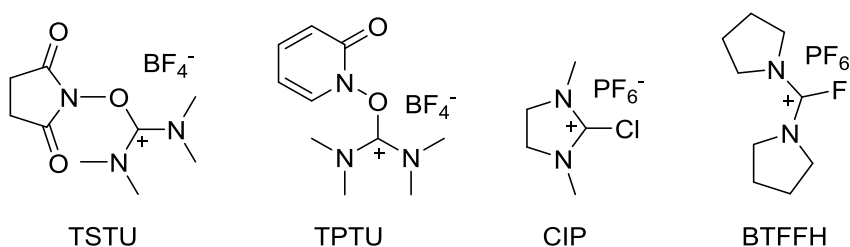
Slika 17: Primjeri uronijevi/aminijeve soli baziranih na HOBt-u i HOAt-u

Mehanizam stvaranja amidne veze s TBTU-om je prikazan na **slici 18**. Protuion uronijeve soli uglavnom nema značajan utjecaj na reakciju. Iako većina uronijeve soli može samostalno aktivirati karboksilnu kiselinu i provesti stvaranje amidne veze, neki, primjerice TBTU i HAMDU stvaraju nestabilne međuprodukte, no korištenjem aditiva kao HOBt-a je često moguće poboljšati svojstva tih soli kao reagenasa za sintezu amida, te je HOBt/TBTU par postao svojevrsni standard za sintezu amida.¹⁰



Slika 18: Mehanizam stvaranja amidne veze sa TBTU-om

Uronijeve soli bazirane na HOBt-u i HOAt-u su najpopularniji reagensi za sintezu amida, no poznati su i reagensi bazirani na drugim alkoholima, kao TSTU i TPTU, te na halogenidnim aminijevim solima, kao CIP i BTFFH (slika 19).¹⁰

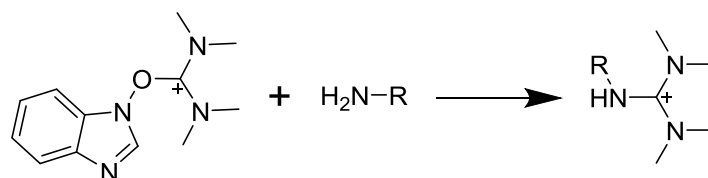


Slika 19: Uronijevi reagensi koji nisu bazirani na triazolima

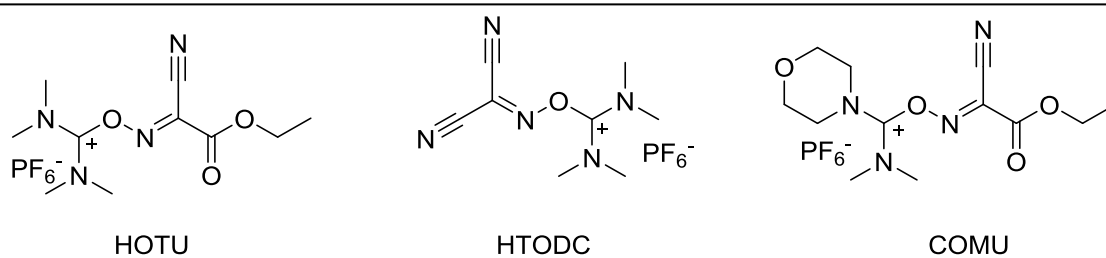
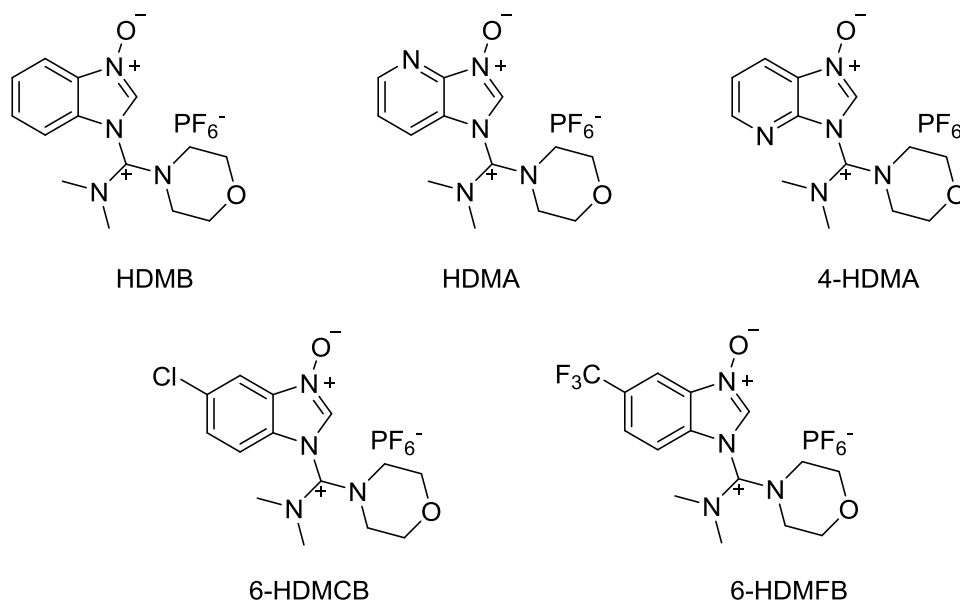
2.1.5. Reagensi bazirani na oksimima

Prethodno spomenuta nestabilnost aktiviranog estera je glavni nedostatak sinteze amida pomoću uronijevih/aminijevih soli baziranih na triazolima. Iako u jednostavnijim reakcijama taj nedostatak ne dolazi do izražaja, ukoliko je aktivacija kiseline sporija može doći do nastajanja gvanidina. (slika 20).⁵ Topljivost reagensa je također faktor koji utječe na uspješnost reakcija. Utvrđeno je da je s uronijevim solima topljivost u organskim otapalima veća ukoliko je u uronijskom ogranku prisutan tetrahidropiranski dio, pa primjerice bolje performanse od reagenasa prikazanih na slici 17 pokazuju reagensi na slici 21. Daljnji razvoj je postignut razvojem soli baziranih na oksimima (slika 21), posebno etil-2-cijano-2-hidroksi-iminoacetatu. Na Slici 22 možemo usporediti strukture 4 reagensa. Od njih, TBTU je najosnovniji. HDMB je unaprijeđen uvođenjem tetrahidropirana u uronijski dio

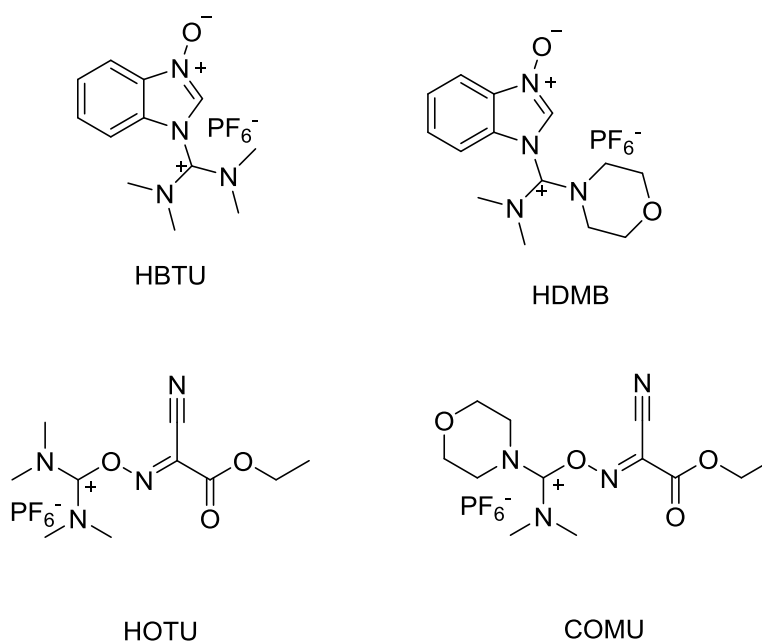
molekule, dok je HOTU unaprijeđen uvođenjem etil-2-cijano-2-hidroksi-iminoacetata kao izlazne grupe umjesto HOBt-a. COMU sadrži oba unaprijeđenja, zbog čega pokazuje najbolje performanse kao reagens za sintezu amida, te se smatra najboljim reagensom od ta četiri. Kako je aktivacija brža sa solima baziranim na oksimima udio racemizacije je također manji.¹¹



Slika 20: Nastajanje gvanidina



Slika 21: Uronijeve soli s tetrahidropiranom (gore) i uronijeve soli bazirane na oksimu (dolje)



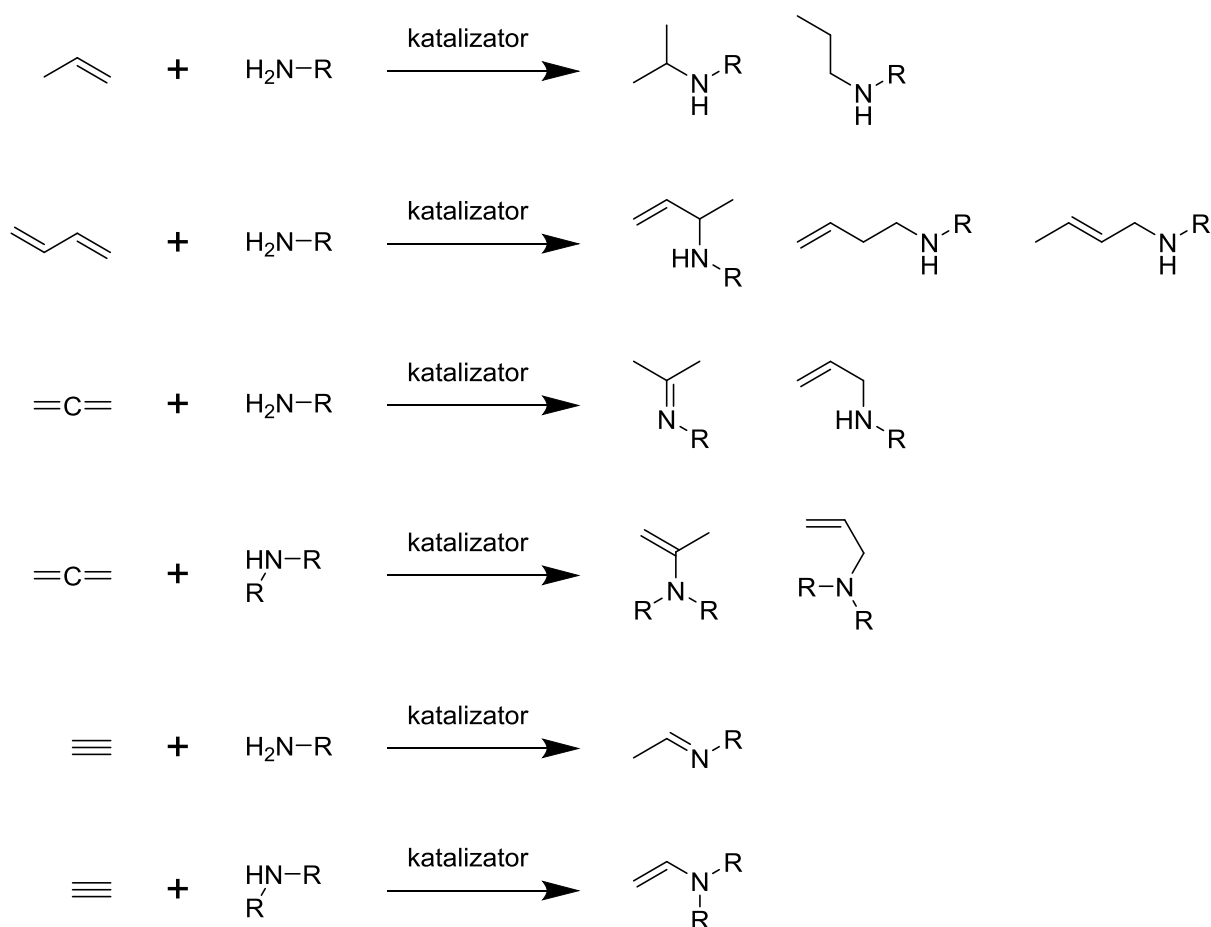
Slika 22: Razvoj uronijevih/aminijevih soli

2.2. Hidroaminacija alkina

2.2.1. Hidroaminacija

Adicije su reakcije koje se uglavnom povezuju s višestrukom vezom ugljik-ugljik. Jedne od najpoznatijih adicija su adicije halogenovodika, primjerice klorovodika, na dvostruku vezu, primjerice propena. Općenito, hidroaminacija je analogna adicija amina na višestruku vezu ugljik-ugljik, gdje se stvara ugljik-dušik veza na jednoj strani i ugljik-vodik na drugoj stranu dvostruke ili trostruke C-C veze (**slika 23**). Kao i kod preostalih adicija, moguć je Markovnikovljev i *anti*-Markovnikovljev produkt. Pritom nalazimo četiri moguće verzije spojeva s višestrukim vezama; alkeni, spojevi s konjugiranim dvostrukim vezama, alkini i aleni (spojevi s dvije uzastopne dvostruke veze) (**slika 23**).¹² Tipično za adicije, hidroaminacija alkina se najčešće odvija brže od hidroaminacije alkena. Također struktura produkta može ovisiti i o vrsti amina, pa primjerice u reakciji primarnog amina i alena ili alkina može nastati imin.¹² Glavni problem prilikom hidroaminacije je elektrostatsko odbijanje π elektrona višestruke ugljik-ugljik veze i slobodnog elektronskog para na dušiku iz amina. Hidroaminacije su uglavnom slabo egzotermne reakcije, a kao i većina adicija, promjena entropije je u njima negativna, zbog čega povišenje temperature ne favorizira nastajanje produkta.¹³ Iako postoje zaobilazni načini za sintezu amina, primjerice korištenjem organohalogenih spojeva, znatna prednost hidroaminacije je njihova potpuna ekonomija atoma, to jest, jednak zbroj atoma pojedinih elemenata u

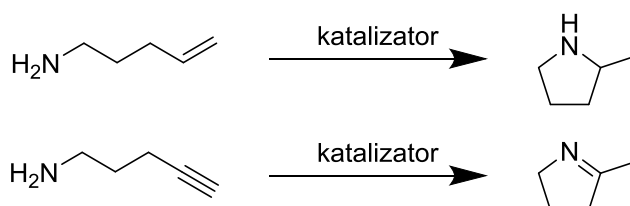
reaktantima i produktu.¹³ Najčešće korišteni katalizatori su metalni kompleksi i baze, opisani u idućim poglavljima.



Slika 23: Opći primjeri hidroaminacija

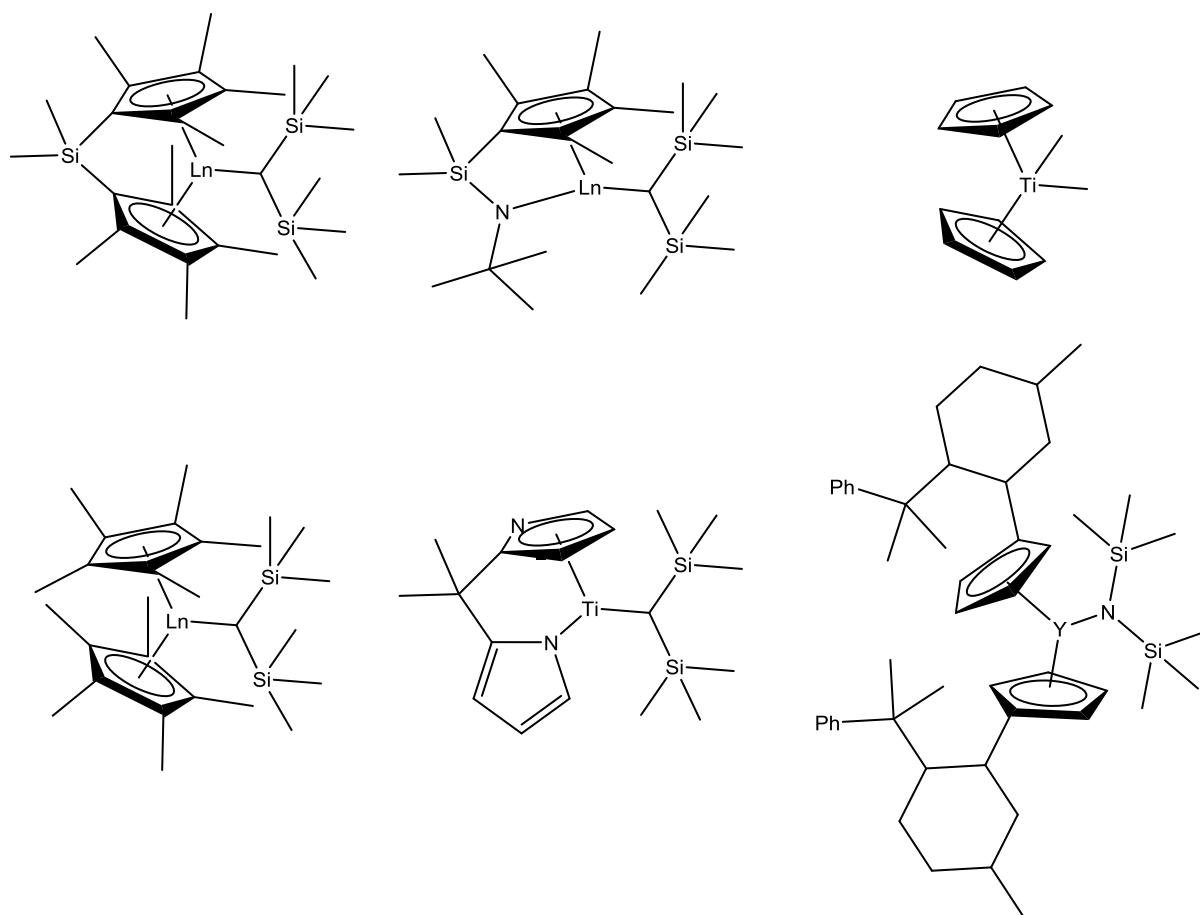
2.2.2. Kataliza metalnim kompleksima

Kataliza metalnim kompleksima je najčešći oblik katalize u hidroaminacijama. Uglavnom se koriste kompleksi prijelaznih metala, poput titana, cirkonija, platine, te lantanoida i mnogih drugih. Hidroaminacija može biti intermolekularna (slika 23) i intramolekularna kojom se sintetiziraju heterocikli (slika 24).

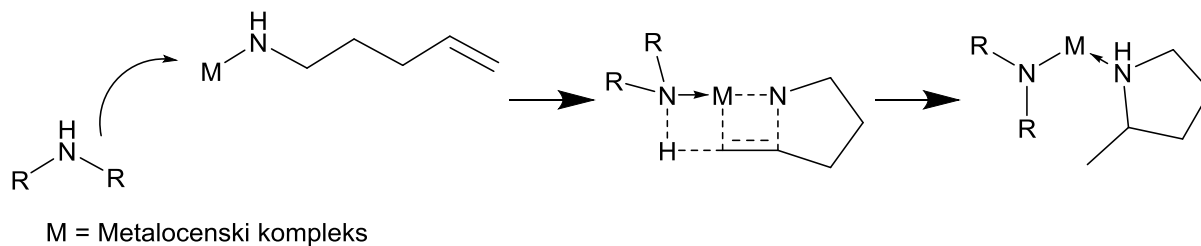


Slika 24: Primjer intramolekularne ciklizacije

Tipični primjeri katalizatora baziranih na lantanoidima se nalaze na **slici 25**. Strukture su slične i za druge metale, a najčešće sa radi o metalocenskim kompleksima. Mehanizam intramolekularne katalize metalocenskim kompleksima je opisan na **slici 26**, te je u mehanizmu važno za primjetiti da nastaju primarno Markovnikovljevi produkti. Dva važna svojstva za metalocenske katalizatore su elektron-donorska svojstva kompleksa i sterička dostupnost metalnog centra, te ovise o samom metalu u centru kompleksa i o ligandima na tom metalu. Kompleksi s izraženijim elektron donorskim svojstvima i sterički dostupnijim metalnim centrom uspješnije kataliziraju hidroaminaciju alkena, dok slabije kataliziraju hidroaminaciju alkina. S druge opisani katalizatori pokazuju slabiju učinkovitost u aminaciji neterminalnih alkena, dok terminalnost nije faktor koji utječe na reakcije s alkinima. Velika prednost tih katalizatora je što su mnogi od njih kiralni i pa omogućuju enantioselektivnu sintezu.¹²

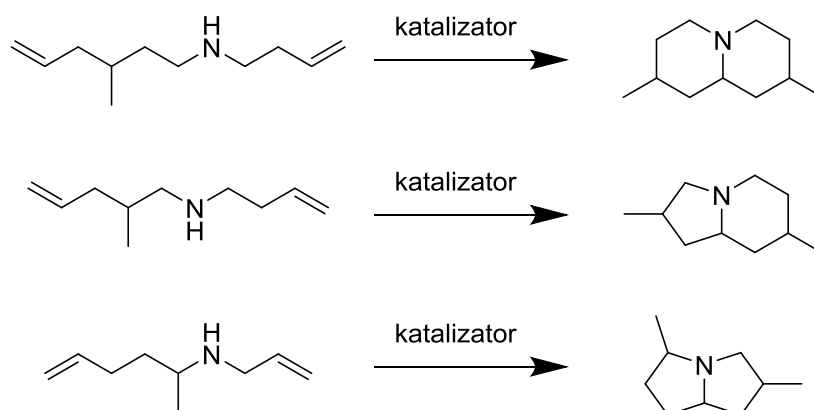


Slika 25: Primjeri metalocenskih katalizatora

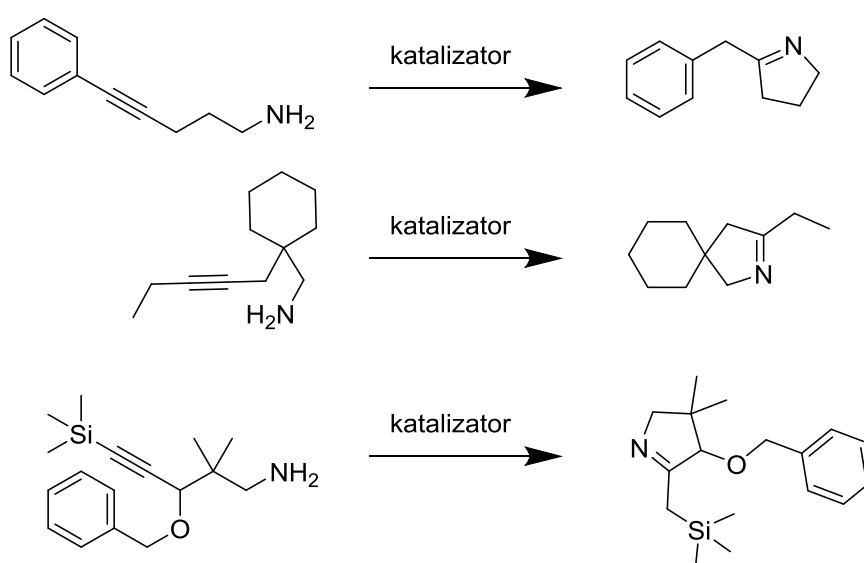


Slika 26: Mehanizam hidroaminacije uz katalizu metalocenskim kompleksom

Zanimljivo svojstvo metalocenskih katalizatora je mogućnost katalize reakcije stvaranja ugljik-dušik i ugljik-ugljik veze u tandemu, pri čemu nastaju heterobiciklički spojevi (**slika 27**). Tipična hidroaminacija alkinia katalizirana metalocenima daje imine (**slika 28**), te uglavnom ne opažamo pad reaktivnost na neterminalnim alkinima.¹²



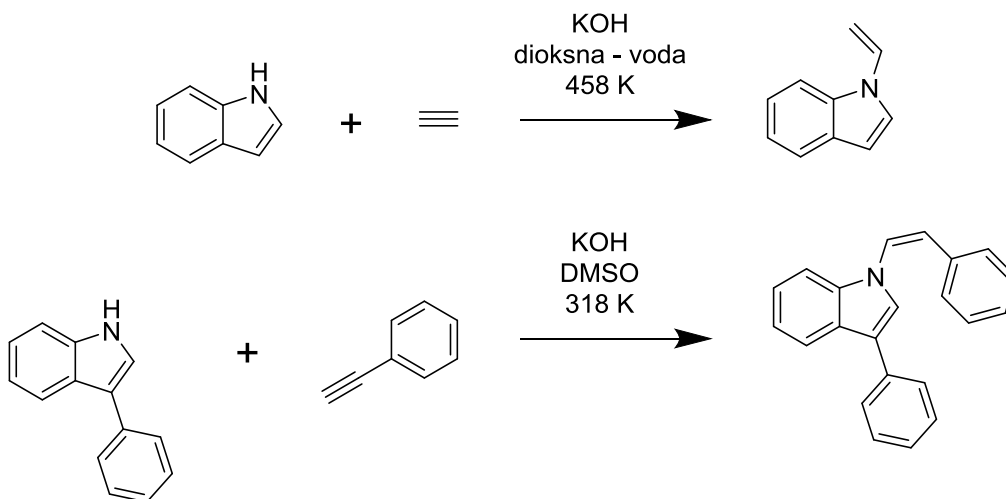
Slika 27: Primjeri reakcija nastanka heterobicikličkih spojeva



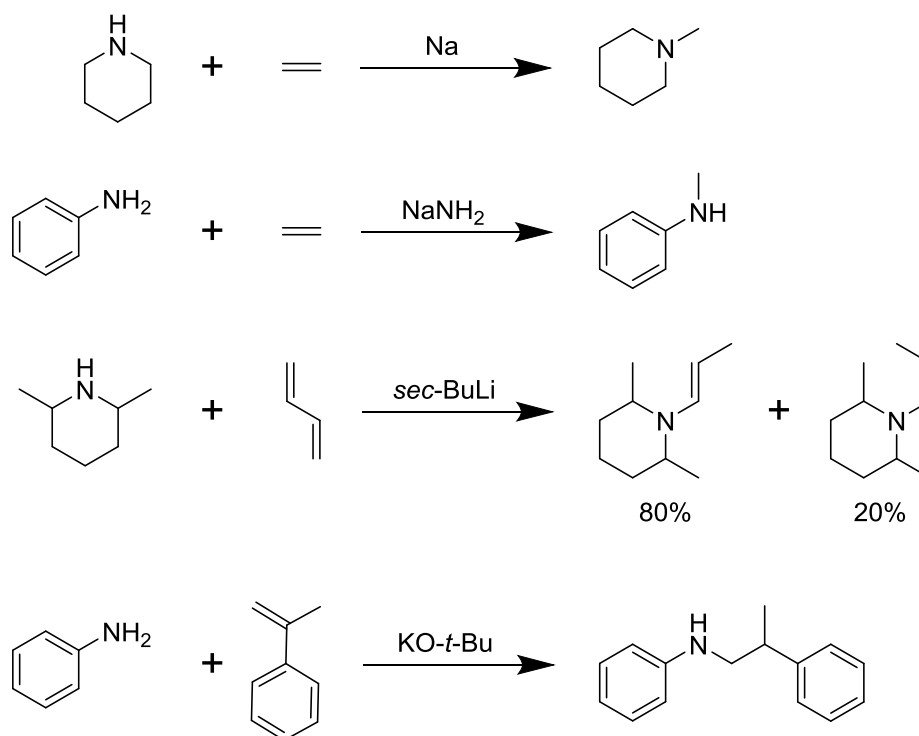
Slika 28: Primjeri hidroaminacije alkinia

2.2.3. Bazno katalizirana hidroaminacija

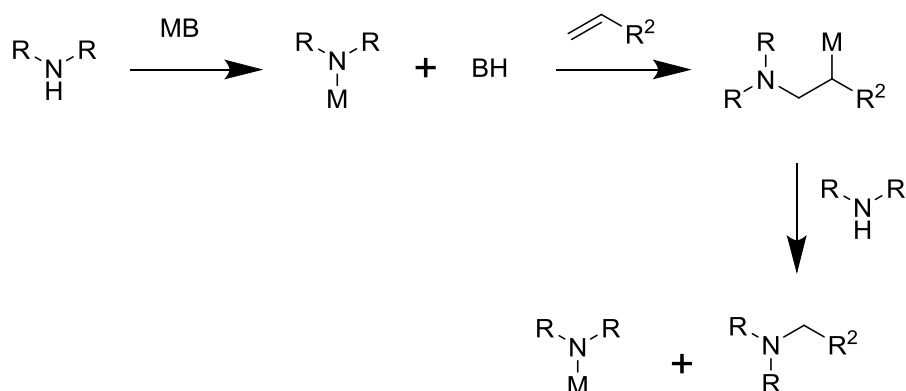
Metalocenski kompleksi su zbog navedenih prednosti često neizostavan dio sinteze amina hidroaminacijom, posebno enantioselektivne sinteze, no kako se radi o skupim spojevima, često se u sintezi za manje zahtjevne reakcije koriste ekonomski prihvatljivije alternative. Jedna od njih je bazna kataliza. Prve baze korištene kao katalizatori za hidroaminaciju su bili hidroksidi alkalijskih metala (**slika 29**),¹⁴ no danas se koriste razne bazične soli alkalijskih metala, kao i elementarni alkalijski metali (**slika 30**).¹³ Mehanizam bazne katalize je prikazan na **slici 31**.²⁴ Iako su enantioselektivne bazno katalizirane hidroaminacije rjeđe od onih kataliziranih metalnim kompleksima, bazno katalizirane su često regiospecifične, te se njima dobivaju *anti*-Markovnikovljevi produkti, kao što su i dobiveni u reakcijama na **slikama 29** i **30**. Dobivanje *anti*-Markovnikovljevih produkata ne ide u prilog predloženom mehanizmu, pa se pretpostavlja da se mehanizam barem djelomično odvija pomoću slobodnih radikala.¹³



Slika 29: Hidroaminacija katalizirana kalijevim hidroksidom



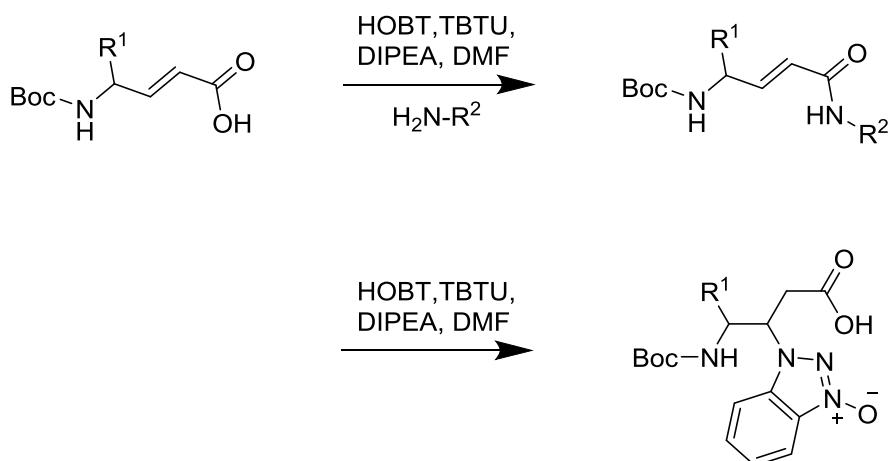
Slika 30: Hidroaminacija katalizirana bazičnim alkalijskim solima ili elementarnim alkalijskim metalom



Slika 31: Bazna kataliza u hidroaminaciji

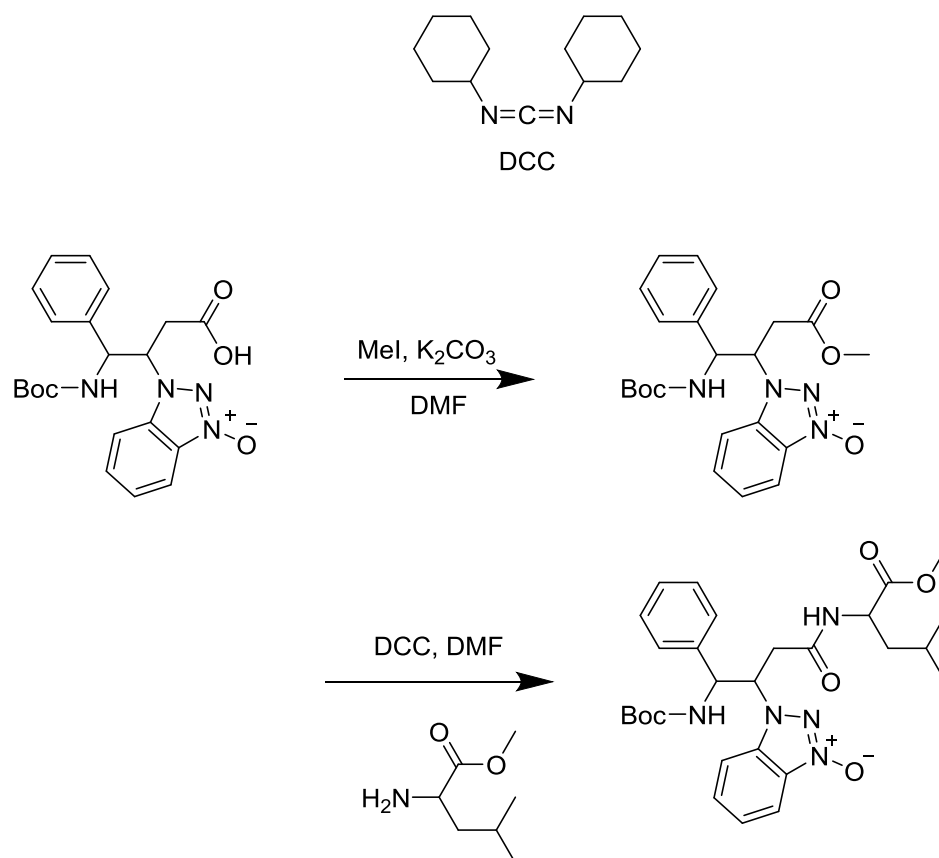
2.2.4. Adicija triazola na dvostruku vezu

Gopi i suradnici su proveli istraživanje uže povezano s temom ovog rada. Prilikom sinteze amida iz α,β -nezasićenih- γ -aminokiselina, uz HOBt/TBTU par kao reagense, dobiven je očekivan amid, no u analognoj reakciji bez slobodnog amina opažena je adicija reagenasa na α,β dvostruku vezu karboskilnih kiselina (**slika 32**).¹⁵



Slika 32: Sinteza amida iz α,β -nezasićenih- γ -aminokiselina (gore)
i adicija HOBt/TBTU-a (dolje)

Potrebno je napomenuti da se stvaranje amidne veze i adicija nisu događale u tandemu, nego ukoliko su obje bile moguće u produktima je nastajala isključivo amidna veza. (**slika 32**) Zbog poteškoća u pročišćivanju i izolaciji karboksilnih kiselina, produkti su potom esterificirani u metilne estere korištenjem metil-jodida ili prevedeni u amide korištenjem aminokiseline zaštićene metilnim esterom na C kraju i DCC-a kao reagensa (**slika 33**). Na **slici 33** su prikazane i sheme prevođenja produkta dobivenog adicijom HOBt-a na α,β -nezasićenu- γ -aminokiselinu. Setom reakcija utvrđeno je da se primarno HOBt adira na dvostruku vezu, N- adicijom.¹⁵



Slika 33: Struktura DCC-a (gore), prevođenje HOBT kompleksa u metilni ester (sredina) i peptid (dolje)

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

3.1.1. Opće napomene

Za sintezu su korištene kemikalije kupljene od komercijalnih dobavljača bez daljnjeg pročišćavanja. Reakcije su provedene u običnom staklenom posudu i praćene TLC-om na silikagel 60 F₂₅₄ pločama i detektirane pomoću UV lampe (254 nm). Pročišćavanje sirovih produkata izvršeno je automatiziranom flash kromatografijom s UV detektorom (254 nm) i predpakiranim kolonama (silika, RediSep). Flash kromatografije su provedene korištenjem smjese heksana i etil-acetata kao eluensa, gradijentno, uz povećanje udjela etil-acetata. NMR spektri dobiveni su na spektrometrima koji rade na 300,13 ili 600,13 MHz za ¹H, 75,47 ili 150,92 MHz za ¹³C. Kemijski pomaci, δ / ppm, pokazuju odstupanje od unutarnjeg standarda tetrametilsilana (TMS) za ¹H NMR, ili zaostali signal otapala za ¹³C NMR (77,16 ppm za CDCl₃). Konstante sprege, *J*, dane su u Hz. Maseni spektri izmjereni su na HPLC-MS sustavu s 6410 masenim spektrometrom s trostrukim kvadrupolom. Podaci o intenzitetima rendgenskih zraka prikupljeni su na „Oxford diffraction Xcalibur“ CCD difraktometru pomoću monokromatskog Cu-K α ($\lambda=1,54184$ Å) zračenja. Jedninična ćelija je određena, te su podaci obrađeni programom CrysAlisPro.¹⁶ Sve strukture su riješene programom SHELXT¹⁷ i utočnjene metodom najmanjih kvadrata programom SHELXL.¹⁸

3.2. Reakcije R1

3.2.1. Opći propis R1

U okruglu tikvicu je dodan diklormetan, u njemu su otopljeni TBTU i/ili HOBt monohidrat te su dodani metil-propiolat i DIPEA. Smjesa je miješana na magnetskoj miješalici 5 dana. Smjesa je potom isprana vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata, vodenom otopinom limunske kiseline, vodom, te osušena pomoću natrijevog sulfata. Nakon toga je uparena na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak i pročišćena flash kromatografijom na silikagelu (12 g) uz EtOAc/heksan gradijent. Dobivene frakcije su analizirane tankoslojnom kromatografijom, čiste frakcije s istim R_f-om su spojene, uparene i karakterizirane.

3.2.2. Detaljni opis R1

Tablica 1: Stehiometrija reaktanata i iskorištenja u reakcijama R1.^{a-c}

Reakcija	HOBt/ mmol	TBTU/ mmol	Metil-propiolat/ mmol	DIPEA/ mmol	Masa produkta 1/mg (η)	Masa produkta 2/mg (η)	Masa Produkta 3/mg (η)
R1.1	0.88	1	1	4	94 (43 %)	41 (19 %)	0
R1.2	0.88	0	1	4	75 (39 %)	21 (11 %)	0
R1.3	1.76	0	1	4	114 (53 %)	41 (19 %)	0
R1.4	2.5	0	2.5	10	188 (34 %)	131 (24 %)	0
R1.5	0	1	1	4	16 (7 %)	11 (5 %)	0
R1.6	0	2	1	4	10 (5 %)	8 (4 %)	0
R1.7	0.5	0	2.5	4	31 (28 %)	0	62 (67 %)
R1.8	1.25	0	6.25	10	-	-	-
R1.9	1.25	0	6.25	10	128 (47 %)	75 (27 %)	4 (2 %)

^a sve reakcije su izvedene u 50 ml diklorometana (DCM), osim R9 koja je izvedena u 100 ml

^b sve reakcije su trajale 3 dana, osim R1.1 koja je trajala 5 dana

^c spoj **4** je uočen u obliku nakoliko kristalića u zadnjim frakcijama iz kromatografije reakcije R1.7 nekoliko dana nakon kromatografije

^d u reakciji R1.4 i R1.9 su dobiveni nusprodukti (**I**) (3 mg (1 %) u R1.4 i 34 mg (12 %) u R1.9 reakciji) i (**II**) (19 mg (3.4 %) u R1.4 i 142 mg (52 %) u R1.9 reakciji)

^e u reakciji R1.8 je dobiveno 11 produkata koji nisu uspješno odvojeni i pročišćeni, tako da reakcija nije dalje istraživana

3.2.3. Produkti reakcija R1

Spoj 1. TLC: Rf 0.4, EtOAc/heksan = 3/7. ESI-MS: 242 (M+Na⁺). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 11.3, 4.2 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 1H), 5.36 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 3.73 (s, 1H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 164.85 (s), 159.91 (s), 142.83 (s), 128.75 (s), 126.60 (s), 124.88 (s), 120.22 (s), 107.76 (s), 101.73 (s), 51.40 (s).

Spoj 2. TLC: Rf 0.3, EtOAc/heksan = 3/7. ESI-MS: 242 (M+Na⁺). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.68 – 7.65 (m, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 1H), 7.48 – 7.44 (m, 1H), 7.09 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 5.40 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 3.84 (s, *J* = 1.6 Hz, 3H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 163.05 (s), 156.00 (s), 142.89 (s), 128.53 (s), 126.62 (s), 124.83 (s), 119.99 (s), 108.08 (s), 101.06 (s), 51.35 (s).

Spoj 3. TLC: Rf 0.5, EtOAc/heksan = 3/7. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 5.66 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 165.95 (s), 156.86 (s), 103.47 (s), 51.14 (s). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 160.15 (s), 129.32 (s), 125.95 (s), 47.37 (s).

Spoj 4. Ovaj spoj dobiven je u reakciji R1.7 u vrlo maloj količini, te mu je određena kristalna struktura. Za prikupljanje spektralnih podataka, ovaj spoj je pripremljen u neovisnoj sintezi. U okruglu tikvicu (100 mL) dodan je metanol (približno 50 mL), sumporna kiselina (0.5 mL, 9.3 mmol) i 1,3,5-trikarboksibenzen (2.3 g, 11 mmol). Otopina je zagrijavana uz refluks približno 12 sati, te je nakon toga uparena. Talog je otopljen u diklormetanu, te je organski sloj ispran s vodenom otopinom natrijevog karbonata, s vodom te osušena pomoću natrijevog sulfata. Organski sloj je uparen. Dobiveno je 2.63 g spoja 4 (95%).

TLC: Rf 0.6, EtOAc/heksan = 3/7. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.86 (s, 1H), 3.98 (s, 3H). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ 160.15 (s), 129.32 (s), 125.95 (s), 47.37 (s).

Spoj (I). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 5.66 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 165.95 (s), 156.86 (s), 103.47 (s), 51.14 (s). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 165.35 (s), 160.41 (s), 143.38 (s, *J* = 8.5 Hz), 129.26 (s), 128.76 (s), 128.71 – 128.68 (m), 128.47 (s), 127.88 (s), 127.11 – 127.08 (m), 125.39 (s), 125.03 (s), 124.46 (s), 120.71 (s), 120.19 (s), 109.40 (s), 108.95 (s), 108.26 (s), 102.23 (s), 85.06 (s), 83.93 (s), 78.23 – 74.85 (m), 51.91 (s), 20.93 (s).

Spoj (II). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H), 7.80 – 7.69 (m, 1H), 7.53 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.54 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H), 3.85 (s, 1H), 1.63 (s, 1H), 1.35 – 1.15 (m, 1H), 0.90 (dt, $J = 16.7, 7.3$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 166.43 (s), 133.39 (s), 132.12 (s), 132.03 (s), 131.99 – 131.94 (m), 125.88 (s), 116.35 (s), 110.57 (s), 106.93 (s), 79.71 – 75.39 (m), 52.11 (s).

3.3. Reakcije R2

3.3.1. R2.1 reakcija

U okruglu tikvicu (100 mL) dodan je dikormetan (približno 50 mL), te su u njemu otopljeni HOBt monohidrat (152 mg, 1 mmol), TBTU (321 mg, 1 mmol) i (1*S*,2*S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana (199 mg, 0,9 mmol). Nakon toga je dodana DIPEA (600 μL , 10 mmol). Smjesa je miješana na magnetskoj miješalici približno pola sata, te je nakon toga dodana propinska kiselina (62 μL , 1 mmol) i miješana je na magnetskoj miješalici još 3 dana. Smjesa je potom isprana vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata, vodenom otopinom limunske kiseline, vodom, te osušena pomoću natrijevog sulfata. Nakon toga je uparena na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak i pročišćena flash kromatografijom na silikagelu (12 g) uz EtOAc/heksan gradijent. Dobiveno je 215 mg spoja 5 (60%).

Spoj 5. TLC: Rf 0.27, EtOAc. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.07 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 1H), 7.05 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.61 (t, $J = 11.3$ Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.82 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.76 – 3.66 (m, 1H), 3.50 – 3.41 (m, 1H), 2.91 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.70 – 2.68 (m, 1H), 2.15 (t, $J = 20.9$ Hz, 1H), 2.13 – 1.99 (m, 1H), 1.84 – 1.71 (m, 1H), 1.50 – 1.17 (m, 1H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 164.00 (s), 132.85 (s), 131.29 (s), 131.10 (s), 128.53 (s), 125.06 (s), 115.62 (s), 110.24 (s), 110.10 (s), 79.23 (s), 55.22 (s), 53.35 (s), 38.09 (s), 31.93 (s), 31.81 (s), 27.81 (s), 24.47 (s), 24.01 (s).

3.3.2. R2.2 reakcija

U okruglu tikvicu (50 mL) dodan je *N,N*-dimetilformamid (DMF) (približno 25 mL), te je u njemu otopljena propinska kiselina (33 mg 0.47 mmol). Nakon toga su dodani *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-triazolo-[4,5-*b*]piridin-1-ilmetilen]-*N*-metilmetanaminijev heksafluorofosfat *N*-oksid (HATU) (215 mg 0.56 mmol), (1*S*,2*S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksan (100 mg, 0,47 mmol) i DIPEA (160 μL , 0.94 mmol). Smjesa je miješana na magnetskoj miješalici približno jedan dan, te je nakon toga isprana

vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata, vodenom otopinom limunske kiseline, vodom, te osušena pomoću natrijevog sulfata. Nakon toga je uparena na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak i pročišćena flash kromatografijom na silikagelu (12 g) uz EtOAc/heksan gradijent. Dobiveno je 40 mg spoja **6** (51%).

Spoj 6. ESI-MS: 335 (M-1)⁻. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 11.80 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 8.41 (d, *J* = 14.9 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 13.9 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 6.0, 4.9 Hz, 1H), 5.88 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 5.86 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.74 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.61 – 3.43 (m, 1H), 3.26 – 3.05 (m, 1H), 2.19 – 2.01 (m, 1H), 1.83 (ddd, *J* = 12.7, 10.9, 3.4 Hz, 1H), 1.69 – 1.51 (m, 1H), 1.35 (s, *J* = 5.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 183.00 – 182.46 (m), 164.59 – 164.04 (m), 160.23 (s), 154.98 – 154.54 (m), 152.86 (s), 130.04 (s), 127.44 (s), 110.45 (s), 109.94 (s), 97.83 (s), 80.96 – 78.16 (m), 65.47 (s), 53.05 (s), 31.50 (s), 27.60 (s), 24.08 (s, *J* = 4.9 Hz), 23.75 (s).

3.3.3. R2.3 reakcija

U okruglu tikvicu (50 mL) dodan je DMF (približno 10 mL), u njemu je otopljen (1*S*,2*S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana (150 mg, 0.7 mmol) te su dodani (320 μL DIPEA, 2.1 mmol) i propinska kiselina (44 μL, 2.1 mmol). Smjesa je ohlađena na 0° C, te je u nju oprezno u nekoliko navrata dodan COMU (ukupno 300 mg, 0.7 mmol). Smjesa je miješana na magnetskoj miješalici u ledenoj kupelji jedan sat, te je nakon toga tikвица izvađena iz ledene kupelji i smjesa miješana na magnetskoj miješalici još 1 dan. Smjesa je potom isprana vodenom otopinom natrijevog hidrogenkarbonata dva puta, vodenom otopinom limunske kiseline dva puta, vodom tri puta, te osušena pomoću natrijevog sulfata. Nakon toga je uparena na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak i pročišćena flash kromatografijom na silikagelu (12 g), uz EtOAc/heksan gradijent. Dobiveno je 170 mg spoja **7** (91%).

Spoj 7. TLC: R_f 0.7, EtOAc/heksan = 1/1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.79 (s, 1H), 4.62 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.69 – 3.51 (m, 1H), 3.51 – 3.33 (m, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.12 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 1.98 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 1.87 – 1.63 (m, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.37 – 1.07 (m, 4H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 156.96 (s), 152.24 (s), 80.05 (s), 77.38 (s), 72.90 (s), 56.15 (s), 53.22 (s), 32.35 (s), 32.06 (s), 28.28 (s, *J* = 6.7 Hz), 24.96 (s), 24.36 (s).

3.4. Kristalografski podaci

Tablica 2: Kristalografski podatci za spojeve iz R1 reakcija

Spoj	1	2	3	4
Formula	C ₁₀ H ₉ N ₃ O ₃	C ₁₀ H ₉ N ₃ O ₃	C ₈ H ₁₀ O ₅	C ₁₂ H ₁₂ O ₆
F_w (g mol ⁻¹)	219.20	219.20	186.16	252.22
Kristalni sistem	triklinski	monoklinski	monoklinski	monoklinski
Prostorna grupa	<i>P</i> -1	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>C</i> 2/ <i>c</i>
<i>a</i> (Å)	6.3645(7)	7.5550(2)	3.8849(7)	18.1583(4)
<i>b</i> (Å)	7.7209(6)	18.3095(5)	30.166(4)	10.1532(2)
<i>c</i> (Å)	11.7329(11)	7.8064(3)	7.806(4)	26.4824(5)
α (°)	94.916(7)	90	90	90
β (°)	97.452(8)	105.678(3)	100.79(3)	104.542(2)
γ (°)	113.275(9)	90	90	90
<i>V</i> (Å ³)	519.19(9)	1039.67(6)	898.6(5)	4726.01(17)
<i>Z</i>	2	4	4	16
D_{calc} (g cm ⁻³)	1.402	1.400	1.376	1.418
<i>F</i> (000)	228	456	392	2112
Temperatura (K)	293(2)	246(15)	293(2)	123(2)
Skupljeni refleksi	3967	4916	2359	12047
Neovisni refleksi	2098	2132	1384	4825
R_{int}	0.0247	0.0270	0.0526	0.0230
Opaženi refleksi	1720	1819	680	4221
Parametri	146	146	120	347
$R[I > 2\sigma(I)]^{[a]}$	0.0430	0.0454	0.0959	0.0474
wR_2 (svi podatci) ^[b]	0.1236	0.1335	0.2928	0.1377
Goof, $S^{[c]}$	1.084	1.046	0.995	1.042
Mak./min. rez. el. gustoća (e Å ³)	0.150/−0.157	0.181/−0.181	0.266/−0.297	0.273/−0.297

[a] $R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. [b] $wR_2 = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$. [c] $S = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p) \}^{1/2}$ gdje je *n* is broj refleksa a *p* ukupan broj parametara.

Tablica 3: Kristalografski podatci za spojeve iz R2 reakcija

Spoj	5	6	7
Formula	C ₂₀ H ₂₇ N ₅ O ₄	C ₁₇ H ₂₄ N ₂ O ₅	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃
F_w (g mol ⁻¹)	401.47	336.38	266.34
Kristalni sistem	rompski	rompski	trigonalni
Prostorna grupa	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P3_2$
a (Å)	7.8627(4)	10.0606(2)	16.216(3)
b (Å)	10.6927(5)	11.7335(2)	16.216(3)
c (Å)	24.4593(12)	15.8113(3)	5.1307(5)
α (°)	90	90	90
β (°)	90	90	90
γ (°)	90	90	120
V (Å ³)	2056.38(17)	1866.46(6)	1168.5(5)
Z	4	4	3
D_{calc} (g cm ⁻³)	1.297	1.197	1.135
$F(000)$	856	720	432
Temperatura (K)	204(2)	293(2)	293(2)
Skupljeni refleksi	6469	6142	3687
Neovisni refleksi	3885	3570	2043
R_{int}	0.0355	0.0224	0.2058
Opaženi refleksi	3651	3257	1206
Parametri	273	228	218
$R[I > 2\sigma(I)]^{\text{[a]}}$	0.0490	0.0398	0.1419
wR_2 (svi podatci) ^[b]	0.1415	0.1161	0.4401
Goof, $S^{\text{[c]}}$	1.051	1.043	1.342
Mak./min. rez. el. gustoća (e Å ³)	0.304/-0.251	0.142/-0.142	0.374/-0.533
Flakov parametar	-0.19(17)	-0.16(15)	-3.0(10)

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

Pseudo-peptidi s terminalnom trostrukom vezom zanimljivi su supstrati u *klik*-reakcijama. Istraživanja koja su prethodila ovom radu su ukazala na mogućnost da sinteza spomenutih pseudo-peptida iz propinske kiseline uz standardne reagense za sintezu amidna daje neočekivane produkte.

U okviru ovog rada prvo je istražena reakcija metil-propiolata s reagensima za sintezu amida uz različite omjere reaktanata. Esterska funkcija je korištena kao zaštitna grupa za karboksilnu skupinu propinske kiseline kako bi se studirala reaktivnost trostruke veze. Nadalje je istraživana reakcija propinske kiseline s mono *Boc* zaštićenim 1,2-cikloheksandiaminom i različitim reagensima za stvaranje amidne veze. Slobodna propinska kiselina u ovim uvjetima može reagirati kako s trostrukom vezom tako i s nezaštićenom karboksilnom skupinom, što omogućuje tandem reakcije. Krajnji cilj ovog rada bilo je dobivanje spoja koji sadrži dvije funkcionalne skupne, kiralni amid, te terminalnu trostruku vezu, koja se u nastavku istraživanja može koristiti kao supstrat u *klik*-reakcijama.

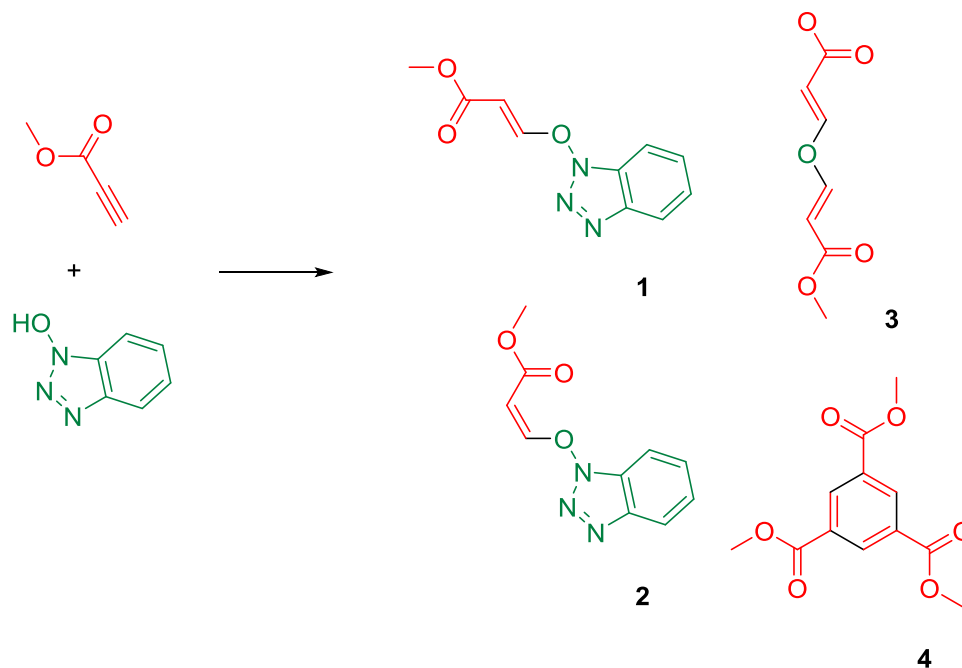


Slika 34: Strukture reaktanata korištenih u ovom radu, metil-propiolata (lijevo) i propinske kiseline (sredina), te struktura željenog produkta (desno)

4.2. Reakcije metil-propiolata, R1

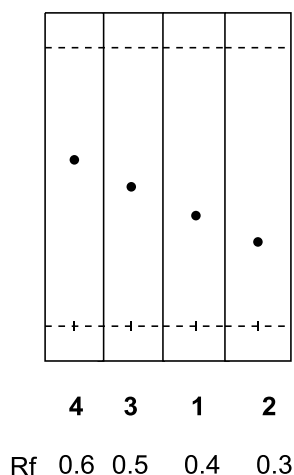
4.2.1. Sintetski postupci R1

Reakcije metil-propionata i reagensa za sintezu amida (R1) provedene su varijacijom omjera reaktanata, **tablica 1** (Eksperimentalni dio, poglavlje 3.2.2.), **slika 35**.

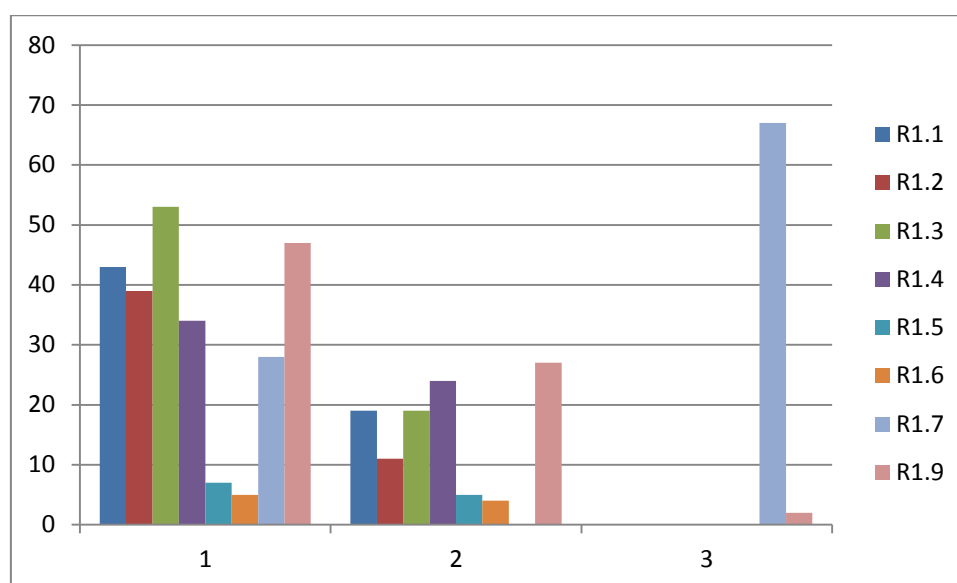


Slika 35: Produkti 1 - 4, dobiveni u reakcijama metil-propiolata

Svi glavni produkti navedeni u eksperimentalnom dijelu i na **slici 2** su identificirani iz kristalnih struktura dobivenih u pojedinim reakcijama, što je omogućilo identifikaciju istih produkata u različitim reakcijama uspoređivanjem NMR spektara (¹H i ¹³C) i R_f vrijednosti s TLC pločica (**slika 36**). Sve reakcije R1 su provedene u 50 ml diklormetana, osim reakcije R1.9 koja je provedena u približno 100 ml diklormetana, a u svim je reakcijama množina baze DIPEA bila približno četiri puta veća od množine limitirajućeg reaktanta. Kako iz R1.1 reakcije zbog strukturnih sličnosti TBTU i HOBt nije moguće zaključiti koji od ta dva reagensa sudjeluje u reakciji, R1.2, R1.3 i R1.4 reakcije su provedene isključivo s HOBt-om, dok su R1.5 i R1.6 reakcije provedene isključivo sa TBTU-om. Činjenica da su dobiveni jednaki produkti, ali višestruko većih iskorištenja u R1.2 i R1.3 reakcijama, ukazuju da primarno HOBt sudjeluje u reakciji (**graf 1**).



Slika 36: TLC pločica i R_f vrijednosti (otapalo: EtOAc/heksan = 3/7) spojeva iz R1 reakcija

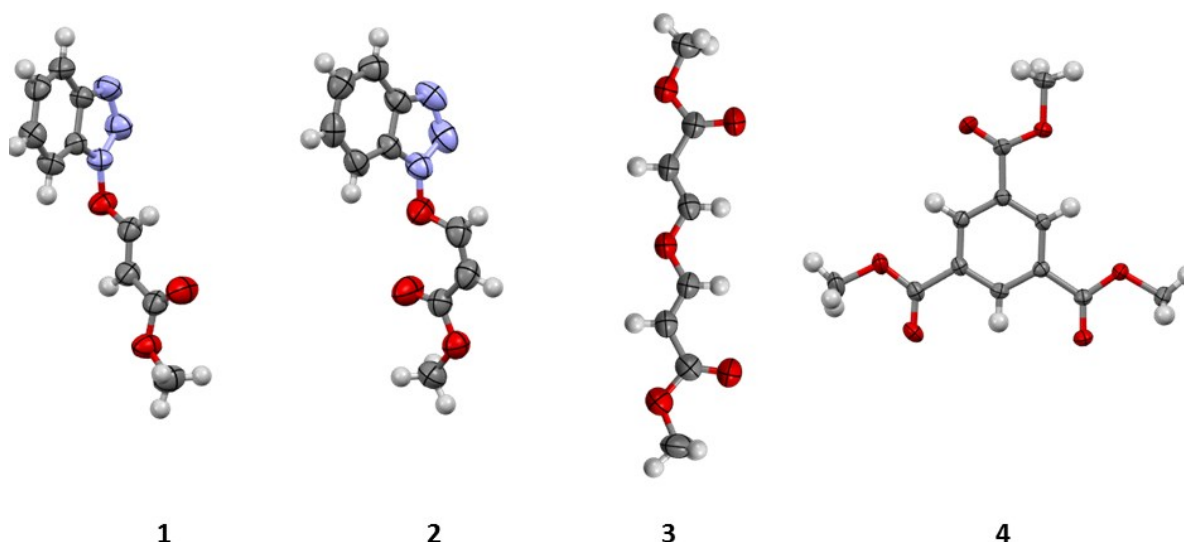


Graf 1: Iskorištenja produkata **1**, **2** i **3** u reakcijama prema **tablici 1**

Također je vidljivo iz **tablice 1** i **grafa 1** da mase produkata **1** i **2** u reakcijama rastu porastom mase dodanog HOBt-a u suvišku, no mase dobivenih produkata u reakcijama R1.5 i R1.6 su premale da se iz njih izvuče zaključak o iskorištenjima. Reakcija R1.1 je trajala 5 dana, dok su preostale reakcije prikazane u tablicama trajale 3 dana, no to nije previše utjecalo na iskorištenja. Produkt **1** nastaje u većem iskorištenju u cijelom setu reakcija, od produkta **2**, što se može objasniti manjim steričkim smetnjama u (*E*)- vezi produkta **1**, u usporedbi s (*Z*)- vezom produkta **2**, te općenito energetski stabilnijom (*E*)- vezom. R1.7, R1.8 i R1.9 reakcije su provedene s peterostruko većom množinom dodanog metil-propiolata od HOBt-a, te pojavljivanje produkta **3** u reakcijama R1.7 i R1.9 je vjerojatno posljedica stehiometrije reaktanata, s obzirom da je za nastajanje produkta **3** potrebna jedna molekula metil-propiolata više u usporedbi s produktima **1** i **2**.

4.2.2. Strukture produkata R1

Određivanje kristalne strukture spojeva **1** - **4** (slika 37) bilo je ključno za karakterizaciju tih spojeva, s obzirom da dobiveni produkti imaju značajne strukturne sličnosti, malu molekulsku masu i stoga mali broj signala u spektrima. Spoj **1** kristaliziran je periodičnim ciklusima hlađenja suspenzije spoja u etil-acetatu na približno 268 K, te grijanjem na sobnu temperaturu. Spoj **2** dobiven je kristalizacijom iz metanola. Spoj **3** veoma lagano kristalizira iz otapala nakon kromatografije (EtOAc/heksan) u obliku igličastih kristalića. Vrlo mala količina spoja **4**, svega nekoliko kristala, dobiveno je kristalizacijom iz zadnjih frakcija kromatografije reakcije R1.7 (EtOAc /heksan).



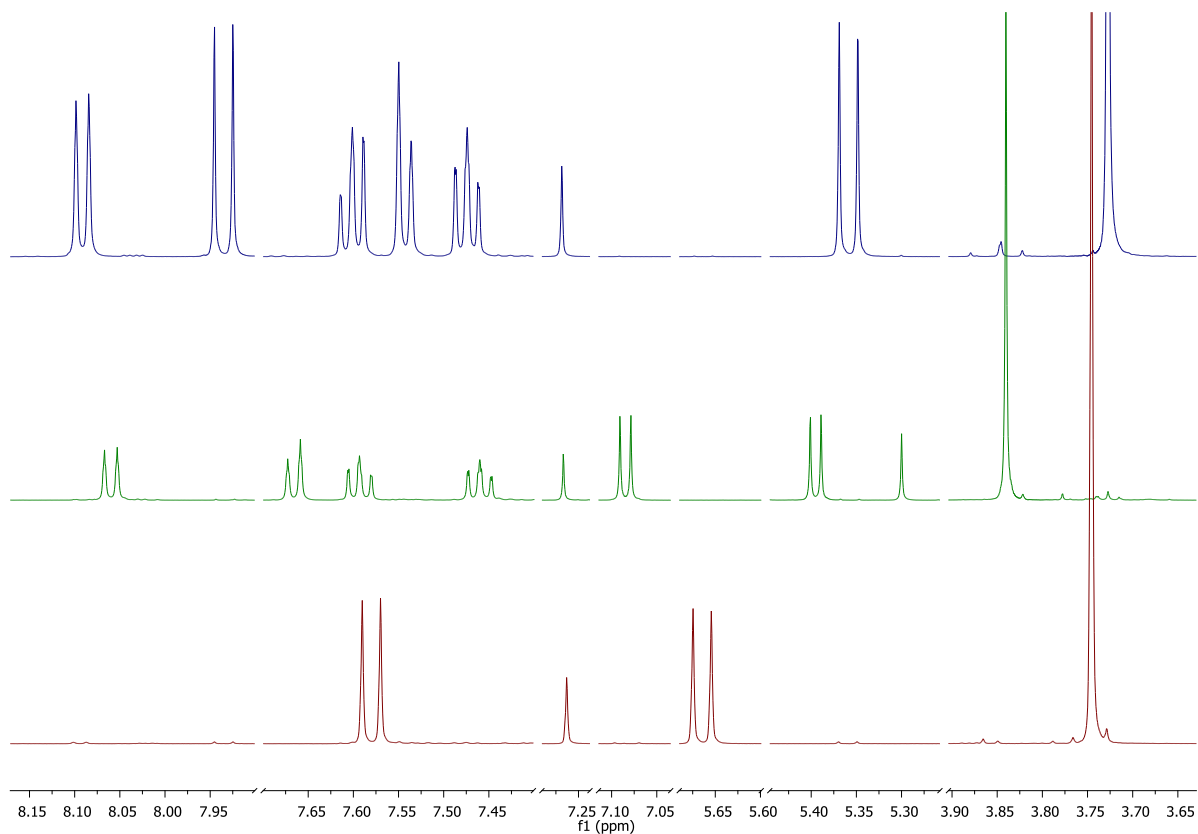
Slika 37: Molekulske strukture spojeva **1** - **4** određene difrakcijom rentgenskih zraka na jediničnim kristalima

Rentgenska difrakcijska analiza spojeva **1** i **2** je pokazala da se radi o *cis* odnosno *trans* aduktima triazolnog reagensa na trostruku vezu metil-propionata. Kristalna struktura spoja **3** iznenađujuće pokazuje formalni lančani dimer metil-propiolata, premošten središnjim atomom kisika, koji potencijalno potiče od triazolnog reagensa. Kristalna struktura spoja **4** pokazuje da se radi o formalnom cikličkom trimeru metil-propiolata.

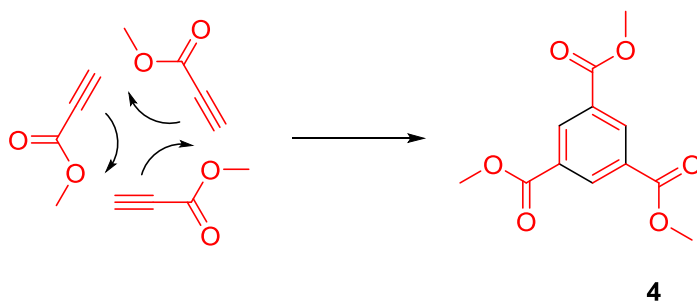
Zanimljivo je napomenuti da ^1H spektri spojeva **1**, **2** i **3** (slika 38) sadrže par dubleta jednakih konstanti sprege, tipičnih za alkensku dvostruku vezu. Konstanta sprege za spoj **1** iznosi 12,3 Hz, za

spoj **3** iznosi 12,1 Hz, a za spoj **2** iznosi 7.1 - 7.2 Hz. *Cis*- i *trans*- izomere alkena moguće je razlikovati po njihovim karakterističnim konstantama sprege u ^1H NMR-u koje iznose 7-10 Hz za *cis*- i 12-18 Hz za *trans*- alkene,¹⁹ što omogućuje lako određivanje geometrije dvostruke veze u većini spojeva u ovom radu, no iz NMR spektara nije moguće sa sigurnošću ustvrditi radi li se o produktu *N*- ili *O*- adicije triazola na propinsku kiselinu. ^1H spektri tih spojeva sadrže intenzivan singlet pri približno 3.75 ppm koji odgovara integralu od 3 protona, očekivanom za estersku metilnu grupu. Spektri također sadrže singlet otapala (CDCl_3) pri 7.26 ppm, te, za spojeve **1** i **2**, preostale pikove aromatskih vodikovih atoma. U APT spektrima je vidljiv tipičan triplet za otapalo (CDCl_3) pri približno 76.5 ppm-a, a preostali singleti odgovaraju po broju i rasporedu ugljikovim atomima spojeva. ESI-MS spektri spojeva **1** i **2** su očekivano slični (**D1** i **D3**), a od posebnog interesa su dva pika: pik 242 m/z omjera u pozitivnom spektru, koji odgovara masi molekuskog ($\text{M}+\text{Na}^+$) iona, te pik pri 134 u negativnom spektru, koji odgovara masi samog HOBt-a.

Spoj **4** je izoliran samo kao nekoliko kristalića u epruveti sa zadnjim frakcijama iz kromatografije R7 reakcije, nekoliko dana nakon kromatografije, te je jedan od njih iskorišten za određivanje kristalne strukture. Zbog toga nema smisla procjenjivati iskorištenje spoja **4**. Također nije poznato je li spoj nastao u reakciji ili nakon reakcije. Spoj **4** dobiven je neovisno esterifikacijom benzen-1,3,5-trikarboksilne kiseline, kako bi mu se snimili NMR spektri. Prijedlog formalnog reakcijskog mehanizama nastajanja spoja **4** prikazan je na **slici 39**.

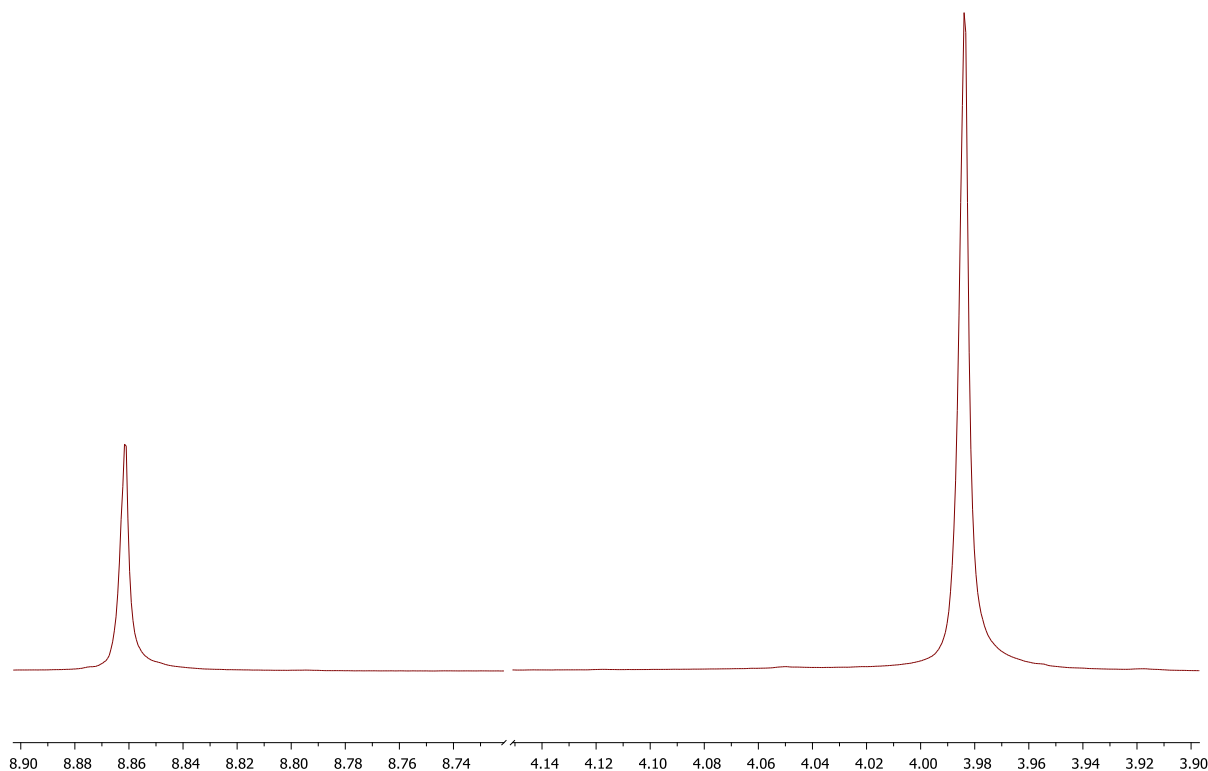


Slika 38: ^1H spektri spojeva **1** (plavo), **2** (zeleno) i **3** (crveno)

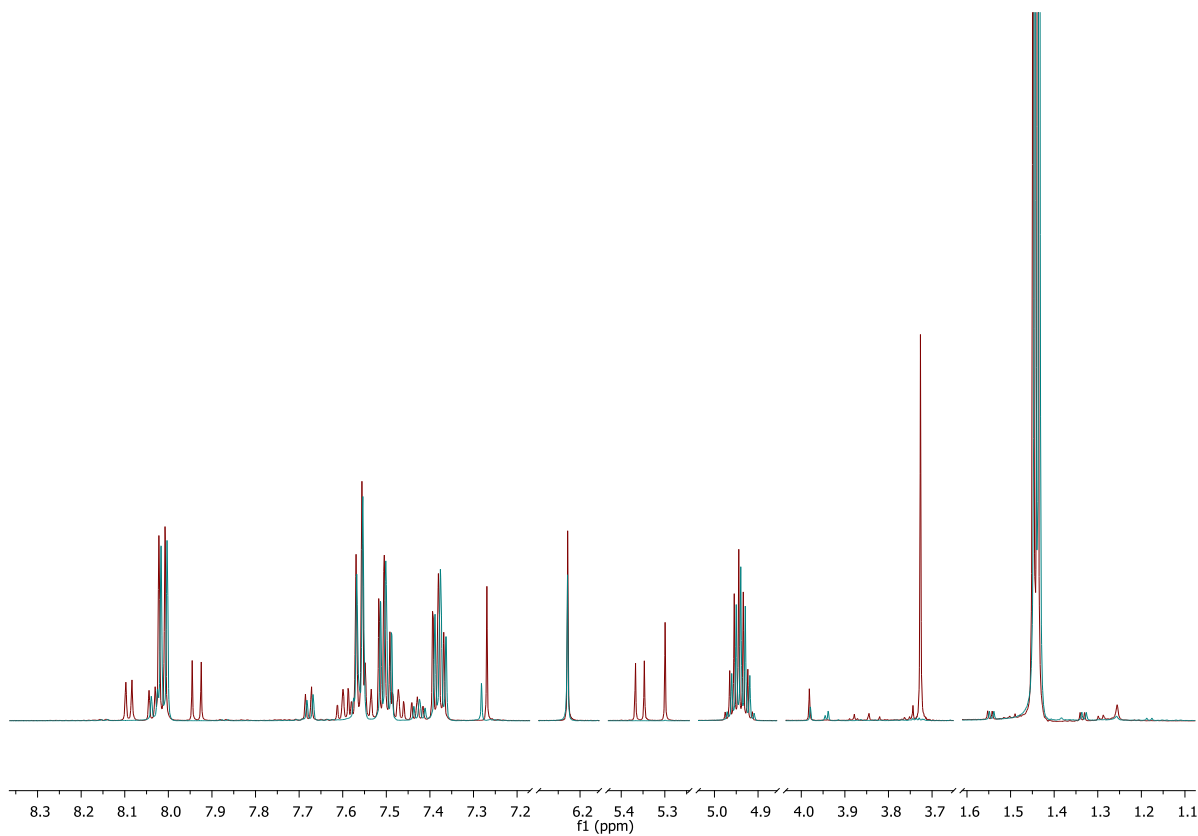


Slika 39: Formalni mehanizam nastajanja spoja **4**

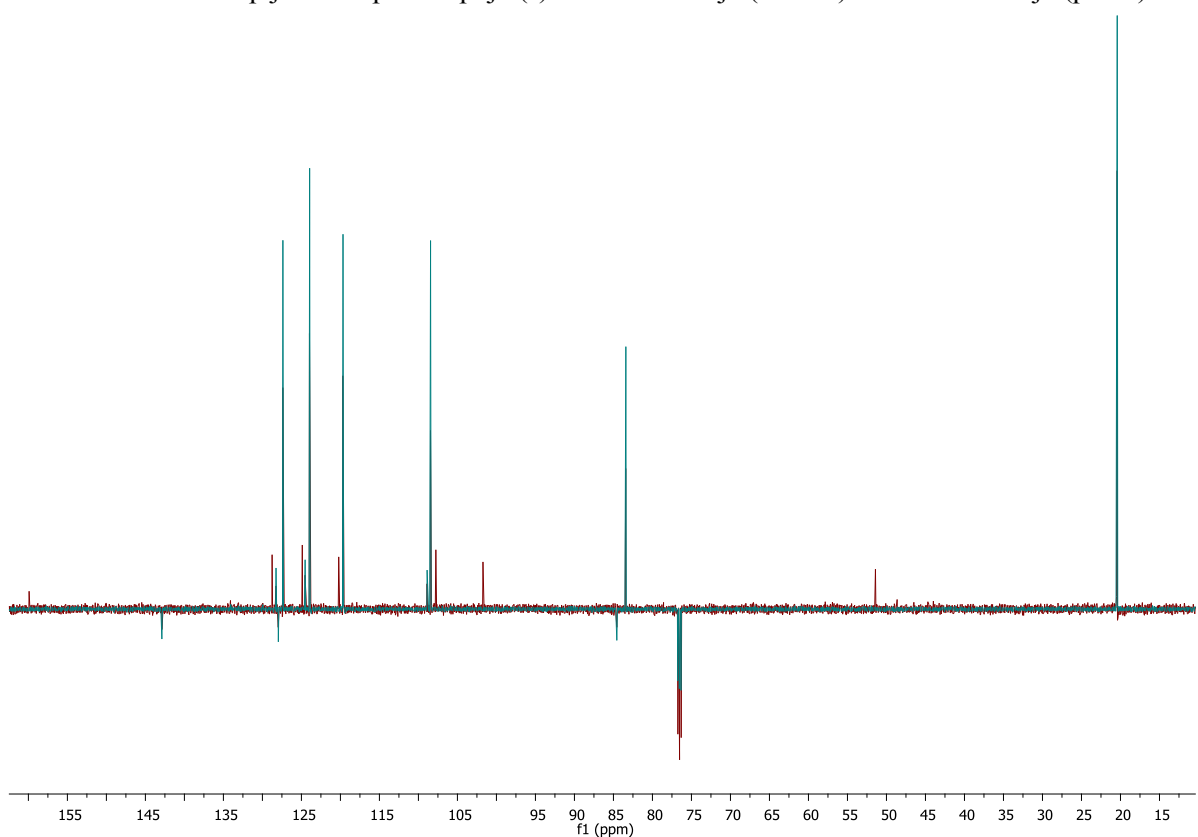
^1H spektar spoja **4** (slika 40) je očekivano jednostavan, te pik pri 3.98 ppm odgovara metilnim vodikovim atomima, dok pik pri 8.86 odgovara aromatskim vodikovim atomima.

nmr
ES-284**Slika 40:** ¹H spektar spoja **3**

Osim spojeva **1**, **2**, **3** i **4** čija je struktura potvrđena difrakcijom na monokristalu izolirani su i spojevi **(I)** i **(II)** u reakcijama R1.4 i R1.9. Na temelju sličnosti NMR spektara je zaključeno da su isti spojevi dobiveni u obje reakcije, što je detaljnije objašnjeno u nastavku teksta. Reakcije se razlikuju u stehiometriji. U R1.4 reakciji je dodan HOBt u suvišku, dok je u R1.9 reakciji dodan metil-propiolat u suvišku. Reakcije su detaljnije opisane u eksperimentalnom dijelu. Podudaranje ¹H (**slika 41**) i APT (**slika 42**) spektara spoja **(I)** ukazuje na mogućnost da se radi o istom spoju u obje reakcije, što se lako vidi iz preklapljenih spektara.

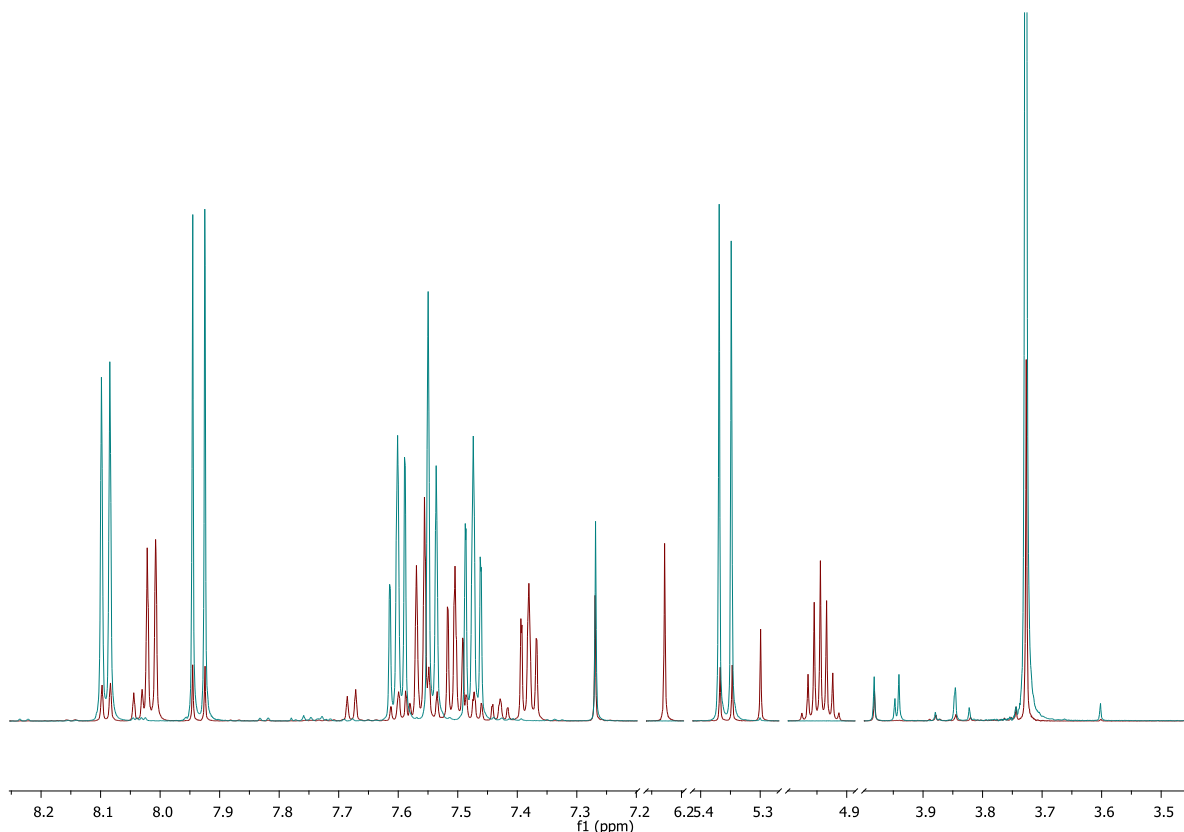


Slika 41: Preklopljeni ^1H spektri spoja (I) iz R1.4 reakcije (crveno) i iz R1.9 reakcije (plavo)



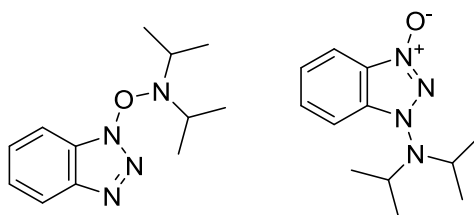
Slika 42: Preklopljeni ^{13}C spoja (I) iz R1.4 reakcije (crveno) i iz R1.9 reakcije (plavo)

U ^1H spektru spoja (**I**) iz R1.4 reakcije se nalazi par dubleta pri 5.36 ppm i 7.93 ppm konstante sprege 12.3 Hz, koji su karakteristični za spoj **1** (slika 38), što ukazuje da bi spoj (**I**) mogao biti onečišćen spojem **1**. Na slici 41 je vidljivo da se neki ^1H NMR pikovi spoja (**I**) iz R1.4 reakcije ne preklapaju sa pikovima spoja (**I**) iz R1.9 reakcije, no ti pikovi se mogu preklopiti s pikovima spoja **1** (slika 43).



Slika 43: Preklapljeni ^1H spektri spojeva (**I**) iz R1.4 reakcije (crveno) i **1** (plavo)

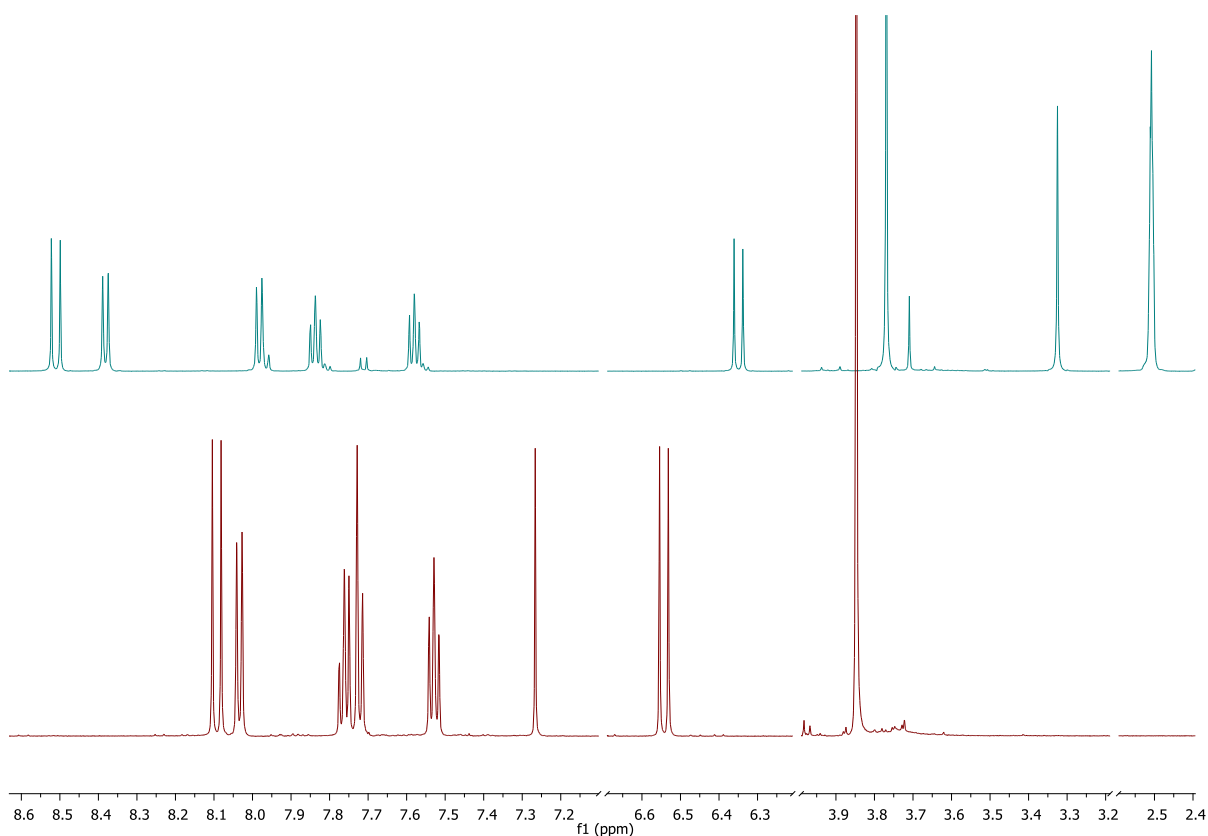
Predložene strukture spoja (**I**) se nalaze na slici 44. Dane strukture bi objasnile u ^1H spektrima spoja (**I**) heptet pri 4.49 ppm i dublet pri 1.44 ppm, jednakih konstanta sprege ($J = 6.2$ Hz). Integral hepteta je približno trostruko manji od integrala dubleta, kao što bi i očekivali za pikove izopropilne skupine. Dublet pri 8.02 ppm i tri multiplleta pri približno 7.4 ppm je moguće asignirati kao aromatske vodikove atome predložene strukture. U APT spektrima signali odgovaraju po broju i rasporedu ugljikovim atomima spoja na predloženim strukturama (slika 44).



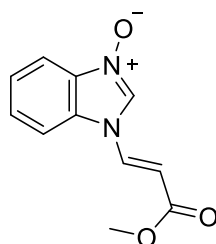
Slika 44: Predložene strukture spoja (**I**)

U navedenim strukturama jedna bi bila posljedica *N*- adicije, dok bi druga bila posljedica *O*- adicije, ali kao što je već spomenuto bez kristalne strukture nije moguće sa sigurnošću odrediti o kojoj strukturi se radi, no NMR spektri ukazuju na vjerojatnost da se obje reakcije radi o istoj strukturi. ESI-MS spektar spoja (**I**) sadrži pik 134 m/z omjera (HOBt) u negativnom spektru, no ne sadrži molekulski pik pri 242 (spojevi **1** i **2**) u pozitivnom (**D7**), što dodatno ide u prilog činjenici da se radi o spoju koji u strukturi sadrži benzotriazol.

U istim reakcijama (R1.4 i R1.9) je dobiven i spoj (**II**) te je sličnost njegovih ^1H i ^{13}C spektara također uočena, no ti spektri su snimljeni u različitim otapalima (spektar iz R1.4 reakcije u DMSO-u, dok je spektar iz R1.9 reakcije snimljen u CDCl_3), pa spektre nije moguće direktno usporediti, kao u slučaju spoja (**I**). ^1H spektri spoja (**II**) sadrže po dva dubleta konstante sprege 13.7 Hz, te jednak broj pikova s podjednakim integralima tih pikova, što ukazuje na vjerojatnost da se radi o istom spoju (**slika 45**). Predložena struktura spoja (**II**) je na **slici 46**.



Slika 45: Preklopljeni ^1H spektri spoja (**II**) iz R1.4 reakcije (plavo) i iz R1.9 reakcije (crveno)



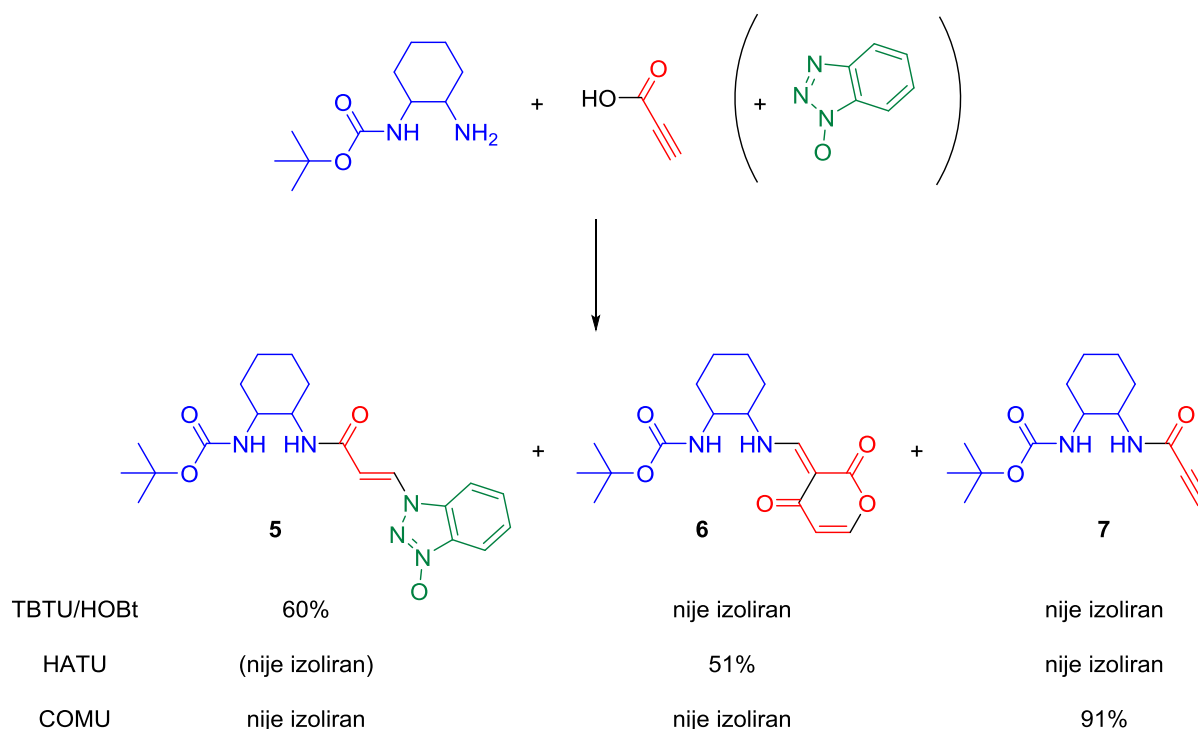
Slika 46: Predložena struktura spoja (II)

^1H spektar spoja (II) (slika 45) sadrži singlet trostruko većeg integrala od preostalih pikova pri 3.85 ppm, za koji se može pretpostaviti da potječe iz metilne grupe estera, set pikova 8.4 - 7.5 ppm, za koje se može pretpostaviti da potječu iz aromatskog sustava, i da se radi o četiri vodikova atoma, te dva dubleta pri 6.54 i 8.09 ppm, konstanta sprege 13.7 Hz, za koje se može pretpostaviti da potječu od dva vodikova atoma na *E* dvostrukoj vezi. Konstanta sprege je po vrijednosti bliska konstanti sprege dva dubleta u ^1H spektru spoja 5 ($J=13.4$ Hz), što ukazuje na mogućnost da se radi o *N*- adiciji. APT spektar dodatno ide u prilog predloženoj strukturi jer sadrži očekivan broj i raspored signala za predloženu strukturu. Pozitivan ESI-MS spektar spoja (II) (D9) sadrži pik 242 m/z omjera koji odgovara masi ($M+\text{Na}^+$) molekuskog iona predložene strukture i spojeva 1 i 2, no ne sadrži pik pri 134 (HOBt) u negativnom spektru koji bismo očekivali za spojeve 1 i 2 (D1 i D3).

Kako je vidljivo iz ^1H spektara da je spoj (I) onečišćen spojem 1, to djelomično objašnjava pad iskorištenja spoja 1 u reakciji R1.4. Produkt 3 je nastao u značajno manjem iskorištenju u reakciji R1.9 od reakcije R1.7, što je vjerojatno također posljedica pojavljivanja nekoliko već spomenutih nusprodukata (I i II) u reakciji R1.9. U reakciji R1.8 je dobiveno 11 produkata, koji nisu uspješno odvojeni i pročišćeni, no u sličnoj reakciji R1.9, je izolirano pet produkata koji jesu uspješno pročišćeni i neki identificirani, što je vjerojatno posljedica manje koncentracije reaktanata u reakciji R1.9. Nastajanje spojeva (I) i (II) u reakcijama se može povezati s količinom dodanih reaktanata, najvjerojatnije zbog koncentracija oba reaktanta (HOBt-a i metil-propiolata) s obzirom da su nastali u reakcijama R1.4 i R1.9 (tablica 1). U usporedbi s reakcijom R1.1, u reakcijama R1.3 i R1.5 su dvostruko veće koncentracije HOBt-a i TBTU-a, kao što je u reakciji R1.7 2.5 puta veća koncentracija propiolata, no dvostruko manja koncentracija HOBt-a, no nisu izolirani nusprodukti u tim reakcijama. Jedina razlika R1.8 i R1.9 reakcije je volumen diklormetana u kojem su reakcije provedene, te R8 reakcija zbog 11 nastalih produkata nije sintetski korisna.

4.3. Reakcije propinske kiseline, R2

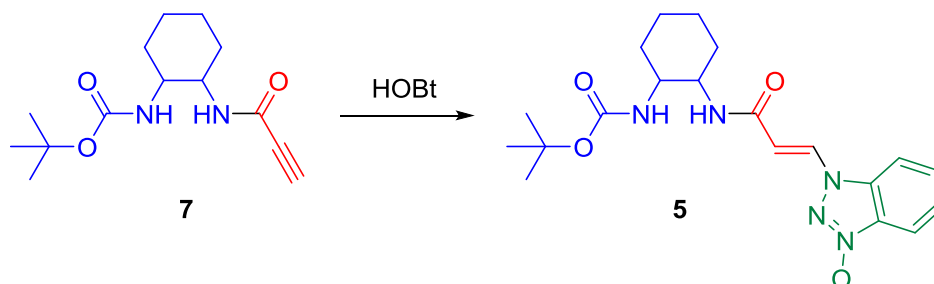
Nakon karakterizacije reakcija metil-propiolatom, koji ima zaštićenu karboksilnu skupinu, provedena je reakcija nezaštićene propinske kiseline s *N*-Boc-1,2-diaminocikloheksanom, **slika 47**. Reakcija je provedena s tri različita reagensa za sintezu amida, HOBt/TBTU, HATU te COMU, te su dobiveni produkti **5 - 7**, **slika 47**.



Slika 47: Produkti **5 - 7**, dobiveni u reakciji propinske kiseline, mono-*Boc* 1,2-ciklo-heksandiamina i različitih reagensa. Navedena su pojedina iskorištenja

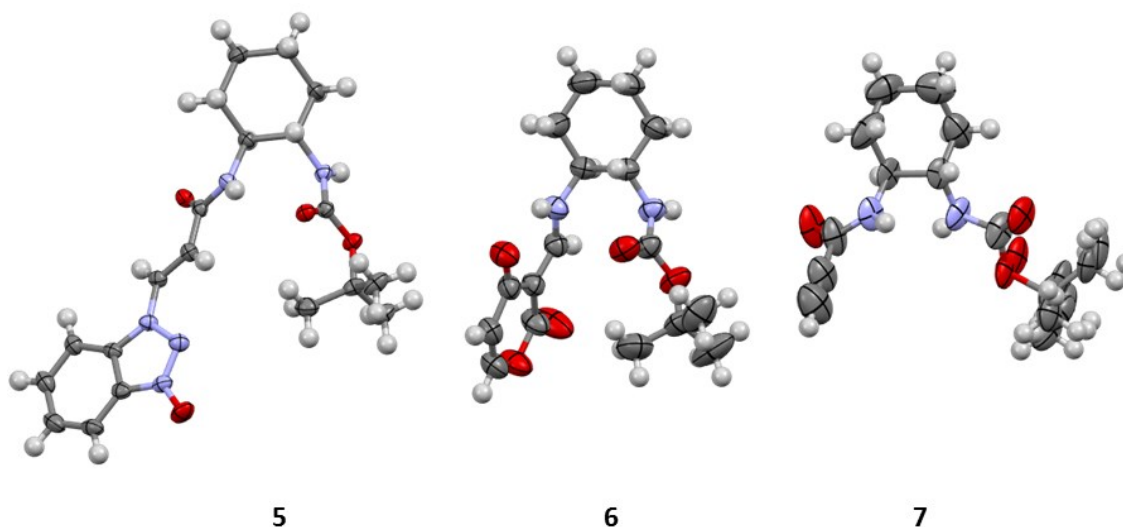
Produkt **5** je dobiven tandemnom reakcijom, gdje je uz adiciju HOBt na trostruku vezu propinske kiseline također došlo do stvaranja amidne veze (*1S,2S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana i propinske kiseline. Treba posebno istaknuti da opažena adicija HOBt-a na trostruku vezu propinske kiseline do sad nije opisana u znanstvenoj literaturi. Promjenom reagensa s HOBt/TBTU na HATU je dobiven spoj **6**. Korištenjem trećeg reagensa COMU-a dobiven je željeni produkt **7**, što potvrđuje da se korištenjem COMU-a može izbjeći adicija na trostruku ugljik-ugljik vezu. Interesantan podatak je da (*Z*)- izomer produkta **5** nije dobiven, što je vjerojatno posljedica steričkih smetnji koje bi bile prisutne u (*Z*)- produktu zbog voluminoznih skupina kojima je supstituirana dvostruka veza. Reakcija za dobivanje produkta **7** je provedena s visokim iskorištenjem i bez nusprodukata što ju čini sintetski korisnom reakcijom. Razumno je pretpostaviti da bi bilo moguće

pripraviti spoj **5** iz spoja **7**, dodatkom HOBt-a (ali bez propinske kiseline), **slika 48**. Ova reakcija nije provedena u okviru ovog Diplomskog rada, ali se predlaže kao zanimljiv nastavak istraživanja.



Slika 48: Predloženo dobivanje produkta **5** polazeći iz ciljne molekule **7**

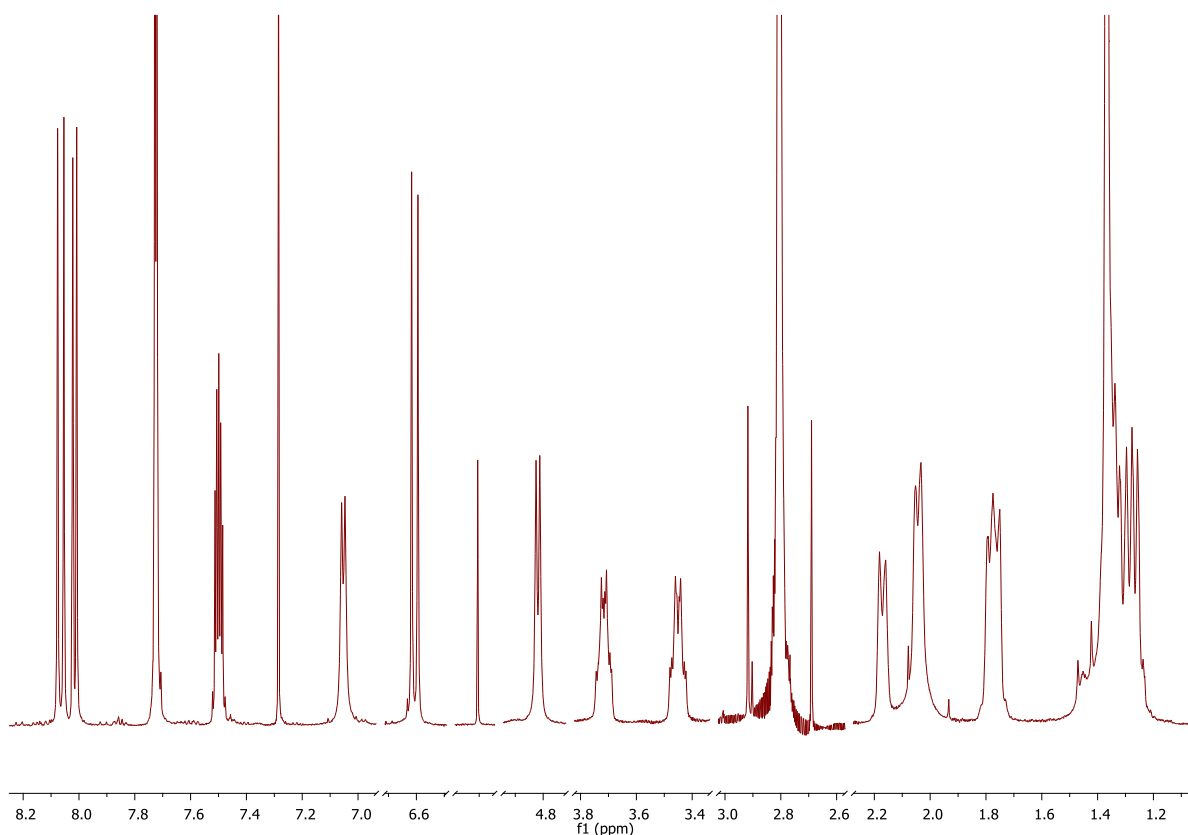
Molekulske strukture produkata **5 - 7** određene difrakcijom rentgenskih zraka na jediničnim kristalima su prikazane na **slici 49**. U strukturama produkata **5 - 7**, u cikloheksanskom djelu su potvrđene dvije (*S*)- konfiguracije iz (*1S,2S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana. Monokristal produkta **7** je nastao u NMR cjevčici, nakon isparavanja deuteriranog kloroforma, te je zanimljivo napomenuti da je dobiveni kristal bio u obliku lijeve (*M*) zavojnice zalijepljene na stjenku cjevčice.



Slika 49: Molekulske strukture produkata **5 – 7** određene difrakcijom rentgenskih zraka na jediničnim kristalima

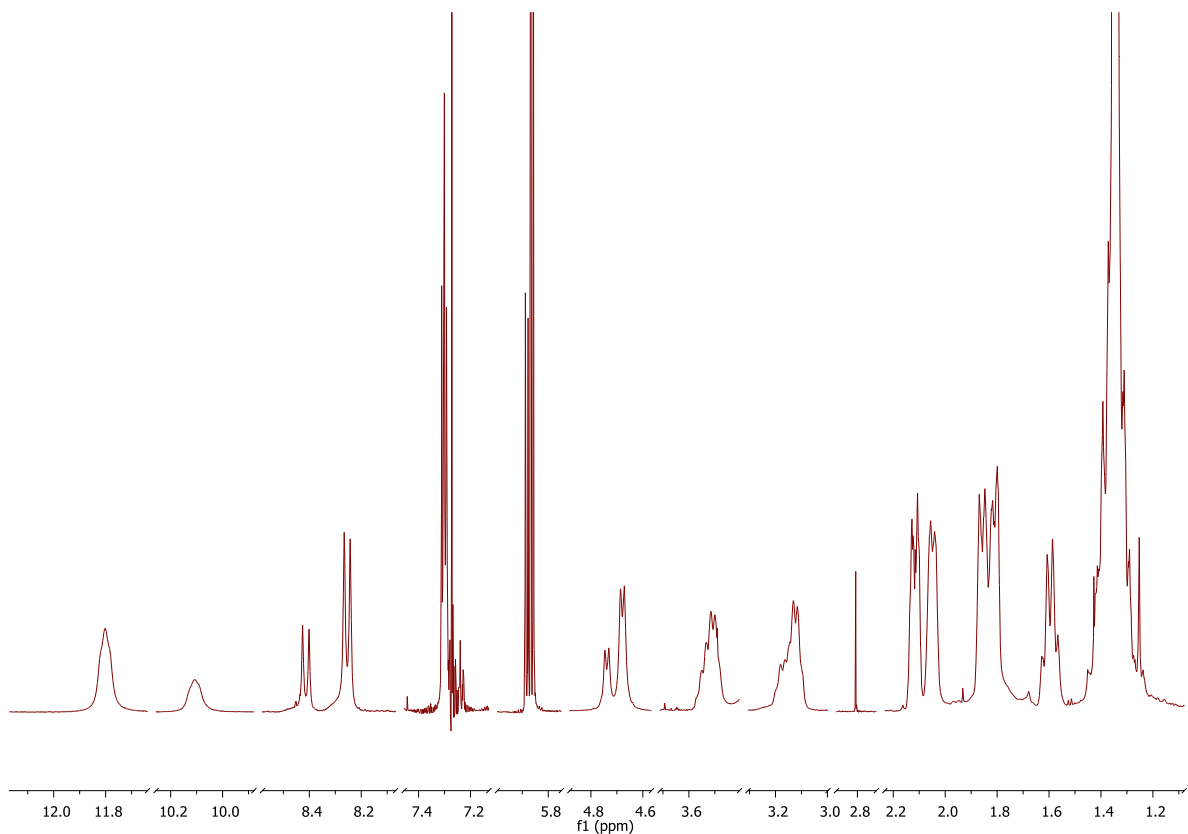
U ^1H spektru spoja **5** (**slika 50**) dva dubleta koji odgovaraju vodikovim atomima na (*E*)- dvostrukoj vezi se nalaze pri 6.61 i 8.07 ppm, te imaju konstantu sprege 13.4 Hz. Pik pri 1.35 ppm odgovara *Boc*-zaštitnoj grupi iz (*1S,2S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana, te se djelomično preklapa s jednim od pikova iz samog cikloheksanskog dijela produkta. Preostali cikloheksanski pikovi se nalaze pri približno 3.71, 3.45, 2.17, 2.05 i 1.77 ppm. Dubleti pri 7.05 i 4.82 ppm odgovaraju vodikovim

atomima amidnih skupina, a preostali pikovi, pri 8.02, 7.72, 7.49 ppm, odgovaraju aromatskim vodicima. APT spektar produkta **5** pokazuje očekivani broj od 18 signala (**D5**).



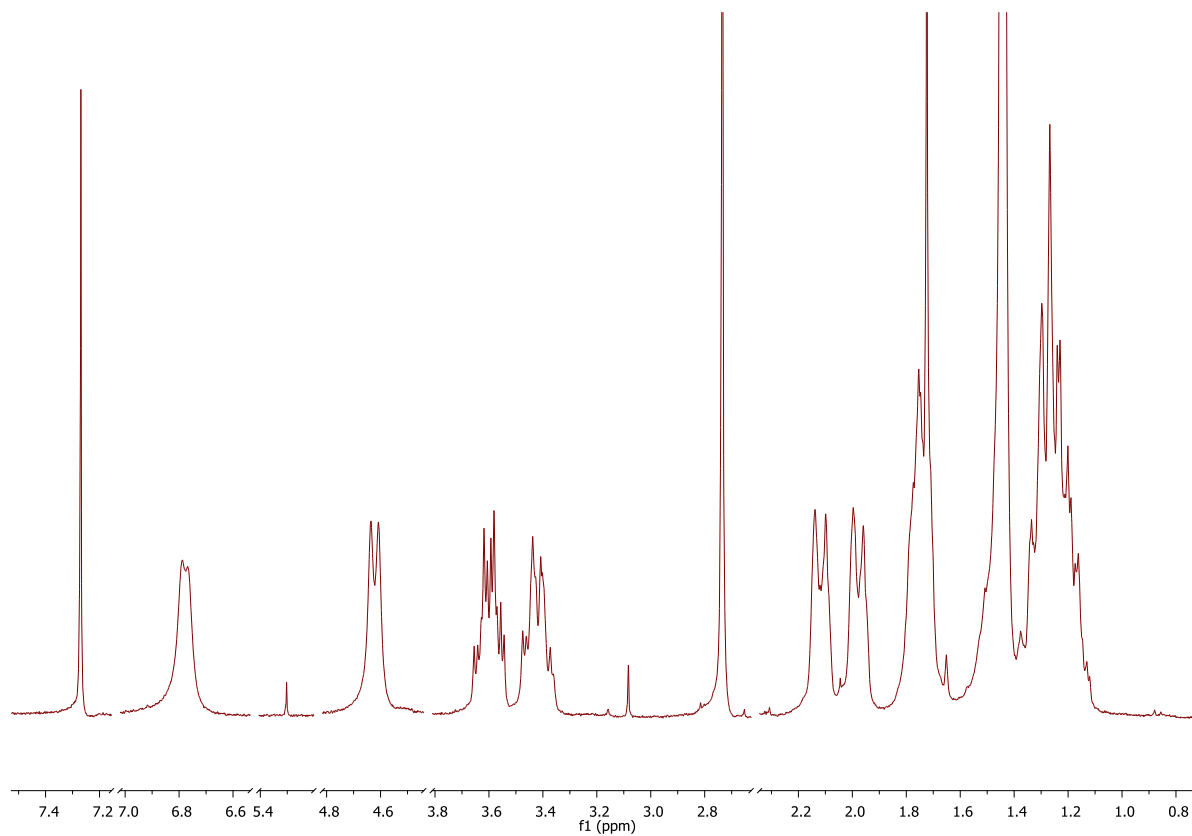
Slika 50: ^1H spektar spoja **5**

^1H spektar spoja **6** (slika 51) sadrži singlet pri 1.35 ppm koji odgovara *-Boc* zaštitnoj grupi. Pikovi iz cikloheksanskog prstena se nalaze pri 3.52, 3.15, 2.12, 2.11, 1.83 i 1.59 ppm. Te je raspored tih pikova je veoma sličan kao i u spojevima **5** i **7**. Pikovi vodikovih atoma amidnih skupina su pri 5.88 i 4.68 ppm. Pikovi pri 7.30 ppm i 8.25 ppm odgovaraju vodikovim atomima u dimerskom prstenu, dok najodsjenjeniji singlet pri 11.80 ppm odgovara α vodikovom atomu amidnih skupina, na dvostrukoj ugljik-ugljik vezi.



Slika 51: ^1H spektar spoja 6

^1H spektar spoja 7 (slika 52) je očekivano sličan ^1H spektru spoja 5 (Slika 50). Singlet pri 1.44 ppm odgovara *-Boc* zaštitnoj grupi. Pikovi iz cikloheksanskog prstena se nalaze pri 3.60, 3.43, 2.12, 2.00, 1.71 i 1.24 ppm. Pikovi pri 3.60 i 3.43 ppm potječu od α vodikovih atoma amidnih skupina, te su više odsjenjeni zbog veće elektronegativnosti dušika naspram ugljiku. Pikovi vodikovih atoma amidnih skupina su pri 6.78 i 4.62 ppm.

Slika 52: ^1H spektar spoja 7

§ 5. ZAKLJUČAK

Ovaj Diplomski rad sastoji se od dva glavna djela. U prvom djelu su ispitane adicije HOBt-a i TBTU-a na trostruku vezu metil-propiolata (R1), u raznim stehiometrijskim omjerima reaktanata. U drugom djelu rada je istražena tandemna reakcija stvaranja amidne veze (1*S*,2*S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana i propinske kiseline i adicije HOBt-a na trostruku vezu propinske kiseline (R2). Svim glavnim produktima pripremljenim u ovom radu (**1** – **7**) određene su molekulske i kristalne strukture difrakcijom rentgenskih zraka na jediničnim kristalima. Produkti su također karakterizirani ¹H i ¹³C NMR te ESI MS spektrima.

Prvo je istražena adicija reagensa za sintezu amida na primjeru metilnog estera propinske kiseline. U nizu reakcija isključivo s HOBt-om ili isključivo s TBTU-om je utvrđeno da dolazi do adicije primarno HOBt. Dobiveni su *cis*- i *trans*- izomeri produkta dobivenog *O*- adicijom **1** i **2**, te ih je moguće razlikovati po konstantama sprege u ¹H NMR spektru. U daljnjim reakcijama NMR spektri upućuju na dobiveni produkt *N*- adicije na metil-propiolat (spoj (**II**), no kako nije uspješno izoliran monokristal tog spoja, njegova struktura nije sa sigurnošću određena. Dobivene kristalne strukture upućuju na prednost *O*- adicije u slučaju metil-propiolata. Kako dobiveni rezultati upućuju na dva potencijalna vezna mjesta u molekuli HOBt-a (*O*- i *N*- adicija) dalje je istražena mogućnost dvostruke adicije, no dobiven je akrilatni produkt **3**, što dodatno upućuje na prednost *O*- adicije. Primijećeno je kako iskorištenja reakcija rastu porastom dodatnog HOBt, no raste i broj sporednih produkata, te su iskorištenja (*E*)- produkata veća od iskorištenja (*Z*)- produkata.

Prilikom analize produkta dobivenog u reakciji sinteze amida propinske kiseline i (1*S*,2*S*)-*trans*-*N*-Boc-1,2-diaminocikloheksana, uz HOBt/TBTU par kao reagens, u produktu je uočena uz stvaranje amidne veze neočekivana *N*- adicija 1-benzotriazola na trostruku vezu propinske kiseline. Korištenjem HATU-a kao reagensa dobiven je ciklički pseudodimer, strukturno najmanje sličan ostalim spojevima dobivenim o ovom radu. Željena reakcija sinteze amida je uspješno provedena uz korištenje COMU-a kao reagensa. Spomenuta reakcija uz COMU kao reagens očekivano daje željeni peptid u visokom iskorištenju, bez nusprodukata.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

APT - NMR spektroskopija (*attached proton test*)

CDCl₃ - Deuterirani kloroform

COMU - (1-cijano-2-etoksi-2-oksoetilidenaminooksi)-dimetilamino-morfolino- karbonijev
heksafluorofosfat

DCC - *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimid

DCM - Diklorometan

DIPEA - Etildiizopropilamin

DMAP - 4-(dimetilamino)piridin

DMF - *N,N*-dimetilformamid

DMSO - Dimetil sulfoksid

ESI-MS - Masena spektrometrija sa elektroraspršenjem kao ionizacijskom metodom

Et₃N - Trietilamin

EtOAc - Etil-acetat

HATU - *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-triazolo-[4,5-*b*]piridin-1-ilmetilen]-*N*-metilmetanaminijev
heksafluorofosfat *N*-oksid

HOAt - 1-hidroksi-7-azabenzotriazol

HOBt - 1-hidroksibenzotriazol

KOAc - Kalijev acetat

MB i BH - Metal - baza kompleks i protonirani oblik baze

NMR - Nuklearna magnetska rezonanca

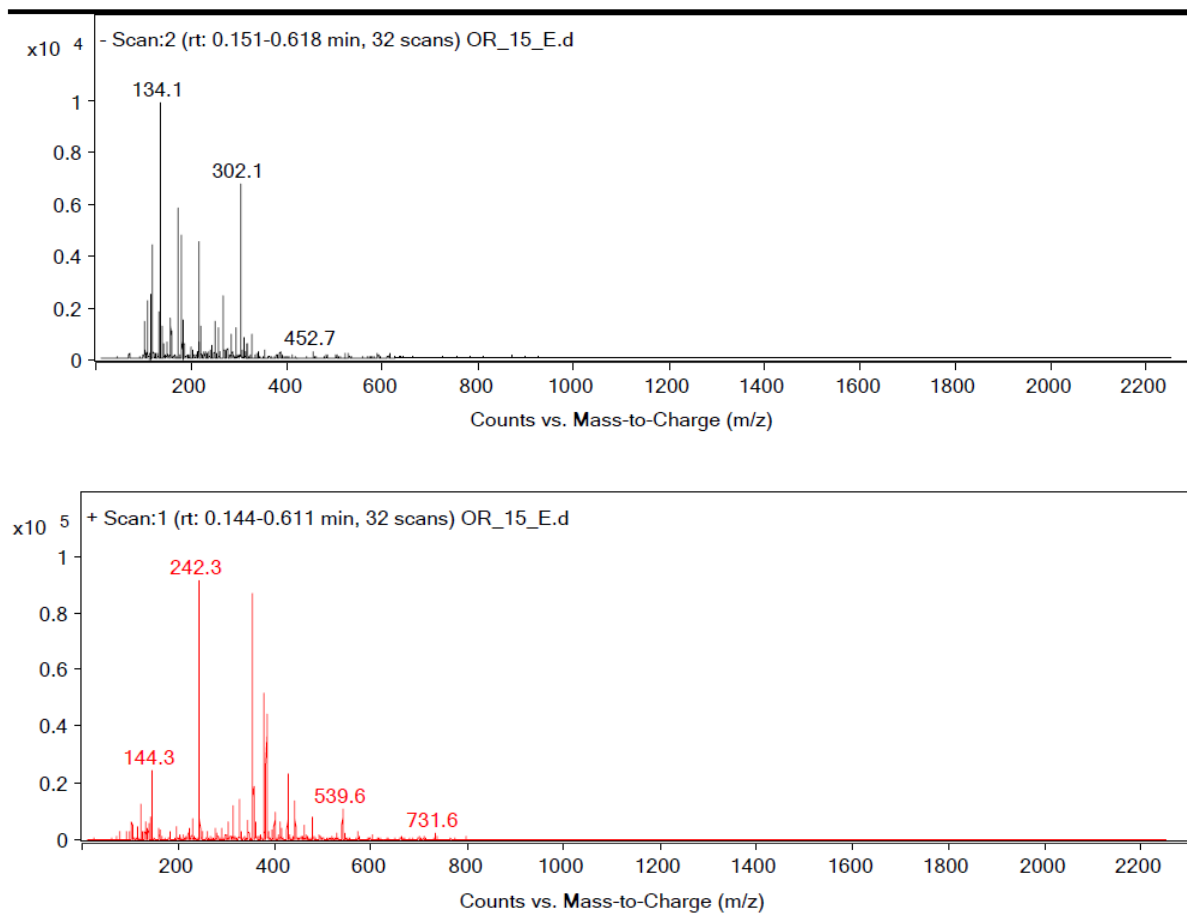
TBTU - *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(1*H*-benzotriazol-1-il)uronijev heksafluorofosfat

TLC - tankoslojna kromatografija (*thin layer chromatography*)

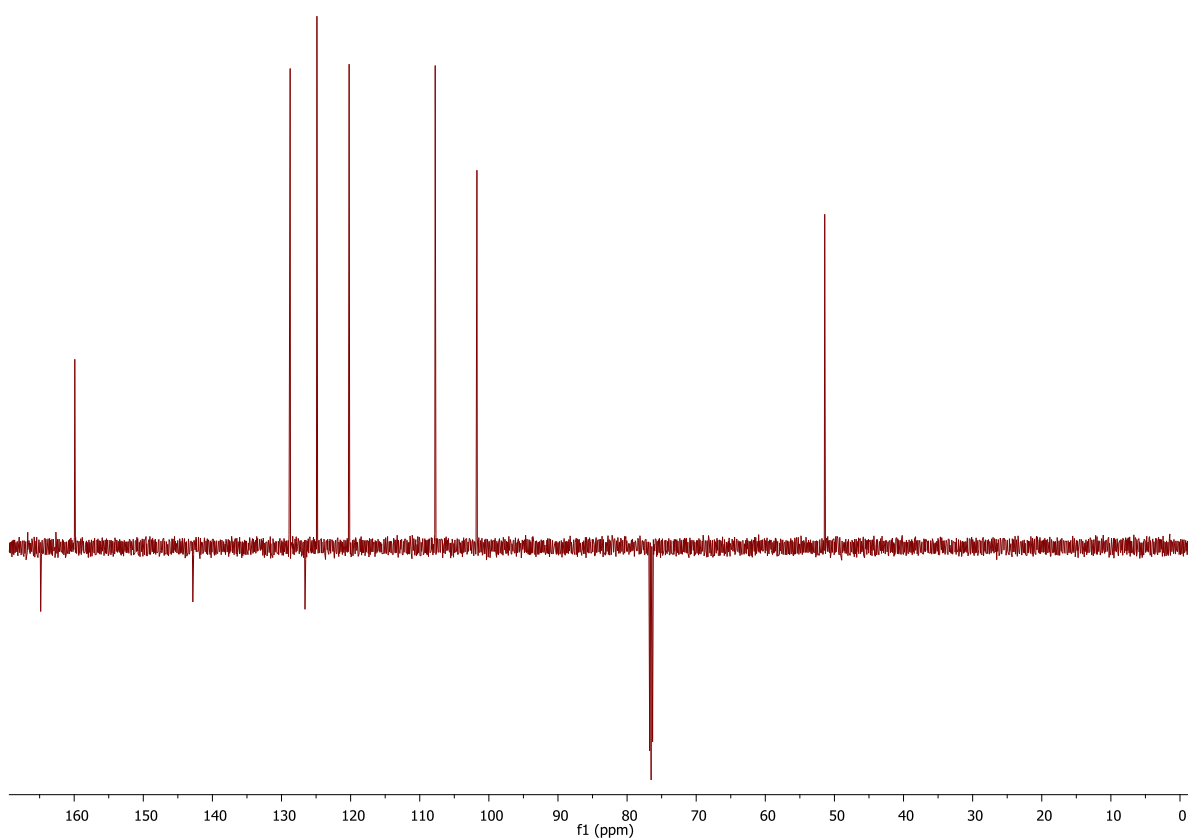
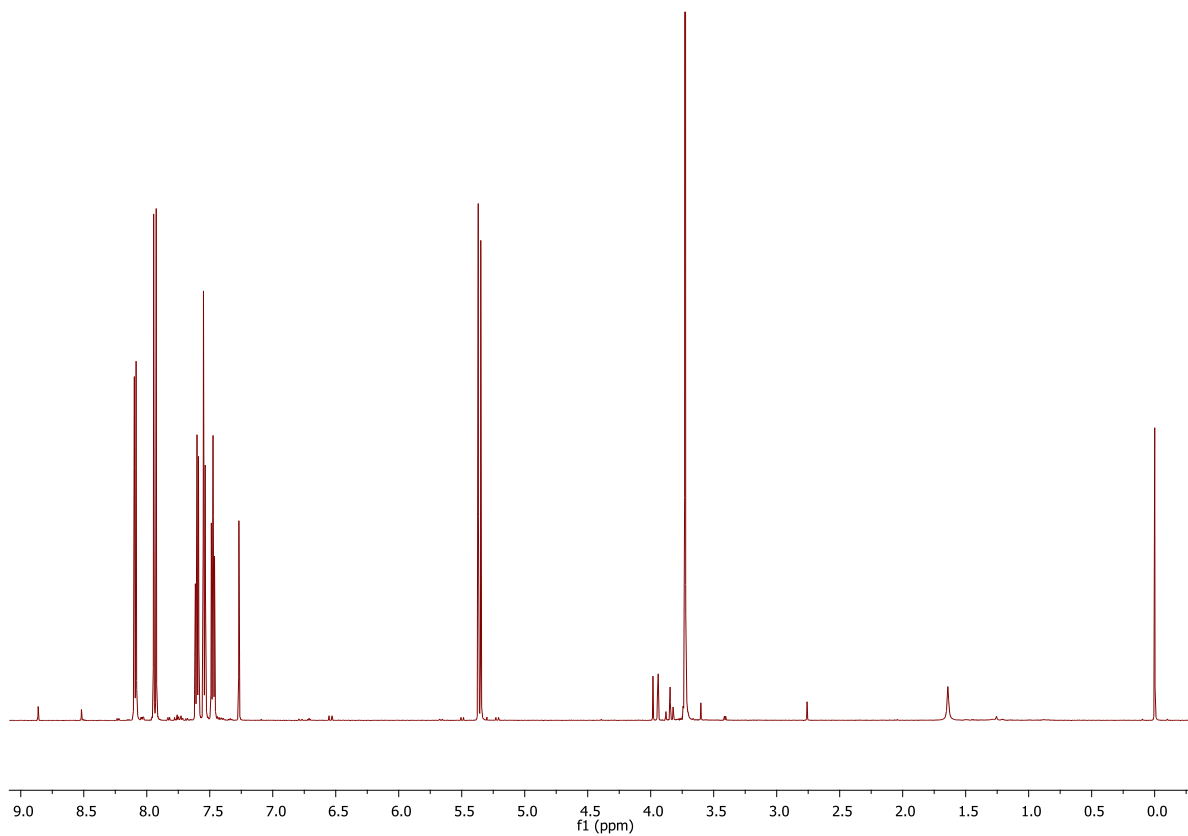
§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry Third Edition*, Worth Publishers, New York, 2000, str. 115–243.
2. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Penicillin#section=2D-Structure> (datum pristupa 20. veljače 2021.)
3. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fentanyl#section=2D-Structure> (datum pristupa 23. veljače 2021.)
4. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxazosin#section=2D-Structure> (datum pristupa 20. veljače 2021.)
5. C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron*.**61** (2005) 10827–10852.
6. So-Yeop Han, Young-Ah Kim, *Tetrahedron*.**60** (2004) 2447–2467.
7. H. Nakatsuji, J. Morita, T. Misaki, Y. Tanabe, *Adv. Synth. Catal.***348** (2006) 2057–2062.
8. Li Zhang, *Tetrahedron Letters*.**50** (2009) 2964–2966.
9. M. M. Lenman, A. Lewis, D. Gani, *J. Chem. Soc, Perkin Trans.***1** (1997) 2297–2311
10. E. Valeur, M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.***38** (2009) 606–631.
11. A. El-Faham, *Chem. Eur. J.***15** (2009) 9404–9416.
12. T. E. Muller, K. C. Hultsch, *Chem. Rev.***108** (2008) 3795–3892.
13. J. Seayad, A. Tillack, C. G. Hartung, M. Beller, *Adv. Synth. Catal.* **344** (2002) 795–813.
14. M. Patel, R. K. Saunthwal, A. K. Verma, *Acc. Chem. Res.***50** (2017) 240–254
15. M. Patel, R. K. Saunthwal, A. K. Verma, *Org. Biomol. Chem.***12** (2014) 8462–8472
16. O. Rigaku, CrysAlisPro Version 1.171.39.46, Oxford Diffraction Ltd, 2011
17. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, 2015, A71, 3–8.
18. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. C*, 2015, 71, 3–8.
19. S. H. Pine, *Organska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1994, str. 1180–1181.

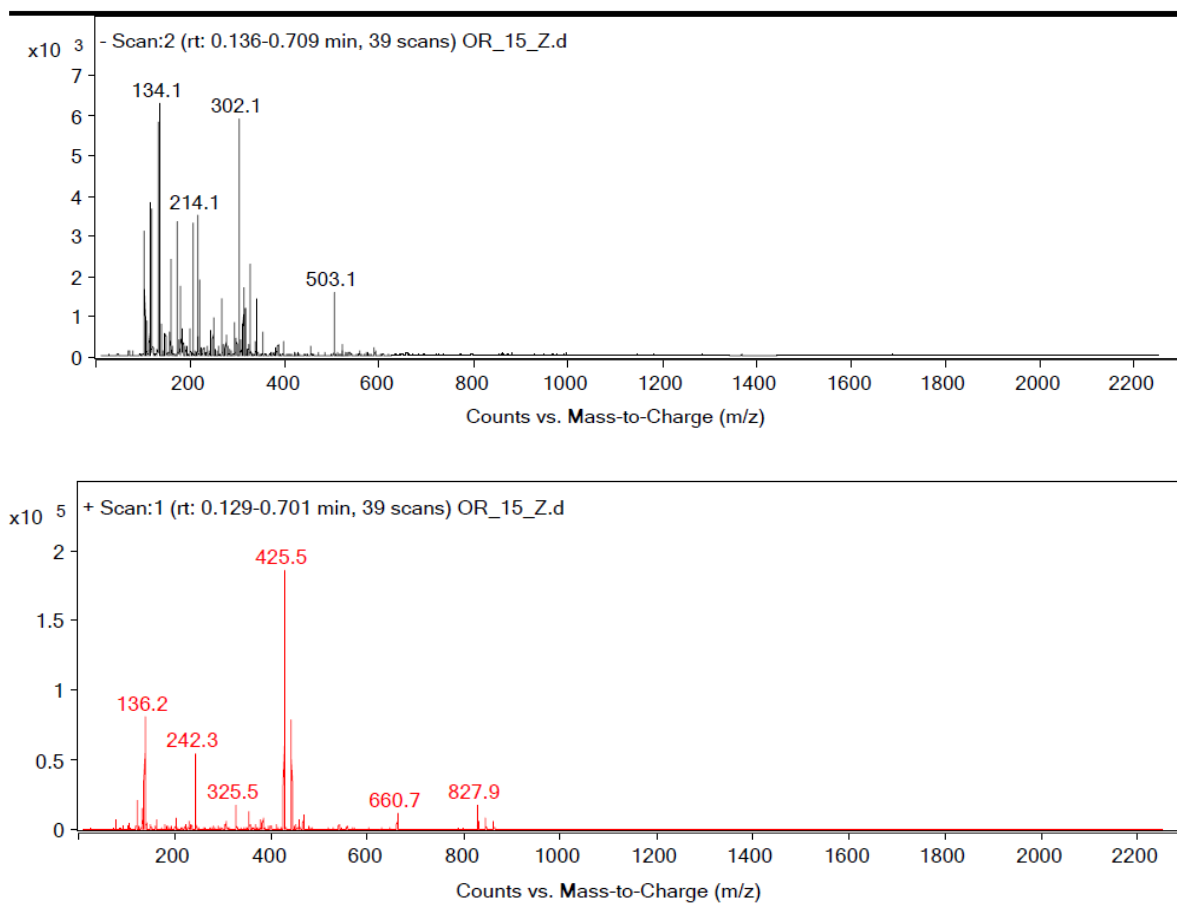
§ 8. DODATAK

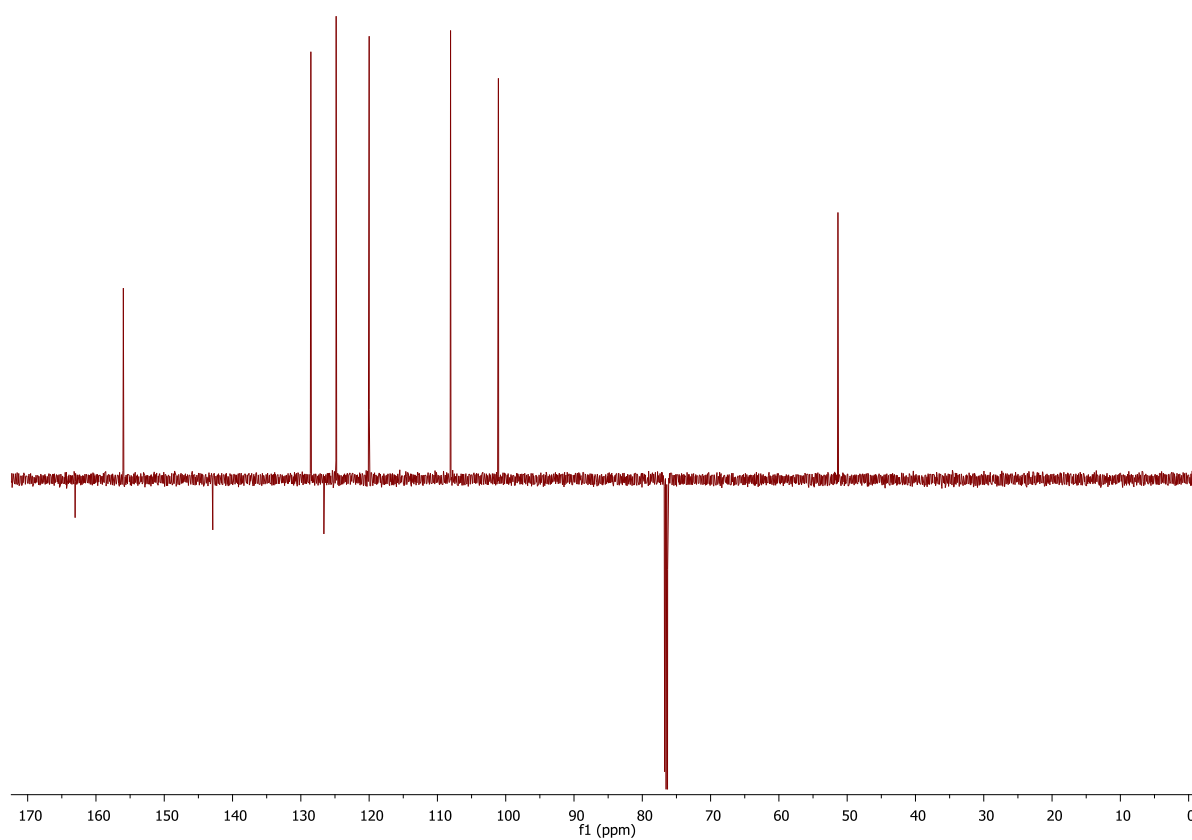
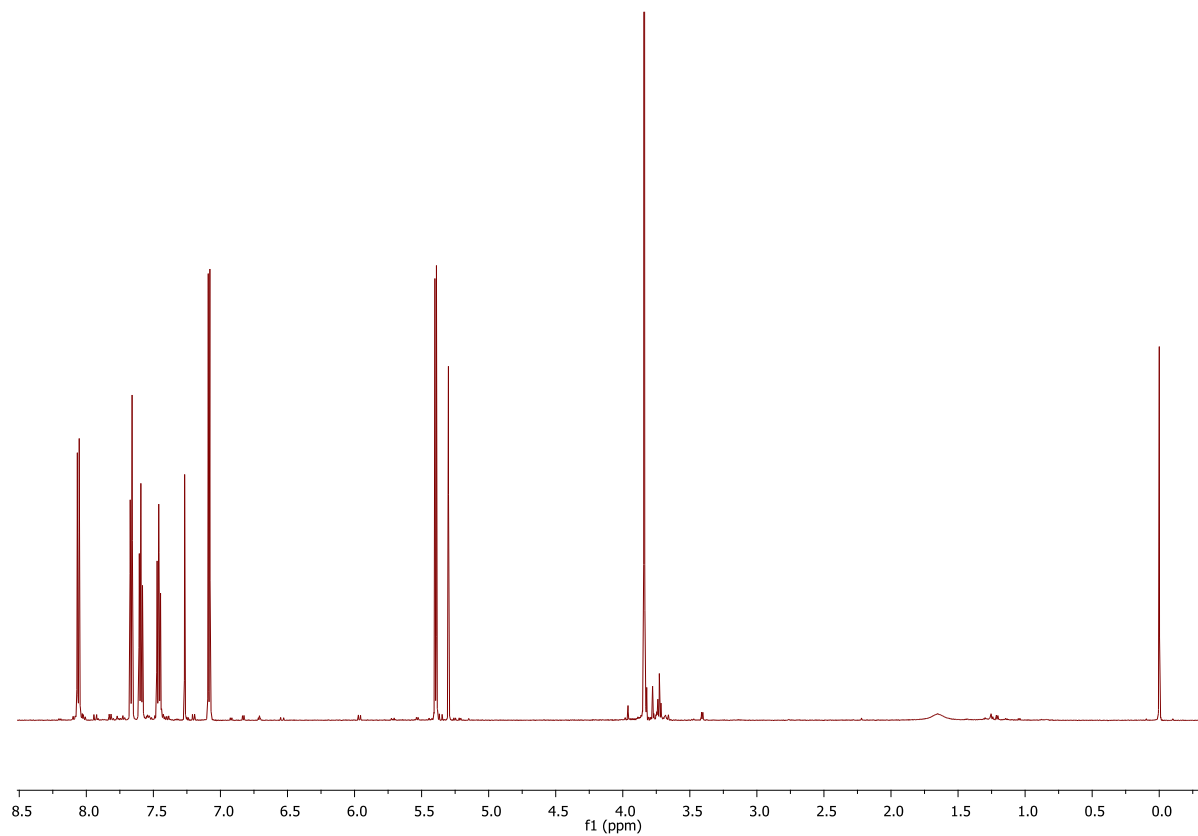


D1: ESI-MS spektri spoja 1

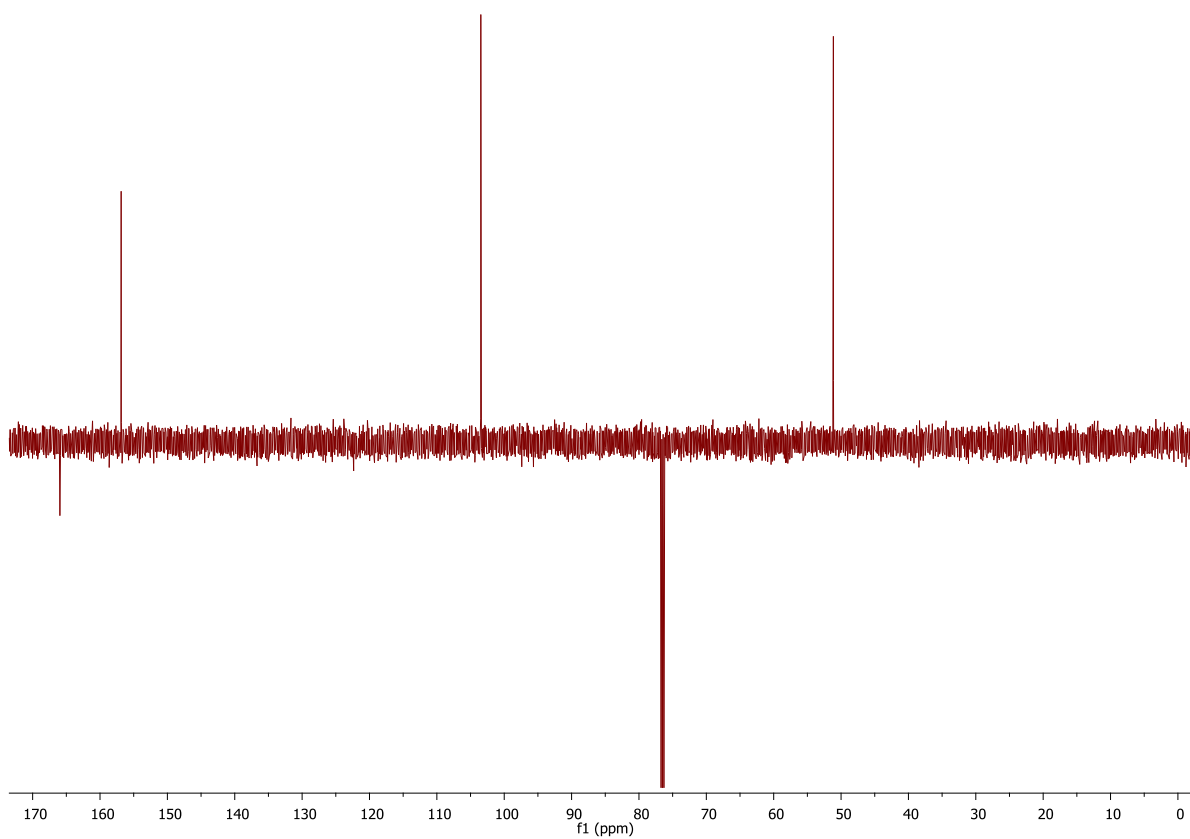
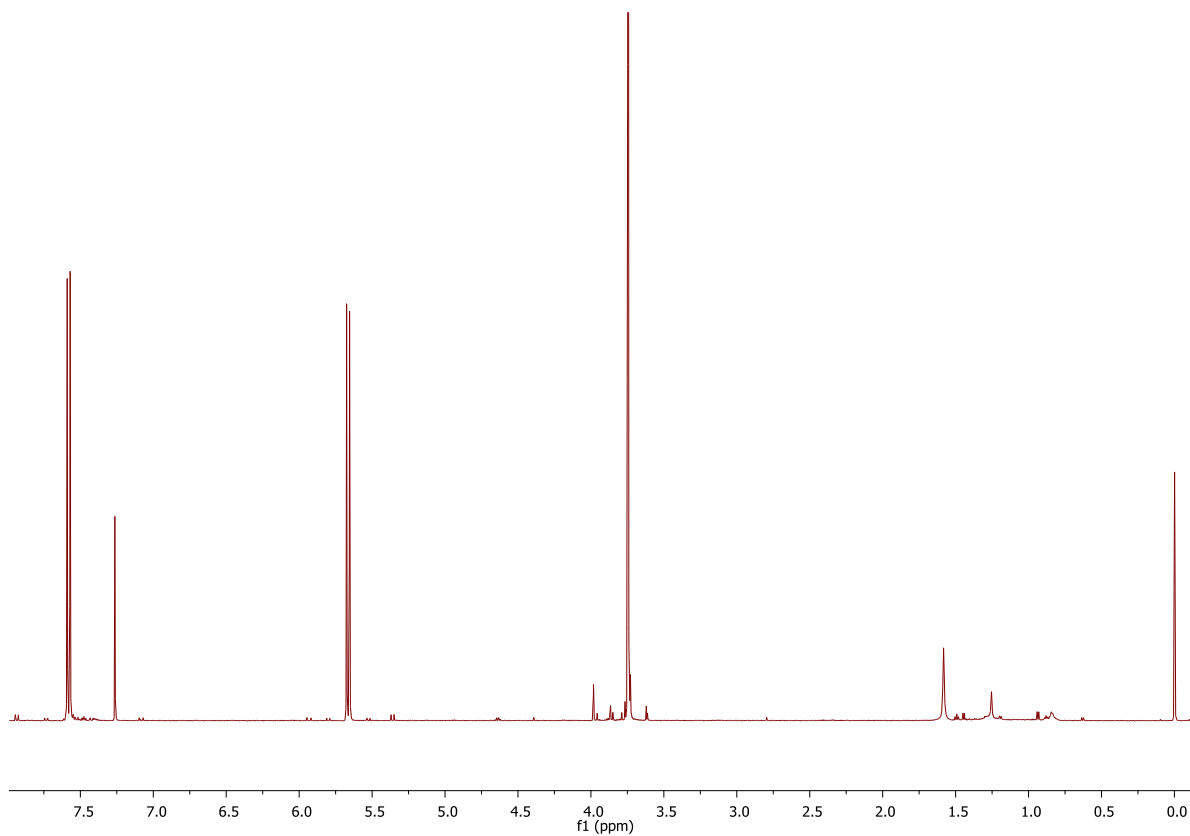


D2: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 1

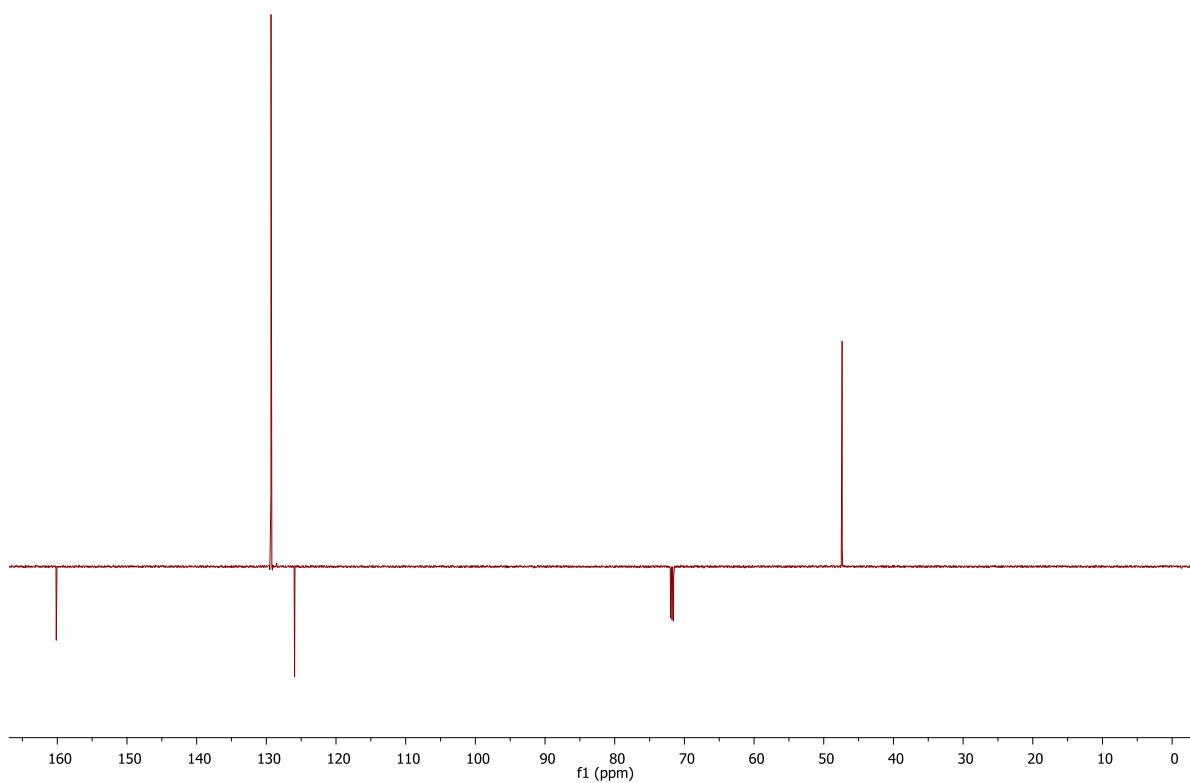
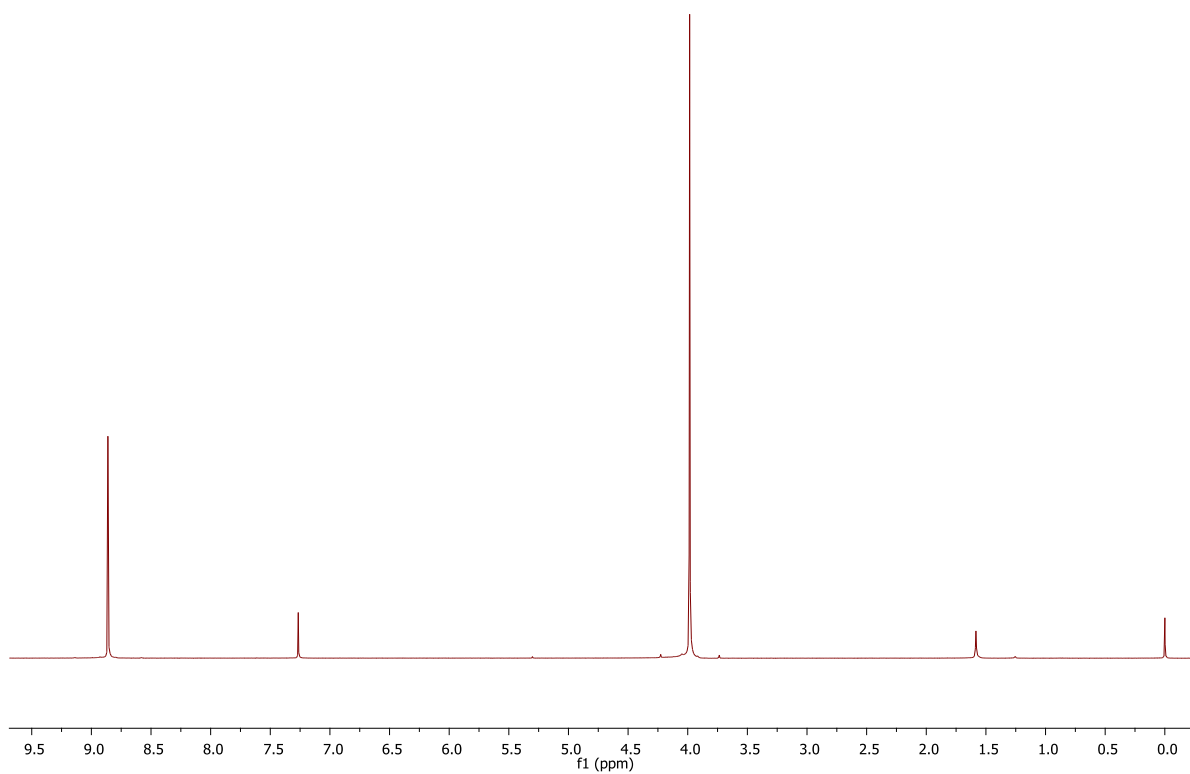
**D3: ESI-MS spektri spoja 2**



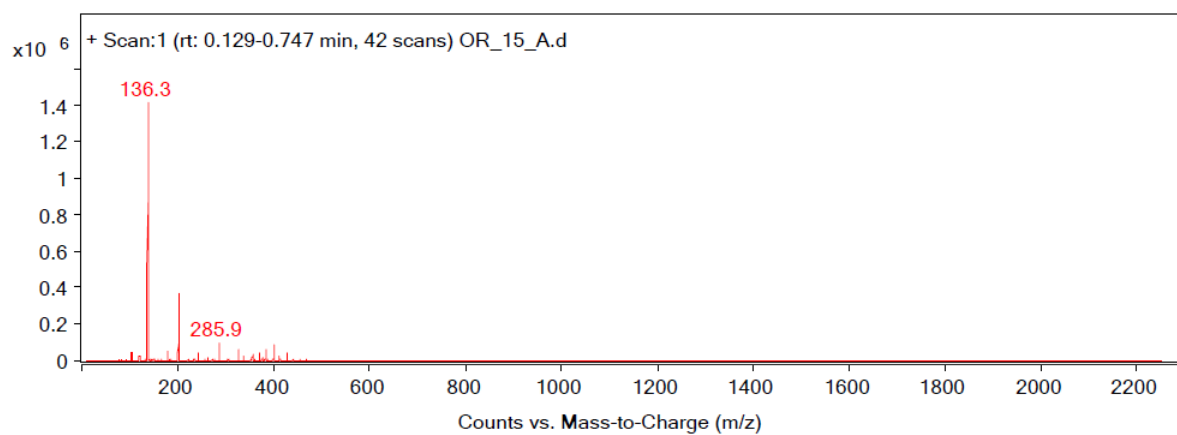
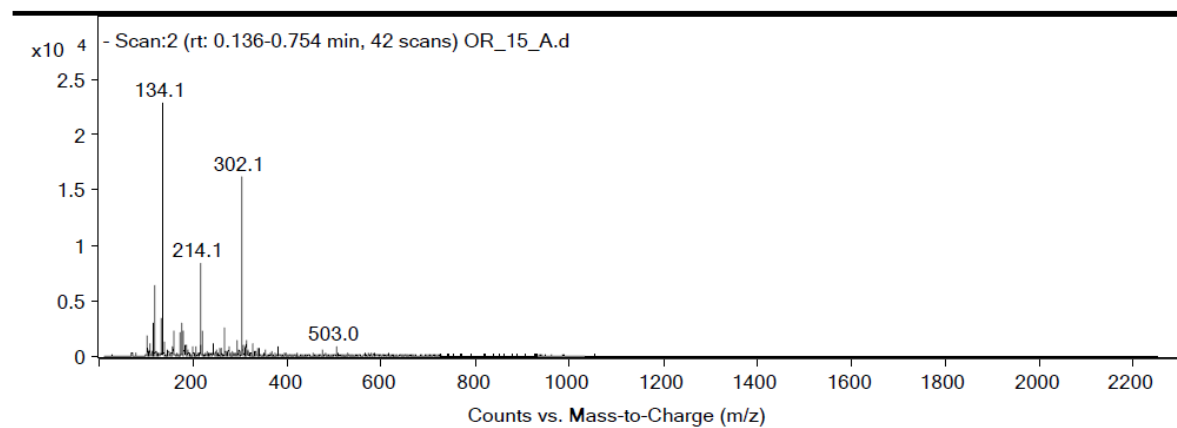
D4: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 2

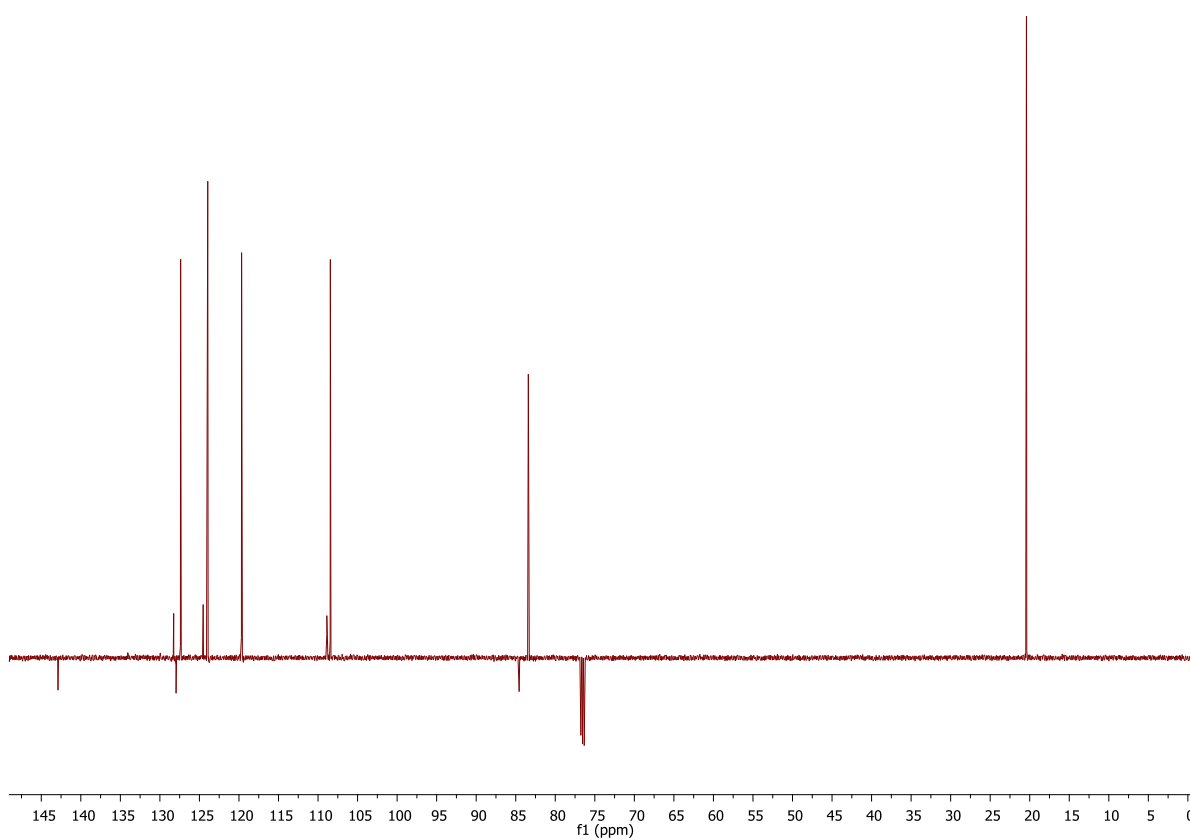
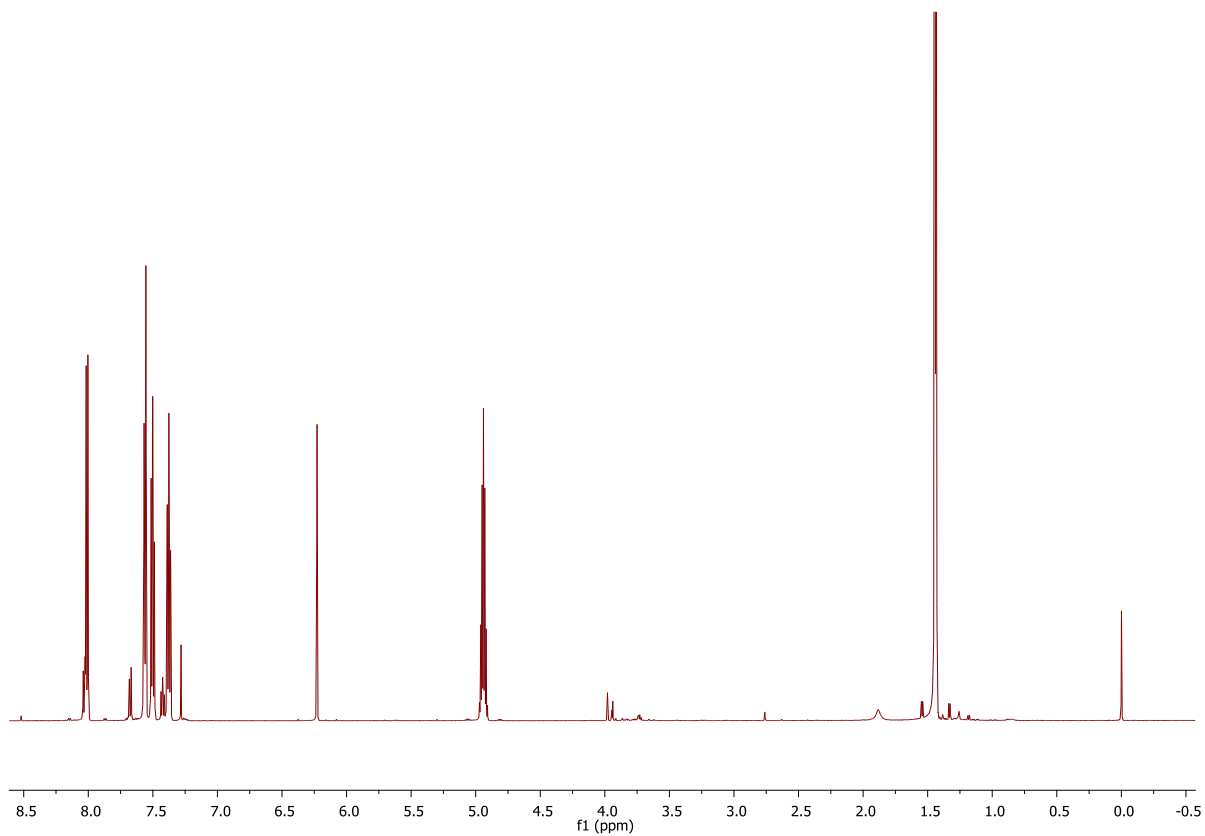


D5: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 3

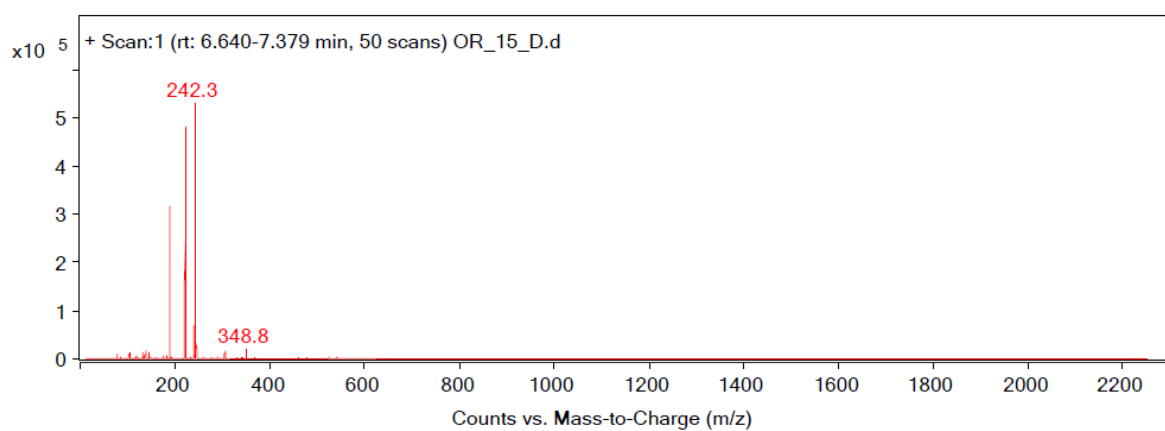
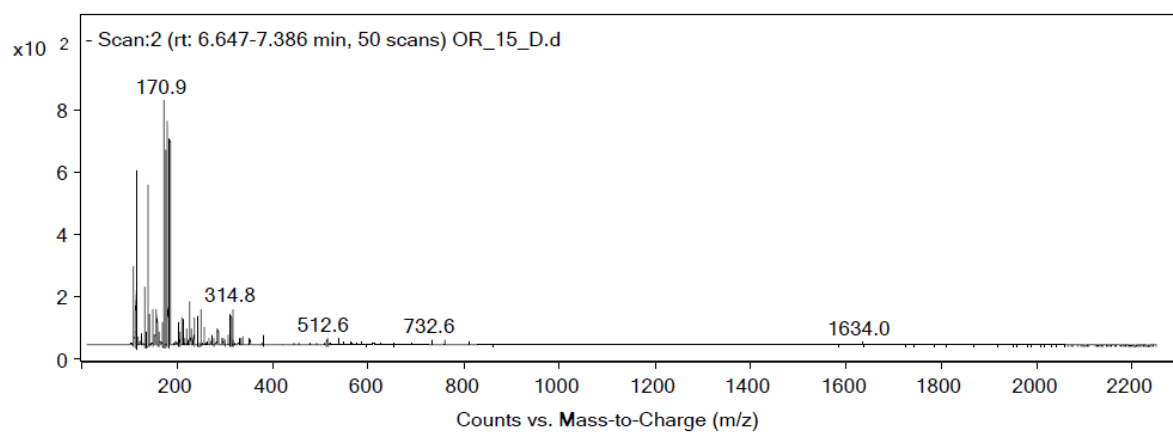


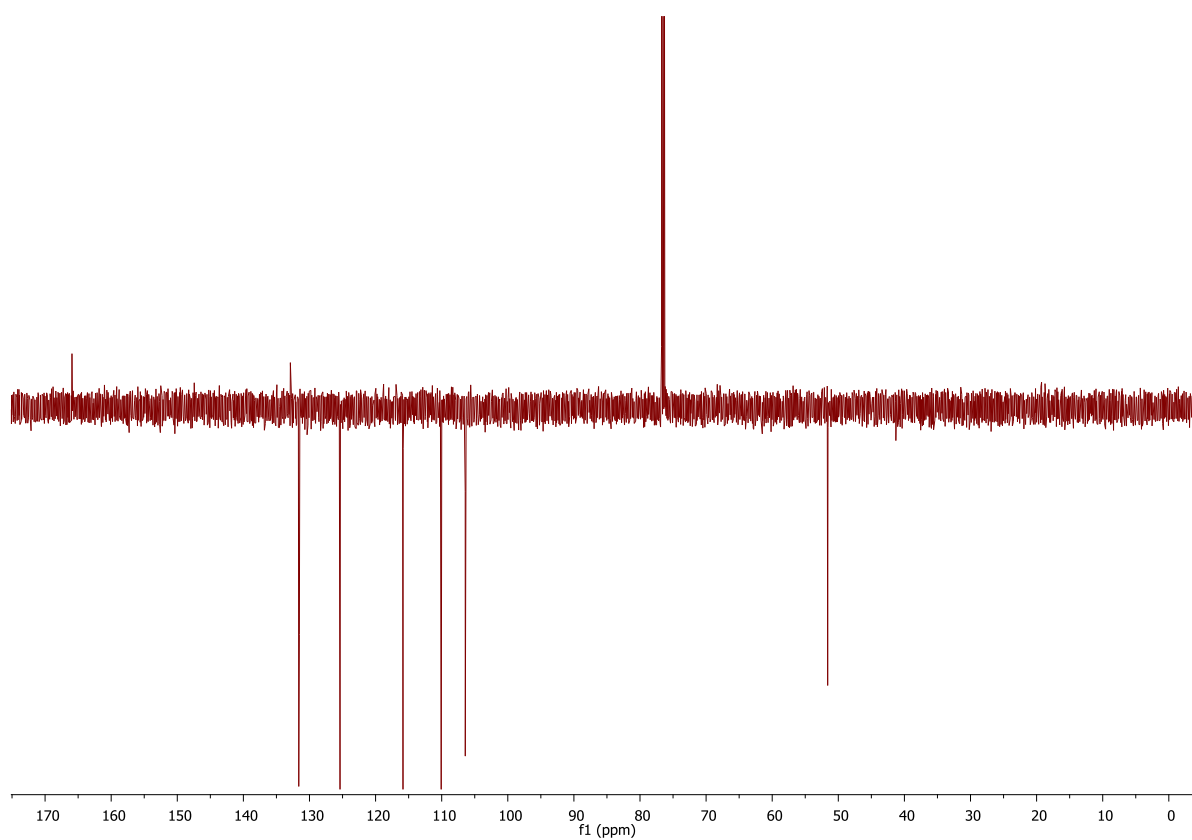
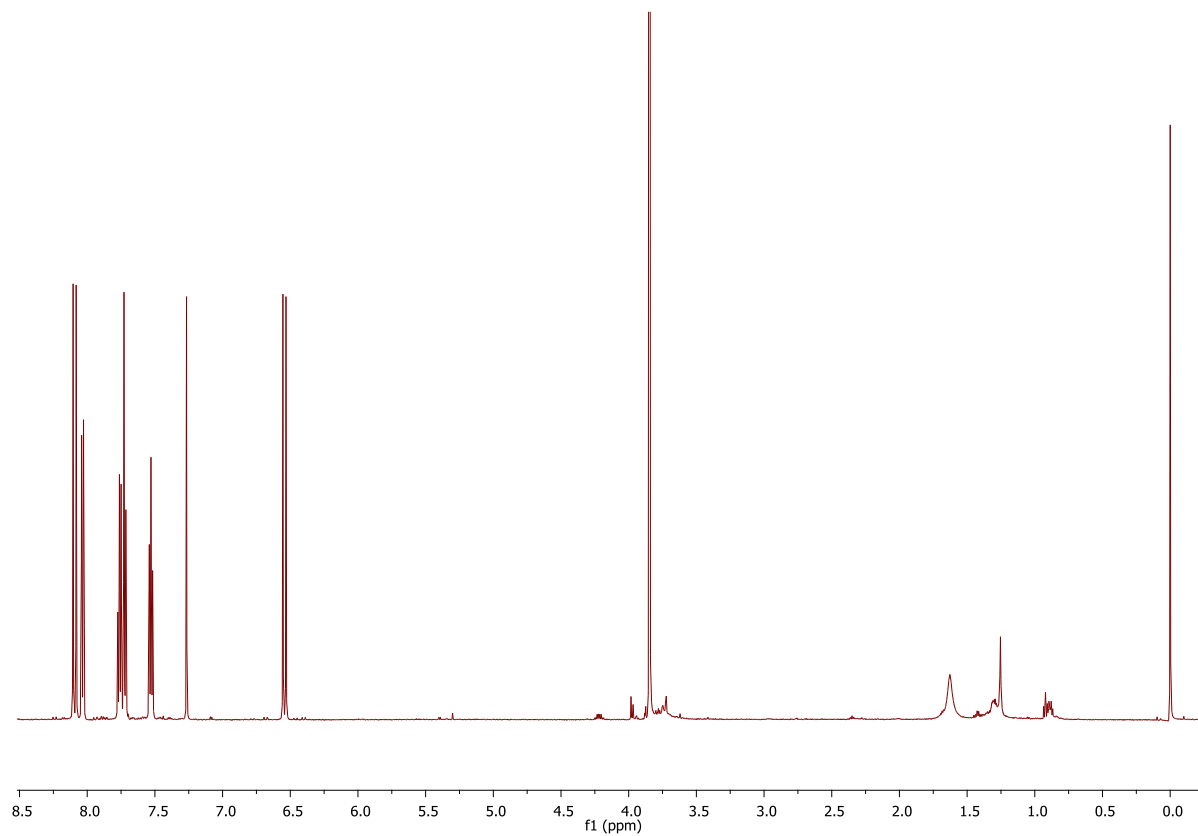
D6: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 4

**D7: ESI-MS spektri spoja (I)**

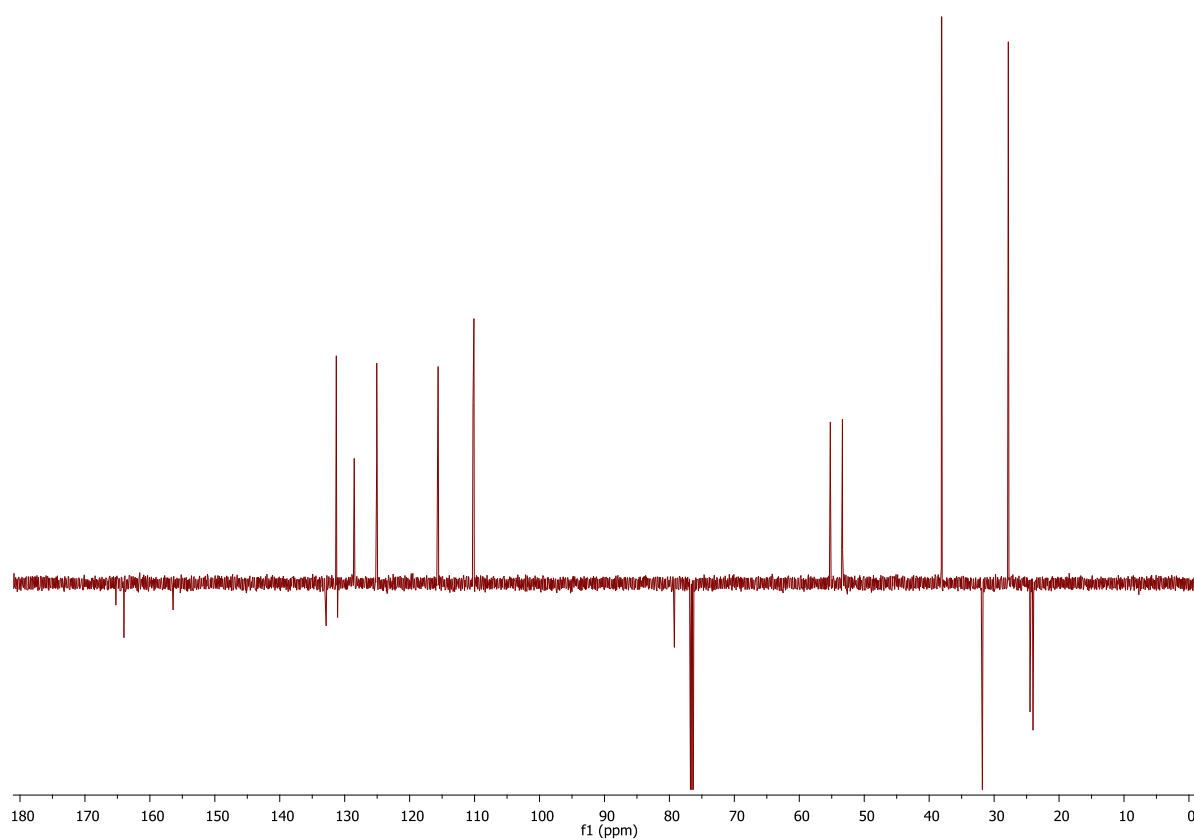
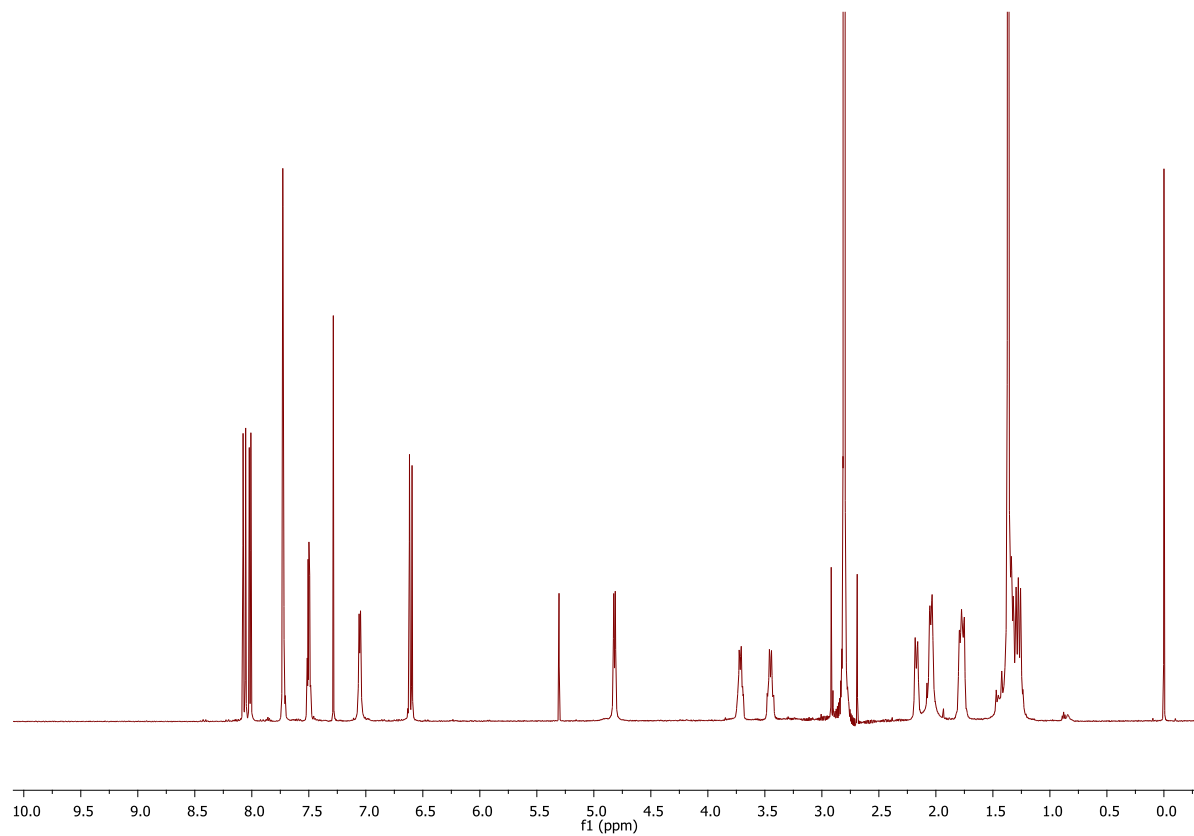


D8: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja (I)

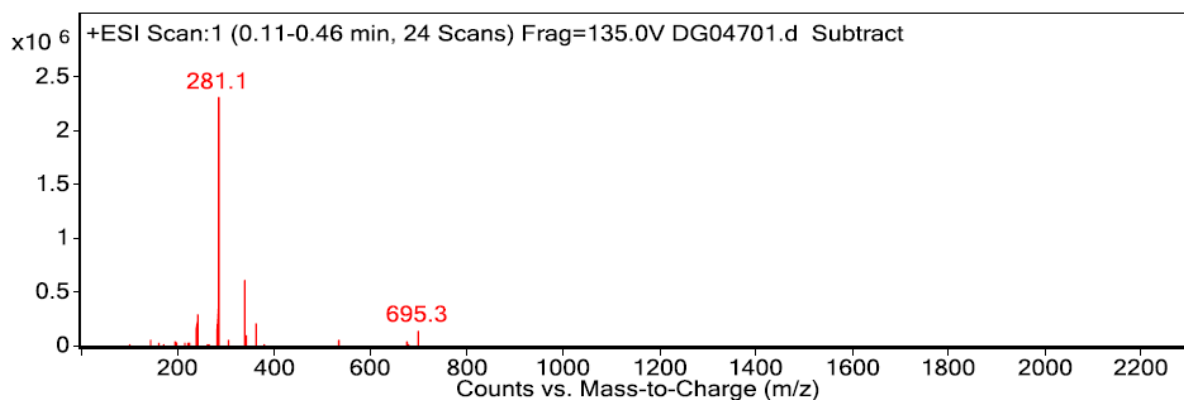
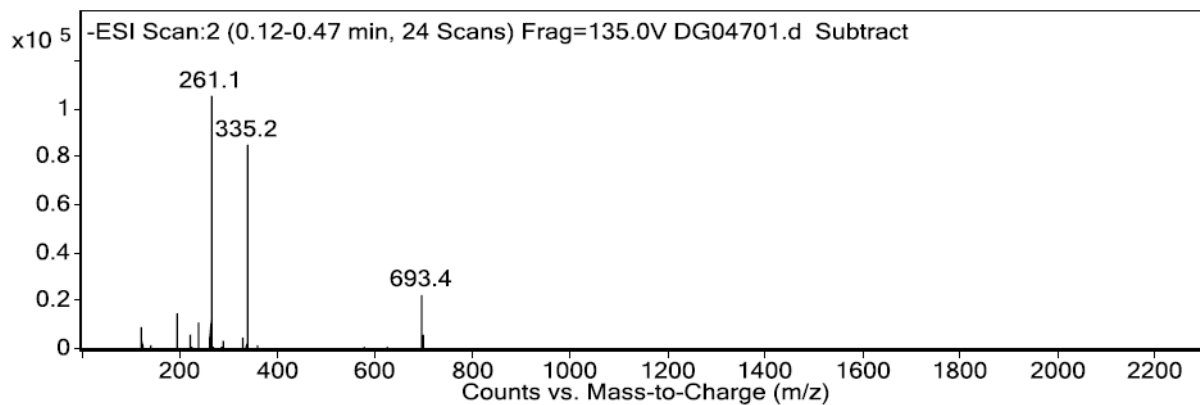
**D9: ESI-MS spektri spoja (II)**

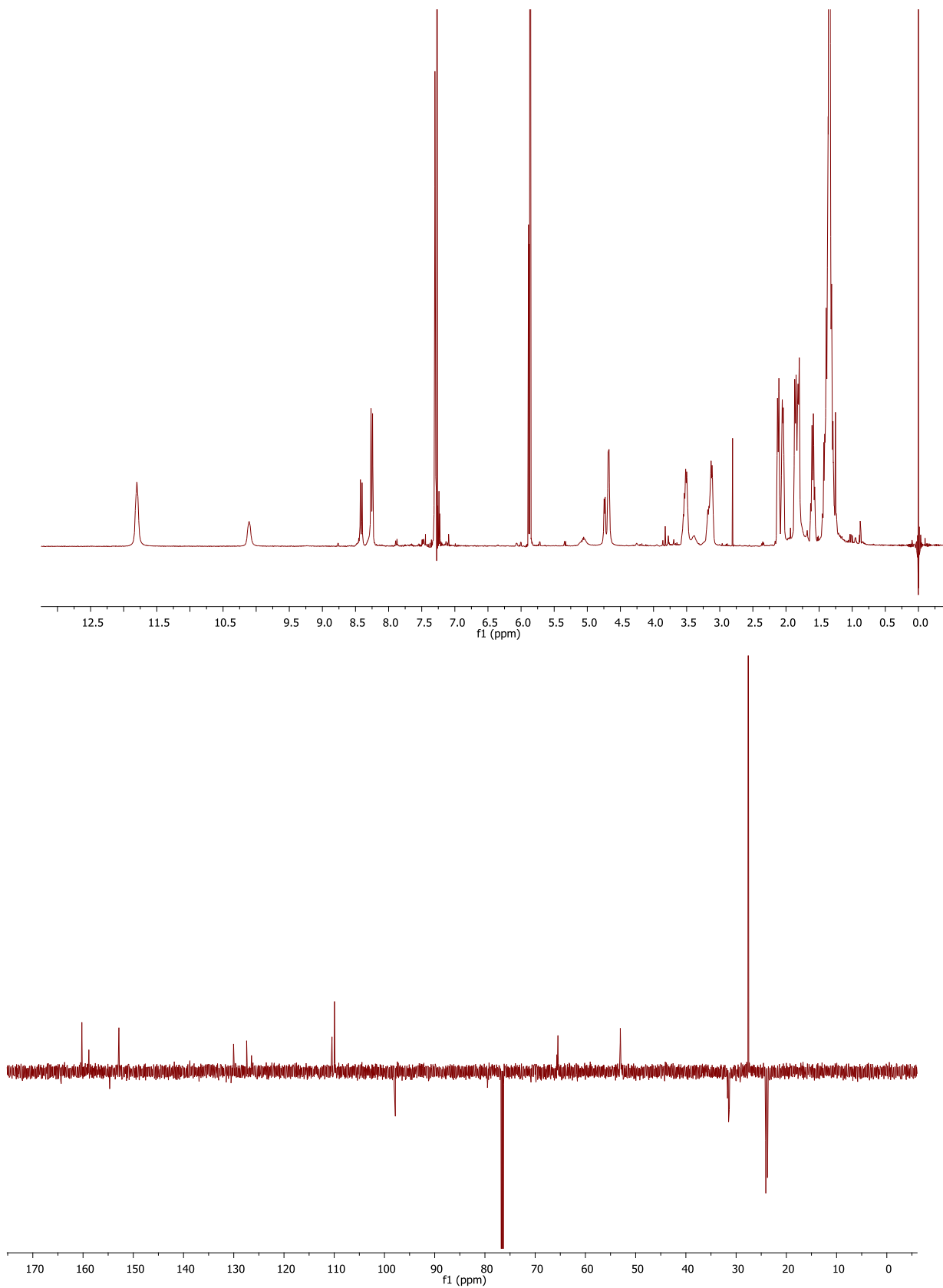


D10: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja (II)

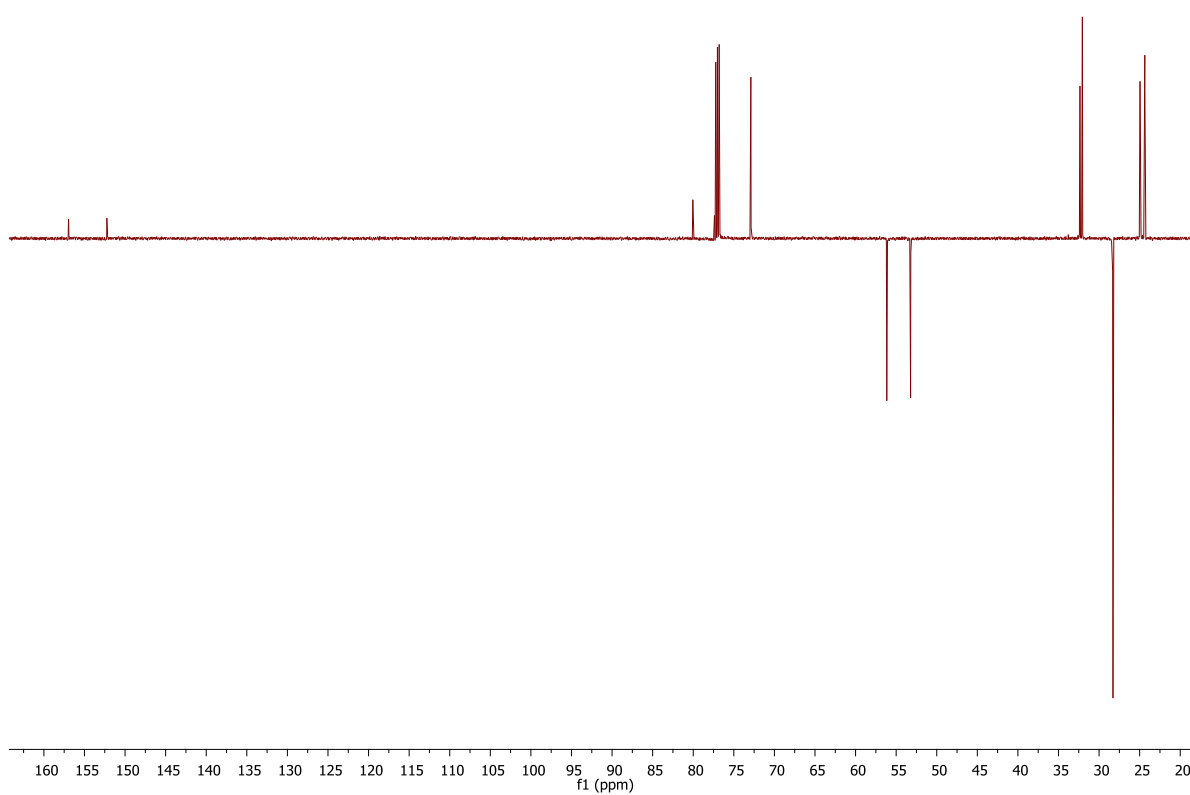
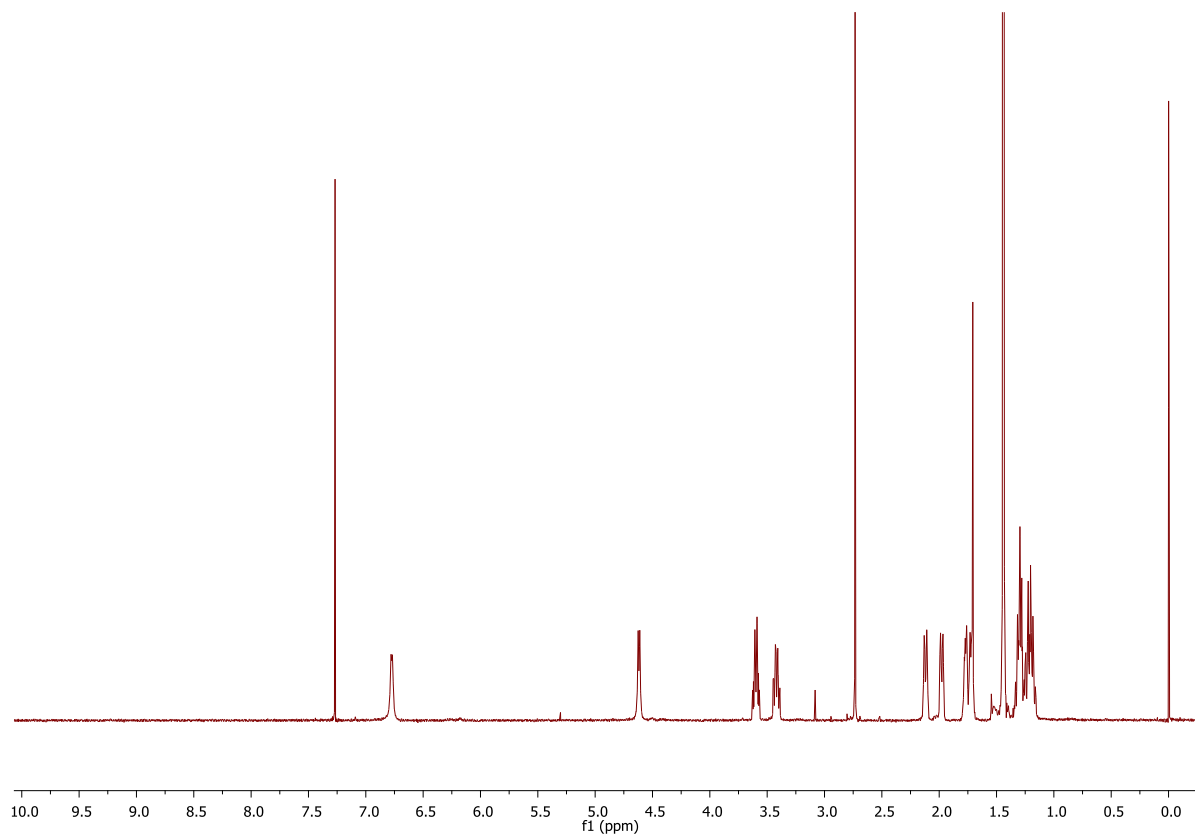


D11: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 5

**D12:** ESI-MS spektri spoja **6**



D13: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 6



D14: ^1H (gore) i APT (dolje) spektar spoja 7

§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Tomislav Gojšić

Datum rođenja: 4. rujna 1992.

Mjesto rođenja: Koprivnica

Obrazovanje

1999.–2007. Osnovna škola „Antun Nemčić Gostovinski“, Koprivnica

2007.–2011. Srednja škola Gimnazija „Fran Galović“, Koprivnica

2011.–2016. Preddiplomski studij Kemija, Prirodoslovno - matematički fakultet,
Zagrebačko sveučilište, Zagreb

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2014.–2019. Otvoreni dan kemije (Prirodoslovno - matematički fakultet)

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima

1. T. Gojšić, *Neočekivana reaktivnost triazola i propinske kiseline*, 6. simpozij studenata kemičara, Zagreb, 2019.

2. T. Gojšić, S. Opačak, B. Perić, S. Kirin, *Unexpected reactivity of propiolic acid and triazoles*, 8. simpozij mladih kemijskih inženjera, Zagreb, 2020.