

Dizajn i sinteza kvazienantiomernih derivata cinchona alkaloida

Ramić, Alma

Doctoral thesis / Disertacija

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:217:990304>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-05**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Alma Ramić

**DIZAJN I SINTEZA KVAZIENANTIOMERNIH
DERIVATA *CINCHONA* ALKALOIDA**

DOKTORSKI RAD

Mentorica:
prof. dr. sc. Ines Primožič

Zagreb, 2021.



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Alma Ramić

**DESIGN AND SYNTHESIS OF QUASI-ENANTIOMER
DERIVATIVES OF *CINCHONA* ALKALOIDS**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:
Prof. Ines Primožič, PhD

Zagreb, 2021

Zahvala

Ova je disertacija izrađena u Zavodu za organsku kemiju, pod vodstvom prof. dr. sc. Ines Primožič, u sklopu sveučilišnoga poslijediplomskog studija Kemije pri Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te u sklopu projekta IP-2016-06-3775 Aktivnošću i in silico usmjeren dizajn malih bioaktivnih molekula (voditelj T. Hrenar) Hrvatske zaklade za znanost.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ines Primožič na ukazanom povjerenju, odabiru teme, prenesenom znanju i pruženoj prilici za izradu ove disertacije.

Zahvaljujem dr. sc. Aniti Bosak, Jedinica za biokemiju i organsku analitičku kemiju Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, na određivanju inhibitornog potencijala spojeva prema kolinesterazama.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Mirjani Skočibušić, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu, na stručnoj pomoći i savjetima prilikom određivanja antimikrobne aktivnosti spojeva.

Sadržaj

SAŽETAK.....	VIII
ABSTRACT	IX
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Cinchona alkaloidi.....	3
2.1.1. <i>Struktura i svojstva.....</i>	<i>3</i>
2.1.2. <i>Biosinteza i sinteza Cinchona alkaloida</i>	<i>9</i>
2.2. Cinchona alkaloidi u sintezi i katalizi.....	15
2.2.1. <i>Rezolucija racemata stvaranjem diastereomernih soli</i>	<i>15</i>
2.2.2. <i>Cinchona alkaloidi kao kiralne stacionarne faze.....</i>	<i>18</i>
2.2.3. <i>Cinchona alkaloidi kao kiralni solvatirajući agensi</i>	<i>21</i>
2.2.4. <i>Cinchona alkaloidi kao kiralni katalizatori</i>	<i>23</i>
2.3. Biološka aktivnost Cinchona alkaloida	29
2.3.1. <i>Interakcija s mikrobnim agensima.....</i>	<i>29</i>
2.3.2. <i>Interakcija s kolinesterazama</i>	<i>32</i>
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	37
3.1. Opće napomene	37
3.2. Sinteza N-kvaternih derivata cinchonidina i cinchonina	39
3.2.1. <i>Opći postupak</i>	<i>39</i>
3.2.1.1. <i>Sinteza N-metilcinchonidinijevog jodida (1).....</i>	<i>39</i>
3.2.1.2. <i>Sinteza N-benzilcinchonidinijevog bromida (2).....</i>	<i>39</i>
3.2.1.3. <i>Sinteza N-(4-brombenzil)cinchonidinijevog bromida (3).....</i>	<i>40</i>
3.2.1.4. <i>Sinteza N-(4-metilbenzil)cinchonidinijevog bromida (4).....</i>	<i>40</i>
3.2.1.5. <i>Sinteza N-(4-nitrobenzil)cinchonidinijevog bromida (5)</i>	<i>41</i>
3.2.1.6. <i>Sinteza N-(4-klorbenzil)cinchonidinijevog bromida (6).....</i>	<i>41</i>
3.2.1.7. <i>Sinteza N-metilcinchoninijevog jodida (7).....</i>	<i>42</i>
3.2.1.8. <i>Sinteza N-benzilcinchoninijevog bromida (8).....</i>	<i>42</i>
3.2.1.9. <i>Sinteza N-(4-brombenzil)cinchoninijevog bromida (9).....</i>	<i>43</i>
3.2.1.10. <i>Sinteza N-(4-metilbenzil)cinchoninijevog bromida (10)</i>	<i>43</i>
3.2.1.11. <i>Sinteza N-(4-nitrobenzil)cinchoninijevog bromida (11)</i>	<i>44</i>
3.2.1.12. <i>Sinteza N-(4-klorbenzil)cinchoninijevog bromida (12).....</i>	<i>44</i>
3.2.2. <i>Opći postupak</i>	<i>45</i>

3.2.2.1.	Sinteza N-(2-fluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (13)	45
3.2.2.2.	Sinteza N-(3-fluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (14)	45
3.2.2.3.	Sinteza N-(4-fluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (15)	46
3.2.2.4.	Sinteza N-(3-trifluormetilbenzil)cinchonidinijevog bromida (16).....	46
3.2.2.5.	Sinteza N-(4-trifluormetilbenzil)cinchonidinijevog bromida (17).....	47
3.2.2.6.	Sinteza N-(3,5-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (18)	47
3.2.2.7.	Sinteza N-(3,4-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (19)	48
3.2.2.8.	Sinteza N-(2,3-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (20)	49
3.2.2.9.	Sinteza N-(2,4-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (21)	49
3.2.2.10.	Sinteza N-(2,6-difluorobenzil)cinchonidinijevog bromida (22)	50
3.2.2.11.	Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)cinchonidinijevog bromida (23)	50
3.2.2.12.	Sinteza N-(4-trifluorometoksibenzil)cinchonidinijevog bromida (24)	51
3.2.2.13.	Sinteza N-(2-fluor-6-trifluormetilbenzil)cinchonidinijevog bromida (25).....	51
3.2.2.14.	Sinteza N-(2-fluor-4-brombenzil)cinchonidinijevog bromida (26)	52
3.2.2.15.	Sinteza N-(2-klor-6-fluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (27)	52
3.2.2.16.	Sinteza N-(2-fluorbenzil)cinchoninijevog bromida (28)	53
3.2.2.17.	Sinteza N-(3-fluorbenzil)cinchoninijevog bromida (29)	53
3.2.2.18.	Sinteza N-(4-fluorobenzil)cinchoninijevog bromida (30)	54
3.2.2.19.	Sinteza N-(3-trifluormetilbenzil)cinchoninijevog bromida (31).....	55
3.2.2.20.	Sinteza N-(4-trifluormetilbenzil)cinchoninijevog bromida (32).....	55
3.2.2.21.	Sinteza N-(3,5-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (33)	56
3.2.2.22.	Sinteza N-(3,4-diflorobenzil)cinchoninijevog bromida (34)	56
3.2.2.23.	Sinteza N-(2,3-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (35)	57
3.2.2.24.	Sinteza N-(2,4-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (36)	57
3.2.2.25.	Sinteza N-(2,6-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (37)	58
3.2.2.26.	Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)cinchoninijevog bromida (38)	58
3.2.2.27.	Sinteza N-(4-trifluormetoksibenzil)cinchoninijevog bromida (39)	59
3.2.2.28.	Sinteza N-(2-fluor-6-trifluormetilbenzil)cinchoninijevog bromida (40)	59
3.2.2.29.	Sinteza N-(2-fluor-4-brombenzil)cinchoninijevog bromida (41)	60
3.2.2.30.	Sinteza N-(2-klor-6-fluorbenzil)cinchoninijevog bromida (42)	60
3.3.	Sinteza 10,11-dihidrocinchonidina i cinchonina	61
3.3.1.	Opći postupak	61
3.3.1.1.	Sinteza 10,11-dihidrocinchonidina (43).....	61
3.3.1.2.	Sinteza 10,11-dihidrocinchonina (44).....	61
3.4.	Sinteza N-kvaternih derivata 10,11-dihidrocinchonidina i cinchonina	62
3.4.1.	Opći postupak	62

3.4.1.1.	Sinteza N-benzil-10,11-dihidrocinhonidinijevog bromida (45).....	62
3.4.1.2.	Sinteza N-(3-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (46).....	63
3.4.1.3.	Sinteza N-(4-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (47).....	63
3.4.1.4.	Sinteza N-(3-trifluormetilbenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (48).....	63
3.4.1.5.	Sinteza N-(4-trifluormetilbenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (49).....	64
3.4.1.6.	Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (50).....	64
3.4.1.7.	Sinteza N-(4-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (51).....	65
3.4.1.8.	Sinteza N-benzil-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (52).....	65
3.4.1.9.	Sinteza N-(3-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (53).....	66
3.4.1.10.	Sinteza N-(4-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (54).....	66
3.4.1.11.	Sinteza N-(3-trifluormetilbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (55).....	67
3.4.1.12.	Sinteza N-(4-trifluormetilbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (56).....	67
3.4.1.13.	Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (57).....	68
3.4.1.14.	Sinteza N-(4-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (58).....	68
3.5.	Sinteza 9-O-karbamata cinhonidina.....	69
3.5.1.	Opći postupak.....	69
3.5.1.1.	Sinteza 9-(N-fenilkarbamoiloksi)cinhonidina (59).....	69
3.5.1.2.	Sinteza 9-(N-cikloheksilkarbamoiloksi)cinhonidina (60).....	69
3.5.1.3.	Sinteza 9-(N-etilkarbamoiloksi)cinhonidina (61).....	70
3.5.1.4.	Sinteza 9-(N-fenilkarbamoiloksi)cinhonina (62).....	70
3.5.1.5.	Sinteza 9-(N-cikloheksilkarbamoiloksi)cinhonina (63).....	71
3.5.2.	Opći postupak.....	71
3.5.2.1.	Sinteza 9-(N, N'-dimetilkarbamoiloksi)cinhonidina (64).....	71
3.5.2.2.	Sinteza 9-(N, N'-dietilkarbamoiloksi)cinhonidina (65).....	72
3.5.2.3.	Sinteza 9-(N, N'-difenilkarbamoiloksi)cinhonidina (66).....	72
3.5.2.4.	Sinteza 9-(N, N'-dimetilkarbamoiloksi)cinhonina (67).....	73
3.5.2.5.	Sinteza 9-(N, N'-dietilkarbamoiloksi)cinhonina (68).....	73
3.6.	Sinteza cinhonidin-9-ketona (69).....	74
3.7.	Sinteza 9-hidroksiiminocinhonidina (70).....	74
3.8.	Sinteza kvaternih derivata 9-hidroksiiminocinhonidina.....	75
3.8.1.	Opći postupak.....	75
3.8.1.1.	Sinteza N-metil-9-hidroksiilimino-cinhonidinijevog jodida (71).....	75
3.8.1.2.	Sinteza N-benzil-9-hidroksiilimino-cinhonidinijevog jodida (72).....	76
3.9.	Određivanje antimikrobnog potencijala spojeva.....	76
3.9.1.	Reagensi, mediji i bakterijske kulture.....	76
3.9.2.	Metoda difuzije na disku.....	76

3.10. Određivanje antiproliferativne aktivnosti	77
3.10.1. <i>Reagensi, mediji i stanične linije.....</i>	<i>77</i>
3.10.2. <i>Određivanje antiproliferativne aktivnosti spojeva</i>	<i>77</i>
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	78
4.1. Dizajn novih derivata <i>Cinchona</i> alkaloida.....	78
4.2. Sinteza kvaternih derivata cinchonidina i cinchonina	79
4.3. Sinteza 10,11-derivata cinchonidina i cinchonina i njihovih <i>N</i>-kvaternih derivata	85
4.4. Sinteza cinchonidin i cinchonin <i>C-9-O</i>-karbamata.....	87
4.5. Sinteza cinchona-9-oksima.....	89
4.6. Konformacijska analiza.....	92
4.7. Biološka aktivnost spojeva	98
4.7.1. <i>Antimikrobna aktivnost</i>	<i>98</i>
4.7.2. <i>Inhibicijski potencijal prema kolinesterazama</i>	<i>100</i>
4.7.3. <i>Antiproliferativna aktivnost</i>	<i>104</i>
§ 5. ZAKLJUČAK	106
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	109
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	110
§ 8. ŽIVOTOPIS	X



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

DIZAJN I SINTEZA KVAZIENANTIOMERNIH DERIVATA *CINCHONA* ALKALOIDA

Alma Ramić

Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb

Pripravljena je knjižnica od 72 derivata kvazienantiomera cinhonidina i cinhonina. Redukcijom vinilne skupine pripremljeni su 10,11-dihidrocinhonidin i 10,11-dihidrocinhonin koji su iskorišteni zajedno s cinhonidinom i cinhoninom za sintezu *N*-kvaternih derivata (ukupno 58 spojeva). Nadalje, pripremljeni su monosupstituirani (*N*-etil, *N*-cikloheksil i *N*-fenil) i disupstituirani (*N,N*-dimetil, *N,N*-dietil i *N,N*-difenil) C9 karbamati (serija od 10 spojeva). Oksidacijom C9 hidroksilne skupine pripremljen je keton koji je preveden u ketoksim i kvaterniziran u *N*-metilni i *N*-benzilni derivat. Svim pripremljenim spojevima od kojih 22 do sada nisu opisani u literaturi, struktura je dokazana standardnim analitičkim metodama, a primijenjena je spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije za studij konformera spojeva u otopini. Testirani derivati pokazali su umjeren do snažan antibiotski potencijal na reprezentativnom panelu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija te su identificirani derivati s inhibicijskim potencijalom prema kolinesterazama. Spojevi odabrani za testiranje nisu pokazali toksičan utjecaj na proliferaciju HEK 293T i HeLa staničnih linija.

(113 stranica, 33 slike, 29 shema, 10 tablica, 110 literaturnih navoda, jezik izvornika:
hrvatski)

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

Ključne riječi: cinhonidin/cinhonin/*N*-kvaterni derivati/karbamati/oksim/biološka aktivnost

Mentorica: prof. dr. sc. Ines Primožič

Rad prihvaćen: 30. lipnja 2021.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Snežana Miljanić
2. dr. sc. Dijana Pešić, v. zn. sur.
3. dr. sc. Maja Majerić Elenkov, v. zn. sur.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

DESIGN AND SYNTHESIS OF QUASI-ENANTIOMERIC DERIVATIVES OF CINCHONA ALKALOIDS

Alma Ramić

Faculty of Science, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb

A library of 72 derivatives of quasienantiomers cinchonidine and cinchonine was prepared. Reduction of vinyl group resulted in 10, 11-dihydrocinchonidine and 10, 11-dihydrocinchonine which were used together with cinchonidine and cinchonine as starting material for the preparation of *N*-quaternary derivatives (total of 58 compounds). Furthermore, monosubstituted (*N*-ethyl, *N*-phenyl and *N*-cyclohexyl) and disubstituted (*N,N*-dimethyl, *N,N*-diethyl and *N,N*-diphenyl) C9-carbamates were prepared (total of 10 compounds). Oxidation of C9-hydroxyl group yielded a ketone which was further converted to ketoxime and quaternized into *N*-methyl and *N*-benzyl derivatives. For all prepared compounds, 22 of which have not been described in the literature so far, the structure was determined by standard analytical methods. Nuclear magnetic resonance spectroscopy was applied to study the conformers of the compounds in solution. The tested derivatives showed moderate to strong antibiotic potential on a representative panel of Gram-positive and Gram-negative bacteria, and derivatives with cholinesterase inhibitory potential were identified. Selected compounds showed no toxic effect on the proliferation of HEK 293T and HeLa cell lines.

(113 pages, 33 figures, 29 schemes, 10 tables, 110 references, original in Croatian)

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

Keywords: cinchonidine/cinchonine/*N*-quaternary derivatives/oxime/carbamates/bioactivity

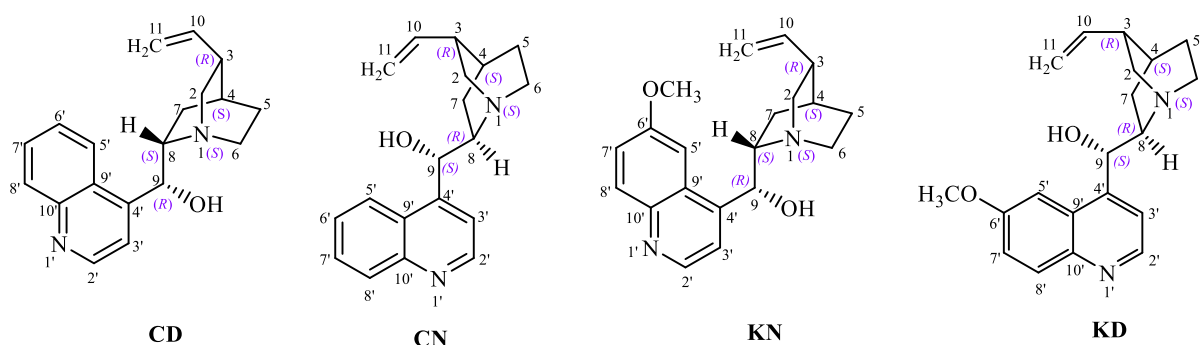
Supervisor: Dr. Ines Primožič, Professor

Thesis accepted: June 30, 2021

Reviewers: Dr. Prof. Snežana Miljanić, Professor
Dr. Dijana Pešić, Senior Research Associate
Dr. Maja Majerić Elenkov, Senior Research Associate

§ 1. UVOD

Cinhonidin (CD) i cinhonin (CN), uz kinin (KN) i kinidin (KD) slika 1, najpoznatiji su predstavnici *Cinchona* alkaloida koji se nalaze u određenim biljnim vrstama iz obitelji *Rubiaceae*: *Cinchona succirubra*, *Cinchona officinalis*, *Cinchona calysaya* i *Cinchona ledgeria*.¹ *Cinchona* alkaloidi poznati su od davnina budući da se kinin koristio kao učinkovit lijek protiv malarije.² U svojoj strukturi sadrže alifatski kinuklidinski i aromatski kinolinski prsten koji su međusobno povezani hidroksimetilnom skupinom. Sadrže pet stereogenih centara (N-1, C-3, C-4, C-8 i C-9), tri su jednake konfiguracije u navedenim alkaloidima (N-1, C-3 i C-4), dok je stereokemija ostala dva stereocentra (C-8 i C-9) različita u parovima spojeva cinhonidin/cinhonin odnosno kinin/kinidin.



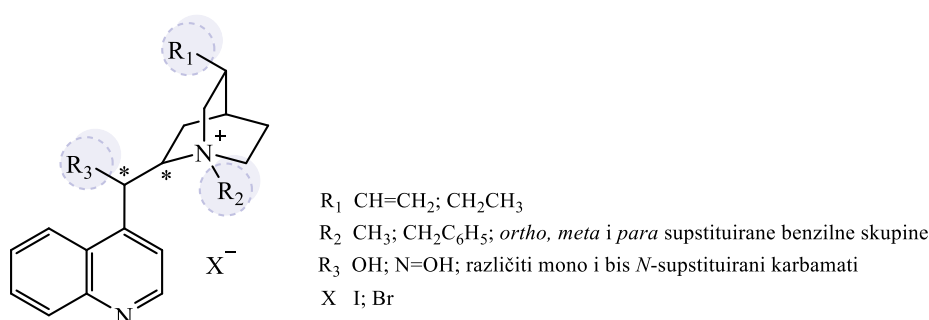
Slika 1. Struktura, apsolutna konfiguracija i numeracija atoma cinchonidina (CD), cinchonina (CN), kinina (KN) i kinidina (KD).

U stereoselektivnim reakcijama dijastereomerni parovi često se ponašaju kao enantiomeri te se zbog toga nazivaju kvazienantiomerima. Molekule cinchonidina i cinchonina sadrže nekoliko pogodnih mjesta za derivatizaciju: kinuklidinski i kinolinski atom dušika, vinilnu i hidroksilnu skupinu te aromatski kinolinski prsten. Polazni alkaloidi dostupni su u zadovoljavajućoj čistoći te je u literaturi opisan velik broj različitih derivata ovih alkaloida. Veliku popularnost stekli su 80-tih godina 20. stoljeća kada ih je K. Barry Sharpless upotrijebio kao učinkovite stereoselektivne katalizatore faznog prijelaza (engl. *phase transfer catalysts*, PTC) za asimetričnu epoksidaciju alilnih alkohola i za to otkriće između ostalog podijelio Nobelovu nagradu 2001. godine.³ Derivati *Cinchona* alkaloida opsežno su se istraživali kao PTC u skoro svim klasama reakcija, a svoju upotrebu pronašli su i kao kiralne stacionarne faze (engl. *chiral stationary phase*, CSP) u analitičkoj kemiji za odvajanje pretežno kiselih analita.⁴ Njihovi derivati također pokazuju različitu biološku aktivnost, što ne iznenađuje s obzirom da je kinin

poznati antimalarik. Nadalje, ovi alkaloidi u strukturi sadrže dvije farmakoforne jezgre: kinuklidinski i kinolinski prsten koji su dio mnogih terapeutika.

Cilj ovog rada je priprava knjižnice različitih derivata cinchonidina i njegovog kvazienantiomera cinhonina radi određivanja njihovog bioaktivnog potencijala.

Pripravljene su serije *N*-kvaternih derivata i C-9-*O*-karbamata cinchonidina i cinhonina, 10,11-dihidrocinchonidin i 10,11-dihidrocinhonin i njihove *N*-kvaternalne soli te C-9-oksima i njegovi *N*-metilni i *N*-benzilni kvaternalni derivati, slika 2. *N*-kvaternalni derivati sintetizirani su alkiliranjem kinuklidinskog atoma dušika s metilnom skupinom te s benzilnom skupinom čija svojstva su mijenjana uvođenjem supstituenata različite veličine i elektronskih svojstava u *ortho* (*o*), *meta* (*m*) i/ili *para* (*p*) položaj. Karbamoilacijom C9 hidroksilne skupine pripremljeni su C-9-*O*-karbamati s mono- i disupstituiranim karbamatnim atomom dušika. Oksidacijom C9 hidroksilne skupine cinchonidina sintetiziran je cinchonidin-9-ke-ton koji je preveden u cinchonidin-9-oksima. Kinuklidinski atom dušika oksima kvaterniziran je s metilnom ili benzilnom skupinom u odgovarajuće *N*-kvaternalne derivate.



Slika 2. Opće strukturne formule sintetiziranih spojeva, derivata cinchonidina (8*S*, 9*R*) i cinhonina (8*R*, 9*S*).

Struktura spojeva određena je i potvrđena infracrvenom spektroskopijom (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*, FTIR), 1D i 2D ¹H i ¹³C spektroskopijom nuklearne magnetske rezonance (engl. *nuclear magnetic resonance*, NMR) i spektroskopijom masa visoke rezolucije (engl. *high resolution mass spectrometry*, HRMS). Ispitan je antimikrobni potencijal odabranih *N*-kvaternalnih derivata cinchonidina i cinhonina prema reprezentativnom panelu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, zatim njihov antiproliferativni učinak na stanične linije HEK 293T i HeLa te inhibički potencijal pripremljenih spojeva prema enzimima AChE (E.C. 3.1.1.7.) i BChE (E.C. 3.1.1.8.).

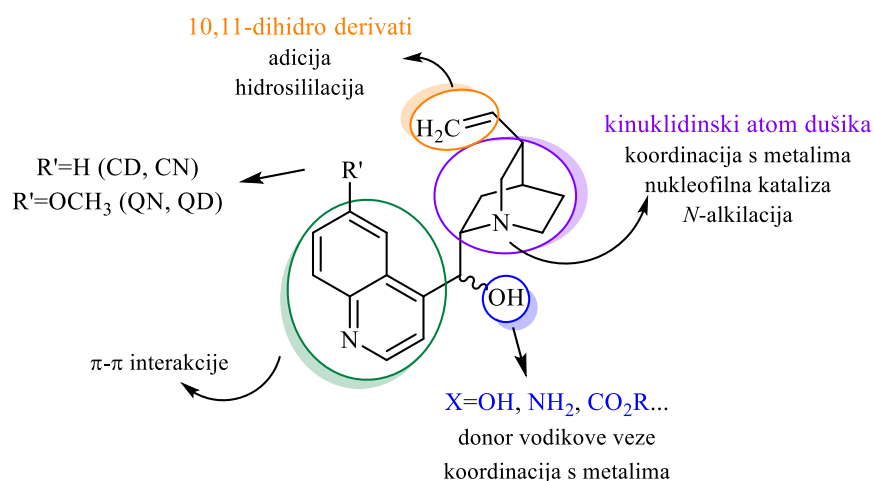
§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. *Cinchona* alkaloidi

2.1.1. *Struktura i svojstva*

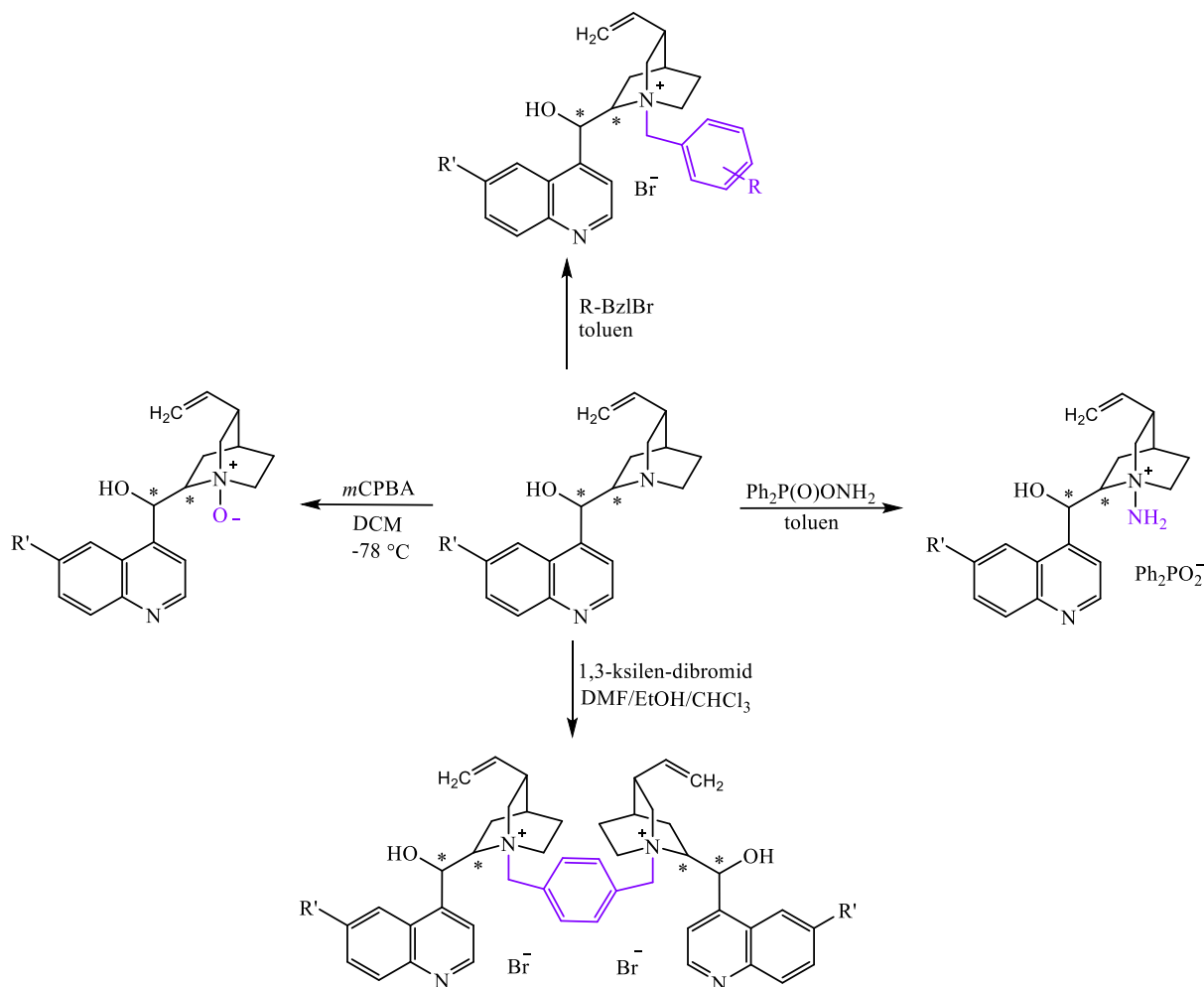
Cinchona alkaloidi se nalaze u kori drveta kininovca (vrsta *Cinchona officinalis*, porodica *Rubiaceae*) i poznati su od davnina kada su se koristili kao lijek za malariju. Najpoznatiji *Cinchona* alkaloidi su kinin, kinidin, cinchonin i cinchonidin, slika 1, te njihovi 10,11-dihidro derivati. 1853. godine Pasteur je uspješno razdvojio racemičnu vinsku kiselinu pomoću derivata alkaloida te započeo eru rezolucije racemičnih smjesa kristalizacijom diastereomernih soli.⁵ Najpoznatiji *Cinchona* alkaloidi su kiralni prirodni spojevi koji se mogu izolirati u komercijalnim količinama a njihova najveća prednost je dostupnost više od jednog kvazienantiomera. Wyberg i suradnici su pokazali da ovi alkaloidi mogu biti vrlo učinkoviti katalizatori u enantioselektivnim transformacijama raznih supstrata.⁶ Danas se *Cinchona* alkaloidi smatraju privilegiranim katalizatorima budući da kataliziraju širok spektar organskih reakcija s visokom stereoselektivnošću.⁷

Cinchona alkaloidi posjeduju vrlo zanimljiv strukturni kostur koji se relativno jednostavno može kemijski modificirati. Molekula alkaloida može se podijeliti na tri podjedinice: alifatski kinuklidinski prsten s vinilnim supstituentom, aromatski kinolinski prsten te hidroksilnu skupinu, slika 3. Imaju i zanimljivu stereokemiju, jer posjeduju pet stereogenih centara: N1, C3, C4, C8 i C9. Apsolutna konfiguracija u C8 i C9 atomima je suprotne apsolutne konfiguracije u kvazienantiomernim parovima KN/KD i CN/CD. Po definiciji IUPAC-a, kvazienantiomeri su konstitucijski stereoizomeri različite, ali blisko povezane kemijske strukture MX i MY koje imaju suprotnu kiralnost, a dio su veće kiralne strukture M.⁸ Ovi spojevi su diastereomeri, npr. CD i CN se razlikuju u načinu pakiranja kristalne rešetke i imaju drugačiju topljivost. Međutim, u interakcijama s kiralnim materijalom često se ponašaju kao enantiomeri i u stereoselektivnim reakcijama kataliziraju nastanak suprotnih enantiomera. Zbog toga se nazivaju kvazienantiomerima.



Slika 3. Reaktivna mjesta i moguće interakcije s drugim molekulama u molekulama *Cinchona* alkaloida.

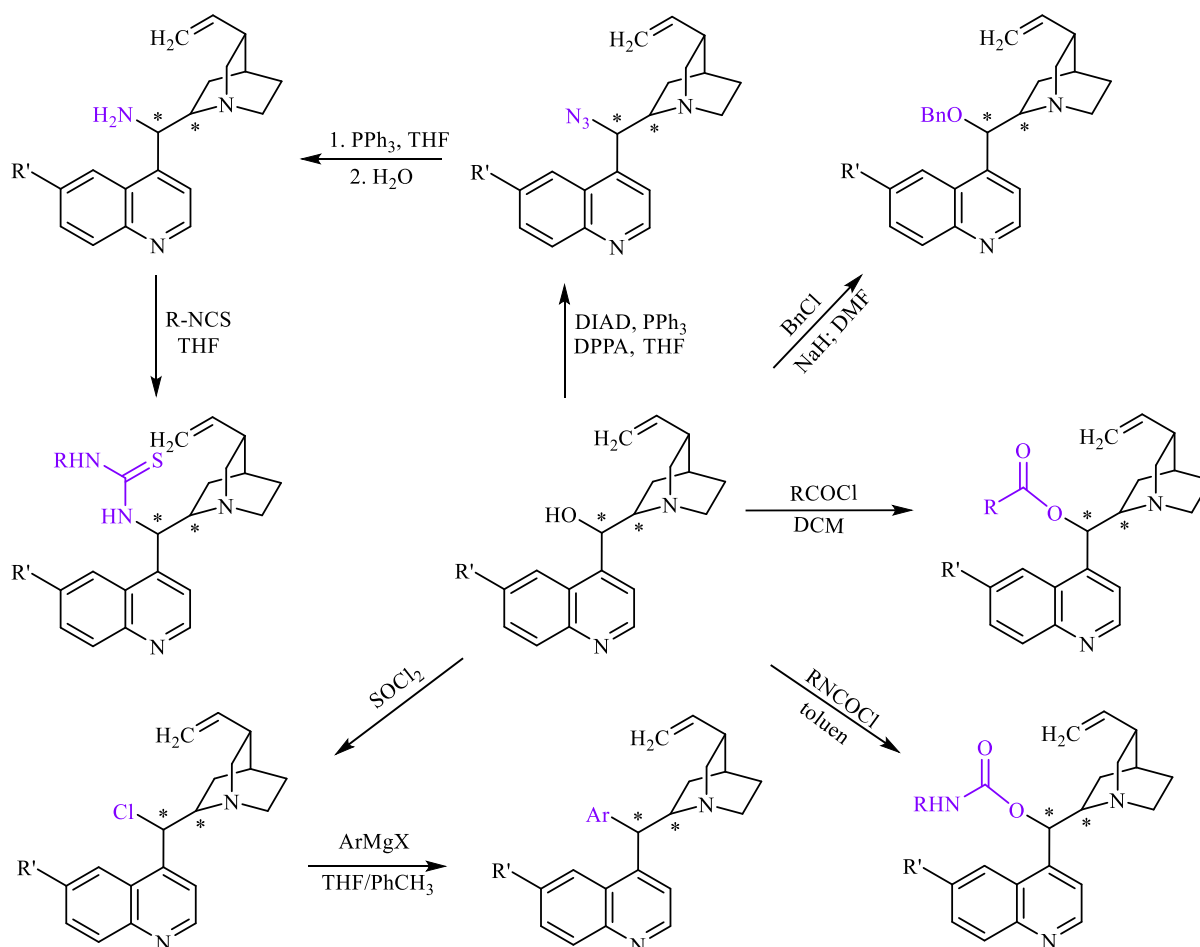
Od dva dušikova atoma u strukturi, kinuklidinski atom dušika (pK_a 11) je značajno bazičniji od kinolinskog atoma dušika (pK_a 4) te nukleofilniji.⁹ S obzirom da imaju kiralnu strukturu koja se može jednostavno relativno modificirati, provedene su različite strukturne modifikacije *Cinchona* alkaloida, shema 1. Kinuklidinski atom dušika može služiti kao ligand ili nukleofilna jedinica u organokatalitičkim reakcijama ili se može alkilirati različitim alkil/aril halogenidima pri čemu nastaju kvaterne amonijeve soli, monomeri, dimeri ili trimeri.^{10,11} Priređeni su i *N*-oksidi *Cinchona* alkaloida selektivnom oksidacijom kinuklidinskog atoma dušika s *meta*-klorperoksibenzojevom kiselinom.¹² Hidrazinijeve soli *Cinchona* alkaloida dobivene su reakcijom alkaloida i *O*-difenilfosforil-hidroksilamina.¹³



Shema 1. Reakcije na kinuklidinskom atomu dušika.¹¹⁻¹³

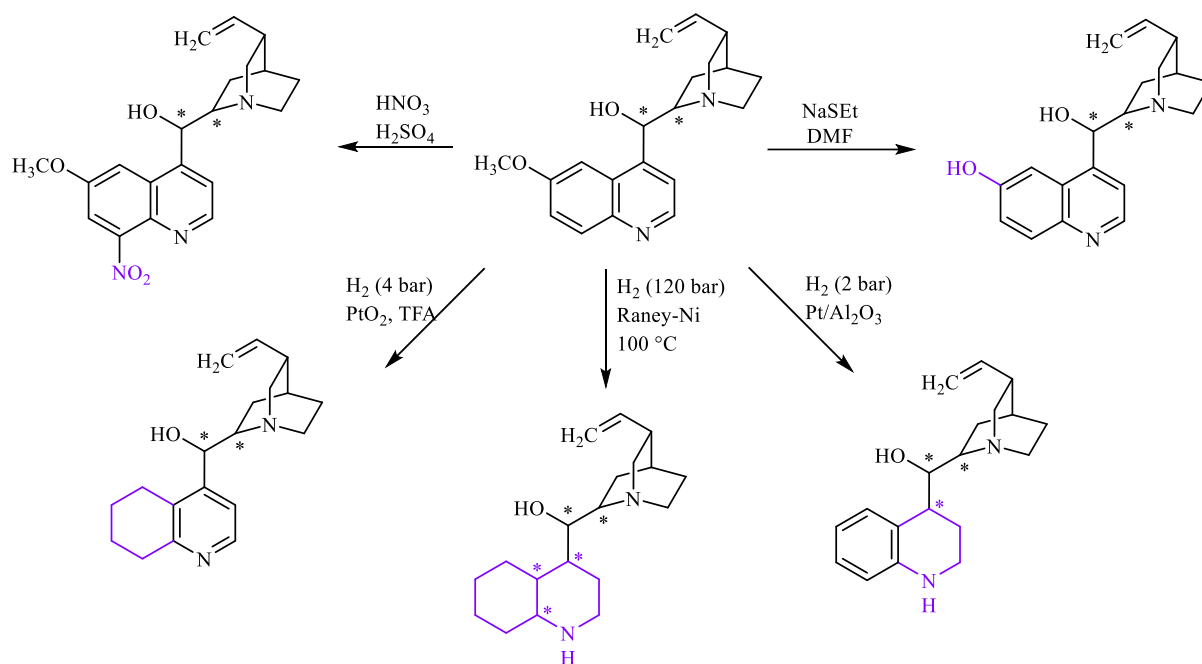
Sekundarna hidroksilna skupina na položaju C9 podložna je velikom broju raznih modifikacija s inverzijom ili retencijom konfiguracije kao što je supstitucija OH skupine, esterifikacija, karbamoilacija i koordinacija s metalima a može poslužiti i kao donor vodikove veze. Također, moguća je supstitucija hidroksilne skupine aminom, amidom, halogenidom ili sulfidom. C9-eteri CD i CN pripremljeni su reakcijom alkaloida i alkil- ili benzil-jodida korištenjem NaH ili Et₃N kao baze.^{14,15} Tosilati četiri glavna *Cinchona* alkaloida pripremljeni su reakcijom alkaloida s tosil-kloridom u dvofaznom sustavu otapala diklormetan–35 % vodena otopina KOH korištenjem tributilamina kao baze.¹⁶ Tretiranjem *Cinchona* alkaloida s različito supstituiranim acil-kloridima pripremljeni su odgovarajući esteri, a tretiranjem s acil-dikloridima priređeni su dimerni esteri s različitim linkerima u iskorištenjima iznad 70 %.^{17, 18} *Cinchona* karbamati pripremljeni su reakcijom odgovarajućih izocijanata u refluksirajućem toluenu.¹⁹

Mitsunobuovom azidacijom odnosno reakcijom alkaloida s difenilfosforil-azidom (DPPA) nastaje azid alkaloida koji redukcijom s trifenilfosfinom prelazi u amin.²⁰ Amino alkaloidi mogu se koristiti kao prekursori u sintezi tiourea koje se koriste kao bifunkcionalni katalizatori.²¹ Wang i suradnici optimizirali su sintezu *Cinchona* tiouree u proizvodnom procesu na skali od 14 kg.²² Reakcijom 9-klor derivata alkaloida i različito supstituiranih Gringardovih reagensa pripremljeni su 9-fenilni i 9-ailni derivati s novom C–C vezom, shema 2.²³



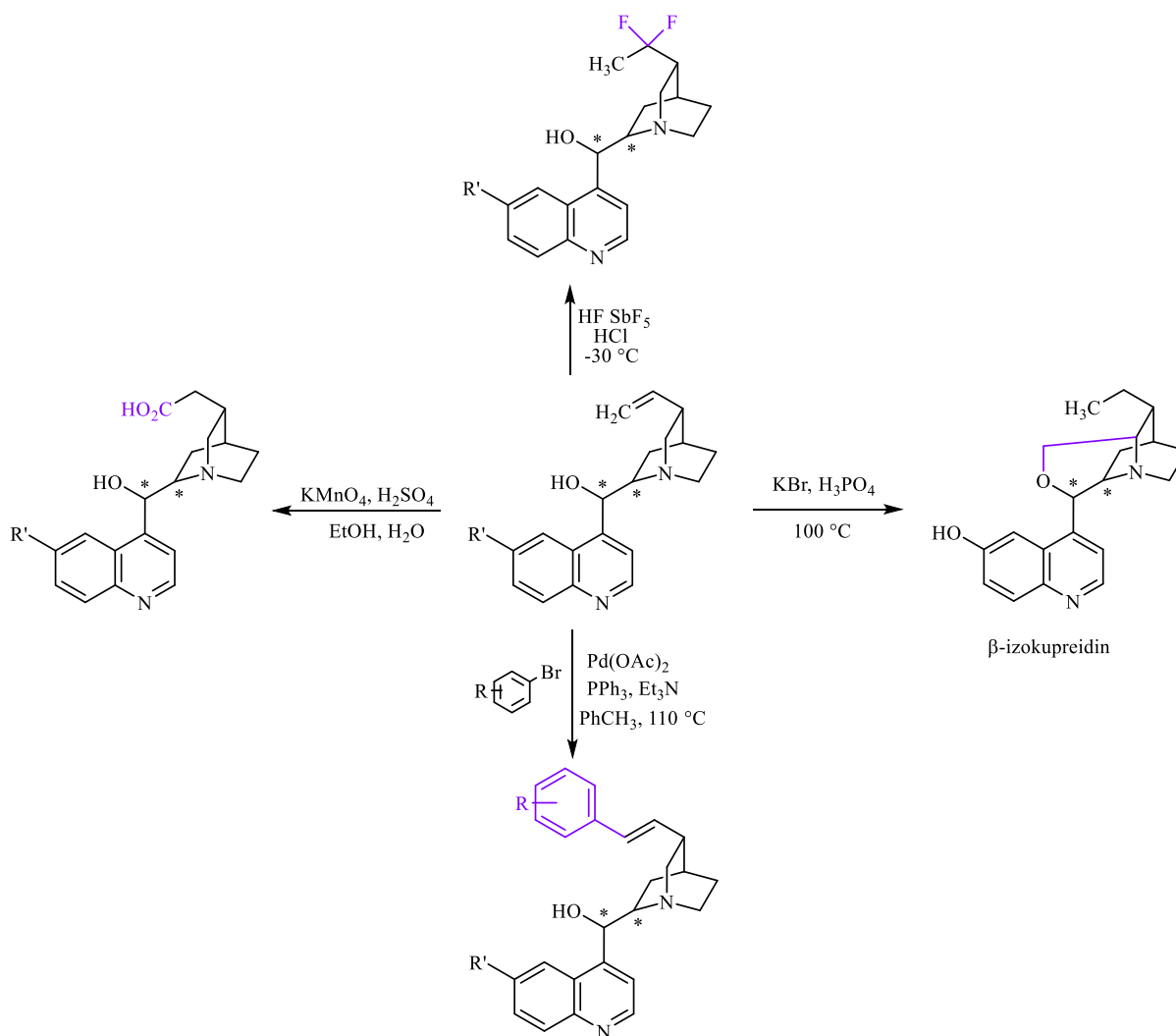
Shema 2. Reakcije na hidroksilnoj skupini.^{15, 16, 19-21, 23}

Kinolinski prsten se može vezati na čvrste nosače, a u slučaju kinina i kinidina koji na C6' položaju sadrže metoksi skupinu, ona se može dalje kemijski modificirati. Reakcijom kinina ili kinidina s natrijevim etanotiolatom u dimetilformamidu (DMF) pripremljeni su C6'-hidroksi derivati koji se nazivaju cuprein i cupreidin te imaju primjenu kao organski katalizatori i sintetski prekursori.^{24, 25} Ovisno o katalizatoru, moguće je selektivno hidrogeniranje aromatskih prstenova kinolina, shema 3.^{26, 27}



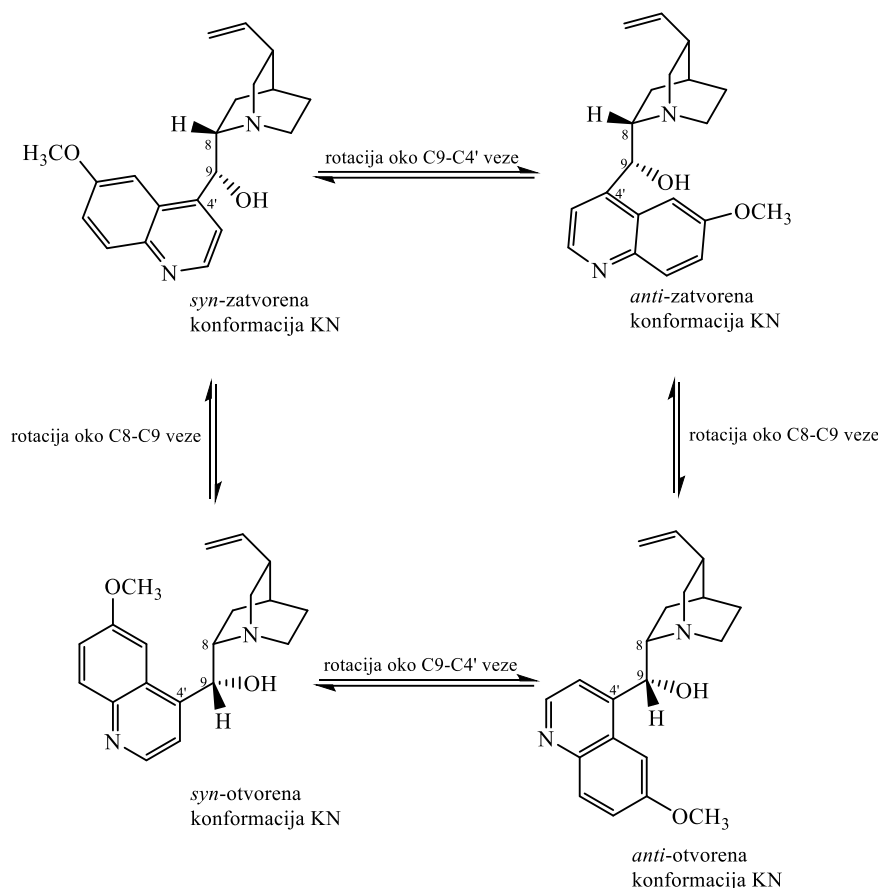
Shema 3. Reakcije na kinolinskom prstenu.²⁴⁻²⁶

Vinilna skupina može se hidrogenirati pri čemu nastaju 10,11-dihidro derivati koji se koriste kao početni reagensi u sintezi. Podložna je i reakcijama adicije npr. broma ili tiola te hidrosililaciji.²⁸ Djelovanjem jake kiseline na *Cinchona* alkaloid dolazi do nastanka karbokationa i pregradnje a produkt se naziva β -izokupreidin.²⁹ Oksidacijom vinilne skupine kalijevim permanganatom u kiselim uvjetima pripravljene su odgovarajuće 3-karboksilne kiseline.³⁰ Kondenzacija aril-halogenida i alkaloida katalizirana paladijem omogućuje pripravu različitih 3-supstituiranih alkena *Cinchona* alkaloida, shema 4.³¹



Shema 4. Reakcije na vinilnoj skupini.²⁸⁻³¹

Da bi objasnili ponašanje alkaloida u otopini kao i njihovu katalitičku aktivnost, Wynberg i Sharpless su proveli konformacijske studije koristeći tehnike spektroskopije NMR i računalnih metoda te odredili četiri konformera niske energije, shema 5.³² Rotacija oko C8-C9 i C9-C4' veze određuje konformaciju alkaloida koja ovisi i o otapalu. Kinin i kinidin zauzimaju *sin*-zatvorenu konformaciju u plinovitoj fazi i *anti*-otvorenu konformaciju u apolarnim otapalima dok polarna otapala stabiliziraju zatvorenu konformaciju.³³

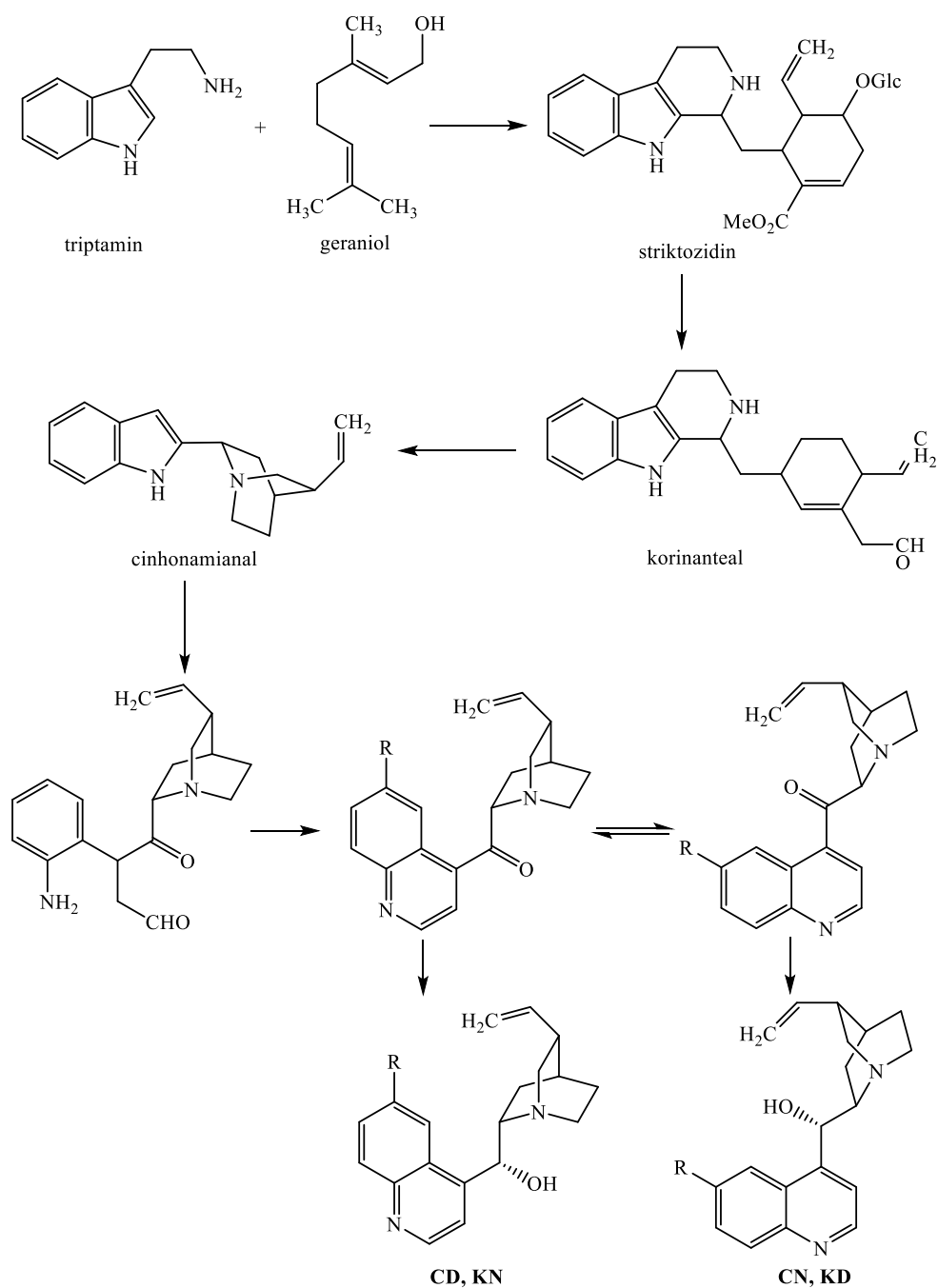


Shema 5. Konformeri kinina.³²

2.1.2. Biosinteza i sinteza *Cinchona alkaloida*

Cinchona alkaloidi biosintezi nastaju iz geraniola (kinuklidinski prsten) i triptofana (kinolinski prsten) što je potvrđeno eksperimentima s radioaktivno obilježenim atomima. Ključni međuprodukt je 3 α -(S)-striktozidin koji nastaje Picet-Sprenglerovom reakcijom triptamina i sekologanina. Enzim striktozidin glikozidaza katalizira pretvorbu striktozidina u korinanteal. Pregradnjom prstena preko iminijevih međuprodukata nastaje cinchonaminal koji sadrži biciklički prsten kinuklidina. Hidrolitičkim cijepanjem C–N veze nastaje dikarbonilni derivat.³⁴ Međumolekulskom reakcijom amina s aldehidom te oksidativnom rearomatizacijom nastaje kinolinski prsten dok keton vrlo brzo epimerizira u otopini. Zadnji korak je stereoselektivna redukcija cinchoninona koju katalizira specifična oksidoreduktaza pri čemu nastaje nejednaka smjesa cinchonidina i cinchonina. Iz stanične suspenzije *Cinchona ledgeriana* izoliran je enzim cinchoninon-oksidoreduktaza koji je razdvojen ion-izmjenjivačkom kromatografijom u dvije izoenzimske strukture **I** i **II**. Izoenzim I je selektivan prema prema **CD**

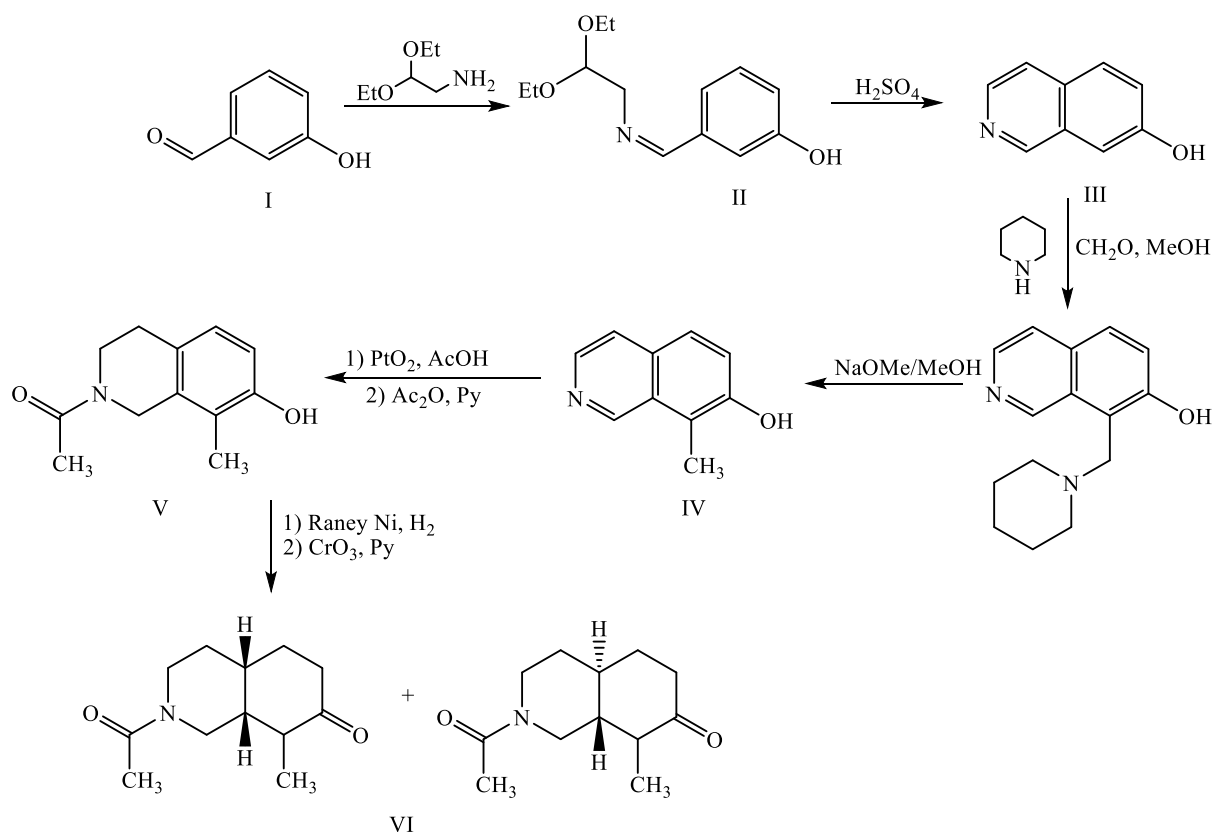
i CN, odnosno prema kinolinskom prstenu, dok izoenzim II katalizira nastanak sva četiri glavna alkaloida, shema 6.³⁵



Shema 6. Biosinteza *Cinchona* alkaloida.³⁴

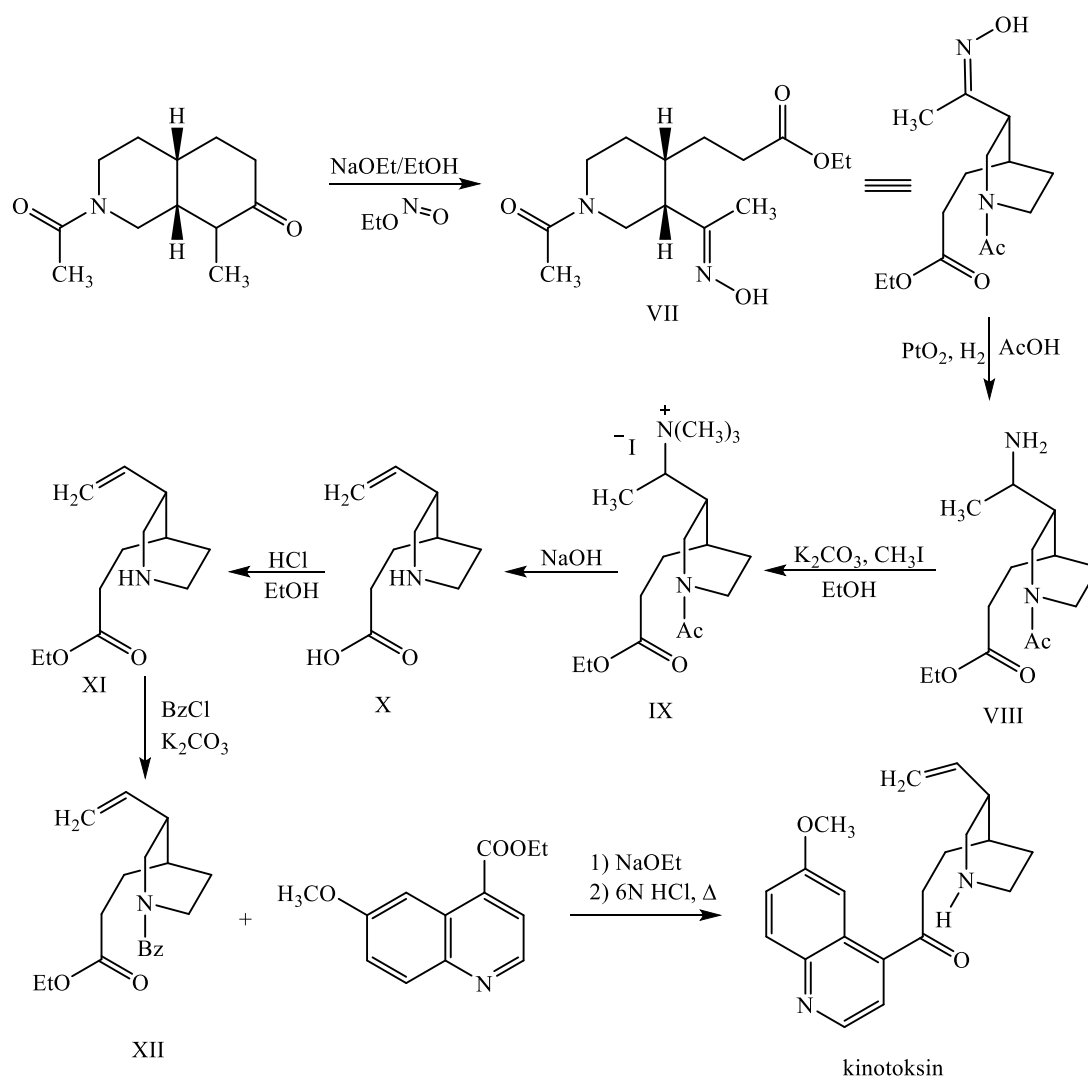
Sinteza *Cinchona* alkaloida, točnije kinina, intrigirala je kemičare više od 150 godina. 1918. godine Rabe i Kindler publicirali su prvu parcijalnu sintezu kinina i kinidina koristeći kinotoksin kao polazni spoj, kojeg je otkrio Pasteur 1853. godine, djelovanjem slabe kiseline na kinin.³⁶ S obzirom na njegovu visoku medicinsku vrijednost, tijekom 2. svjetskog rata kada

je opskrba bila upitna, sintetski put za dobivanje kinina bio je predmet mnogih istraživanja. Woodward i Doering su 1944. i 1945. godine publicirali dva rada o sintezi kinina koja su imala veliki odjek u javnosti s obzirom na socijalne i političke okolnosti.^{37, 38} Međutim, njihova sinteza je bila formalna sinteza, nisu pokušali ponoviti Rabeovu proceduru dobivanja kinina iz kinotoksina već su je smatrali točnom i reproducibilnom usprkos vrlo šturim eksperimentalnim podacima koje je Rabe publicirao.³⁶ Prvi korak u Woodward–Doeringovoj sintezi je kondenzacija 3-hidroksibenzaldehida **I** s diacetalom aminoacetaldehida pri čemu nastaje imin **II**, shema 7. Djelovanjem sumporne kiseline na imin nastaje izokinolin **III** koji je zatim alkiliran uz formaldehid i piperidin. Reakcijom s natrijevim metoksidom uklonjen je piperidin te u molekuli **IV** ostaje metilna skupina. Još jednim hidrogeniranjem uz platinin-oksida u octenoj kiselini nastaje tetrahidroizokinolin **V**. Amino skupina je acilirana, a zatim podvrgnuta još jednoj hidrogenaciji uz katalizator Raney–Ni u etanolu pri čemu nastaje smjesa *cis* i *trans* izomera dekahidroizokinolina **VI**. Smjesa izomera je oksidirana s kromnom kiselinom u octenoj kiselini pri čemu nastaje keton, a samo *cis* izomer kristalizira iz smjese, shema 7.



Shema 7. Woodward–Doeringova sinteza kinina.

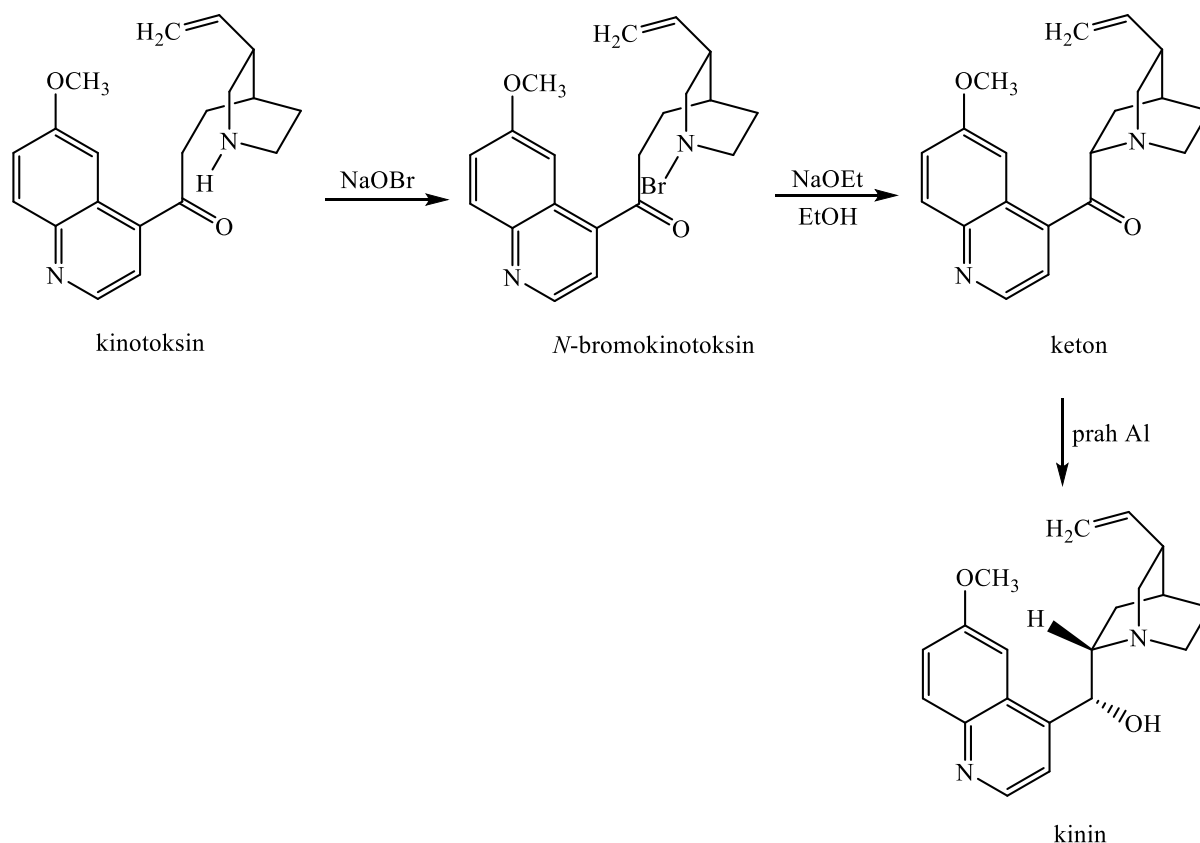
Sljedeći korak je otvaranje prstena pomoću etil-nitrita i natrijeva metoksida u metanolu pri čemu nastaje derivat **VII** s etilnim esterom i oksimskom skupinom. Oksim je hidrogeniran s platinom u octenoj kiselini u amin **VIII** te alkilacijom s jodmetanom nastaje kvaternarna amonijeva sol **IX**. Hoffmanovom eliminacijom s natrijevim hidroksidom konstruirana je vinilna skupina kinina **X** a esterska skupina je hidrolizirana. U sljedećem koraku karbonilna skupina je esterificirana s etanolom **XI** a zatim je pomoću benzil-klorida pripremljen *N*-benzilni derivat **XII**. Claisenovom kondenzacijom **XII** s 6-metoksi-4-etoksikarbonil kinolinom dobiven je kinotoksin, shema 8.



Shema 8. Sinteza kinotoksina.

Prema Rabeovoj proceduri, kinotoksin je prvo oksidiran natrijevim hipobromitom pri čemu je nastao *N*-bromkinotoksin. U prisustvu natrijevog etoksida nastaje kinuklidinski prsten te se redukcijom karbonilne skupine dobiva kinin. Tek 2008. godine Smith i Williams su ponovili

Woodward–Doeringovu sintezu koristeći Rabeovu proceduru, i usprkos početnom neuspjehu zadnjeg koraka sinteze, uspjeli su naći nečistoće u aluminijskom prahu koje su bile ključne za sintezu kinina u iskorištenju u kojem je to publicirao Rabe ($\approx 15\%$), shema 9.³⁹

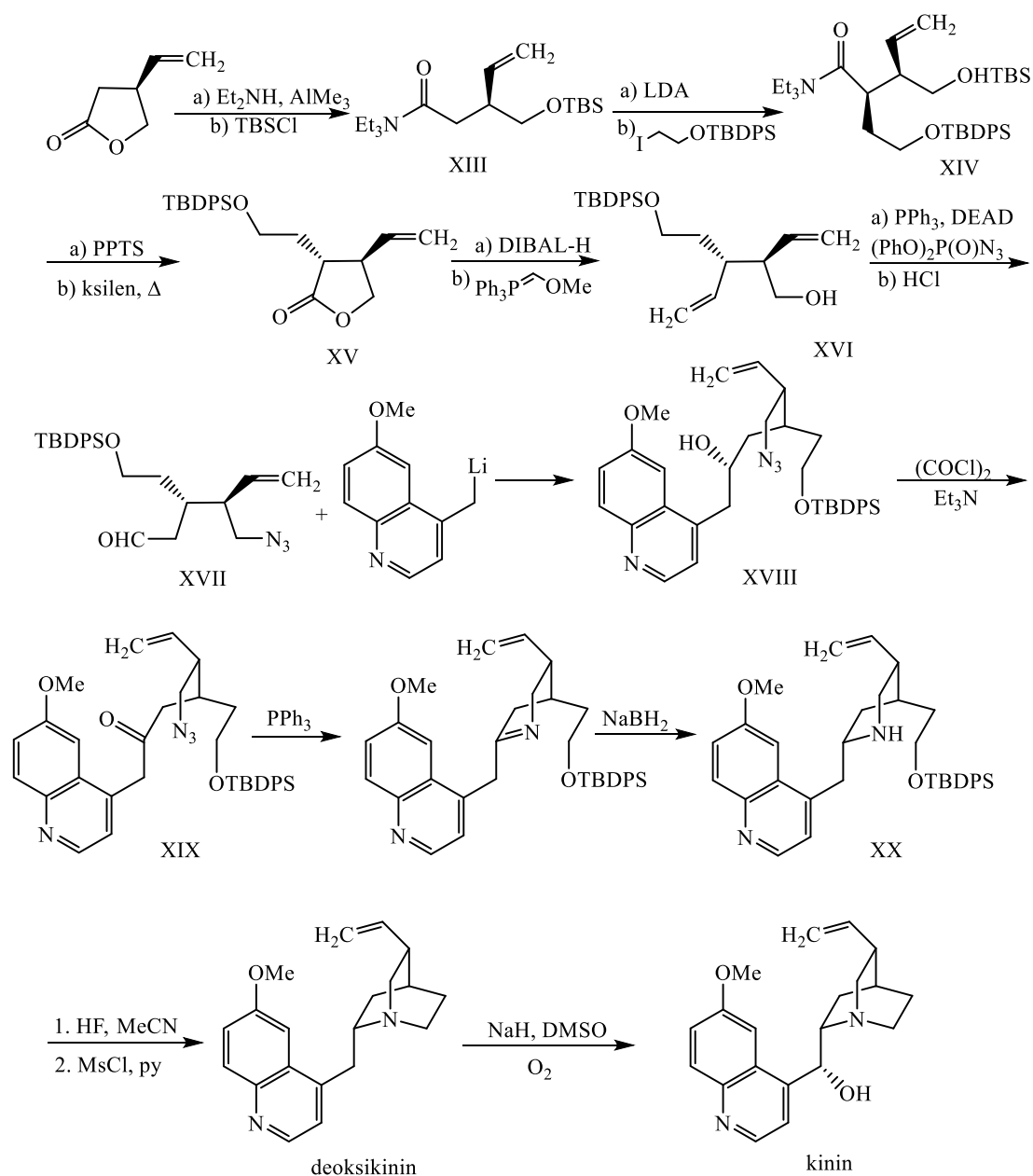


Shema 9. Rabeova sinteza kinina.³⁹

2001. Stork je proveo prvu stereoselektivnu sintezu kinina pri čemu je smatrao da se Woodward–Doeringova sinteza kinina ne može provesti.⁴⁰ Storkova sinteza kinina uključivala je pripremu bicikličkog prstena formiranjem N1–C6 veze. Njegova sinteza započinje iz kiralnog (*S*)-4-vinilbutiril-laktone pomoću kojeg je u nekoliko koraka pripremljen azidoaldehyd XVII.⁴¹

Reakcijom laktone i dietilamina dolazi do otvaranja prstena i nastanka amida XIII čija je hidroksilna skupina zaštićena kao *tert*-butil-dimetilsililni eter (TBS). Enolat dobiven djelovanjem litijevog diizopropilamida (LDA) reagira s etil-jodidom te nastaje derivat XIV a sililna zaštitna skupina uklonjena je s *p*-toluensulfonskom kiselinom. Azeotropnom destilacijom derivata XIV nastaje lakton XV koji je prvo reduciran s diizobutilaluminijevim hidridom u aldehyd koji zatim reagira s metoksimetilentrifenilfosfinom pri čemu nastaje enol etera XVI, shema 10. Hidroksilna skupina je zamijenjena s azidnom skupinom reakcijom s difenilfosforil-azidom dok kiselim hidrolizom nastaje azido aldehyd XVII. Adicijom litijevog

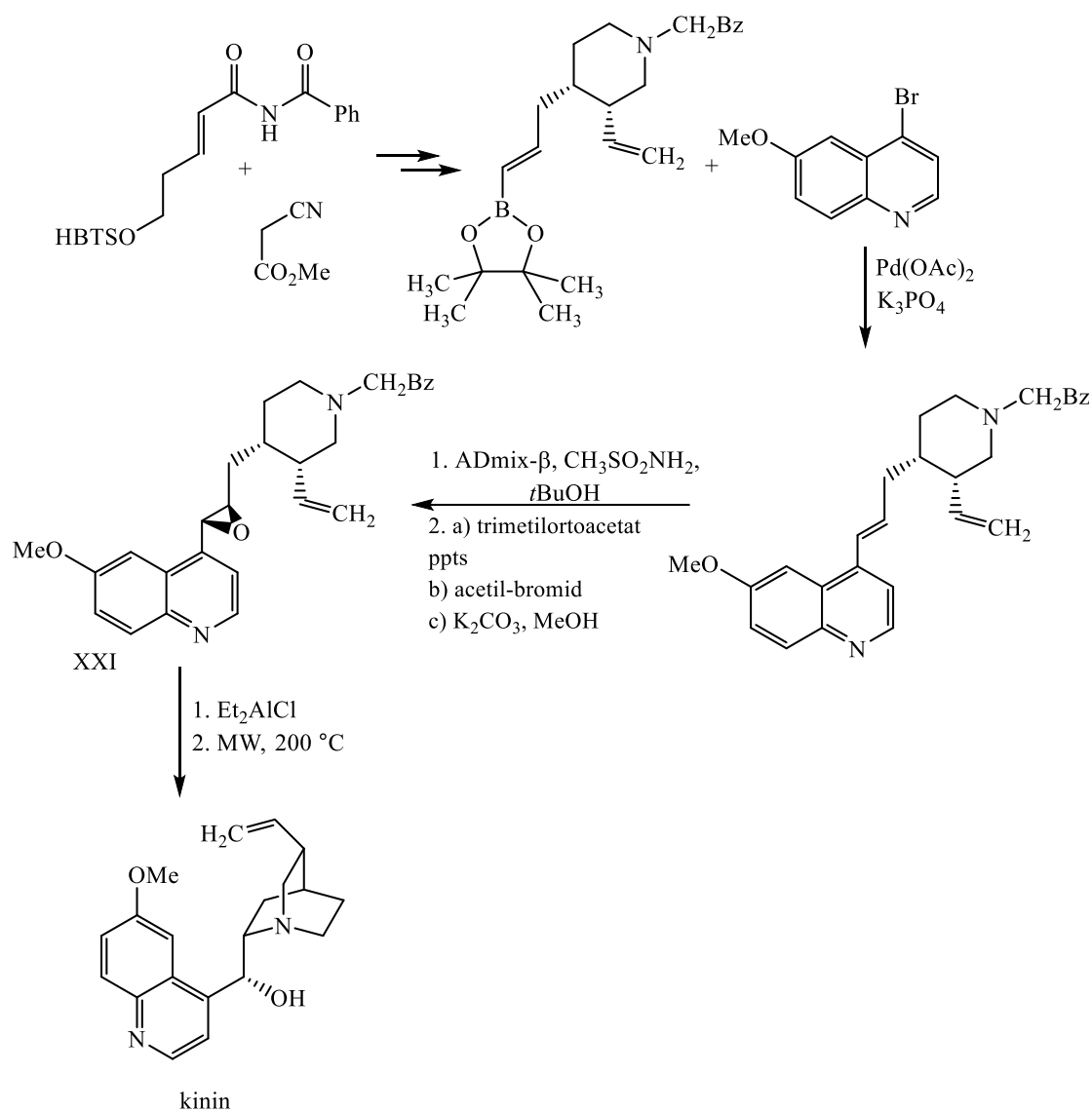
derivata 6-metiloksilepidina na XVII te oksidacijom sekundarnog alkohola XVIII dobiven je keton XIX. Intramolekularnom Staudingerovom reakcijom dobiven je tetrahidropiridin XX, a njegovom stereoselektivnom redukcijom i intramolekularnom ciklizacijom nastaje biciklički sustav deoksikinin čijom autooksidacijom nastaje kinin, shema 10.



Shema 10. Storkova sinteza kinina.⁴⁰

Jacobsen i suradnici su 2004. publicirali asimetričnu totalnu sintezu kinina i kinidina, shema 11.⁴² Biciklički prsten kinuklidina konstruiran je intramolekularnom ciklizacijom amino-epoksida XXI. Snaga ove sinteze je u tome što se može pripremiti stereoisomerni epoksid

odabirom različitog katalizatora za reakciju dihidroksilacije te se na taj način mogu dobiti oba kvazienantiomera, i kinin i kinidin. Sinteza sadrži 16 koraka i ukupno iskorištenje je 5 %.



Shema 11. Jacobsenova sinteza kinina.⁴²

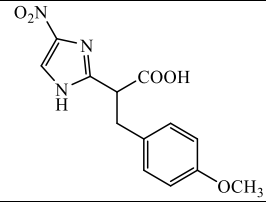
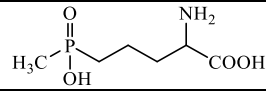
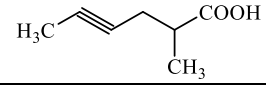
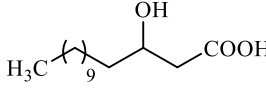
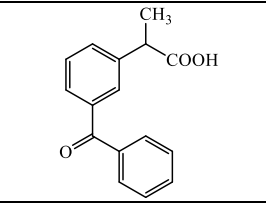
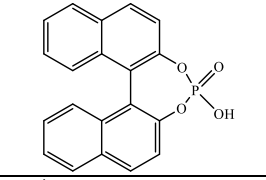
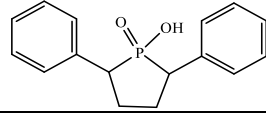
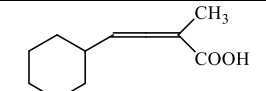
2.2. Cinchona alkaloidi u sintezi i katalizi

2.2.1. Rezolucija racemata stvaranjem dijastereomernih soli

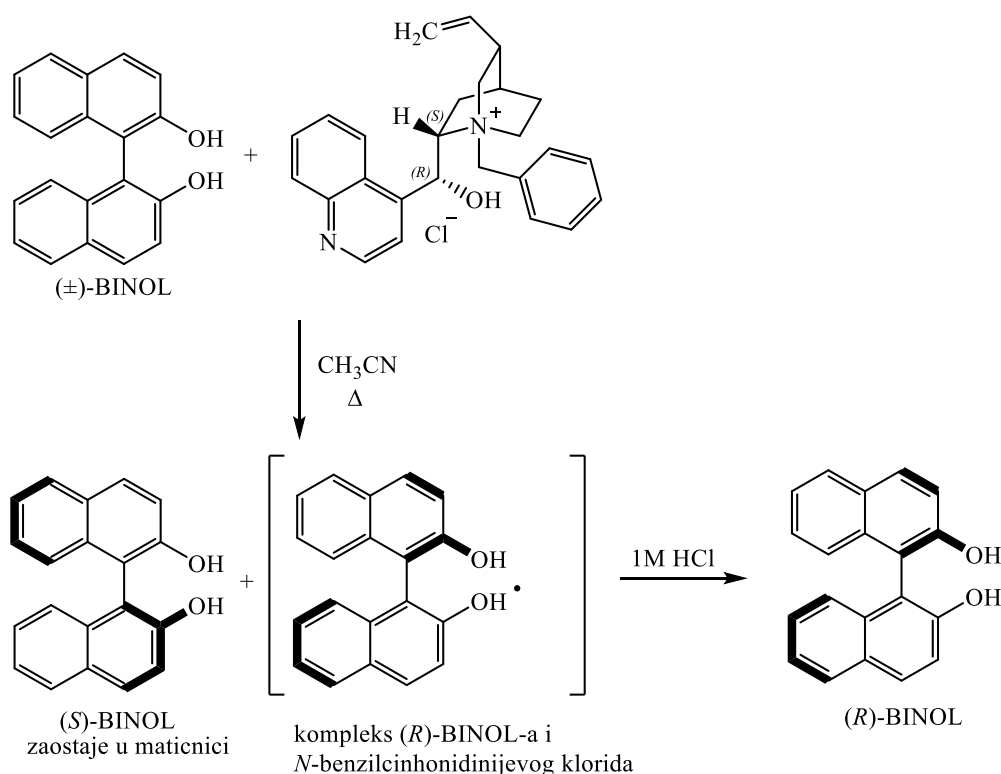
Zbog svoje bazičnosti Cinchona alkaloidi koriste se kao kiralni reagensi za razdvajanje racemata kiselina i drugih spojeva s kiselim atomom vodika. Metoda se zasniva na stvaranju dijastereomernih soli koje se razlikuju u topljivosti u nekom od otapala pri čemu u idealnom slučaju jedna sol kristalizira dok druga zaostaje u otopini. Korištenjem kvazienantiomernih parova kinin/kinidin ili cinchonidin/cinchonin najčešće se mogu dobiti oba enantiomera molekule

što je velika prednost ovih alkaloida u odnosu na druge kiralne reagense uz to što su lako dostupni, relativno jeftini i netoksični. Rezolucija racemata stvaranjem diastereomernih soli ima primjenu i u industriji pa se tako cinchonidin koristi u rezoluciji racemičnog naproksena, čiji (*S*) enantiomer ima primjenu kao analgetik te u rezoluciji prekursora u sintezi (*R*)-aminoglutetimida koji ima primjenu kao antikonvulzant.^{43,44} U tablici 1 prikazani su odabrani primjeri rezolucije racemičnih aktivnih farmakoloških sastojaka ili njihovih prekursora, fosfornih i karboksilnih kiselina, aminokiselina i kiralnih međuprodukata korištenjem *Cinchona* alkaloida. Naveden je alkaloid koji je korišten za rezoluciju racemata te enantiomerni višak (*ev*) izoliranog enantiomera.

Tablica 1. Odabrani primjeri rezolucije racemata korištenjem *Cinchona* alkaloida.

racemat	uloga	alkaloid	<i>ev</i> (%)	referenca
	međuprodukt u sintezi hormona rasta	cinchonin	91	45
	herbicid	kinin	97	46
	prekursor u sintezi lijeka protiv trombocitopenije	cinchonidin	99	47
	međuprodukt u sintezi tetrahidrolipstatina	kinin	100	48
	nesteroidni antiupalni lijek	cinchonidin	99	49
	sintetski prekursor	cinchonin	96	50
	sintetski prekursor	kinin	99	51
	sintetski prekursor	cinchonidin cinchonin	95 80	52

Od derivata *Cinchona* alkaloida istraživani je *N*-benzilcinhonidinijev klorid kao kiralni reagens za rezoluciju 1,1'-bi-naftalen-2,2'-diola (BINOL), C2-simetrične kiralne molekule koji se koristi kao građevna jedinica u asimetričnoj katalizi i sintezi.⁵³ *N*-benzilcinhonidinijev klorid s racematom BINOL-a stvara inkluzijski kompleks koji kristalizira iz otopine metanola. Razaranjem kristalnog materijala s koncentriranom klorovodičnom kiselinom te ekstrakcijom dobiva se (+)-(*R*)-BINOL u iskorištenju od 70 % i *ev* od 95 %. (-)-(*S*)-BINOL dobiven je obradom matičnice s koncentriranom klorovodičnom kiselinom u iskorištenju od 60 % i *ev* od 100 %, shema 12.⁵⁴



Shema 12. Rezolucija BINOL-a.

Metoda je kasnije optimizirana na multigramskoj skali za oba enantiomera BINOL-a s iskorištenjem od 95 % i *ev* od 99 %.⁵⁵ Struktura kompleksa BINOL-a i kvaterne soli cinchonidina određena je metodom difrakcije rendgenskih zraka te je otkriveno da je za uspješnu rezoluciju bitno stvaranje usmjeravajućih vodikovih veza između hidroksilne skupine *N*-benzilcinhonidinijevog klorida i BINOL-a s kloridnim anionom te π - π interakcije između naftilnog i kinolinskog prstena.⁵⁴

Osim kristalizacije dijastereomera, rezolucija racemata može se postići selektivnom ekstrakcijom tekuće-tekuće zbog različite topljivosti dijastereomera u sustavima s dvije faze.

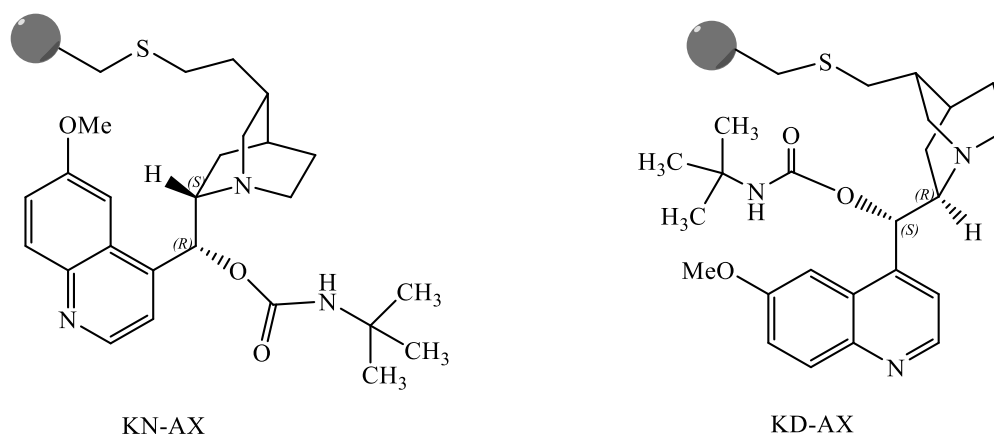
Ovom metodom kiralni ionski reagens transferira enantiomer kao ionski par iz jedne faze u drugu, što selektivno otapa nastali diastereomerni kompleks, ali ne i početne enantiomere. Obradom s kiselinama i bazama dobiva se željeni enantiomer te kiralni reagens.

Lindner i suradnici istraživali su rezoluciju racemata *N*-zaštićenih leucina s derivatom kinin-9-*O*-adamantilnog karbamata. Najučinkovitija ekstrakcija postignuta je sa sustavom otapala: amonijev acetat/dodekan, a ekstrakcijom s fosfornom kiselinom (1 mol/L) odvojen je (*S*)-enantiomer *N*-3,5-dinitrobenzoil-leucina (DNB-Leu) s *ev* 95 % i 70 % iskorištenja.⁵⁶ Leucin koji je zaštićen s *N*-(9-fluorenil)metoksikarbonilnom skupinom (Fmoc) odvojen je te se pokazalo da je enantiomerno obogaćen (*ev* 20 %). Rezolucija leucina zaštićenog s benziloksikarbonilnom, *tert*-butilkarbonilnom i acetilnom zaštitom nije dala rezultate.

2.2.2. Cinchona alkaloidi kao kiralne stacionarne faze

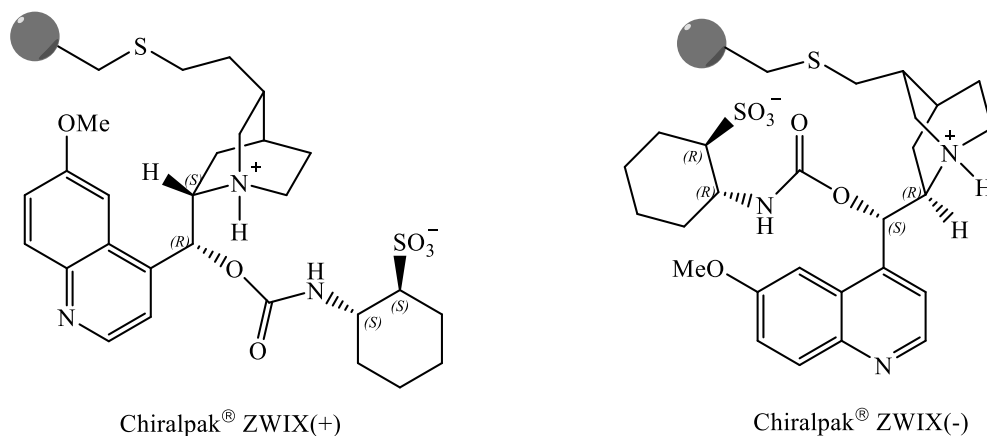
Istraživana je primjena *Cinchona* alkaloida i njihovih derivata kao kiralnih stacionarnih faza (KSF) u enantioselektivnoj tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC). Ova i slične metode zasnivaju se na reverzibilnom nastajanju diastereomernog kompleksa između para enantiomera analita (EA) i kiralnog selektora (KS) koji je najčešće kovalentno vezan za čvrsti nosač. Razlika u energiji između dva diastereomerna kompleksa je temeljna fizikalna osnova za stereoselektivno zadržavanje u kromatografskom sustavu. Enantiomer koji stvara stabilniji kompleks dulje se zadržava na koloni.

Cinchona alkaloidi mogu se imobilizirati na polimerni nosač na više načina i to ili kao nemodificirani ili modificirani derivati. Prvotno je istraživano vezanje nemodificiranih alkaloida na polimer preko C9-hidroksilne skupine ili kinuklidinskog atoma dušika što nije rezultiralo visokom selektivnošću u razdvajanju racemata bademove kiseline.⁵⁷ Lindner i suradnici su započeli eru istraživanja *Cinchona*-9-*O*-karbamata kao enantiomernih selektora većeg broja racemata kiselina (aril-, ariloksi- i ariltiokarboksilne kiseline).⁵⁸ Karbamatna skupina može poslužiti kao donor ili akceptor vodika, stvoriti steričku barijeru ili sudjelovati u π - π interakcijama, ovisno o supstituentu na karbamatnom atomu dušika. Najbolje rezultate postigli su s *tert*-butil-9-*O*-karbamatima kinina i kinidina koji su početkom 2000. godine i komercijalizirani te se mogu naći na tržištu pod imenima Chiralpak[®] KN-AX (9-*O*-*tert*-butilkarbamoinkinin) i KD-AX (9-*O*-*tert*-butilkarbamoinkinidin), slika 4.



Slika 4. Struktura kiralnih stacionarnih faza Chiralpak® KN- i KD-AX.

Nekoliko godina kasnije razvijene su KSF koje su dobivene reakcijom *Cinchona* alkaloida i 2-aminocikloheksansulfonske kiseline (ACHSK) na C-9 položaju preko karbamatnog linkera. Ove KSF mogu efektivno razdvojiti i bazične i dvojniionske (*zwitter* ionske) analite. Na tržištu se mogu naći Chiralpak® ZWIX(+) (KN i (1*S*,2*S*)-ACHSK) i ZWIX(-) (KD i (1*R*,2*R*)-ACHSK), slika 5. Ove KSF korištene su za razdvajanje enantiomera *N*-zaštićenih aminokiselina, peptida, karboksilnih i fosfornih kiselina.

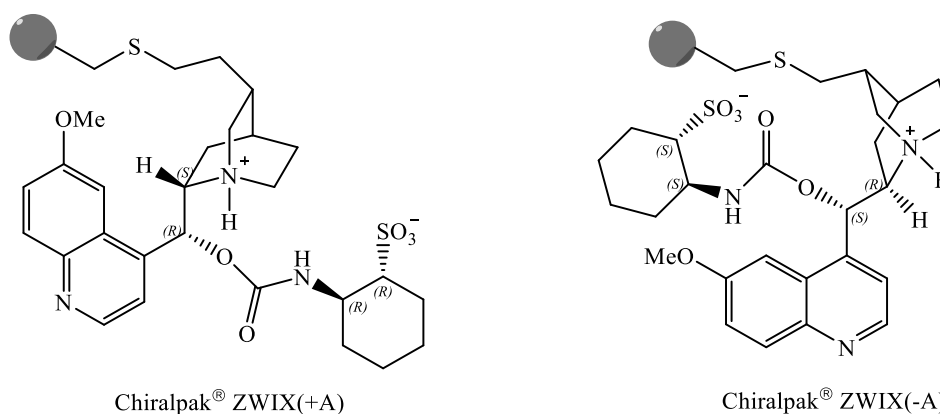


Slika 5. Struktura kiralnih stacionarnih faza Chiralpak® ZWIX(+) i ZWIX(-).

Zbog odlične stereoselektivnosti prilikom razdvajanja enantiomera aminokiselina pomoću kinin 9-*O*-karbamata kao KSF ovaj model je proučavan kristalografijom, spektroskopijom NMR, metodama molekularne dinamike i kromatografskim metodama da bi se objasnio mehanizam kiralne diskriminacije enantiomera.⁵⁹⁻⁶² Spektroskopijom NMR otkriveno je da nakon protonacije kinuklidinski atom dušika tijekom stvaranja kompleksa s kiselim analitom, zauzima *anti*-otvorenu konformaciju u kojoj su kinuklidinski i kinolinski atomi dušika udaljeni

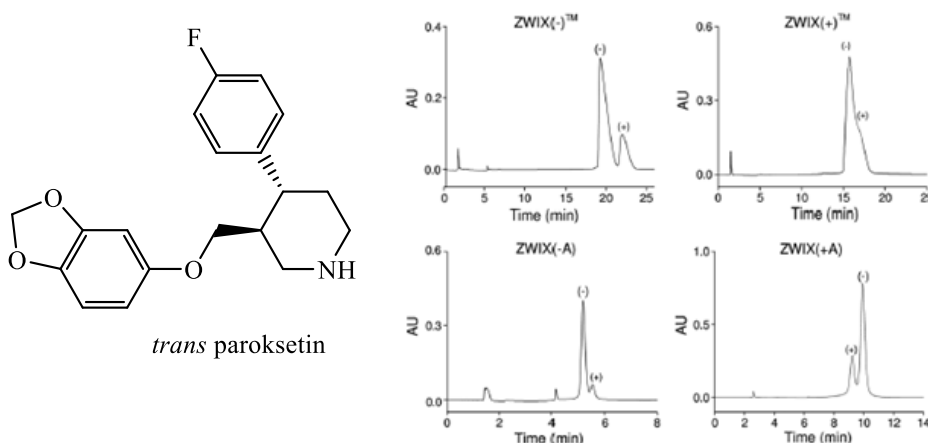
jedan od drugoga te negativno nabijeni analit može doći do protoniranog dušika dok π - π interakcije kinolinskog prstena te vodikove veze s karbamatnom skupinom pomažu stabilizaciji kompleksa. Navedene KSF stvaraju kvazienantiomerne komplekse s enantiomerima analita tako da se može postići obrnuti redosljed elucije ovisno da li se koristi selektor baziran na kininu ili kinidinu.

Chiralpak® ZWIX kao i ZWIX(+A) i ZWIX(-A) KSF korištene su za razdvajanje enantiomera *trans*-paroksetina, lijeka za liječenje depresije, slika 6.⁶³



Slika 6. Struktura kiralnih stacionarnih faza Chiralpak® ZWIX(+A) i ZWIX(-A).

Ispitali su utjecaj sastava mobilne faze, prirodu i koncentraciju aditiva te temperaturu odvajanja. Korištenjem mobilne faze koja sadrži metanol (MeOH) i acetonitril (ACN) u različitim omjerima te mravlju kiselinu (50 mmol/L) i dietilamin (25 mmol/L) kao aditive autori nisu postigli razdvajanje enantiomera *trans*-paroksetina. Međutim, zamjenom metanola ili acetonitrila s tetrahidrofuranom (THF) postignuta je enantioselektivnost, slika 7.



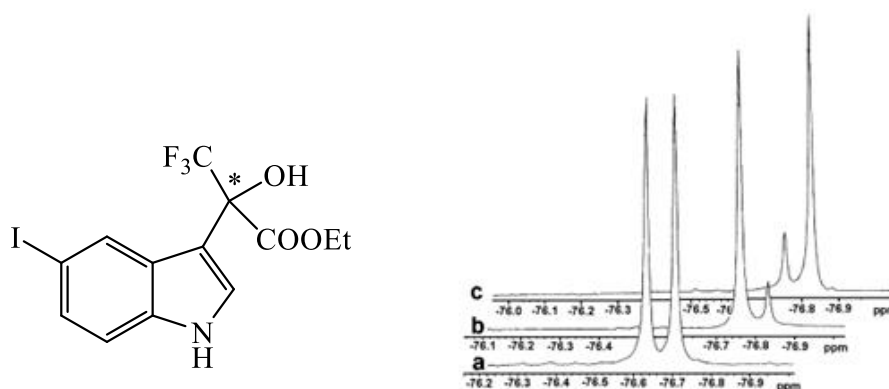
Slika 7. Kromatogrami *trans*-paroksetina na ZWIX(-), ZWIX(+), ZWIX(+A) i ZWIX(-A) KSF, uvjeti: MeOH:THF 80:20; dietil-amin (25 mmol/L); mravlja kiselina (50 mmol/L); 0,6 mL/min; temperatura kolone 25° C; veličina čestica 3 μ m.⁶³

S obzirom na kvazienantiomerni karakter kinina i kinidina, promjenom kiralnog selektora trebao bi se promijeniti redoslijed elucije enantiomera analita što prilikom korištenja ZWIX(+) KSF nije bio slučaj. Da bi objasnili redoslijed elucije enantiomera, autori su istraživali mehanizam razdvajanja enantiomera metodama molekularne dinamike. *In silico* simulacijama demonstrirali su da konformacijska energija KA ima glavnu ulogu samo u slučaju ZWIX(-) KSF dok je kod ostalih KSF konformacijska energija kiralnog selektora najvažnija.⁶⁴

2.2.3. Cinchona alkaloidi kao kiralni solvatorajući agensi

Korištenjem kiralnih pomoćnika koji stvaraju diastereomerne soli s enantiomerima nekog spoja može se odrediti njihova enantiomerna čistoća pomoću spektroskopije NMR. Metoda koristi neekvivalentnost zasjenjenosti određenih atoma racemata koja je inducirana dodatkom odgovarajućeg kiralnog solvatorajućeg reagensa (engl. *chiral solvating agent*, CSA) te atomi koji su bili enantiotopni sada su diastereotopni odnosno mogu se razlikovati. Ako je barem jedan par signala koji dolazi od diastereomernog kompleksa razdvojen u odnosu na racemat, kvantifikacija se postiže integracijom površine signala.

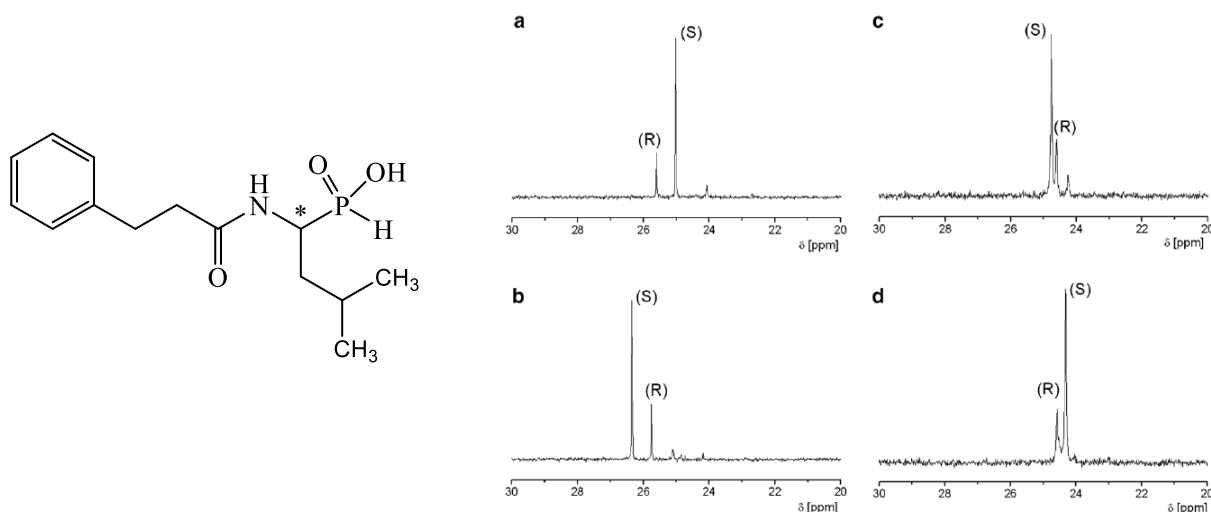
Spektroskopijom ¹⁹F NMR određen je enantiomerni sastav α -trifluorometil-hidroksilnih spojeva pomoću CF₃ skupine korištenjem kinina i kinidina kao CSA.⁶⁵ Dodatkom alkaloida u trostrukom suvišku u otopinu ispitivanog racemata dolazi do pretvaranja enantiotopnih signala u diastereotopne signale koji su razdvojeni u ¹H NMR spektru te je njihovom integracijom određen enantiomerni sastav smjese, slika 8.



Slika 8. ¹⁹F rezonancija CF₃ skupine u prisustvu kinidina: a) racemat; b) (*S*)-izomer u suvišku; c) (*R*)-izomer u suvišku.⁶⁵

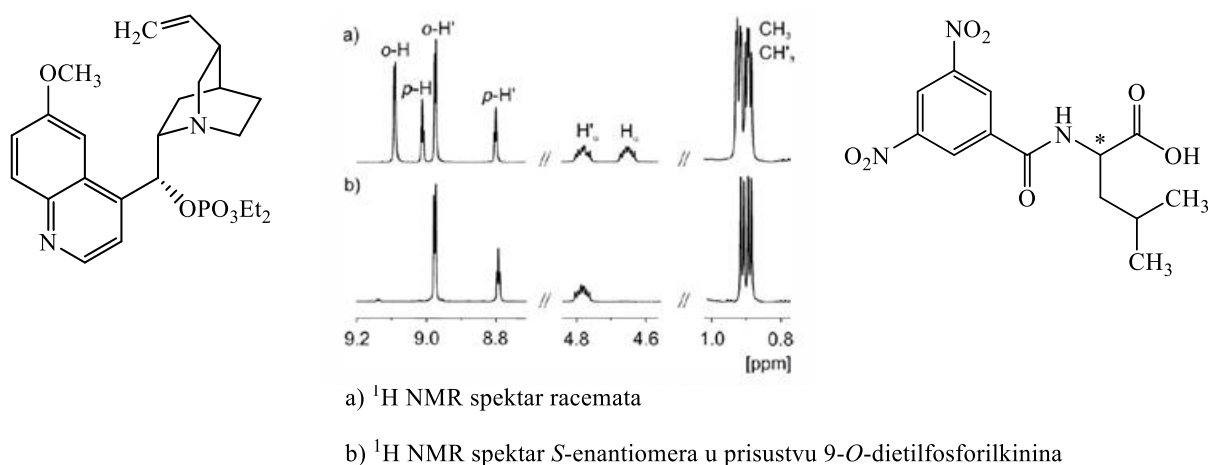
Kinin i kinidin te njihovi 9-*O*-*tert*-butilkarbamati istraživani su u ¹H i ³¹P spektroskopiji NMR kao CSA za razdvajanje enantiomera supstituiranih *N*-zaštićenih aminoalkan-fosforinih i fosfinskih kiselina. Odvajanje diastereomernih signala bilo je bolje korištenjem

nemodificiranih alkaloida u odnosu na karbamatne derivate te su dobivene razlike od 0,066–0,221 ppm s kininom te 0,2–0,3 ppm s kinidinom u ^{31}P NMR spektru iz kojih je moguće odrediti sastav racemata, slika 9.⁶⁶



Slika 9. ^{31}P NMR spektri prikazanog amida.

Isti autori pripravili su različite derivate kinina fosforiliranjem hidroksilne skupine na C9 položaju koje su uspješno koristili za razlikovanje enantiomera DNB-zaštićenih aminokiselina i njihovih metilnih estera korištenjem spektroskopije ^1H i ^{31}P NMR.⁶⁷ 9-*O*-dietilfosforilkinin inducira kemijski pomak neekvivalentnih signala protona racemata, slika 10.



Slika 10. Utjecaj 9-*O*-dietilfosforilkinina na NMR spektre enantiomera.

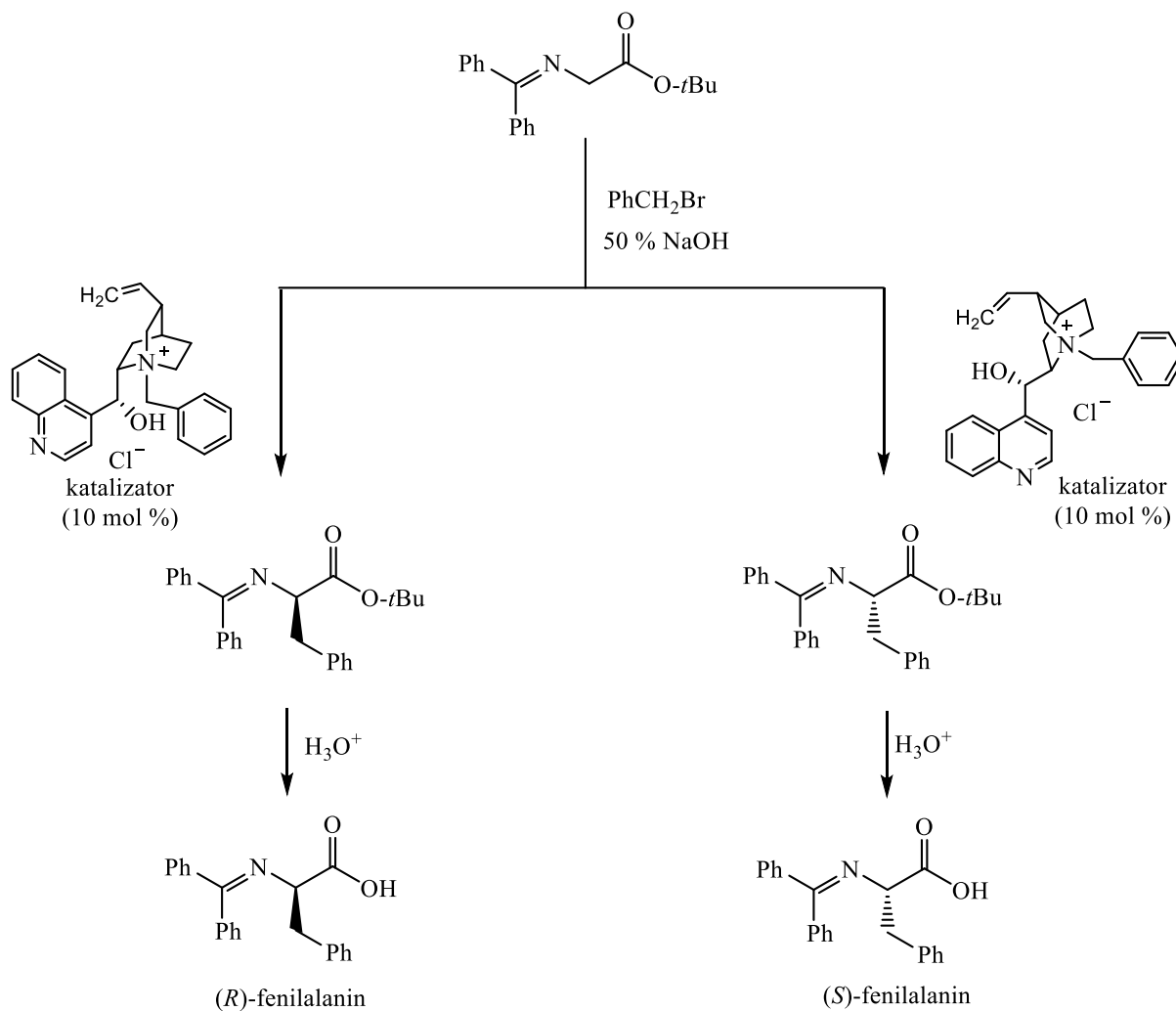
Avid i suradnici istraživali su interakcije između *N*-benzilkininijevog klorida i različitih karboksilnih kiselina postulirajući da protoniranjem kinuklidinskog atoma dušika C9-hidroksilna skupina postaje kiselija te može stvarati vodikove veze s karbonilnim atomom

kisika što dovodi do razdvajanja signala enantiomera u NMR spektru.⁶⁸ Mehanizam kiralne diskriminacije *Cinchona* alkaloida istraživani je tehnikama spektroskopije NMR i prema dobivenim rezultatima, primarno mjesto interakcije s enantiomerima je C9 slobodna ili derivatizirana hidroksilna skupina dok kinuklidinski atom dušika ne sudjeluje u interakciji.⁶⁹

Cinchona alkaloidi i njihovi derivati istraživani su kao CSA za širok spektar analita kao što su ciklički poluacetali i metil-acetali, β -hidroksiesteri, trifenilkositar derivati karboksilnih derivata i drugi.⁷⁰⁻⁷²

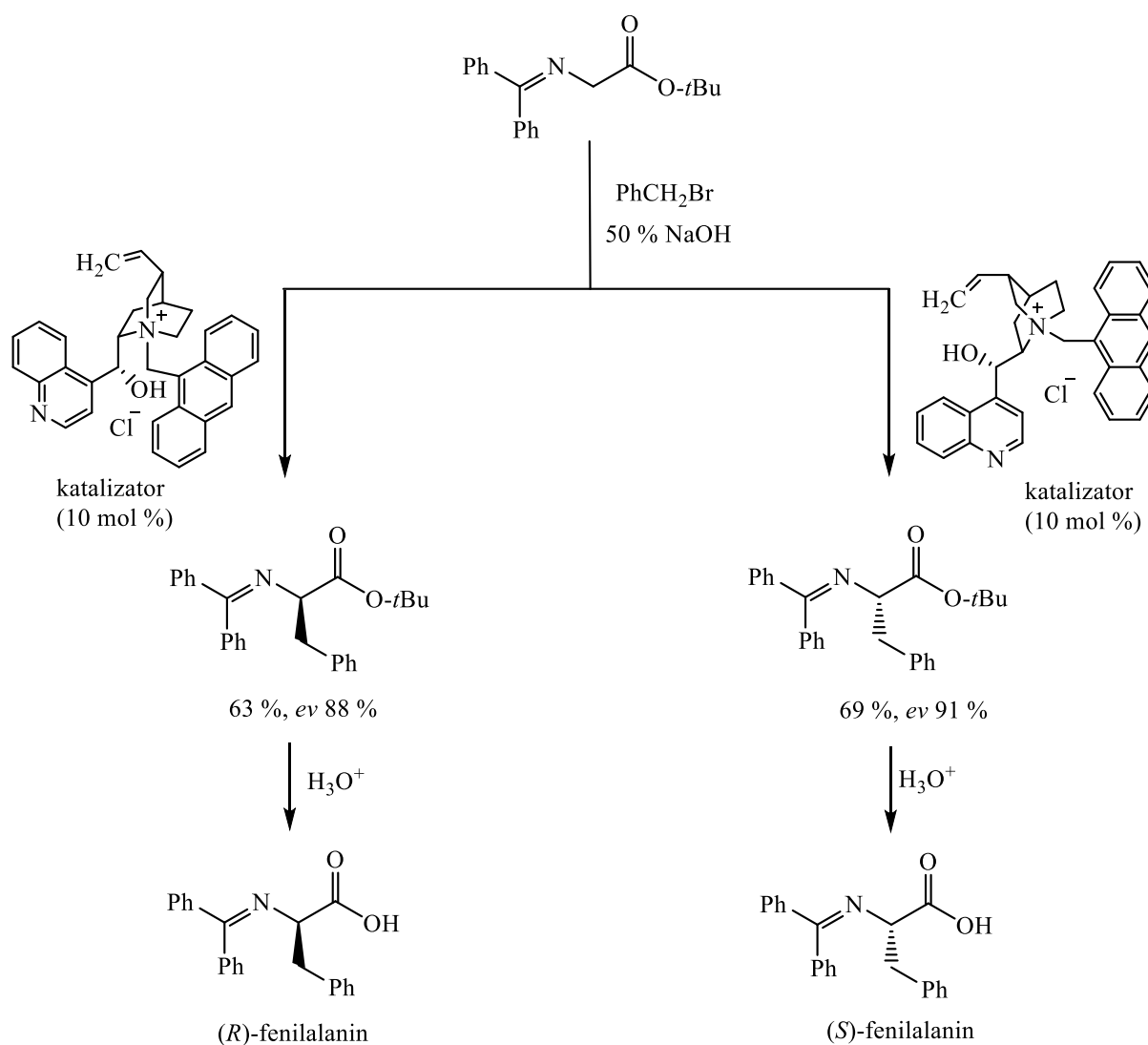
2.2.4. *Cinchona* alkaloidi kao kiralni katalizatori

Svestranost molekule *Cinchona* alkaloida s mogućnošću derivatizacije nekoliko funkcijskih skupina i dostupnost obje kvazienantiomerne forme čini ove molekule jednim od najkorištenijih u području enantioselektivne organokatalize. Također, koriste se kao ligandi u enantioselektivnim transformacijama koje su katalizirane metalima. Vjerojatno najpoznatiji primjer je Sharplessova asimetrična dihidroksilacija olefina u kojoj se koriste dimerni derivati *Cinchona* alkaloida kao ligandi osmijevog tetraoksida.³ Kvaterne soli *Cinchona* alkaloida koriste se kao katalizatori faznog prijanosa koji se koriste u sintetskom postupku kojim se može smanjiti vrijeme reakcije i povećati iskorištenje, smanjiti količina nusprodukata, te se može dobiti veća optička čistoća produkta. Također se može izbjeći korištenje većih količina organskih otapala koje bi bila potrebne da se svi reaktanti otope u istoj fazi. Razvijeno je nekoliko generacija strukturno različitih PTC baziranih na strukturi *Cinchona* alkaloida. Strukturna modifikacija prve generacije PTC bila je kvaternizacija kinuklidinskog atoma dušika s različito supstituiranim benzil-halogenidima. O'Donnell i suradnici su primjenili kvaternizirane derivate cinhonidina i cinhonina u reakciji alkilacije *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butilnog estera čijom hidrolizom su dobivene odgovarajuće α -aminokiseline.⁷³ Korištenjem *N*-benzilcinhonidinijevog klorida kao katalizatora dobiven je alkilirani produkt (*S*)-konfiguracije, a korištenjem kvazienantiomera dobiven je alkilirani produkt suprotne konfiguracije, shema 13.



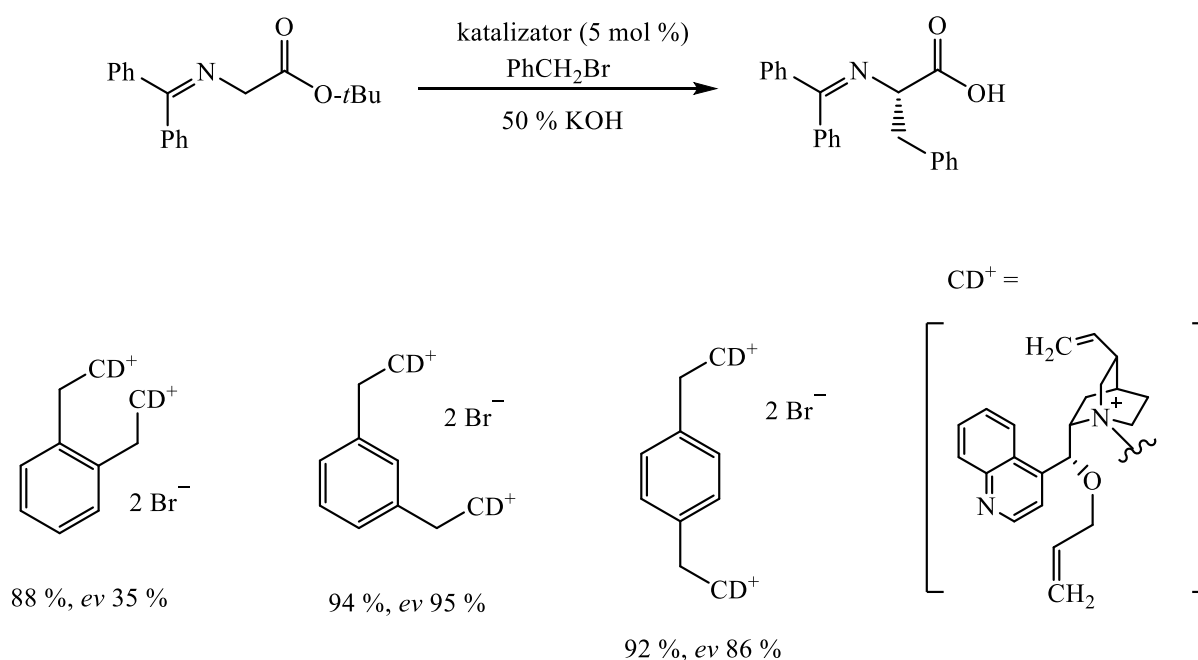
Shema 13. Alkilacija *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butilnog estera korištenjem PTC prve generacije.

Druga generacija PTC uključivala je korištenje antracenskih derivata kao reagensa za kvaternizaciju. Takvi kvaterni derivati cinchonidina i cinhonina primjenjeni su u istoj modelnoj reakciji pri čemu je iskorištenje reakcije bilo nešto niže, ali je enantiomerna čistoća produkta bila veća, shema 14.⁷⁴



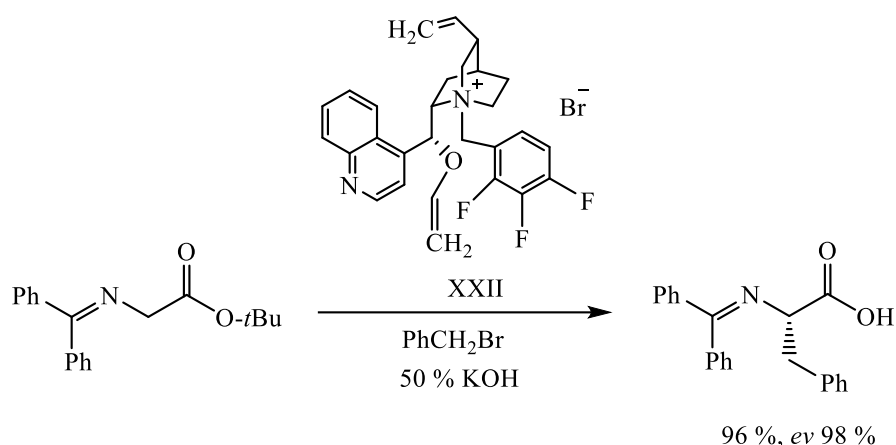
Shema 14. Alkilacija *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butilnog estera korištenjem PTC druge generacije.

Daljnja derivatizacija *Cinchona* alkaloida uključivala je derivatizaciju C9-hidroksilne skupine te dimerizaciju alkaloida u kojima su alkaloidne jedinice povezane različitim linkerima. Ovakvi katalizatori korišteni su i prilikom totalne stereoselektivne sinteze prirodnih spojeva (kurasoin-B, antofin, higrin), shema 15.



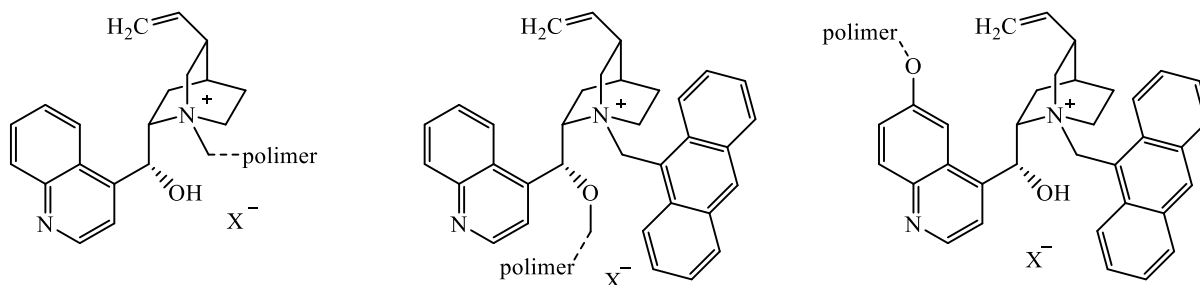
Shema 15. Alkilacija *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butilnog estera korištenjem PTC treće generacije.

U ove tri generacije PTC razmatrao se sterički učinak supstituenata, a zadnja generacija PTC uključuje kvaternizaciju s benzil-halogenidima koji su supstituirani s atomom fluora u različitim položajima. Naglasak je na promjeni elektronske strukture promjenom supstituenta na benzilnom prstenu. Skupine koje odvlače elektrone mogu povećati enantioselektivnost zbog čvršćeg vezanja ionskog para (nastaje čvršći kompleks). Od ispitivanih derivata, *N*-2',3',4'-trifluorobenzilcinhonidinijev bromid s alilnom skupinom na C9 atomu (XXII) se pokazao kao najbolji PTC u modelnoj reakciji alkilacije s više od *ev* 90 %, shema 16.⁷⁵



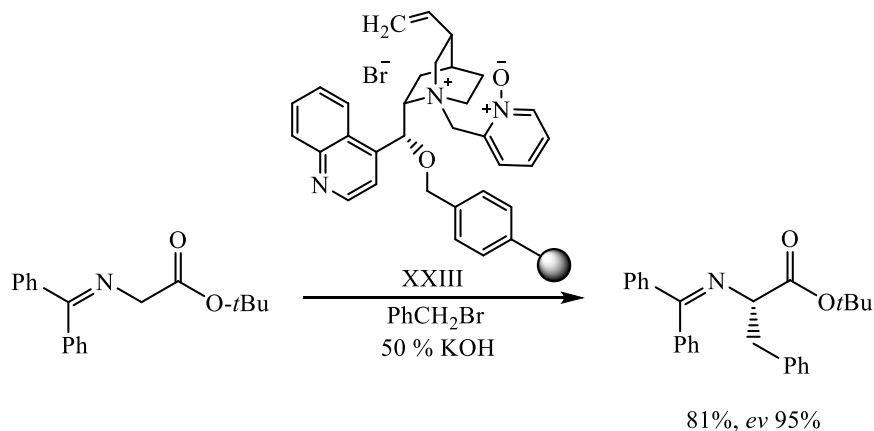
Shema 16. Alkilacija *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butilnog estera korištenjem PTC četvrte generacije.

Za sinteze na većoj skali, katalizatori vezani na čvrsti nosač imaju praktične i ekonomske prednosti. Razvijeni su različiti PTC na čvrstom nosaču bazirani na kosturu *Cinchona* alkaloida i mogu se ugrubo podijeliti u tri vrste, ovisno o tome kako je alkaloid vezan na nosač: preko kinuklidinskog atoma dušika, preko C9-hidroksilne skupine ili preko C6'-metoksi skupine, slika 11.



Slika 11. PTC na čvrstom nosaču bazirani na kosturu *Cinchona* alkaloida.

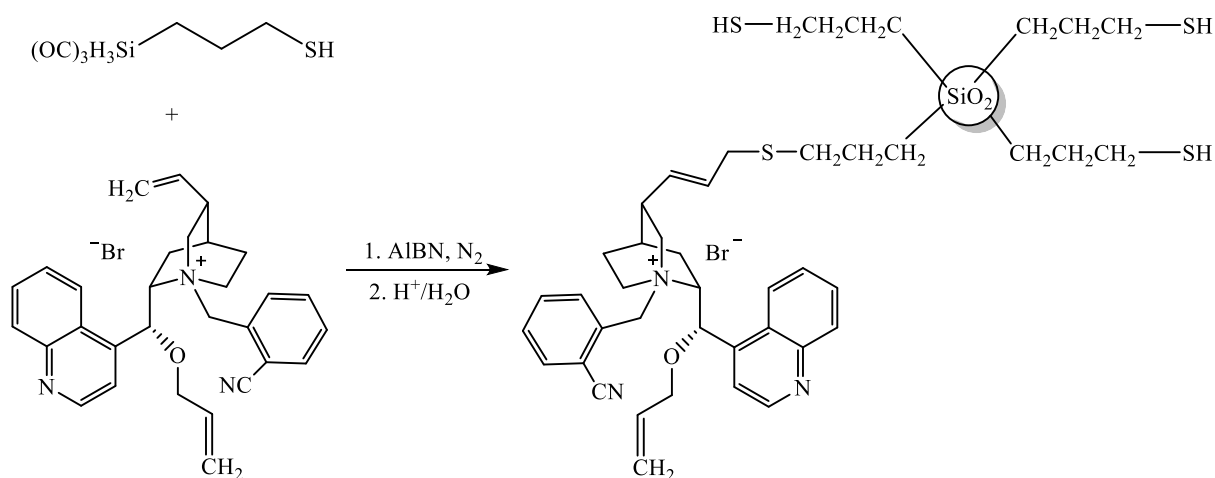
Cinchona alkaloidi kvaternizirani sa skupinama koje omogućuju stvaranje vodikovih veza te konjugirani s Merrifieldovim nosačem preko atoma kisika na položaju C9 iskorišteni su kao PTC u reakciji α -alkilacije estera *N*-(difenilmetilen)glicin. Najboljim PTC se pokazao derivat XXIII te je dobiven alkilirani produkt enantiomernog viška od 95 %, shema 17.



Shema 17. Alkilacija *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butilnog estera korištenjem PTC na čvrstom nosaču.

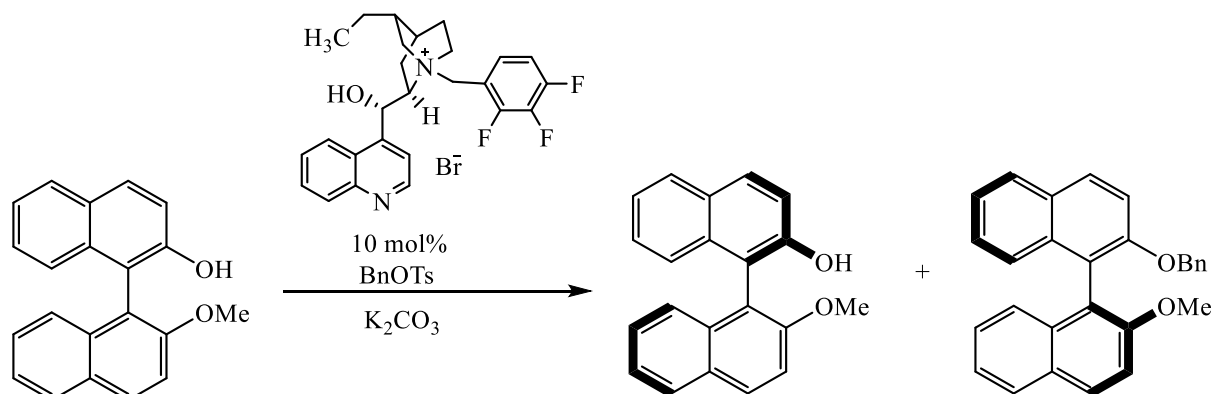
Feng i suradnici pripravili su *N*-(2-cijanobenzil)-9-*O*-alilcinchonidinijevu sol koju su vezali za silika gel adicijom sulfidrilne skupine 3-merkaptopropiltrimetoksisilana na dvostruku vezu ugljik-ugljik te hidrolizom nastalog trimetoksisilana.⁷⁶ U reakciji α -alkilacije *N*-(difenilmetilen)glicin *tert*-butil estera s različitim benzil-bromidima dobiveni su α -alkilirani

produkti s ev od 76–97 % dok korištenjem alil-bromida enantioselektivnost je bila slabija, shema 18.



Shema 18. Priprava PTC vezanjem preko vinilne skupine.⁷⁶

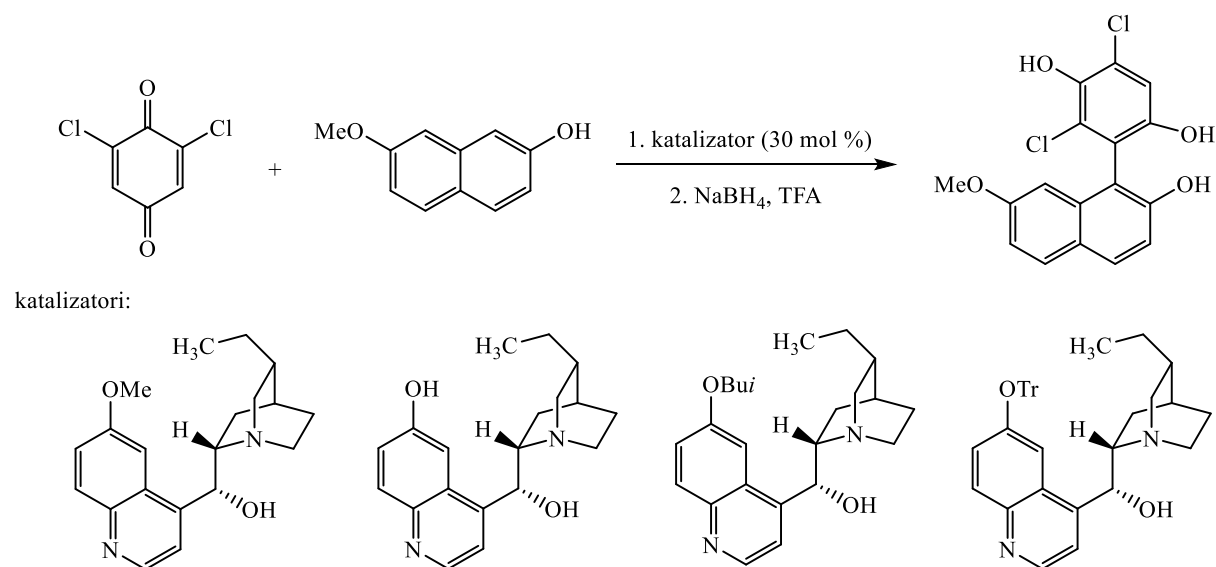
Nedavno je razvijena metoda kinetičke rezolucije enantiomera za pripremu C2-simetričnih i C2-nesimetričnih BINOL-a korištenjem kvaternih amonijevih soli KD i CN uz benzil-tosilat kao alkilirajući reagens i kalijev karbonat kao bazu, shema 19. U reakciji alkilacije C2-simetričnih i C2-nesimetričnih BINOL-a *N*-(2,3,4-trifluorobenzil)-10,11-dihydrocinchoninijev bromid pokazao se kao najselektivniji katalizator pri čemu su autori uspješno izolirali enantiomerno čisti reaktant te alkilirani produkt suprotne konfiguracije.⁷⁷



Shema 19. Kinetička rezolucija enantiomera BINOL-a.

Autori su predložili mehanizam reakcije u kojem prijelazno stanje uključuje vodikove veze između hidroksilne skupine alkaloida i BINOL-a s halogenidnim anionom te π - π interakcije između naftilnog i kinolinskog prstena koje su ključne za uspješnu rezoluciju.⁵⁴

Grupa autora koristila je kinin, kinidin i njihove C6' derivate kao katalizatore u reakciji pripreme biarilnih spojeva iz različito supstituiranih kinolona i 2-naftola, shema 20.⁷⁸



Shema 20. Priprava biarilnih spojeva uz *Cinchona* katalizatore.

Kinin se pokazao kao najučinkovitiji katalizator s iskorištenjem reakcije do 98 % i *ev* od 92 %. Autori su postulirali da deprotonirana hidroksilna skupina 2-naftola reagira s protoniranim kinuklidinskim atomom dušika dok je kinon aktiviran vodikovim vezama s C9 hidroksilnom skupinom katalizatora.

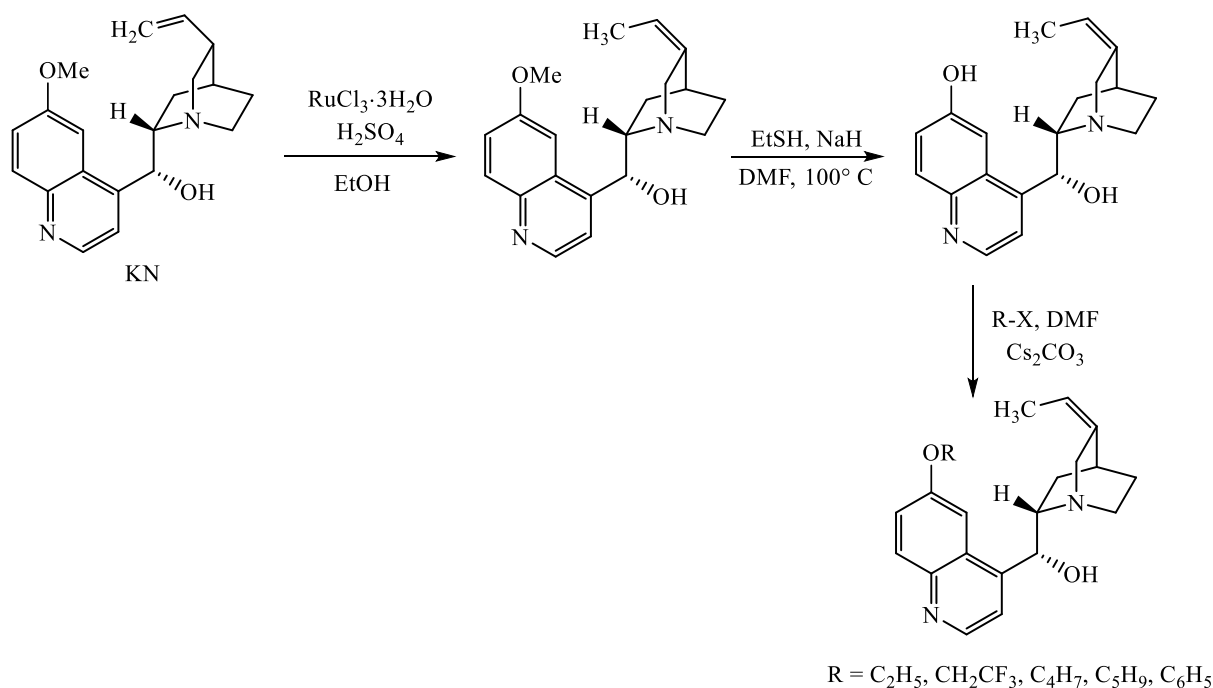
2.3. Biološka aktivnost *Cinchona* alkaloida

Cinchona alkaloidi su korišteni od davnina kao lijek za liječenje malarije uzrokovane *Plasmodium spp.* pri čemu se najčešće primjenivao kinin.² Proučavan je potencijal cinchonidina i kinina kao terapeutika za talasemiju, bolest koju karakterizira manjak hemoglobina.⁷⁹ Za triazolne derivate *Cinchona* alkaloida modificirane na položajima 9, 2' i 6' pokazano je da imaju antiproliferativnu aktivnost prema kancerogenim stanicama.⁸⁰

2.3.1. Interakcija s mikrobnim agensima

Smrtnost od akutnih respiratornih i probavnih infekcija, malarije, ospica i tuberkuloze čini 85 % smrtnosti od infekcija u svijetu. Porast broja bakterija koje su rezistentne na uobičajene antibiotike (engl. *multidrug resistant*, MDR) je jedna od najvećih prijetnji ljudskom zdravlju. Šest visokovirulentnih i rezistentnih bakterijskih patogena odnosno ESKAPE skupinu bakterija čine: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter spp.* koje su odgovorne za većinu bolničkih infekcija.⁸¹ Jedna od inicijativa za rješavanje ovog problema uključuje dizajn i sintezu novih spojeva na koje bakterije nemaju rezistenciju.

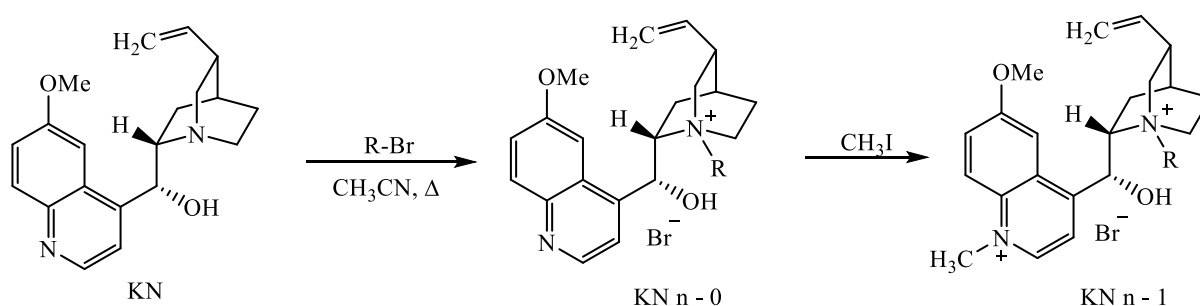
Proučavan je utjecaj antimalarika kinin-sulfata na inhibiciju različitih bakterija u kojima je utvrđeno da inhibira rast *Escherichie coli*, *Enterobacter agglomerans* i *Staphylococcus aureus* u koncentraciji od 50 $\mu\text{mol/L}$ dok na rast *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae* nije imao utjecaja.^{82, 83} Wang i suradnici pripravili su seriju različitih derivata optochina sistemski modificiranih na položajima C6', C3, C9 i C11.⁸⁴ Optochin, 6'-etil-10,11-dihidrokinin je davno otkriveni derivat kinina s visokom antimikrobnom aktivnošću koji se zbog visoke toksičnosti nije dugo koristio u kliničkoj praksi, ali se koristi u laboratorijskim testovima za razlikovanje *Streptococcus pneumoniae* od ostalih bakterija tog roda.⁸⁵ Izomerizacijom vinilne skupine katalizirane rutenijem (III) pripremljen je olefin kao smjesa 3:1 geometrijskih izomera koji je zatim demetiliran na položaju C6' pomoću natrijevog tioetoksida. Korištenjem različitih primarnih i sekundarnih alkil-bromida i alkil-jodida uz cezijev karbonat pripremljeni su C6'-derivati s iskorištenjem reakcija od 7–93 %. 6'-ciklobutil-11-metilkinin pokazao je najbolju inhibitornu aktivnost prema *Streptococcus pneumoniae* s minimalnom inhibitornom koncentracijom (engl. *minimal inhibitory concentration*, MIC) od 0,25 $\mu\text{g/mL}$ odnosno 8–16 puta je potentniji od nemodificiranog optochina. Farmakokinetičkim studijama pokazali su da se izrazito brzo metabolizira hidroksilacijom kinuklidina i *O*-dealkilacijom kinolina, shema 21.



Shema 21. Priprava derivata optochina.

Antimikrobna učinkovitost cinchonidina, cinchonina i njihovih derivata na stvaranje bakterijskog biofilma ispitana je na bakteriji *S. aureus*.⁸⁶ Nedavno su pripremljeni nanostrukturni premazi bazirani na *Cinchona* alkaloidima koji su sposobni otpustiti spojeve s visokim antimikrobnim potencijalom prema *E. coli*.⁸⁷

Grupa autora pripremila je biskvaterne derivate kinina u kojima je kinuklidinski atom dušika kvaterniziran s alkil-bromidima različite duljine lanca dok je kinolinski atom dušika kvaterniziran s metil-jodidom.⁸⁸ Pripremljenim mono- i biskvaternim derivatima ispitana je antimikrobna aktivnost prema različitim Gram-negativnim i Gram-pozitivnim bakterijama, shema 22, tablica 2.



Shema 22. Priprava mono- i biskvaternih derivata kinina.

Tablica 2. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC/ μ mol/L) derivata kinina prikazanih na shemi 22.

Spoj	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA1</i>	<i>MRSA2</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
KN 0-0	>500	>500	>500	>500	>500	500
KN 10-0	4	16	8	8	16	250
KN 11-0	2	16	4	4	16	63
KN 12-0	1	4	2	2	8	32
KN 14-0	0,5	2	4	1	8	8
KN 16-0	1	8	1	2	8	16
KN 18-0	2	63	2	4	63	125
KN-1,1	>500	>500	>500	>500	>500	>500
KN 10-1	8	16	16	8	16	125
KN 11-1	4	32	16	8	16	125
KN 12-1	2	63	16	16	16	125
KN 14-1	0,5	8	2	2	2	16
KN 16-1	1	1	2	1	2	8
KN 18-1	1	1	1	2	2	8
benzalkonijev klorid	8	32	8	8	32	63

Kinin nije pokazao biološku aktivnost prema ispitanim sojevima bakterija kao ni biskvaterni metilni derivat kinina. Monokvaterni i biskvaterni derivati pokazali su sličnu antimikrobnu aktivnost prema ispitivanim sojevima bakterija koja je bila bolja od antimikrobne aktivnosti kontrolne supstance, benzalkonijevog klorida, osim u slučaju *P. aeruginosa*. Kod biskvaternih derivata uočen je generalni trend da afinitet prema bakteriji raste što je duži alkilni lanac. Ovi rezultati ohrabruju daljnja istraživanja *Cinchona* alkaloida i njihovih derivata kao antimikrobnih reagensa.

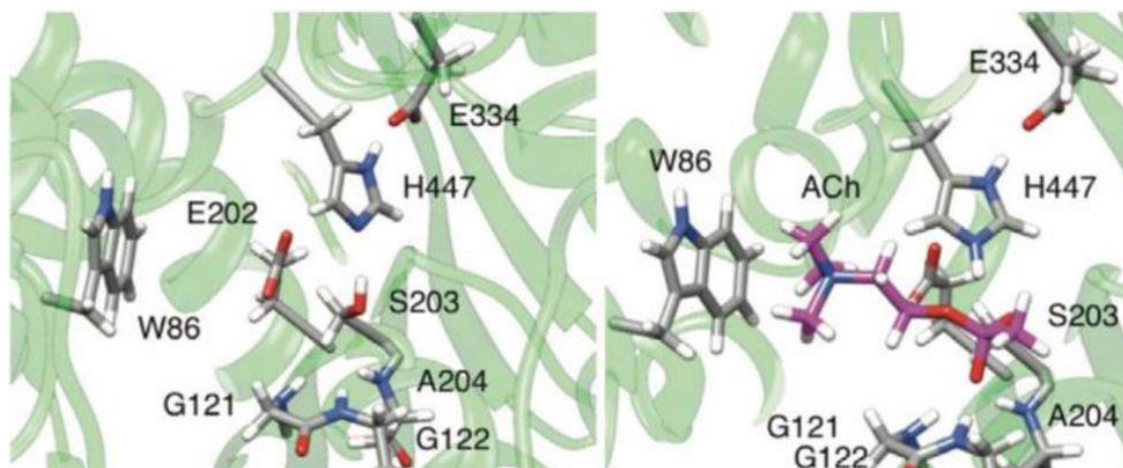
2.3.2. Interakcija s kolinesterazama

Hidroliza acetilkolina (ACh), prijenosnika živčanih impulsa, je kod kralježnjaka katalizirana dvjema kolinesterazama; acetilkolinesterazom i butirilkolinesterazom. Fiziološka funkcija AChE je hidroliza acetilkolina u kolinergičnoj sinapsi tijekom prijenosa živčanog impulsa i jedan je od najučinkovitijih enzima u prirodi zaslužan za izuzetno brz prijenos živčanih impulsa: ljudska AChE može hidrolizirati približno 400 000 molekula ACh po minuti.⁸⁹ AChE se sintetizira u koštanoj srži, mozgu i mišićima, a osim u živčanim stanicama, mišićima i mozgu, AChE se nalazi u srcu i krvi gdje je vezana na eritrocite. BChE je u većoj koncentraciji prisutna u središnjem i perifernom živčanom sustavu, cerebrospinalnoj tekućini, te crijevima, plućima, gušterači i jetri.⁸⁹ Iako je dokazano da BChE, kao i AChE, može hidrolizirati ACh u sinapsi, njezin specifični fiziološki supstrat nije pronađen i time prava fiziološka uloga u organizmu do danas nije razjašnjena. Međutim, BChE djeluje kao čistač organizma od prirodnih (fizostigmin, solanidin, solanin, kokain, huperzinA) i sintetskih anti-kolinesteraznih spojeva (organofosforni i karbamatni pesticidi te živčani bojni otrovi) prije nego oni reagiraju s AChE. Nadalje, BChE u odsutnosti AChE regulira količinu ACh u sinapsama središnjeg živčanog sustava i glatkim mišićima. Inhibicija kolinesteraza, prvenstveno AChE, predstavlja jedan od temeljnih pristupa tretmanu neurodegenerativnih bolesti u čijoj etiologiji je smanjenje koncentracije ACh (Alzheimerova i Parkinsonova bolest).⁹⁰

AChE i BChE nastaju kao produkt ekspresije različitih gena, ali dijele izniman postotak homologije u primarnoj i čak 90 % u terciarnoj strukturi. Aktivno mjesto oba enzima nalazi se na dnu 20 Å dugačkog ždrijela. Velika brzina hidrolize s obzirom na oblik i položaj aktivnog mjesta u proteinu objašnjena je serijom simulacija metodama molekularne dinamike gdje su uočene promjene u veličini šupljine od 0,75–2,5 Å na 10 ns vremenskoj skali koje omogućuju supstratu da dođe do aktivnog mjesta.⁹⁰ Identificirane su četiri domene koje čine aktivno mjesto

oba enzima: katalitičko mjesto (katalitička trijada s oksianionskom šupljinom), kolinsko mjesto (kation- π mjesto) važno za stabilizaciju pozitivno nabijenoga kvaternog dijela kolinskih supstrata, acilni džep odgovoran za smještaj acilnog dijela supstrata i periferno mjesto koje je smješteno na rubu ždrijela.

Katalitičku trijadu ljudske AChE čine His447, Glu334 i Ser203 koji nukleofilno napada karbonilni ugljikov atom ACh, slika 12. Oksianionska šupljina sastoji se od Gly121, Gly122 i Ala204 koji stvaraju jake vodikove veze s negativno nabijenim karbonilnim kisikovim atomom ACh i tako pomažu u stabilizaciji negativnog naboja koji se stvara tijekom hidrolize. Trp86 i Glu202 čine kationsko vezno mjesto i pomoću ion-ion i kation- π interakcija stabiliziraju kolin. Periferno anionsko mjesto sastoji se od aromatskih aminokiselina Tyr72, Tyr124 i Trp286.⁸⁹



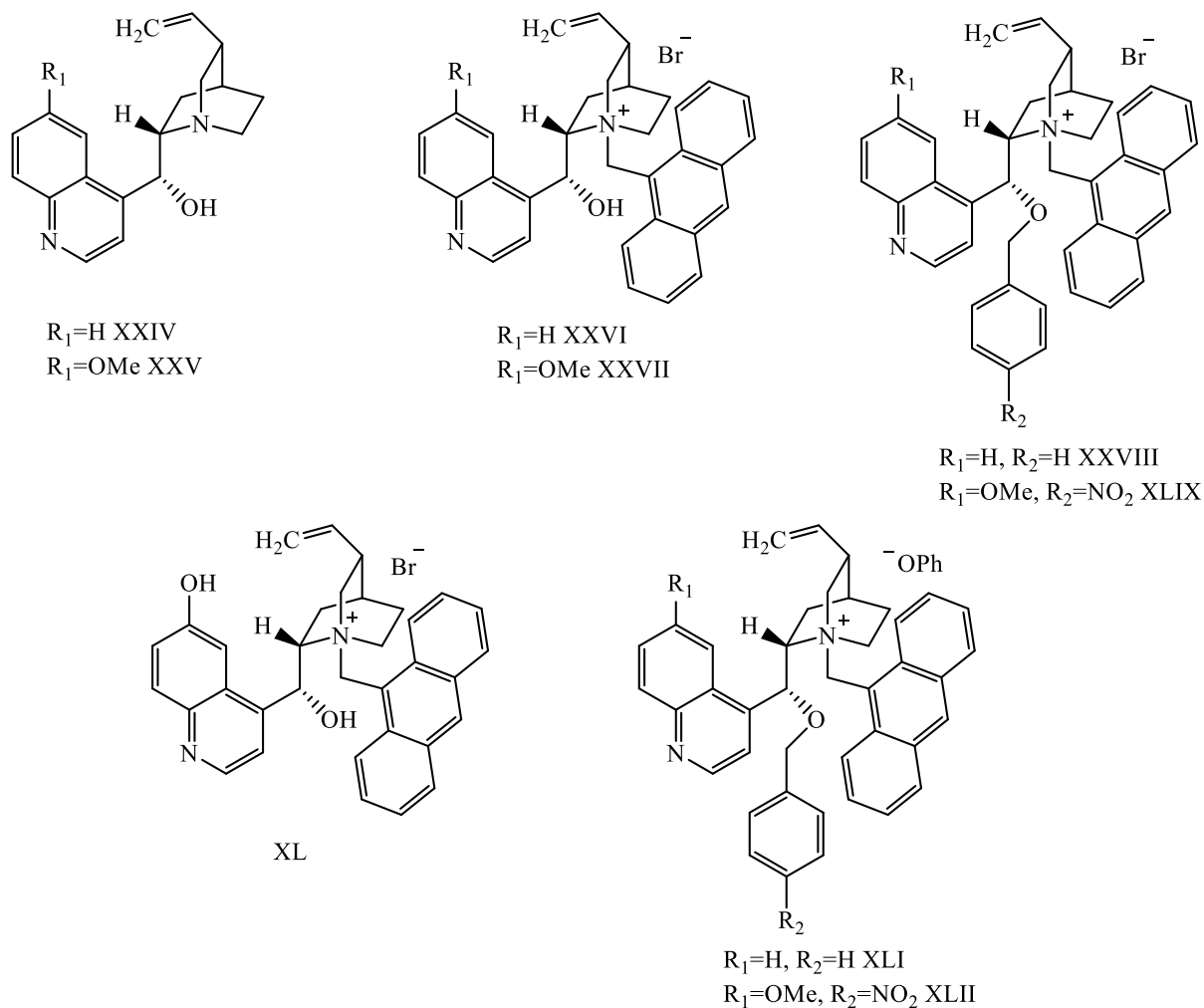
Slika 12. Aktivno mjesto ljudske AChE bez (lijevo) i s vezanim ACh (desno). Istaknute su aminokiseline katalitičke trijade: serin (S203), histidin (H447) i glutaminska kiselina (E334), kationskog veznog mjesta: triptofan (W86) i glutaminska kiselina (E202) te oksianionske šupljine: alanin (A204) i glicin (G121, G122).

Aktivno mjesto BChE je za $\sim 200 \text{ \AA}^3$ veće od onog AChE. Razlika u volumenu aktivnog mjesta razlog je radi kojeg BChE može hidrolizirati znatno veće supstrate nego AChE, na primjer butiril- i sukcinilkolin. Nadalje, BChE sudjeluje u biokonverziji nekolicine farmakološki važnih spojeva kao što su bambuterol, heroin, sukcinildikolin, aspirin, kokain, amitriptilin, a odgovorna je i za fiziološku hidrolizu grelina, hormona gladi.⁹¹ U novije vrijeme, BChE se proučava kao nova meta za tretman neurodegenerativnih bolesti. AChE je esencijalan enzim i njegovom inhibicijom dolazi do niza zdravstvenih problema, koji, ovisno o stupnju inhibicije i primijenjenim antikolinergikom, mogu dovesti i do smrti. Za razliku od AChE, inhibicija BChE ne utječe na funkcije organizma tako da osobe kojima je aktivnost BChE vrlo

mala ili inhibirana, nemaju zdravstvenih poteškoća. Iz tog razloga BChE može djelovati kao čistač organizma od inhibitora AChE, svojstvo koje se koristi kod trovanja organofosfornim spojevima kao što su bojni otrovi i neki pesticidi.⁹²

Inhibitori ometaju ili onemogućuju aktivnost enzima, a u aktivno mjesto kolinesteraza mogu se vezati nekovalentno ili kovalentno. Reverzibilni inhibitori vežu se ili u aktivno mjesto enzima čime kompetiraju s ACh, na periferno mjesto ili u oba mjesta na enzimu. Kompeticija u aktivnom mjestu enzima direktno onemogućava hidrolizu supstrata, jer se vezanje supstrata i inhibitora međusobno isključuje, dok vezanje inhibitora na periferno mjesto, vezanje supstrata onemogućava indirektno. Donepazil i galantamin su reverzibilni inhibitori AChE koji se primjenjuju u tretmanu Alzheimerove bolesti i glaukoma, dok se oksimi kao reverzibilni inhibitori AChE i/li BChE koriste kao antidoti prilikom trovanja organofosfornim bojnim otrovima. Da bi neki inhibitor bio ireverzibilan, odnosno da se u aktivno mjesto kolinesteraza veže kovalentno, njegova struktura mora oponašati strukturu prijelaznog stanja koja se javlja u enzimu tijekom katalitičkog ciklusa i kovalentno se vezati na aminokiselinu koja sudjeluje u reakciji sa supstratom, odnosno na katalitički serin (Ser203 u *hAChE*). Primjer ireverzibilnih inhibitora AChE su organofosforni bojni otrovi i pesticidi koji se kovalentno vežu na hidroksilnu skupinu serina u aktivnom mjestu enzima fosforilirajući tako enzim koji kao takav više ne može hidrolizirati ACh. Mehanizam reaktivacije fosforilirane AChE uključuje nukleofilni napad oksimske skupine na fosforilirani enzim pri čemu se koriste oksimi metoksim, trimesoksim i obidoksim, kao standardni antidoti.

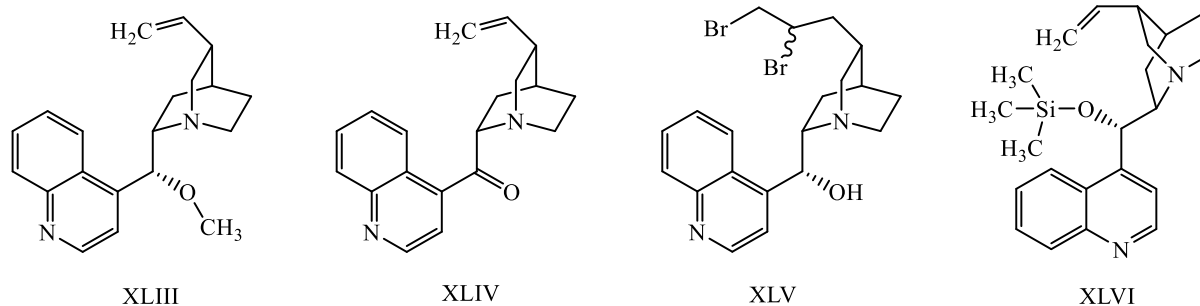
Cinchona alkaloidi i njihovi derivati izučavani su i kao inhibitori kolinesteraza. 9-*O*-benzilni eter *N*-antracencilcinhonidinijevog bromida, XLI, slika 13, pokazao se kao najselektivniji inhibitor s 250 puta većim afinitetom prema BChE te *N*-antracencilcinhonidinijev bromid, XXVI, s oko 190 puta većim afinitetom prema BChE.⁹³ Derivati kinina nisu pokazali afinitet prema kolinesterazama iz čega se može zaključiti da metoksi skupina na C6' položaju ima negativan utjecaj na vezanje supstrata u aktivno mjesto enzima.



Slika 13. Derivati *Cinchona* alkaloida testiranih kao inhibitori kolinesteraza.

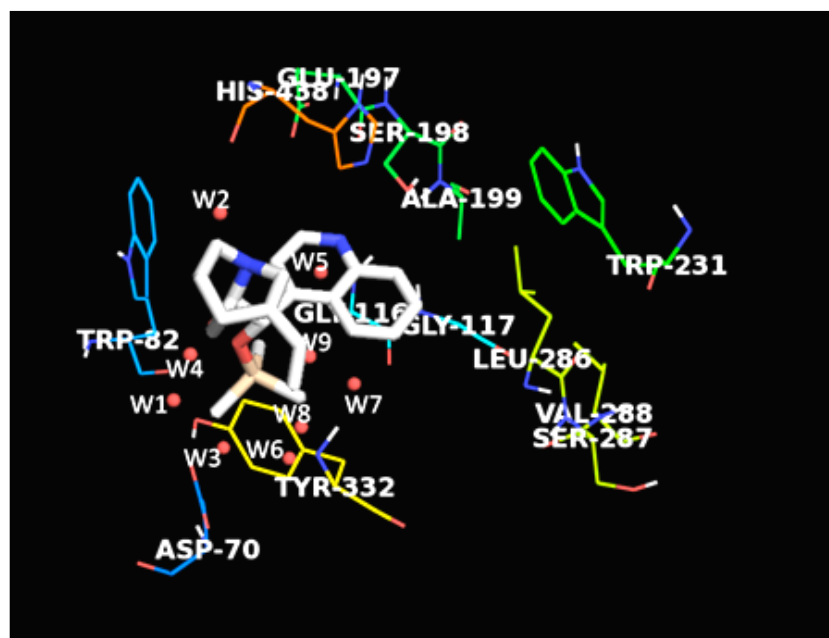
Molekulskim modeliranjem autori su pokušali objasniti selektivnost AChE i BChE prema pripremljenim derivatima. Najstabilniji kompleks XLVIII:BChE, slika 13, s K_i 0,4 $\mu\text{mol/L}$, stabiliziran je Trp82: π - π interakcijama koje stvara Trp82 s antracenskim prstenom i kation- π interakcijama s kinuklidinskim atomom dušika te π - π interakcije Trp332 s kinuklidinskim prstenom dok je kompleks XLVIII:AChE (K_i 71,1 $\mu\text{mol/L}$) stabiliziran samo hidrofobnim interakcijama.

Druga grupa autora je evaluirala cinchonidin i cinchonin te njihove derivate kao selektivne inhibitore BChE, slika 14.⁹³



Slika 14. Testirani derivati *Cinchona* alkaloida kao selektivni inhibitori BChE.

Od ispitanih derivata, C9-*O*-trimetilsililni derivat cinchonina, XLVI, slika 14, pokazao se kao najselektivniji inhibitor s oko 400 puta većim afinitetom prema BChE u odnosu na AChE. Koristeći PCA autori su definirali kemijski prostor pripremljenih derivata. Bioaktivni derivati karakterizirani su regijom koja je definirana malom molekularnom masom, visokom aromatičnošću, umjerenom lipofilnošću te ograničenom fleksibilnošću molekule. Također, molekularnim modeliranjem kompleksa XLVI:BChE pokazano je da XLVI može stvarati stabilizirajuće π - π interakcije s Trp82 dok kompleks XLVI:AChE ne može potpuno ući u ždrijelo gdje se nalazi aktivno mjesto, slika 15.



Slika 15. C9-*O*-trimetilsililni derivat CN, XLVI, u aktivnom mjestu BChE.⁹³

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Komercijalno dostupni reagensi korišteni su bez daljnjeg pročišćavanja ukoliko nije drugačije navedeno. Suha otapala pripravljena su korištenjem standardnih laboratorijskih postupaka.⁹⁴

Tankoslojna kromatografija (engl. *thin layer chromatography*, TLC) izvođena je na pločicama silikagela (HPTLC Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck, Darmstadt, Njemačka) a za vizualizaciju je korišteno ultraljubičasto svjetlo ($\lambda = 254$ nm) ili pare joda. Kromatografija na stupcu izvođena je na silika gelu (Silica gel 60, 70–230 veličina otvora sita, Sigma-Aldrich, Steinhem am Albuch, Njemačka).

¹H i ¹³C 1D i 2D NMR spektri snimljeni su na Bruker AV300 i/li 600 u deuteriranim otapalima pri sobnoj temperaturi. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u dijelovima na milijun (ppm) a kao standard korišten je tetrametilsilan (TMS) ili signal otapala. Konstante sprege (J) izražene su u hercima (Hz). Signali su označeni kao br. s. (široki singlet), d (dublet), dd (dublet dubleta), ddd (dublet dublet dubleta), t (triplet), q (kvartet), quin (quintet), m (multiplet). Prilikom asignacije spektara, atomi vodika i ugljika kinuklidinskog prstena označeni su brojevima od 1–11, atomi vodika i ugljika kinolinskog prstena označeni su s apostroфом a atomi vodika i ugljika benzilnog prstena označeni su s dva apostrofa.

¹H NMR spektri pri niskim temperaturama snimljeni su na NMR Bruker Avance 600 u deuteriranom metanolu pri 25 °C, 10 °C, 0 °C, –10 °C, –20 °C, –30 °C, –40 °C i –50 °C.

Infracrveni (IR) spektri snimljeni su na Perkin-Elmer FTIR Spectrum-Two spektrofotometru. Kruti uzorci snimani su tehnikom pastile kalijevog bromida, a tekući uzorci na pločicama natrijevog klorida. Valni brojevi ($\tilde{\nu}$) izraženi su u cm⁻¹.

Tališta su određena u otvorenim kapilarama na uređaju Buchi Melting Point B-450 i nisu korigirana.

Optička skretanja određena su na polarimetru Optical Activity AA-10 pri sobnoj temperaturi u kiveti dugoj 10 cm. Koncentracija otopine izražena je kao masa uzorka u 100 mL otopine (g/100 mL).

Spektri masa snimani su na spregnutom sustavu nanoUHPLC-MS/MS ThermoScientific QEactive Plus, a uzorci su pripravljeni u metanolu LC-MS čistoće (Honeywell, Seelze, Njemačka).

HPLC analize čistoće spojeva provedene su na Agilent 1260 HPLC sustavu (Agilent, Santa Clara, SAD) opremljenim kvaternom pumpom (G7111B), termostatiranim kućištem kolone (G7116A), DAD detektorom (G7115A) i automatskim uzorkivačem (G7157). Korištena je Zorbax Extend-C18 kolona veličine čestica 5 μm , dimenzija 4,6 · 250 mm. Za analizu kvaternih derivata korišten je eluens A: H₂O, eluens B: CH₃CN, gradijentna metoda: 10/90/90/10/10 % B u vremenskim intervalima 0/10/15/20/25, volumen injektiranja 10 μL , protok 1 mL/min, $\lambda=290$ nm. Za analizu karbamatnih derivata korišten je eluens A: H₂O:MeOH:H₃PO₄, eluens B: MeOH, gradijentna metoda: 50/100/100/50/50 % B u vremenskim intervalima 0/20/25/27/30, 1 mL/min, $\lambda=220$ nm.

3.2. Sinteza *N*-kvaternih derivata cinchonidina i cinhonina

3.2.1. Opći postupak

Cinhonidin/cinhonin (1 mmol) i odgovarajući alkil-halogenid (1,05 mmol) refluksirani su u toluenu a reakcija je praćena pomoću TLC-a ($\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$) = 9 : 1. Reakcijska smjesa ohlađena je na sobnu temperaturu, istaloženi produkt profiltriran te prekrizaliziran iz smjese metanola i etera.

3.2.1.1. Sinteza *N*-metilcinhonidinijevog jodida (**1**)

Spoj **1** pripravljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,3 g spoja **1** (69 %); t_f 222,5 °C; $[\alpha]_D^{24} = -214^\circ$ (c 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3443 (O–H) 3172 (C–H_{Ar}) 1511 (C=C) 1132 (C–N); **¹H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*6) δ/ppm : 1,20–1,27 (1 H, m, H7a) 1,90–1,97 (1 H, m, H4) 2,02–2,13 (3 H, m, H7b, H5) 2,78–2,84 (1 H, m, H3) 3,42 (3 H, s, CH₃) 3,43–3,47 (1 H, m, H6b) 3,64–3,77 (3 H, m, H8, H2) 4,16–4,22 (1 H, m, H6a) 4,96 (1 H, d, $J=10,6$ Hz, H11b) 5,15 (1 H, d, $J=17,2$ Hz, H11a) 5,69 (1 H, ddd, $J=17,2, 10,6, 6,6$ Hz, H10) 6,21 (1 H, m, H9) 6,58 (1 H, d, $J=3,7$ Hz, OH) 7,70–7,74 (1 H, m, H7') 7,75 (1 H, d, $J=4,4$ Hz, H3') 7,81–7,86 (1 H, m, H6') 8,08–8,11 (1 H, m, H5') 8,15 (1 H, d, $J=8,4$ Hz, H8') 8,96 (1 H, d, $J=4,4$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*6) δ/ppm : 19,8 (C7) 24,7 (C5) 25,7 (C4) 37,4 (C3) 48,5 (CH₃) 54,5 (C6) 63,7 (C2) 64,3 (C9) 66,4 (C8) 116,3 (C11) 119,8 (C3') 123,3 (C5') 124,2 (C9') 127,2 (C6') 129,4 (C7') 129,9 (C8') 138,1 (C10) 145,2 (C10') 147,6 (C4') 150,1 (C2'), CHN analiza: izračunato za C₂₀H₂₅IN₂O: C 55,05; H 5,78; N 6,42 nađeno C 55,08; H 5,77; N 6,40.

3.2.1.2. Sinteza *N*-benzilcinhonidinijevog bromida (**2**)

Spoj **2** pripravljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,4 g spoja **2** (90 %); t_f 185,6–186,7 °C; $[\alpha]_D^{24} = -155^\circ$ (c 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3435 (O–H) 3115 (C–H_{Ar}) 1506 (C=C) 1129 (C–N); **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*6) δ/ppm : 1,20–1,37 (1 H, m, H7a) 1,82 (1 H, m, H5b) 1,96–2,21 (3 H, m, H5a, H7b, H4) 2,69 (1 H, m, H3) 3,18–3,32 (2 H, m, H2b, H6b) 3,78 (1 H, d, $J=11,3$ Hz, H2a) 3,94 (1 H, t, $J=8,7$ Hz, H8) 4,29 (1 H, t, $J=10,6$ Hz, H6a) 4,90–5,10 (2 H, m, H11) 5,10–5,25 (2 H, m, CH₂) 5,68 (1 H, ddd, $J=17,2, 10,6, 6,5$ Hz, H10) 6,52–6,63 (1 H, m, H9) 6,75 (1 H, d, $J=4,5$ Hz, OH) 7,54–7,66 (3 H, m, H4'', H6'', H2'') 7,70–7,91 (5H, m, H6', H3'', H5'', H7', H3') 8,08–8,15 (1 H, m, H5') 8,31 (1 H, d, $J=8,3$ Hz, H8') 8,99 (1 H, d, $J=4,5$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*6) δ/ppm : 21,4 (C7) 24,7 (C5) 26,3 (C4) 37,3 (C3) 51,1 (C6) 59,7 (C2) 63,2 (CH₂) 64,5 (C9) 68,1 (C8) 116,8 (C11) 120,6 (C3') 124,2 (C5')

124,8 (C9') 127,7 (C6') 128,4 (C1'') 129,4 (C7') 129,9 (C8') 130,3 (C2'', C6'') 130,6 (C4'') 134,2 (C3'', C5'') 138,6 (C10) 145,7 (C10') 148,1 (C4') 150,6 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₆H₂₉BrN₂O: C 67,10; H 6,28; N 6,02 nađeno C 67,13; H 6,27; N 6,04.

3.2.1.3. Sinteza N-(4-brombenzil)cinchonidinijevog bromida (3)

Spoj **3** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,4 g spoja **3** (80 %); *t*_f 234,9–235,8 °C; $[\alpha]_D^{24} = -176^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3436 (O–H) 3144 (C–H_{Ar}) 1506 (C=C) 1071 (C–N); **¹H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 1,20–1,36 (1 H, m, H7a) 1,80 (1 H, t, *J*=9,4 Hz, H5b) 1,93–2,02 (1 H, m, H4) 2,02–2,08 (1 H, m, H5a) 2,12 (1 H, dd, *J*=12,8; 8,1 Hz, H7b) 2,67 (1 H, m, H3) 3,23 (1 H, td, *J*=11,4; 4,4 Hz, H6b) 3,32–3,35 (1 H, m, H2b) 3,61–3,76 (1 H, m, H2a) 3,89 (1 H, t, *J*=9,0 Hz, H8) 4,17–4,30 (1 H, m, H6a) 4,95 (1 H, d, *J*=10,6 Hz, H11b) 4,99 (1 H, d, *J*=12,5 Hz, H11a) 5,11–5,17 (2 H, m, CH₂) 5,67 (1 H, ddd, *J*=17,2; 10,6; 6,0 Hz, H10) 6,48–6,59 (1 H, m, H9) 6,72 (1 H, d, *J*=4,4 Hz, OH) 7,68 (2 H, d, *J*=8,4 Hz, H2'', H6'') 7,75 (1 H, td, *J*=7,6; 1,3 Hz, H3') 7,78–7,81 (3 H, m, H6', H5'', H3'') 7,83–7,87 (1 H, m, H7') 8,09–8,13 (1 H, m, H5') 8,28 (1 H, d, *J*=8,1 Hz, H8') 8,98 (1 H, d, *J*=4,4 Hz, H2'); **¹³C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 20,8 (C7) 24,2 (C5) 25,8 (C4) 36,9 (C3) 50,6 (C6) 59,1 (C2) 61,9 (CH₂) 64,1 (C9) 67,7 (C8) 116,3 (C11) 120,0 (C3') 123,5 (C5') 124,0 (C9') 124,3 (C4'') 127,1 (C6') 127,3 (C1) 129,4 (C7') 129,9 (C8') 131,9 (C5'', C3'') 135,8 (C6'', C2'') 138,0 (C10) 145,2 (C10') 147,6 (C4') 150,1 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₆H₂₈Br₂N₂O: C 57,37; H 5,19; N 5,15 nađeno C 57,33; H 5,17; N 5,14.

3.2.1.4. Sinteza N-(4-metilbenzil)cinchonidinijevog bromida (4)

Spoj **4** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,34 g spoja **4** (72 %); *t*_f 218,3–219,8 °C; $[\alpha]_D^{24} = -226^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3422 (O–H) 3120 (C–H_{Ar}) 1586 (C=C) 1127 (C–N); **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 1,21–1,35 (1 H, m, H7a) 1,73–1,89 (1 H, m, H5b) 1,99 (1 H, m, H4) 2,03–2,18 (2 H, m, H7b, H5a) 2,40 (3 H, s, CH₃) 2,68 (1 H, s, H3) 3,14–3,30 (2 H, m, H2b, H6b) 3,68 (1 H, d, *J*=12,8 Hz, H2a) 3,89 (1 H, t, *J*=8,8 Hz, H8) 4,22 (1 H, t, *J*=11,7 Hz, H6a) 4,88–5,00 (2 H, m, H11) 5,01–5,19 (2 H, m, CH₂) 5,67 (1 H, ddd, *J*=17,2, 10,5, 6,6 Hz) 6,55 (1 H, s, H9) 6,72 (1 H, d, *J*=4,1 Hz, OH) 7,39 (2 H, m, *J*=7,9 Hz, H5'', H3'') 7,59 (2 H, m, *J*=7,9 Hz, H2'', H6'') 7,70–7,91 (3 H, m, H7', H3', H6') 8,06–8,15 (1 H, m, H5') 8,27 (1 H, d, *J*=8,3 Hz, H8') 8,98 (1 H, d, *J*=4,1 Hz, H2'); **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 21,3 (CH₃) 21,8 (C7) 24,7 (C5) 26,3 (C4) 37,3 (C3) 59,6 (C6) 62,3 (C2) 63,2 (CH₂) 64,6 (C9) 68,00 (C8) 116,8 (C11) 120,5 (C3') 124,1 (C5') 124,7 (C9') 125,3

(C1'') 127,6 (C6') 130,0 (C2'', C4'') 130,4 (C8') 134,1 (C3'', C5'') 138,6 (C10) 140,3 (C4'') 145,7 (C10') 148,1 (C4') 150,7 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₇H₃₁BrN₂O: C 67,64; H 6,52; N 5,84 nađeno C 67,66; H 6,51; N 5,86.

3.2.1.5. Sinteza N-(4-nitrobenzil)cinhonidinijevog bromida (5)

Spoj **5** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,35 g spoja **5** (68 %); *t*_f 193,5–194,5 °C; $[\alpha]_D^{24} = -317^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3433 (O–H) 3176 (C–H_{Ar}) 1509 (C=C) 1519 (C–N); **¹H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 1,26–1,37 (1 H, m, H7a) 1,76–1,86 (1 H, m, H5b) 1,97–2,05 (1 H, m, H4) 2,05–2,12 (1 H, m, H5a) 2,12–2,18 (1 H, m, H7b) 2,65 (1 H, s, H3) 3,26 (1 H, td, *J*=11,6, 5,1 Hz, H6b) 3,34–3,38 (1 H, m, H2b) 3,81–3,87 (1 H, m, H2a) 3,97 (1 H, t, *J*=8,8 Hz, H8) 4,30–4,38 (1 H, m, H6a) 4,97 (1 H, d, *J*=10,6 Hz, H11a) 5,15–5,25 (2 H, m, CH₂) 5,33 (1 H, d, *J*=12,1 Hz, H11b) 5,68 (1 H, ddd, *J*=17,2; 10,6; 6,6 Hz, H10) 6,54–6,61 (1 H, m, H9) 6,76 (1 H, d, *J*=4,4 Hz, OH) 7,74–7,79 (1 H, m, H6') 7,81–7,88 (2 H, m, H3', H7') 8,07 (2 H, m, *J*=8,4 Hz, H2'', H6'') 8,12 (1 H, d, *J*=8,4 Hz, H5') 8,32 (1 H, d, *J*=8,4 Hz, H8') 8,43 (2 H, m, *J*=8,4 Hz, H5'', H3'') 9,00 (1 H, d, *J*=4,4 Hz, H2'); **¹³C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 20,9 (C7) 24,2 (C5) 25,7 (C4) 36,9 (C3) 50,9 (C6) 59,3 (C2) 61,4 (CH₂) 64,1 (C9) 68,0 (C8) 116,4 (C11) 120,1 (C3') 123,6 (C5') 123,7 (C3'', C5'') 124,3 (C9') 127,20 (C6', C7') 129,4 (C5') 129,9 (C8') 135,3 (C1) 135,3 (C6'', C2'') 138,0 (C10) 145,1 (C4'') 147,6 (C10') 148,5 (C4') 150,2 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₆H₂₈BrN₃O₃: C 61,18; H 5,53; N 8,23 nađeno C 61,17; H 5,57; N 8,20.

3.2.1.6. Sinteza N-(4-klorbenzil)cinhonidinijevog bromida (6)

Spoj **6** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,41 g spoja **6** (82 %); *t*_f 225,4–226,3 °C; $[\alpha]_D^{24} = -156^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3430 (O–H) 3117 (C–H_{Ar}) 1506 (C=C) 1116 (C–N); **¹H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 1,21–1,38 (1 H, m, H7a) 1,80 (1 H, t, *J*=9,2 Hz, H5b) 2,00 (1 H, m, H4) 2,06–2,20 (2 H, m, H7b, H5a) 2,67 (1 H, m, H3) 3,15–3,25 (1 H, m, H6b) 3,35 (1 H, d, *J*=11,1 Hz, H2b) 3,72 (1 H, d, *J*=13,0 Hz, H2a) 3,91 (1 H, t, *J*=8,8 Hz, H8) 4,14–4,34 (1 H, m, H6a) 4,92–5,08 (2 H, m, CH₂) 5,11–5,23 (2 H, m, H11) 5,67 (1 H, ddd, *J*=17,2, 10,6, 6,5 Hz, H10) 6,50–6,59 (1 H, m, H9) 6,71 (1 H, d, *J*=4,3 Hz, OH) 7,60–7,70 (2 H, m, H3', H6') 7,71–7,83 (4 H, m, ArH'') 7,84–7,88 (1 H, m, H7') 8,11 (1 H, d, *J*=8,5 Hz, H5') 8,28 (1 H, d, *J*=8,3 Hz, H8') 8,98 (1 H, d, *J*=4,5 Hz, H2'); **¹³C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 21,4 (C7) 24,7 (C5) 26,3 (C4) 37,4 (C3) 51,1 (C6) 59,7 (C2) 62,4 (CH₂) 64,6 (C9) 68,24 (C8) 116,8 (C11) 120,5 (C3') 124,1 (C5') 124,7 (C9') 127,4 (C1) 127,7 (C6') 129,5 (C7')

129,9 (C8') 130,4 (C2'', C6'') 135,7 (C'') 136,0 (C3'', C5'') 138,5 (C10) 145,7 (C10') 148,1 (C4') 150,6 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₆H₂₈BrClN₂O: C 62,47; H 5,65; N 5,60 nađeno C 62,44; H 5,66; N 5,63.

3.2.1.7. Sinteza N-metilcinhoninijevog jodida (7)

Spoj **7** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,27 g spoja **7** (60 %); *t*_f 236,8–237,8 °C; $[\alpha]_D^{24} = +225^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3446 (O–H) 3124 (C–H_{Ar}) 1591 (C=N) 1132 (C–O); **¹H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 0,96–1,03 (1 H, m, H7a) 1,77–1,84 (1 H, m, H5b) 1,86–1,91 (1 H, m, H5a) 1,93 (1 H, m, H4) 2,20 (1 H, t, *J*=11,6 Hz, H7b) 2,78 (1 H, q, *J*=8,6 Hz, H3) 3,37 (3 H, s, CH₃) 3,49–3,60 (2 H, m, H6b) 3,66 (1 H, t, *J*=9,4 Hz, H2a) 3,74 (1 H, t, *J*=11,4 Hz, H8) 4,22 (1 H, ddd, *J*=11,9, 9,0, 2,6 Hz, H6a) 5,23–5,27 (2 H, m, H11) 6,01 (1 H, ddd, *J*=17,4, 10,1, 7,0 Hz, H10) 6,20 (1 H, s, H9) 6,66 (1 H, d, *J*=3,3 Hz, OH) 7,70–7,74 (1 H, m, H7') 7,76 (1 H, d, *J*=4,4 Hz, H3') 7,81–7,85 (1 H, m, H6') 8,10 (1 H, d, *J*=8,4 Hz, H5') 8,20 (1 H, d, *J*=8,1 Hz, H8') 8,97 (1 H, d, *J*=4,4 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 19,6 (C7) 23,3 (C5) 26,2 (C4) 37,2 (C3) 48,0 (CH₃) 58,5 (C6) 59,9 (C2) 64,9 (C9) 65,7 (C8) 117,0 (C11) 119,8 (C3') 123,4 (C5') 124,2 (C9') 127,2 (C6') 129,4 (C7') 129,8 (C8') 137,0 (C10) 144,8 (C10) 147,6 (C4') 150,1 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₀H₂₅IN₂O: C 55,05; H 5,78; N 6,42 nađeno C 55,02; H 5,75; N 6,40.

3.2.1.8. Sinteza N-benzilcinhoninijevog bromida (8)

Spoj **8** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,28 g spoja **8** (61 %); *t*_f 259,3–260,5 °C; $[\alpha]_D^{24} = +136^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3444 (O–H) 3187 (C–H_{Ar}) 1512 (C=N) 1071 (C–O); **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 0,99–1,12 (1 H, m, H7a) 1,78 (2 H, d, *J*=8,3 Hz, H5) 1,87 (1 H, m, H4) 2,30 (1 H, t, *J*=11,5 Hz, H7b) 2,65 (1 H, q, *J*=8,0 Hz, H3) 2,88–3,03 (1 H, m, H2b) 3,48 (1 H, t, *J*=11,2 Hz, H6b) 3,88–4,06 (2 H, m, H2a, H8) 4,24 (1 H, t, *J*=9,4 Hz, H6a) 4,98 (1 H, d, *J*=12,3 Hz, CH₂) 5,14 (1 H, d, *J*=12,3 Hz, CH₂) 5,18–5,29 (2 H, m, H11) 5,93–6,08 (1 H, m, H10) 6,53 (1 H, s, H9) 6,82 (1 H, d, *J*=3,9 Hz, OH) 7,55–7,62 (3 H, m, H3', H6', H7') 7,71–7,89 (5 H, m, Ar H'') 8,11 (1 H, d, *J*=8,3 Hz, H5') 8,36 (1 H, d, *J*=8,3 Hz, H8') 8,99 (1 H, d, *J*=4,3 Hz, H2'); **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 21,2 (C7) 23,4 (C5) 26,8 (C4) 37,1 (C3) 54,3 (C6) 56,5 (C2) 62,8 (C5) 65,2 (C9) 67,6 (C8) 117,5 (C11) 120,6 (C3') 124,4 (C5') 124,9 (C9') 127,7 (C6') 128,4 (C1'') 129,4 (C3'', C5'') 129,9 (C7') 130,3 (C8') 130,6 (C4'') 134,3 (C2'', C6'') 137,6 (C10) 145,5 (C10') 148,1 (C4') 150,6 (C2');

CHN analiza: izračunato za $C_{26}H_{29}BrN_2O$: C 67,10; H 6,28; N 6,02 nađeno C 67,13; H 6,27; N 6,04.

3.2.1.9. Sinteza N-(4-brombenzil)cinchoninijevog bromida (**9**)

Spoj **9** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,39 g spoja **9** (72 %); t_f 236–237 °C, $[\alpha]_D^{24} = +98^\circ$ (c 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3438 (O–H) 3142 (C–H_{Ar}) 1508 (C=N) 1070 (C–O); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 0,81–0,93 (1 H, m, H7a) 1,26–1,43 (2 H, m, H5) 1,80 (1 H, m, H4) 2,04–2,15 (1 H, m, H7b) 2,24–2,39 (1 H, m, H3) 2,65–2,78 (1 H, m, H2b) 3,20 (1 H, t, $J=11,3$ Hz, H6b) 4,05–4,23 (2 H, m, H8, H2a) 4,46 (1 H, ddd, $J=12,2$; 9,3; 2,3 Hz, H6a) 5,19 (1 H, d, $J=17,2$ Hz, H11a) 5,23–5,40 (2 H, m, CH2) 5,84 (1 H, ddd, $J=17,3$; 10,2; 7,2 Hz, H10) 6,30 (1 H, d, $J=12,1$ Hz, H9) 6,56 (1 H, d, $J=5,9$ Hz, OH) 6,89–7,02 (2 H, m, H3', H6') 7,34 (2 H, d, $J=8,6$ Hz, H3'', H5'') 7,47–7,58 (3 H, m, H2'', H6'', H7') 7,86 (1 H, d, $J=4,658$ Hz, H5') 8,24 (1 H, d, $J=7,8$ Hz, H8') 8,84 (1 H, d, $J=4,3$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 21,8 (C7) 23,7 (C5) 27,1 (C4) 38,0 (C3) 53,7 (C6) 56,2 (C2) 60,4 (CH2) 65,6 (C9) 66,9 (C8) 118,3 (C11) 119,6 (C3') 123,0 (C5') 123,3 (C9') 125,4 (C4'') 125,9 (C1'') 127,1 (C6') 128,2 (C7') 129,5 (C8') 132,0 (C2'', C6'') 135,0 (C10) 135,5 (C3'', C5'') 144,0 (C10') 146,9 (C4') 149,4 (C2'); CHN analiza: izračunato za $C_{26}H_{28}Br_2N_2O$: C 57,37; H 5,19; N 5,15 nađeno C 57,36; H 5,18; N 5,16.

3.2.1.10. Sinteza N-(4-metilbenzil)cinchoninijevog bromida (**10**)

Spoj **10** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,38 g spoja **10** (80 %); t_f 231,2 - 232 °C; $[\alpha]_D^{24} = +186^\circ$ (c 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3433 (O–H) 3120 (C–H_{Ar}) 1591 (C = N) 1068 (C–O); **¹H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 1,01–1,08 (1 H, m, H7a) 1,71–1,80 (2 H, m, H5) 1,87 (1 H, m, H4) 2,29 (1 H, t, $J=11,4$ Hz, H7b) 2,41 (3 H, s, CH3) 2,65 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 2,91–2,99 (1 H, m, H2b) 3,47 (1 H, t, $J=11,4$ Hz, H6b) 3,88–3,97 (2 H, m, H8, H2a) 4,17–4,24 (1 H, m, H6a) 4,92 (1 H, d, $J=12,5$ Hz, H11b) 5,06–5,10 (1 H, m, H11a) 5,19–5,27 (2 H, m, CH2) 6,01 (1 H, ddd, $J=17,1$; 10,5; 7,0 Hz, H10) 6,52 (1 H, s, H9) 6,81 (1 H, d, $J=3,7$ Hz, OH) 7,39 (2 H, m, $J=7,4$ Hz, H3', H6') 7,62–7,67 (2 H, m, H3'', H5'') 7,72–7,77 (1 H, m, H7') 7,82–7,88 (2 H, m, H2'', H6'') 8,12 (1 H, d, $J=8,1$ Hz, H5') 8,32–8,38 (1 H, m, H8') 8,99 (1 H, d, $J=4,4$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 20,6 (C7) 20,8 (CH3) 22,9 (C5) 26,3 (C4) 36,6 (C3) 53,6 (C6) 55,9 (C2) 62,1 (CH2) 64,7 (C9) 67,0 (C8) 117,0 (C11) 120,0 (C3') 123,8 (C5') 124,3 (C4'') 124,8 (C1'') 127,2 (C6') 129,4 (C7') 129,5 (C2'', C6'') 129,7 (C8') 133,6 (C3'', C5'') 137,1 (C10) 139,8 (C4'') 145,0 (C10') 147,6 (C4') 150,1

(C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₇H₃₁BrN₂O: C 67,64; H 6,52; N 5,84 nađeno C 67,65; H 6,50; N 5,85.

3.2.1.11. Sinteza N-(4-nitrobenzil)cinhoninijevog bromida (**11**)

Spoj **11** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,33 g spoja **11** (65 %); *t*_f 239,8–240,6 °C; $[\alpha]_D^{24} = +108^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3427 (O–H) 3200 (C–H_{Ar}) 1589 (C=N) 1103 (C–O); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 0,81–0,88 (1 H, m, H7a) 1,25–1,41 (1 H, m, H5b) 1,77–1,88 (2 H, m, H4, H5a) 2,09–2,17 (1 H, m, H7b) 2,30–2,39 (1 H, m, H3) 2,70–2,81 (1 H, m, H2b) 3,17 (1 H, t, *J*=11,3 Hz, H6b) 4,13–4,26 (2 H, m, H8, H2a) 4,55 (1 H, ddd, *J*=12,1, 9,4, 2,0 Hz, H6a) 5,22 (1 H, d, *J*=17,2 Hz, H11a) 5,28 (1 H, d, *J*=10,2 Hz, H11b) 5,60–5,72 (1 H, m, CH2a) 5,85 (1 H, ddd, *J*=17,3, 10,4, 7,0 Hz, H10) 6,40–6,44 (1 H, m, H9) 6,47–6,53 (2 H, m, OH, CH2b) 6,93–7,02 (2 H, m, H3', H7') 7,51–7,55 (1 H, m, H6') 7,84 (1 H, d, *J*=4,3 Hz, H5') 7,87–7,95 (4 H, m, Ar H'') 8,22–8,28 (1 H, m, H8') 8,84 (1 H, d, *J*=4,7 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 21,8 (C7) 23,7 (C5) 27,0 (C4) 37,9 (C3) 54,3 (C6) 56,6 (C2) 59,7 (CH2) 65,6 (C9) 67,4 (C8) 118,6 (C11) 119,5 (C3') 122,8 (C5') 123,2 (C3''), C5'') 123,2 (C9') 127,1 (C6') 128,2 (C7') 129,7 (C8') 134,2 (C1'') 134,6 (C10) 135,4 (C2''), C6''); CHN analiza: izračunato za C₂₆H₂₈BrN₃O₃: C 61,18; H 5,53; N 8,23 nađeno C 61,20; H 5,54; N 8,23.

3.2.1.12. Sinteza N-(4-klorbenzil)cinhoninijevog bromida (**12**)

Spoj **12** pripremljen je prema postupku 3.2.1. Dobiveno je 0,36 g spoja **12** (72 %); *t*_f 248,6–249,8 °C; $[\alpha]_D^{24} = +173^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3435 (O–H) 3131 (C–H_{Ar}) 1584 (C=N) 1062 (C–N); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 0,81–0,93 (1 H, m, H7a) 1,26–1,43 (2 H, m, H5) 1,80 (1 H, m, H4) 2,04–2,15 (1 H, m, H7b) 2,24–2,39 (1 H, m, H3) 2,65–2,78 (1 H, m, H2b) 3,20 (1 H, t, *J*=11,3 Hz, H6b) 4,05–4,23 (2 H, m, H8, H2a) 4,46 (1 H, ddd, *J*=12,2; 9,3; 2,3 Hz, H6a) 5,19 (1 H, d, *J*=17,2 Hz, H11a) 5,23–5,40 (2 H, m, CH2) 5,84 (1 H, ddd, *J*=17,2; 10,2; 7,2 Hz, H10) 6,30 (1 H, d, *J*=12,1 Hz, H9) 6,56 (1 H, d, *J*=5,9 Hz, OH) 6,89–7,02 (2 H, m, H3', H6') 7,34 (2 H, d, *J*=8,6 Hz, H3''), H5'') 7,47–7,58 (3 H, m, H2''), H6''), H7') 7,86 (1 H, d, *J*=4,7 Hz, H5') 8,24 (1 H, d, *J*=7,8 Hz, H8') 8,84 (1 H, d, *J*=4,3 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ/ppm : 21,8 (C7) 23,7 (C5) 27,1 (C4) 38,0 (C3) 53,7 (C6) 56,2 (C2) 60,4 (CH2) 65,6 (C9) 66,9 (C8) 118,3 (C11) 119,6 (C3') 123,0 (C5') 123,3 (C9') 125,4 (C4'') 125,9 (C1'') 127,1 (C6') 128,2 (C7') 129,5 (C8') 132,0 (C2''), C6'') 135,0 (C10) 135,5 (C3''),

C5'') 144,0 (C10') 146,9 (C4') 149,4 (C2'); CHN analiza: izračunato za C₂₆H₂₈BrClN₂O: C 62,47; H 5,65; N 5,60 nađeno C 62,43; H 5,67; N 5,61.

3.2.2. Opći postupak

Cinhonidin/cinhonin (1 mmol) i odgovarajući alkil-halogenid (1,05 mmol) refluksirani su u 2-propanolu a reakcija je praćena pomoću TLC (CHCl₃ : CH₃OH) = 9 : 1. Reakcijska smjesa ohlađena je na sobnu temperaturu, istaloženi produkt profiltriran te prekrizaliziran iz smjese metanola i etera.

3.2.2.1. Sinteza N-(2-fluorbenzil)cinhonidinijevog bromida (**13**)

Spoj **13** pripravljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,69 g spoja **13** (69 %); *t*_r 207 °C; $[\alpha]_D^{24} = -188^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 7,31 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3430 (O–H) 3117 (C–H_{Ar}) 1589 (C=N) 1506 (C=C) 1116 (C–N) 775 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,44 (1 H, dtd, *J*=13,42; 6,56; 3,79 Hz, H7a) 1,87–1,97 (1 H, m, H5b) 2,10 (1 H, d, *J*=2,69 Hz, H4) 2,22–2,34 (2 H, m, H5a, H7b) 2,73–2,81 (1 H, m, H3) 3,59 (1 H, dd, *J*=12,35; 10,64 Hz, H6b) 3,70–3,77 (1 H, m, H2b) 4,05–4,13 (1 H, m, H8) 4,48–4,58 (1 H, m, H6a) 5,00–5,03 (1 H, m, CH2a) 5,04 (1 H, m, CH2b) 5,18 (1 H, dt, *J*=17,30; 1,13 Hz, H11a) 5,37 (1 H, d, *J*=12,72 Hz, H11b) 5,72 (1 H, ddd, *J*=17,18, 10,45, 6,85 Hz, H10) 6,68–6,72 (1 H, m, H9) 7,36–7,47 (2 H, m, H3'', H6'') 7,65–7,72 (1 H, m, H3') 7,81–7,93 (3 H, m, ArH'', H7') 7,97–8,01 (1 H, m, H6') 8,15 (1 H, dd, *J*=8,31; 1,22 Hz, H8') 8,34 (1 H, dd, *J*=8,44; 1,10 Hz, H5') 8,97 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 22,7 (C7) 26,11 (C5) 27,93 (C4) 39,35 (C3) 53,05 (C6) 58,65 (C2) 58,65 (CH₂) 66,53 (C9) 69,85 (C8) 116,45 (C1'', *J*_(C–F)=13,5 Hz) 117,70 (C11) 117,74 (C3'', *J*_(C–F)=21,9 Hz) 121,48 (C3') 124,27 (C7') 126,26 (C9') 126,58 (C5'', *J*_(C–F)=3,4 Hz) 129,33 (C6') 130,51 (C5') 131,36 (C8') 134,87 (C4'', *J*_(C–F)=8,8 Hz) 137,07 (C6'', *J*_(C–F)=2,06 Hz) 138,86 (C10') 147,67 (C10'') 148,90 (C4') 151,21 (C2') 163,84 (C2'', *J*_(C–F)=249,0 Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₈FN₂O⁺ 403,2180 nađeno 403,2182.

3.2.2.2. Sinteza N-(3-fluorbenzil)cinhonidinijevog bromida (**14**)

Spoj **14** pripravljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,72 g spoja **14** (70 %); *t*_r 207 °C; $[\alpha]_D^{24} = -205^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 7,32 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3405 (O–H) 3190 (C–H_{Ar}) 1589 (C=N) 1155 (C–N) 775 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,33 (1 H, dtd, *J*=13,42; 10,12; 3,39 Hz, H7a) 1,77–1,87 (1 H, m, H5b) 2,00 (1 H, d, *J*=2,69 Hz, H4) 2,11–2,25 (2 H, m, H5a, H7b) 2,60–2,70 (1 H, m, H3) 3,31–3,38 (1 H, m, H2a) 3,41 (1 H, dd, *J*=12,59; 10,64 Hz,

H6a) 3,58 – 3,66 (1 H, m, H2b) 3,93 (1 H, t, $J=9,17$ Hz, H8) 4,35 – 4,45 (1 H, m, H6b) 4,92 (1 H, dt, $J=10,39; 1,16$ Hz, CH2a) 4,99 (1 H, d, $J=12,23$ Hz, CH2b) 5,08 (1 H, dt, $J=17,24; 1,04$ Hz, H11a) 5,13 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, H11b) 5,61 (1 H, ddd, $J=17,24; 10,51, 6,72$ Hz, H10) 6,52 – 6,58 (1 H, m, H9) 7,24 – 7,31 (1 H, m, H3') 7,48 – 7,56 (3 H, m, ArH", H7') 7,71 – 7,81 (2 H, m, ArH") 7,86 – 7,90 (1 H, m, H6') 8,05 (1 H, dd, $J=8,31; 1,22$ Hz, H8') 8,22 (1 H, dd, $J=8,31; 0,98$ Hz, H5') 8,87 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 22,67 (C7) 26,05 (C5) 28,07 (C4) 39,25 (C3) 53,03 (C6) 62,24 (C2) 64,51 (CH₂) 66,45 (C9) 70,01 (C8) 117,70 (C11) 118,83 (C2", $J_{\text{C-F}}=21,4$ Hz) 121,49 (C3') 121,81 (C4", $J_{\text{C-F}}=23,1$ Hz) 124,27 (C7') 126,23 (C9') 129,35 (C6') 130,51 (C5') 131,11 (C6", $J_{\text{C-F}}=3,8$ Hz) 131,25 (C1", $J_{\text{C-F}}=6,9$ Hz) 131,34 (C8') 132,40 (C5", $J_{\text{C-F}}=7,9$ Hz) 138,83 (C10) 147,63 (C10') 148,88 (C4') 151,20 (C2') 164,38 (C3", $J_{\text{C-F}}=247,0$ Hz); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{O}^+$ 403,2180, nađeno 403,2181.

3.2.2.3. Sinteza N-(4-fluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (**15**)

Spoj **15** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,84 g spoja **15** (79 %); t_{f} 210 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -260^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,29 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3412 (O–H) 3181 (C–H_{Ar}) 1607 (C=N) 1164 (C–O) 775 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 1,43 (1 H, dtd, $J=13,33; 6,54; 3,91$ Hz, H7a) 1,85–1,97 (1 H, m, H5b) 2,10 (1 H, d, $J=2,69$ Hz, H4) 2,22–2,36 (2 H, m, H7b, H5a) 2,71–2,79 (1 H, m, H3) 3,38–3,55 (m, 2 H, H2a, H6b) 3,65–3,74 (m, 1 H, H8) 3,98–4,07 (m, 1 H, H2b) 4,40–4,52 (m, 1 H, H6a) 4,99–5,09 (m, 2 H) 5,14–5,25 (m, 2 H) 5,70 (ddd, $J=17,18; 10,45; 6,85$ Hz, 1 H) 6,62–6,69 (m, 1 H) 7,30–7,38 (m, 2 H) 7,79–7,85 (m, 3 H) 7,86–7,91 (m, 1 H) 7,98 (dd, $J=4,65; 0,73$ Hz, 1 H) 8,14 (dd, $J=8,44; 1,10$ Hz, 1 H, H8') 8,32 (1 H, dd, $J=8,31; 0,98$ Hz, H5') 8,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 22,64 (C7) 26,05 (C5) 28,17 (C4) 39,25 (C3) 52,71 (C2) 61,99 (C6) 64,37 (CH₂) 66,43 (C9) 69,81 (C8) 117,45 (C3", C5", $J_{\text{C-F}}=22,1$ Hz) 117,66 (C11) 121,48 (C3') 124,27 (C8') 125,00 (C1", $J_{\text{C-F}}=3,3$ Hz) 126,23 (C9') 129,35 (C6') 130,52 (C5') 131,34 (C7') 137,23 (C2", C6", $J_{\text{C-F}}=8,7$ Hz) 138,88 (C10) 147,68 (C10') 148,88 (C4') 151,20 (C2') 165,67 (C4", $J_{\text{C-F}}=249,5$ Hz); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{O}^+$ 403,2180, nađeno 403,2180.

3.2.2.4. Sinteza N-(3-trifluorometilbenzil)cinchonidinijevog bromida (**16**)

Spoj **16** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,76 g spoja **16** (68 %); t_{f} 216 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -236^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 8,05 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3439 (O–H) 3030 (C–H_{Ar}) 1590 (C=N) 1168 (C–O) 776 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 1,40–1,50 (1 H, m,

H7a) 1,86–1,97 (1 H, m, H5b) 2,10 (1 H, d, $J=2,69$ Hz, H4) 2,23–2,36 (2 H, m, H5a, H7b) 3,37–3,53 (2 H, m, H2a, H6b) 3,73–3,81 (1 H, m, H2b) 4,02–4,11 (1 H, m, H8) 4,54 (1 H, tdd, $J=11,40, 11,40, 5,20, 3,06$ Hz, H6a) 5,02 (1 H, dt, $J=10,39; 1,16$ Hz, H11a) 5,16–5,22 (2 H, m, H11b; CH2a) 5,33 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2b) 5,71 (1 H, ddd, $J=17,24; 10,51; 6,72$ Hz, H10) 6,67–6,70 (1 H, m,) 7,80–7,91 (3 H, m,) 7,93 (1 H, d, $J=7,82$ Hz,) 7,97–8,00 (1 H, m,) 8,08 (1 H, d, $J=7,58$ Hz,) 8,13–8,16 (2 H, m,) 8,34 (1 H, dd, $J=8,31, 0,98$ Hz, H8') 8,97 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 21,13 (C7) 24,49 (C5) 26,58 (C4) 37,71 (C3) 51,48 (C6) 60,58 (C2) 62,84 (CH2) 64,92 (C9) 68,58 (C8) 116,22 (C11) 119,95 (C3') 122,77 (C7') 124,96 (C1'', $J_{(C-F)}=52$ Hz) 127,14 (C4'', $J_{(C-F)}=3,2$ Hz) 127,84 (C6') 128,77 (C9') 128,98 (C5') 129,82 (C8') 130,12 (C2'', $J_{(C-F)}=3,4$ Hz) 131,24 (C3'', $J_{(C-F)}=32$ Hz) 137,24 (C10) 137,41 (C6'', $J_{(C-F)}=1,6$ Hz) 146,04 (C10') 147,36 (C4') 149,67 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}^+$ 453,2148 nađeno 453,2148.

3.2.2.5. Sinteza N-(4-trifluorometilbenzil)cinchonidinijevog bromida (**17**)

Spoj **17** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,73 g spoja **17** (73 %); t_{r} 221,2 – 222,0 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -207^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 8,13 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3428 (O–H) 2951 (C–H_{Ar}) 1591 (C=N) 1136 (C–O) 776 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm 1,44 (1 H, ddt, $J=13,45; 10,09; 3,39$, H7a) 1,85–1,96 (1 H, m, H5b) 2,10 (1 H, d, $J=2,69$ Hz, H4) 2,21–2,39 (2 H, m, H5a; H7b) 2,70–2,79 (1 H, m, H3) 3,38–3,45 (1 H, m, H2a) 3,45–3,57 (1 H, m, H6b) 3,71–3,80 (1 H, m, H2b) 4,06 (1 H, t, $J=9,17$ Hz, H8) 4,48–4,59 (1 H, m, H6a) 5,02 (1 H, dt, $J=10,39; 1,16$ Hz, H11a) 5,13–5,24 (2 H, m, CH2a, H11b) 5,31 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2b) 5,71 (1 H, ddd, $J=17,18; 10,45; 6,85$ Hz, H10) 6,64–6,71 (1 H, m, H9) 7,78–7,94 (4 H, m, ArH') 7,95–8,04 (3 H, m, H6', H7', H3') 8,15 (1 H, dd, $J=8,31; 1,22$ Hz, H5') 8,34 (1 H, dd, $J=8,44; 1,10$ Hz, H8') 8,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 21,16 (C7) 24,49 (C5) 26,52 (C4) 46,96 (C3) 51,55 (C6) 60,72 (C2) 62,74 (CH2) 64,95 (C9) 68,54 (C8) 116,17 (C11) 119,95 (C3') 122,77 (C3'', C5'') 124,67 (C9') 125,74 (CF3, $J_{(C-F)}=4,0$ Hz) 127,83 (C7') 128,95 (C6') 129,79 (C8') 131,75 (C1'', $J_{(C-F)}=1,5$ Hz) 132,10 (C4'', $J_{(C-F)}=32,3$ Hz) 134,41 (C5') 137,24 (C10) 146,02 (C10') 147,33 (C4') 149,64 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}^+$ 453,2148 nađeno 453,2150.

3.2.2.6. Sinteza N-(3,5-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (**18**)

Spoj **18** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,28 g spoja **18** (38 %); t_{r} 231 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -217^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,46 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3414 (O–H) 3032 (C–H_{Ar}) 1595

(C=N) 1122 (C–O) 783 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,43 (1 H, ddt, $J=13,30$; 10,00; 3,52 Hz, H7a) 1,86–1,97 (1 H, m, H5b) 2,11 (1 H, d, $J=2,69$ Hz, H4) 2,22–2,36 (2 H, m, H5a, H7b) 2,77 (1 H, br. s., H3) 3,42–3,59 (2 H, m, H2a, H6b) 3,66–3,75 (1 H, m, H2a) 3,97–4,06 (1 H, m, H8) 4,45–4,56 (1 H, m, H6a) 5,02 (1 H, dt, $J=10,51$; 1,10 Hz, CH2a) 5,08 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, H11a) 5,16–5,25 (2 H, m, CH2b, H11b) 5,70 (1 H, ddd, $J=17,12$; 10,51; 6,60 Hz, H10) 6,62–6,65 (1 H, m, H9) 7,27 (1 H, tt, $J=9,05$; 2,32 Hz, H4'') 7,44–7,52 (2 H, m, H2'', H6'') 7,80–7,91 (2 H, m, H6', H7') 7,98 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H3') 8,15 (1 H, dd, $J=8,31$; 1,22 Hz, H8') 8,31 (1 H, dd, $J=8,44$; 0,86 Hz, H5') 8,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD-*d*4) δ/ppm : 22,70 (C7) 26,05 (C5) 27,96 (C4) 39,23 (C3) 53,20 (C2) 62,31 (C6) 63,90 (CH2) 66,46 (C9) 70,19 (C8) 107,30 (C4'', $J_{(C-F)}=25,5$ Hz) 116,20 (C11) 116,71 (C2'', C6'', $J_{(C-F)}=18,5$ Hz) 119,96 (C3') 122,76 (C8') 124,66 (C9') 127,84 (C7') 128,97 (C5') 129,80 (C6') 131,10 (C1'', $J_{(C-F)}=9,5$ Hz) 147,53 (C10') 148,87 (C4') 151,10 (C2') 163,20 (C3'', C5'', $J_{(C-F)}=249,4$ Hz); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}^+$ 421,2086 nađeno 421,2087.

3.2.2.7. Sinteza N-(3,4-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (**19**)

Spoj **19** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,66 g spoja **19** (79 %); t_{f} 227 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -163^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,49 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3414 (O–H) 2898 (C–H_{Ar}) 1590 (C=N) 1122 (C–O) 783 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,27–1,39 (1 H, m, H7a) 1,77–1,89 (1 H, m, H5b) 2,02 (1 H, d, $J=2,93$ Hz, H4) 2,14–2,27 (2 H, m, H5a, H7b) 2,62–2,71 (1 H, m, H3) 3,30–3,39 (1 H, m, H2b) 3,39–3,46 (1 H, m, H6b) 3,53–3,63 (1 H, m, H2a) 3,87–3,96 (1 H, m, H8) 4,30–4,46 (1 H, m, H6a) 4,90–5,00 (2 H, m, CH2) 5,05–5,17 (2 H, m, H11) 5,61 (1 H, ddd, $J=17,18$; 10,45; 6,85 Hz, H10) 6,52–6,59 (1 H, m, H9) 7,43 (1 H, dt, $J=10,27$; 8,31 Hz, H2'') 7,49–7,55 (1 H, m, H6'') 7,67–7,83 (3 H, m, H5'', H6', H7') 7,89 (1 H, dd, $J=4,65$; 0,49 Hz, H3') 8,06 (1 H, dd, $J=8,44$; 1,10 Hz, H8') 8,21 (1 H, dd, $J=8,56$, 0,98 Hz, H5') 8,88 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 21,15 (C7) 24,49 (C5) 29,30 (C4) 37,68 (C3) 51,32 (C2) 60,49 (C6) 62,33 (CH2) 64,90 (C9) 68,40 (C8) 116,15 (C11) 117,90 (C5'', $J_{(C-F)}=25,5$ Hz) 119,95 (C3') 122,60 (C2'', $J_{(C-F)}=18,1$ Hz) 122,80 (C8') 124,59 (s, 1 C) 124,60 (C9') 124,65 (C1'', $J_{(C-F)}=6,1$ Hz) 127,86 (C7') 128,86 (C5') 129,81 (C6') 130,79 (C6'', $J_{(C-F)}=4,1$ Hz) 137,25 (C10) 146,14 (C10') 147,21 (C4') 150,20 (C4'', $J_{(C-F)}=236,25$ Hz) 150,20 (C3'', $J_{(C-F)}=251,02$ Hz); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}^+$ 421,2086 nađeno 421,2086.

3.2.2.8. *Sinteza N-(2,3-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (20)*

Spoj **20** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,65 g spoja **20** (65 %); t_f 231 °C; $[\alpha]_D^{24} = -139^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,27 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3412 (O–H) 2979 (C–H_{Ar}) 1596 (C=N) 1116 (C–O) 774 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,41 (1 H, ddt, $J=13,33$; 10,03, 3,48, 3,48 Hz, H7a) 1,85–1,96 (1 H, m, H5b) 2,05–2,12 (1 H, m, H4) 2,19–2,32 (2 H, m, H5a, H7b) 2,76 (1 H, br. s., H3) 3,54–3,64 (1 H, m, H6b) 3,72–3,82 (1 H, m, H2b) 4,10 (1 H, t, $J=9,05$ Hz, H8) 4,46–4,58 (1 H, m, H6a) 5,00 (1 H, d, $J=10,27$ Hz, CH2a) 5,10 (1 H, d, $J=12,72$ Hz, H11a) 5,17 (1 H, d, $J=17,36$ Hz, CH2b) 5,38 (1 H, d, $J=12,72$ Hz, H11b) 5,70 (1 H, ddd, $J=17,24$; 10,51; 6,72 Hz, H10) 6,63–6,70 (1 H, m, H9) 7,36–7,45 (1 H, m, H6'') 7,51–7,60 (1 H, m, H4'') 7,69 (1 H, t, $J=6,72$ Hz, H5'') 7,78–7,90 (2 H, m, H6', H7') 7,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 8,10–8,15 (1 H, m, H8') 8,34 (1 H, d, $J=8,31$ Hz, H5') 8,95 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*4) δ/ppm : 21,21 (C7) 24,58 (C5) 26,32 (C4) 37,80 (C3) 51,70 (C2) 56,60 (C6) 60,80 (CH2) 65,03 (C9) 68,41 (C8) 116,20 (C11) 117,40 (C1''), $J_{(C-F)}=10,0$ Hz) 119,94 (C3') 120,14 (C8') 122,81 (C4'') 124,69 (C9') 125,15 (s, 1 C) 125,21 (C5''), $J_{(C-F)}=4,6$ Hz) 127,82 (C7') 128,92 (C5') 129,80 (C6') 130,40 (C6''), $J_{(C-F)}=3,9$ Hz) 137,23 (C10) 146,02 (C10') 147,33 (C4') 149,41 (C3''), $J_{(C-F)}=29,4$; 12,0 Hz) 151,85 (C2''), $J_{(C-F)}=27,6$; 12,3 Hz); **HRMS**/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2086.

3.2.2.9. *Sinteza N-(2,4-difluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (21)*

Spoj **21** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,54 g spoja **21** (75 %); t_f 225–226 °C; $[\alpha]_D^{24} = -119^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,28 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3385 (O–H) 3115 (C–H_{Ar}) 1603 (C=N) 1103 (C–O) 777 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,29–1,38 (1 H, m, H7a) 1,76–1,89 (1 H, m, H5b) 2,01 (1 H, d, $J=2,93$ Hz, H4) 2,12–2,26 (2 H, m, H5a, H7b) 2,68 (1 H, br. s., H3) 3,44–3,54 (1 H, m, H2b) 3,55–3,62 (1 H, m, H6b) 3,97 (1 H, t, $J=9,05$ Hz, H8) 4,35–4,46 (1 H, m, H6a) 4,87–4,92 (1H, m, CH2a) 4,94 (1 H, dt, $J=10,39$; 1,16 Hz, H11a) 5,08 (1 H, dt, $J=17,24$; 1,04 Hz, H11b) 5,23 (1 H, d, $J=12,72$ Hz, CH2b) 5,62 (1 H, ddd, $J=17,36$; 10,51; 6,85 Hz, H10) 6,56–6,59 (1 H, m, H9) 7,13–7,23 (2 H, m, H3''), H5'') 7,71–7,76 (1 H, m, H6'') 7,77–7,85 (2 H, m, H6', H7') 7,89 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 8,06 (1 H, dd, $J=8,31$, 0,98 Hz, H8') 8,22 (1 H, d, $J=8,31$ Hz, H5') 8,88 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*4) δ/ppm : 22,70 (C7) 26,11 (C5) 27,95 (C4) 39,34 (C3) 52,99 (C2) 58,13 (C6) 62,14 (CH2) 66,54 (C9) 69,82 (C8) 106,09 (C3''), $J_{(C-F)}=27,0$ Hz) 113,93 (C5''), $J_{(C-F)}=21,5$; 3,5 Hz) 117,71 (C11) 121,47 (C3') 124,28 (C8') 126,24 (C1'') 129,34 (C7') 130,50 (C5')

131,35 (C6') 138,49 (C6''), $J_{(C-F)}=10,8$; 3,9 Hz) 138,82 (C9') 138,82 (C10) 147,60 (C10') 148,89 (C4') 151,19 (C2') 164,12 (C4''), $J_{(C-F)}=205,4$; 12,5 Hz) 166,64 (C2''), $J_{(C-F)}=206,6$; 14,5 Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2088.

3.2.2.10. Sinteza N-(2,6-difluorobenzil)cinhonidinijevog bromida (**22**)

Spoj **22** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,66 g spoja **22** (89 %); t_f 229 °C; $[\alpha]_D^{24} = -209^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,09 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3367 (O–H) 3082 (C–H_{Ar}) 1590 (C=N) 1056 (C–O) 778 (C–F); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,42 (1 H, ddt, $J=13,42$; 10,12; 3,52 Hz, H7a) 1,84–1,97 (1 H, m, H5b) 2,03–2,09 (1 H, m, H4) 2,19–2,33 (2 H, m, H5a, H7b) 2,71–2,80 (1 H, m, H3) 3,61 (2 H, d, $J=8,31$ Hz, H2) 4,05–4,14 (1 H, m, H8) 4,50 (1 H, td, $J=11,31$, 5,01 Hz, H6a) 4,92 (1 H, s,) 5,00 (1 H, dt, $J=10,45$; 1,13 Hz,) 5,09 (1 H, dt, $J=17,12$; 1,22 Hz,) 5,33 (1 H, d, $J=13,20$ Hz,) 5,69 (1 H, ddd, $J=17,18$; 10,21; 7,09 Hz, H10) 6,65 (1 H, d, $J=1,96$ Hz, H9) 7,27 (2 H, t, $J=8,44$ Hz, H3''), H5'') 7,71 (1 H, tt, $J=8,56$; 6,60 Hz, H4'') 7,76–7,80 (1 H, m, H7') 7,82–7,89 (1 H, m, H6') 7,95 (1 H, dd, $J=4,65$; 0,73 Hz, H3') 8,11 (1 H, dd, $J=8,44$; 1,10 Hz, H8') 8,24–8,30 (1 H, m, H5') 8,93 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 21,18 (C7) 24,66 (C5) 26,18 (C4) 38,00 (C3) 53,09 (C2) 53,57 (C6) 61,08 (CH2) 65,07 (C8) 68,55 (C9) 112,16 (C3''), C5''), $J_{(C-F)}=22,9$; 3,4 Hz) 116,21 (C11) 120,00 (C3') 122,64 (C8') 124,76 (C9') 127,71 (C7') 128,96 (C5') 129,83 (C6') 134,28 (C4''), $J_{(C-F)}=10,8$ Hz) 137,28 (C10) 146,04 (C10') 147,36 (C4') 149,65 (C2') 162,35 (C2''), C6''), $J_{(C-F)}=243,8$; 7,7 Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2088.

3.2.2.11. Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)cinhonidinijevog bromida (**23**)

Spoj **23** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,69 g spoja **23** (78 %); t_f 237 °C; $[\alpha]_D^{24} = -145^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 8,24 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3437 (O–H) 3123 (C–H_{Ar}) 1591 (C=N) 1159 (C–N) 780 (C–F); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,34 (1 H, ddt, $J=13,33$; 9,96; 3,52 Hz, H7a) 1,76–1,88 (1 H, m, H5b) 2,01 (1 H, d, $J=2,93$ Hz, H4) 2,13–2,24 (2 H, m, H5a, H7b) 2,64–2,73 (1 H, m, H3) 3,45–3,55 (1 H, m, H6b) 3,56–3,62 (1 H, m, H2b) 3,97 (1 H, t, $J=9,05$ Hz, H8) 4,35–4,46 (1 H, m, H6a) 4,90–4,92 (1 H, m, CH2a) 4,94 (1 H, dt, $J=10,39$; 1,16 Hz, H11a) 5,08 (1 H, dt, $J=17,24$; 1,04 Hz, H11b) 5,23 (1 H, d, $J=12,72$ Hz, CH2b) 5,62 (1 H, ddd, $J=17,36$; 10,51; 6,85 Hz, H10) 6,56–6,59 (1 H, m, H9) 7,12–7,24 (2 H, m, H2''), H4'') 7,71–7,77 (1 H, m, H3') 7,80 (2 H, ddd, $J=8,31$; 6,97; 1,34 Hz, H5''), H6'') 7,87–7,90 (1 H, m, H6') 8,06 (1 H, dd, $J=8,31$; 0,98 Hz, H8') 8,19–8,24 (1 H, m, H5') 8,88 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 21,13 (C7) 24,49 (C5) 26,53 (C4) 37,68

(C3) 51,49 (C2) 60,63 (C6) 62,76 (CH₂) 64,90 (C9) 68,55 (C8) 116,17 (C11) 119,93 (C3') 120,19 (C1'') 122,79 (CF₃) 124,67 (C9') 126,11 (C8') 127,81 (C2'', C4'') 128,96 (C5'', C6'') 129,79 (C7') 130,78 (C5') 132,45 (C6') 137,23 (C10) 146,02 (C10') 147,33 (C4') 149,40 (C3'') 149,64 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₈F₃N₂O₂⁺ 469,2097 nađeno 469,2100.

3.2.2.12. Sinteza N-(4-trifluorometoksibenzil)cinchonidinijevog bromida (**24**)

Spoj **24** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,48 g spoja **24** (56 %); *t*_f 242 °C; $[\alpha]_D^{24} = -163^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 8,26 min **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3439 (O–H) 3112 (C–H_{Ar}) 1594 (C=N) 1116 (C–O) 777 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,38–1,48 (1 H, m, H7a) 1,85–1,96 (1 H, m, H5b) 2,09 (1 H, d, *J*=2,45 Hz, H4) 2,20–2,36 (2 H, m, H5a; H7b) 2,73 (1 H, br.s., H3) 3,40 (1 H, td, *J*=11,86; 4,16 Hz, H2a) 3,46–3,54 (1 H, m, H2b) 3,58–3,66 (1 H, m, H6b) 3,98 (1 H, t, *J*=9,17 Hz, H8) 4,42–4,51 (1 H, m, H6a) 4,97–5,04 (2 H, m, CH₂) 5,11–5,24 (2 H, m, H11) 5,69 (1 H, ddd, *J*=17,18; 10,45; 6,85 Hz, H10) 6,64 (1 H, s, H9) 7,51 (2 H, d, *J*=7,82 Hz, H3'', H5'') 7,78–7,91 (4 H, m, 4 H, H6', H7', H2'', H6'') 7,97 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H3') 8,15 (1 H, dd, *J*=8,31; 0,98 Hz, H8') 8,27 (1 H, d, *J*=7,82 Hz, H5') 8,96 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 22,69 (C7) 26,04 (C5) 28,12 (C4) 39,22 (C3) 52,88 (C2) 62,10 (C6) 64,13 (CH₂) 66,47 (C9) 69,93 (C8) 117,68 (C11) 121,49 (C3''); C5'') 121,98 (C1'') 122,72 (C3') 124,31 (C8') 126,22 (C9') 129,36 (C7') 130,48 (C5') 131,34 (C6') 137,16 (C2'', C6'') 138,83 (C10) 147,65 (C10') 148,85 (C4') 151,17 (C2') 152,25 (C4''); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₈F₃N₂O₂⁺ 469,2097 nađeno 469,2101.

3.2.2.13. Sinteza N-(2-fluor-6-trifluorometilbenzil)cinchonidinijevog bromida (**25**)

Spoj **25** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,50 g spoja **25** (44 %); *t*_f 243 °C; $[\alpha]_D^{24} = -153^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 7,61 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3647 (O–H) 3151 (C–H_{Ar}) 1589 (C=N) 1136 (C–O) 777 (C–F), **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,35–1,45 (1 H, m, H7a) 1,84–1,94 (1 H, m, H5b) 2,05–2,11 (1 H, m, H4) 2,18–2,32 (2 H, m, H5a, H7b) 2,75 (1 H, br. s., H3) 3,52–3,60 (1 H, m, H2a) 3,68–3,74 (1 H, m, H6b) 4,02–4,09 (1 H, m, H6a) 4,48 (1 H, t, *J*=11,13 Hz, H8) 4,97–5,03 (2 H, m, CH₂) 5,16 (1 H, dt, *J*=17,30; 1,13 Hz, H11a) 5,30 (1 H, d, *J*=12,96 Hz, H11b) 5,69 (1 H, ddd, *J*=17,24; 10,51; 6,72 Hz, H10) 6,62–6,66 (1 H, m, H9) 7,61 (1 H, dd, *J*=8,31; 1,96 Hz, H4'') 7,65 (1 H, dd, *J*=9,66; 1,83 Hz, H3'') 7,77–7,83 (2 H, m, H6', H7') 7,83–7,89 (1 H, m, H5'') 7,96 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H3') 8,12 (1 H, dd, *J*=8,44; 1,10 Hz, H8') 8,31 (1 H, dd, *J*=8,31; 0,98 Hz, H5') 8,94 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 22,69 (C7) 26,10 (C5) 27,89 (C4) 39,34 (C3) 53,12 (CH₂) 58,14 (C6)

62,24 (C2) 66,55 (C9) 69,90 (C8) 115,89 (d, $J_{C-F}=14,1$ Hz, C4'') 117,74 (C11) 121,47 (t, $J_{C-F}=26,2$ Hz, C3'') 124,26 (C7') 126,24 (C9') 127,43 (d, $J_{C-F}=10,4$ Hz, C1'') 129,35 (C6') 130,02 (d, $J_{C-F}=3,4$ Hz, C5'') 130,52 (C5') 131,36 (C8') 138,20 (d, $J_{C-F}=3,4$ Hz, C6'') 138,81 (C10) 147,57 (C10') 148,90 (C4') 151,20 (C2') 163,593 (d, $J_{C-F}=253,6$ Hz, C2''); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₇F₄N₂O⁺ 471,2054 nađeno 471,2056.

3.2.2.14. Sinteza N-(2-fluor-4-brombenzil)cinchonidinijevog bromida (**26**)

Spoj **26** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,33 g spoja **26** (67 %); t_f 237 °C; $[\alpha]_D^{24} = -186^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,79 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3382 (O–H) 3153 (C–H_{Ar}) 1605 (C=N) 1130 (C–O) 781 (C–F); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,35–1,45 (1 H, m, H7a) 1,84–1,94 (1 H, m, H5b) 2,05–2,11 (1 H, m, H4) 2,18–2,32 (2 H, m, H5a, H7b) 2,75 (1 H, br. s., H3) 3,52–3,60 (1 H, m, H2a) 3,68–3,74 (1 H, m, H6b) 4,02–4,09 (1 H, m, H6a) 4,48 (1 H, t, $J=11,13$ Hz, H8) 4,97–5,03 (2 H, m, CH₂) 5,16 (1 H, dt, $J=17,30; 1,13$ Hz, H11a) 5,30 (1 H, d, $J=12,96$ Hz, H11b) 5,69 (1 H, ddd, $J=17,24; 10,51; 6,72$ Hz, H10) 6,62–6,66 (1 H, m, H9) 7,61 (1 H dd, $J=8,31; 1,96$ Hz, H4'') 7,65 (1 H, dd, $J=9,66; 1,83$ Hz, H3'') 7,77–7,83 (2 H, m, H6', H7') 7,83–7,89 (1 H, m, H5'') 7,96 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 8,12 (1 H, dd, $J=8,44; 1,10$ Hz, H8') 8,31 (1 H, dd, $J=8,31; 0,98$ Hz, H5') 8,94 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 22,69 (C7) 26,10 (C5) 27,89 (C4) 39,34 (C3) 53,12 (CH₂) 58,14 (C6) 62,24 (C2) 66,55 (C9) 69,90 (C8) 115,89 (d, $J_{C-F}=14,1$ Hz, C4'') 117,74 (C11) 121,47 (t, $J_{C-F}=26,2$ Hz, C3'') 124,26 (C7') 126,24 (C9') 127,43 (d, $J_{C-F}=10,4$ Hz, C1'') 129,35 (C8') 130,02 (d, $J_{C-F}=3,4$ Hz, C5'') 130,52 (C5') 131,36 (C6') 138,20 (d, $J_{C-F}=3,4$ Hz, C6'') 138,81 (C10) 147,57 (C10') 148,90 (C4') 151,20 (C2') 163,60 (d, $J_{C-F}=253,6$ Hz, C2''); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇BrF₄N₂O⁺ 481,1285 nađeno 481,1289.

3.2.2.15. Sinteza N-(2-klor-6-fluorbenzil)cinchonidinijevog bromida (**27**)

Spoj **27** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,27 g spoja **27** (34 %); t_f 240 – 241 °C; $[\alpha]_D^{24} = -220^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,33 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3431 (O–H) 3127 (C–H_{Ar}) 1596 (C=N) 1114 (C–O) 774 (C–F); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,39–1,48 (1 H, m, H7a) 1,91 (1 H, t, $J=9,29$ Hz, H5b) 2,07 (1 H, d, $J=2,93$ Hz, H4) 2,22–2,33 (2 H, m, H7b, H5a) 2,78 (1 H, br. s., H3) 3,32–3,39 (1 H, m, H2a) 3,59–3,75 (2 H, m, H2b, H6a) 4,14 (1 H, t, $J=9,05$ Hz, H6b) 4,63–4,72 (1 H, m, H8) 4,99–5,06 (2 H, m, CH₂) 5,11 (1 H, d, $J=17,12$ Hz, H11a) 5,52 (1 H, d, $J=13,20$ Hz, H11b) 5,72 (1 H, ddd, $J=17,24; 10,39; 7,09$ Hz, H10) 6,72 (1 H, s, H9) 7,39–7,45 (1 H, m, H4'') 7,58 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H3'') 7,68 (1 H, td, $J=8,31; 6,11$ Hz,

H5'') 7,81 (1 H, td, $J=7,64$; 1,34 Hz, H7') 7,87 (1 H, td, $J=7,64$; 1,34 Hz, H6') 7,98 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 8,11–8,15 (1 H, m, H8') 8,31 (1 H, d, $J=8,31$ Hz, H5') 8,96 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 22,79 (C7) 26,29 (C5) 27,55 (C4) 39,67 (C3) 53,44 (CH₂, $J_{\text{C-F}}=3,4$ Hz) 57,09 (C6) 62,93 (C2, $J_{\text{C-F}}=4,7$ Hz) 66,71 (C9) 70,45 (C8) 116,28 (C1'', $J_{\text{C-F}}=16,7$ Hz) 116,90 (C5'', $J_{\text{C-F}}=23,7$ Hz) 117,73 (C11) 121,54 (C7') 124,12 (C3') 126,32 (C9) 128,45 (C3'', $J_{\text{C-F}}=3,3$ Hz) 129,27 (C8') 130,55 (C5') 131,39 (C6') 135,38 (C4'', $J_{\text{C-F}}=10,7$ Hz) 138,87 (C10) 139,56 (C2'') 147,67 (C10') 148,92 (C4') 151,22 (C2') 164,50 (C6'', $J_{\text{C-F}}=252,5$ Hz); HRMS/ ^+ESI : izračunato za C₂₆H₂₇ClFN₂O⁺ 437,1790 nađeno 437,1791.

3.2.2.16. Sinteza N-(2-fluorbenzil)cinhoninijevog bromida (28)

Spoj **28** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,53 g spoja **28** (71 %); t_{f} 227 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +61^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,13 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3432 (O–H) 3117 (C–H_{Ar}) 1589 (C=N) 1116 (C–O) 773 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm 1,06–1,15 (1 H, m, H7a) 1,84–2,02 (3 H, m, H5, H4) 2,45–2,56 (1 H, m, H7b) 2,69 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,23–3,29 (1 H, m, H2b) 3,46–3,55 (1 H, m, H6b) 3,93–4,03 (1 H, m, H2a) 4,11 (1 H, t, $J=9,29$ Hz, H8) 4,48 (1 H, ddd, $J=12,04$; 8,74; 2,69 Hz, H6a) 5,08 (1 H, d, $J=13,20$ Hz, CH2a) 5,21–5,33 (3 H, m, CH2b, H11) 6,03–6,14 (1 H, m, H10) 6,68 (1 H, d, $J=2,45$ Hz, H9) 7,37–7,48 (2 H, m, H5'', H6'') 7,65–7,72 (1 H, m, H3'') 7,81–7,93 (3 H, m, H4'', H6', H7') 7,99 (1 H, dd, $J=4,65$; 0,73 Hz, H3') 8,15 (1 H, dd, $J=8,19$; 1,10 Hz, H8') 8,37 (1 H, dd, $J=8,31$; 0,98 Hz, H5') 8,98 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H2''); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 22,22 (C7) 24,65 (C5) 28,19 (C4) 38,90 (C3) 56,35 (C6) 57,83 (C2) 58,00 (CH2) 66,91 (C9) 69,06 (C8) 116,29 (C1'', $J_{\text{C-F}}=13,2$ Hz) 117,56 (C3'', $J_{\text{C-F}}=22,9$ Hz) 117,90 (C11) 121,17 (C3') 124,24 (C8') 126,11 (C9') 126,40 (C5'', $J_{\text{C-F}}=4,2$ Hz) 129,09 (C6') 130,23 (C5') 131,17 (C7') 134,65 (C4'', $J_{\text{C-F}}=9,5$ Hz) 136,77 (C6'', $J_{\text{C-F}}=2,8$ Hz) 137,57 (C10) 147,20 (C4') 148,70 (C10') 151,00 (C2') 163,61 (C2'', $J_{\text{C-F}}=253,3$ Hz); HRMS/ ^+ESI : izračunato za C₂₆H₂₈FN₂O⁺ 403,2180, nađeno 403,2182.

3.2.2.17. Sinteza N-(3-fluorbenzil)cinhoninijevog bromida (29)

Spoj **29** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,46 g spoja **29** (58 %); t_{f} 218 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +141^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,29 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3430 (O–H) 3104 (C–H_{Ar}) 1542 (C=N) 1109 (C–N) 776 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 1,10 (1 H, ddd, $J=13,14$; 8,86; 4,89 Hz, H7a) 1,82–1,96 (2 H, m, H5) 1,99 (1 H, br. s., H4) 2,46–2,55 (1 H, m, H7b) 2,68 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,15 (1 H, dt, $J=11,74$; 9,41 Hz, H2b) 3,67 (1 H, ddd, $J=12,17$; 10,58; 1,47 Hz, H2a) 3,95–4,03 (1 H, m, H6b) 4,07 (1 H, t, $J=9,54$ Hz, H3) 4,46 (1

H, ddd, $J=12,10$; 8,80; 2,81 Hz, H6a) 5,06 (1 H, d, $J=12,23$ Hz, CH2a) 5,18 (1 H, d, $J=12,23$ Hz, CH2b) 5,29 (1 H, quin, $J=1,10$ Hz, H11a) 5,32 (1 H, dt, $J=8,80$; 1,22 Hz, H11b) 6,09 (1 H, ddd, $J=17,36$; 10,39; 7,21 Hz, H10) 6,64 (1 H, d, $J=2,20$ Hz, H9) 7,33–7,40 (1 H, m, H2") 7,59–7,65 (3 H, m, ArH") 7,81–7,91 (2 H, m, H6', H7') 7,99 (1 H, dd, $J=4,65$; 0,73 Hz, H3') 8,12–8,17 (1 H, m, H8') 8,36–8,41 (1 H, m, H5') 8,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 22,65 (C7) 25,04 (C5) 28,78 (C4) 39,23 (C3) 56,46 (C6) 58,55 (C2) 64,12 (CH2) 67,28 (C9) 69,60 (C8) 118,33 (C11) 119,02 (C4", $J_{\text{(C-F)}}=20,7$ Hz) 121,59 (C3') 122,02 (C2", $J_{\text{(C-F)}}=22,9$ Hz) 124,78 (C8') 126,50 (C9') 129,56 (C7') 130,61 (C5') 131,32 (C6", $J_{\text{(C-F)}}=2,9$ Hz) 131,48 (C1") 131,55 (C6') 132,61 (C5", $J_{\text{(C-F)}}=8,1$ Hz) 137,96 (C10) 147,64 (C10') 149,10 (C4') 151,39 (C2') 164,01 (C3", $J_{\text{(C-F)}}=247,2$ Hz); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{O}^+$ 403,2180, nađeno 403,2182.

3.2.2.18. Sinteza N-(4-fluorobenzil)cinhoninijevog bromida (30)

Spoj **30** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,49 g spoja **30** (57 %); t_{r} 229 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +93^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,19 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3442 (O–H) 3015 (C–H_{Ar}) 1579 (C=N) 1114 (C–O) 775 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 1,10 (1 H ddd, $J=13,14$; 8,86; 4,89 Hz, H7a) 1,82–1,96 (2 H, m, H5) 1,99 (1 H, br. s., H4) 2,46–2,55 (1 H, m, H7b) 2,68 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,15 (1 H, dt, $J=11,74$; 9,41 Hz, H2b) 3,67 (1 H, ddd, $J=12,17$; 10,58; 1,47 Hz, H2a) 3,95–4,03 (1 H, m, H6b) 4,07 (1 H, t, $J=9,54$ Hz, H3) 4,46 (1 H, ddd, $J=12,10$; 8,80; 2,81 Hz, H6a) 5,06 (1 H, d, $J=12,23$ Hz, CH2b) 5,18 (1 H, d, $J=12,23$ Hz, CH2a) 5,29 (1 H, quin, $J=1,10$ Hz, H11b) 5,32 (1 H, dt, $J=8,80$; 1,22 Hz, H11a) 6,09 (1 H, ddd, $J=17,36$; 10,39; 7,21 Hz, H10) 6,64 (1 H, d, $J=2,20$ Hz, H9) 7,33–7,40 (1 H, m, H") 7,59–7,65 (3 H, m, ArH") 7,81–7,91 (2 H, m, H6', H7') 7,99 (1 H, dd, $J=4,65$; 0,73 Hz, H3') 8,12–8,17 (1 H, m, H8') 8,36–8,41 (1 H, m, H5') 8,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ/ppm : 22,68 (C7) 24,04 (C5) 27,78 (C4) 39,20 (C3) 57,73 (C6) 59,25 (C2) 64,32 (CH2) 67,18 (C9) 68,99 (C8) 118,30 (C11) 118,02 (C3", C5"; $J_{\text{(C-F)}}=20,5$ Hz) 120,42 (C3') 124,12 (C1", $J_{\text{(C-F)}}=2,8$ Hz) 123,88 (C8') 125,41 (C9') 129,46 (C7') 130,21 (C5') 131,30 (C2", C6", $J_{\text{(C-F)}}=8,4$ Hz) 131,55 (C6') 132,42 (C5", $J_{\text{(C-F)}}=8,1$ Hz) 138,12 (C10) 146,46 (C10') 149,08 (C4') 150,79 (C2') 164,01 (C4", $J_{\text{(C-F)}}=246,8$ Hz); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{O}^+$ 403,2180, nađeno 403,2181.

3.2.2.19. *Sinteza N-(3-trifluormetilbenzil)cinchoninijevog bromida (31)*

Spoj **31** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,58 g spoja **31** (80 %), t_r 239 °C; $[\alpha]_D^{24} = +78^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,99 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3440 (O–H) 3014 (C–H_{Ar}) 1582 (C=N) 1122 (C–O) 779 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,04–1,14 (1 H, m, H7a) 1,80–1,93 (2H, m, H5) 1,96 (1 H, br. s., H4) 2,42–2,54 (1 H, m, H7b) 2,66 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,03–3,15 (1 H, m, H2a) 3,55–3,64 (1 H, m, H2b) 3,94–4,10 (2 H, m, H8, H6b) 4,48 (1 H, ddd, $J=12,04$; 8,74; 2,93 Hz, H6a) 5,10–5,15 (1 H, m, CH2a) 5,23–5,33 (m, 3 H, H11, CH2b) 6,07 (1 H, ddd, $J=17,36$, 10,39, 7,21 Hz, H10) 6,64 (1 H, d, $J=2,20$ Hz, H9) 7,77–7,89 (2 H, m, ArH'') 7,91 (1 H, d, $J=7,83$ Hz, H7') 7,97 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 8,06 (1 H, d, $J=7,83$ Hz, H6') 8,10–8,15 (2 H, m, ArH'') 8,34–8,40 (1 H, m, H5') 8,95 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 20,90 (C7) 23,27 (C5) 27,09 (C4) 37,46 (C3) 54,77 (C6) 56,66 (C2) 62,27 (CH2) 65,53 (C9) 68,00 (C8) 116,61 (C11) 119,83 (C3') 123,04 (C8') 124,73 (C1'') 127,10 (CF3) 127,80 (C7') 128,80 (C9') 128,86 (C5') 129,80 (C6') 129,97 (s, 1 C) 130,12 (C4'', C5'') 130,74 (s, 1 C) 131,22 (C3'', $J_{\text{C-F}}=32,6$ Hz) 136,19 (s, 1 C) 137,39 (C2'', C6'') 145,83 (C10') 147,34 (C4') 149,64 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₈F₃N₂O⁺ 453,2148, nađeno 453,2150.

3.2.2.20. *Sinteza N-(4-trifluormetilbenzil)cinchoninijevog bromida (32)*

Spoj **32** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,58 g spoja **32** (81 %); t_r 232 °C; $[\alpha]_D^{24} = +67^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 8,13 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3445 (O–H) 3018 (C–H_{Ar}) 1572 (C=N) 1120 (C–O) 774 (C–F) **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,03–1,14 (1 H, m, H7a) 1,77–1,93 (2 H, m, H5) 1,96 (1 H, br. s., H4) 2,43–2,53 (1 H, m, H7b) 2,64 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,04–3,17 (1 H, m, H2a) 3,57–3,66 (1 H, m, H2b) 3,96–4,12 (2 H, m, H6b, H8) 4,47 (1 H, ddd, $J=12,04$; 8,74; 2,69 Hz, H6a) 5,04–5,14 (1 H, m, CH2a) 5,19–5,34 (3 H, m, CH2b, H11) 6,00–6,11 (1 H, m, H10) 6,60–6,65 (1 H, m, H9) 7,79–7,92 (4 H, m, ArH'') 7,95–8,02 (3 H, m, H3', H6', H7') 8,12 (1 H, dd, $J=8,31$; 1,47 Hz, H8') 8,35–8,40 (1 H, m, H5') 8,95 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 22,46 (C7) 24,81 (C5) 28,58 (C4) 39,01 (C3) 56,36 (C6) 58,39 (C2) 63,77 (CH2) 67,11 (C9) 69,50 (C8) 118,15 (C11) 121,40 (C3'', C5'') 124,57 (C2'', C6'') 126,54 (C4'', $J_{\text{C-F}}=51,4$ Hz) 127,31 (CF3) 129,36 (C6') 130,40 (C5') 131,34 (C7') 133,34 (C1'', $J_{\text{C-F}}=1,3$ Hz) 133,80 (C9') 135,92 (C8') 135,94 (C3') 137,72 (C10) 147,36 (C10') 148,89 (C4') 151,18 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₈F₃N₂O⁺ 453,2148 nađeno 453,2153.

3.2.2.21. *Sinteza N-(3,5-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (33)*

Spoj **33** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,28 g spoja **33** (38 %); t_f 234 °C; $[\alpha]_D^{24} = +141^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,46 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3440 (O–H) 3014 (C–H_{Ar}) 1582 (C=N) 1122 (C–O) 779 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,04–1,12 (1 H, m, H7a) 1,84–1,96 (3 H, m, H5, H4) 2,41–2,52 (1 H, m, H7b) 2,67 (1 H, q, $J=8,64$ Hz, H3) 3,10–3,21 (1 H, m, H2b) 3,65 (1 H, t, $J=11,00$ Hz, H6a) 3,94–4,09 (2 H, m, H2a; H8) 4,45 (1 H, ddd, $J=11,98$; 8,93; 2,57 Hz, H6b) 5,03 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2a) 5,20 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2b) 5,26–5,33 (2 H, m, H11) 6,06 (1 H, ddd, $J=17,30$; 10,33; 7,09 Hz, H10) 6,57–6,60 (1 H, m, H9) 7,23 (1 H, tt, $J=9,05$; 2,20 Hz, H4'') 7,46–7,53 (2 H, m, H2''; H6'') 7,78–7,88 (2 H, m, H3'; H7') 7,95 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H6') 8,08–8,13 (1 H, m, H8') 8,35–8,40 (1 H, m, H5') 8,94 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 22,47 (C7) 24,82 (C5) 28,49 (C4) 39,01 (C3) 56,45 (C6) 58,41 (C2) 63,29 (CH₂) 67,07 (C9) 69,57 (C8) 107,00 (C4'', $J=25,3$ Hz) 118,13 (C6'') 118,15 (C11) 118,20 (C2'') 121,38 (C6') 124,63 (C8') 126,26 (C10') 129,36 (C3') 130,37 (C5') 131,32 (C7') 132,56 (C1'', $J=9,5$ Hz) 137,69 (C10) 147,33 (C4') 148,86 (C9') 151,16 (C2') 163,54 (C5'', $J=249,0$ Hz) 166,02 (C3'', $J=249,0$ Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2088.

3.2.2.22. *Sinteza N-(3,4-diflorobenzil)cinchoninijevog bromida (34)*

Spoj **34** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,39 g spoja **34** (59 %); t_f 227 °C; $[\alpha]_D^{24} = +137^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,47 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3447 (O–H) 3014 (C–H_{Ar}) 1585 (C=N) 1124 (C–O) 774 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6) δ/ppm : 1,06 (1 H, dd, $J=13,20$; 7,58 Hz, H7a) 1,70–1,83 (2 H, m, H5) 1,88 (1 H, br. s., H4) 2,23–2,35 (1 H, m, H7b) 2,63 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 2,95–3,07 (1 H, m, H2a) 3,51 (1 H, t, $J=11,49$ Hz, H2b) 3,89 (1 H, t, $J=9,41$ Hz, H6b) 3,96 (1 H, br. s., H8) 4,22 (1 H, t, $J=9,17$ Hz, H6a) 4,95 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2a) 5,16 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2b) 5,20–5,29 (2 H, m, H11) 5,93–6,07 (1 H, m, H10) 6,49 (1 H, br. s., H9) 6,78 (1 H, d, $J=3,91$ Hz, H2'') 7,62–7,72 (2 H, m, H5'', H6'') 7,73–7,80 (1 H, m, H3') 7,81–7,89 (2 H, m, H6', H7') 7,99 (1 H dd, $J=11,25$; 7,09 Hz,) 8,11 (1 H, dd, $J=8,44$; 1,10 Hz, H8') 8,37 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H5') 8,99 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*6) δ/ppm : 20,58 (C7) 22,95 (C5) 26,28 (C4) 36,69 (C3) 53,83 (C2) 55,84 (C6) 60,86 (CH₂) 64,64 (C9) 67,32 (C8) 116,99 (C11) 117,98 (C5'', $J_{\text{(C-F)}}=17,2$ Hz) 120,05 (C3') 122,88 (C2'', $J_{\text{(C-F)}}=17,2$ Hz) 123,81 (C8') 124,33 (C9') 125,49 (C1'') 127,22 (C6') 129,39 (C5') 129,78 (C7') 131,23 (C6'') 137,09 (C10) 144,92 (C10') 147,59 (C4') 148,71 (C4'', $J_{\text{(C-F)}}=125,5$; 12,8

Hz) 151,16 (C3''), $J_{(C-F)}=128,5; 12,7$ Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2087.

3.2.2.23. Sinteza N-(2,3-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (35)

Spoj **35** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,55 g spoja **35** (70 %); t_r 239 °C; $[\alpha]_D^{24} = +168^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,32 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3442 (O–H) 3113 (C–H_{Ar}) 1587 (C=N) 1132 (C–O) 777 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,04–1,14 (1 H, m, H7a) 1,85–1,97 (3 H, m, H4, H5) 2,44–2,54 (1 H, m, H7b) 2,68 (1 H, q, $J=8,72$ Hz, H3) 3,24–3,27 (1H, m, H2a) 3,46–3,55 (1 H, m, H6a) 3,92–4,03 (1 H, m, H2b) 4,11 (1 H, t, $J=9,54$ Hz, H8) 4,46 (1 H, ddd, $J=11,98; 8,80; 2,69$ Hz, H6b) 5,08–5,19 (1 H, m, CH2a) 5,21–5,31 (3 H, m, CH2b; H11) 5,99–6,14 (1 H, m, H10) 6,62–6,67 (1 H, m, H9) 7,36–7,47 (1 H, m, H6'') 7,52–7,62 (1 H, m, H5'') 7,63–7,68 (1 H, m, H4'') 7,80–7,90 (2 H, m, H3'; H7') 7,95–8,01 (1 H, m, H6') 8,12 (1 H, dd, $J=8,31; 1,22$ Hz, H8') 8,32–8,40 (1 H, m, H5') 8,96 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 20,92 (C7) 23,31 (C5) 26,78 (C4) 37,56 (C3) 55,18 (C6) 56,03 (C2) 56,78 (CH2) 65,61 (C9) 67,85 (C8) 116,61 (C11) 117,37 (C1'', $J=10,24$ Hz) 119,83 (C3') 119,97 (C4'', $J=16,81$ Hz) 122,94 (C7') 124,75 (C9') 125,24 (C5'', $J=7,42$ Hz) 127,77 (C6') 128,88 (C5') 129,83 (C8') 130,25 (C6'', $J=3,4$ Hz) 136,15 (C10) 145,76 (C10') 147,35 (C4') 149,65 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2086.

3.2.2.24. Sinteza N-(2,4-difluorbenzil)cinchoninijevog bromida (36)

Spoj **36** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,39 g spoja **36** (51 %); t_r 230 231 °C; $[\alpha]_D^{24} = +155^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,31 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3438 (O–H) 3104 (C–H_{Ar}) 1580 (C=N) 1131 (C–O) 777 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,02–1,13 (1 H, m, H7a) 1,83–1,99 (3 H, m, H5; H4) 2,42–2,51 (1 H, m, H7b) 2,67 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,42–3,52 (1 H, m, H2a) 3,93–4,01 (1 H, m, H6b) 4,09 (1 H, t, $J=9,54$ Hz, H8) 4,40–4,49 (1 H, m, H6a) 5,09 (1 H, d, $J=13,20$ Hz, CH2a) 5,19 (1 H, d, $J=12,72$ Hz, CH2b) 5,25–5,31 (2 H, m, H11) 6,06 (1 H, ddd, $J=17,42; 10,21; 7,34$ Hz, H10) 6,64 (1 H, d, $J=2,20$ Hz, H9) 7,19–7,29 (2 H, m, ArH'') 7,79–7,97 (4 H, m, H6'; H7', ArH'') 8,12 (1 H, dd, $J=8,31; 1,22$ Hz, H8') 8,35–8,40 (1 H, m, H5') 8,95 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 20,89 (C7) 23,30 (C5) 26,88 (C4) 37,56 (C3) 54,97 (CH₂) 55,94 (C6) 56,54 (C2) 65,59 (C9) 67,65 (C8) 104,56 (C3'', $J=25,3$ Hz) 111,34 (C1'', $J=14,9; 3,9$ Hz) 112,39 (C5'', $J=22,7; 3,8$ Hz) 116,57 (C11) 119,82 (C3') 123,01 (C7') 124,75 (C9') 127,79 (C6') 128,84 (C5') 129,81 (C8')

136,22 (C10') 136,87 (C6'', $J=10,0$; 3,4 Hz) 145,83 (C4') 147,33 (C10') 149,63 (C2') 162,53 (C4'', $J=205,5$; 12,6 Hz) 166,21 (C2'', $J=219,2$; 12,6 Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2086.

3.2.2.25. Sinteza N-(2,6-difluorbenzil)cinhoninijevog bromida (37)

Spoj **37** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,25 g spoja **37** (36 %); t_f 242 °C; $[\alpha]_D^{24} = +54^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,40 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3446 (O–H) 3102 (C–H_{Ar}) 1579 (C=N) 1134 (C–O) 776 (C–F); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,08–1,17 (1 H, m, H7a) 1,89–2,07 (m, 3 H, H5; H4) 2,50 (1 H, t, $J=11,74$ Hz, H7b) 2,71 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,35–3,56 (2 H, m, H2a; H6b) 3,90–4,01 (1 H, m, H2b) 4,17 (1 H, t, $J=9,29$ Hz, H8) 4,50 (1 H, t, $J=9,17$ Hz, H6a) 4,98–5,07 (1 H, m, CH2a) 5,22–5,38 (3 H m, CH2b; H11) 6,10 (1 H, ddd, $J=17,24$, 10,39, 7,34 Hz, H10) 6,69 (1 H, br. s., H9) 7,32 (2 H, t, $J=8,80$ Hz, H6'; H7') 7,72–7,81 (1 H, m, ArH'') 7,81–7,93 (2 H, m, ArH'') 7,99 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H3') 8,16 (1 H, d, $J=8,31$ Hz, H8') 8,34 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H5') 8,99 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 20,96 (C7) 23,39 (C5) 26,52 (C4) 37,66 (C3) 51,40 (C6) 55,13 (C2) 56,67 (CH₂, $J=3,26$ Hz) 65,69 (C9) 67,80 (C8) 112,17 (C3'') 112,39 (C6'') 116,53 (C1'') 116,60 (C11) 119,86 (C3') 122,80 (C7') 124,79 (C9') 127,67 (C6') 128,89 (C5') 129,85 (C8') 134,25 (C4'', $J=11$ Hz) 136,22 (C10) 145,73 (C1') 147,37 (C4') 149,66 (C2') 161,06 (C2'') 163,56 (C6''); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇F₂N₂O⁺ 421,2086 nađeno 421,2087.

3.2.2.26. Sinteza N-(3-trifluorometoksibenzil)cinhoninijevog bromida (38)

Spoj **38** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,72 g spoja **37** (86 %); t_f 218 °C; $[\alpha]_D^{24} = +103^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 8,23 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3443 (O–H) 3010 (C–H_{Ar}) 1582 (C=N) 1130 (C–O) 779 (C–F); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,08 (1 H, ddd, $J=13,14$; 8,86; 4,89 Hz, H7a) 1,79–1,96 (3 H, m, H4; H5) 2,43–2,53 (1 H, m, H7b) 2,66 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,11 (1 H, dt, $J=11,62$; 9,35 Hz, H2b) 3,57–3,66 (1 H, m, H6a) 3,93–4,09 (2 H, m, H2a; H8) 4,46 (1 H, ddd, $J=12,10$; 8,80; 2,81 Hz, H6b) 5,07 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2a) 5,21 (1 H, d, $J=12,47$ Hz, CH2b) 5,25–5,32 (2 H, m, H11) 6,06 (1 H, ddd, $J=17,24$; 10,39; 7,09 Hz, H10) 6,62 (1 H, d, $J=2,20$ Hz, H9) 7,51–7,56 (1 H, m, H3') 7,70 (1 H, t, $J=8,07$ Hz, H7') 7,76–7,88 (4 H, m, ArH'') 7,95–7,98 (1 H, m, H6') 8,10–8,14 (1 H, m, H8') 8,36 (1 H, dd, $J=8,31$; 1,22 Hz, H5') 8,95 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 22,45 (C7) 24,82 (C5) 28,58 (C4) 38,99 (C3) 56,30 (C6) 58,26 (C2) 63,73 (CH₂) 67,07 (C9) 69,50 (C8) 118,14 (C11) 123,33 (C3') 124,37 (C8') 124,58 (s, 1 C) 126,28 (C9') 129,34 (C6')

130,40 (C5') 131,32 (C7') 131,34 (C1'') 131,39 (C4'') 132,32 (C6'') 132,34 (s, 1 C) 134,00 (C2' C5'') 137,72 (C10) 147,37 (C10') 148,89 (C4') 150,97 (C3'') 151,18 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₈F₃N₂O₂⁺ 469,2097 nađeno 469,2101.

3.2.2.27. *Sinteza N-(4-trifluormetoksibenzil)cinhoninijevog bromida (39)*

Spoj **39** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,58 g spoja **39** (74 %); *t*_f 227 °C; $[\alpha]_D^{24} = +114^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 8,27 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3422 (O–H) 3103 (C–H_{Ar}) 1580 (C=N) 1129 (C–O) 776 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,03–1,13 (1 H, m, H7a) 1,79–1,96 (3 H, m, H4; H5) 2,48 (1 H, t, *J*=11,86 Hz, H7b) 2,65 (1 H, m, H3) 3,05–3,18 (1 H, m, H2b) 3,61 (1 H, t, *J*=11,37 Hz, H6b) 3,90–4,12 (2 H, m, H2a, H8) 4,44 (1 H, t, *J*=9,29 Hz, H6a) 4,99–5,10 (1 H, m, CH2a) 5,13–5,23 (1 H, m, CH2b) 5,25–5,33 (2 H, m, H11) 6,06 (1 H, ddd, *J*=17,30; 10,33; 7,34 Hz, H10) 6,62 (1 H, br. s., H9) 7,49 (2 H, d, *J*=8,07 Hz, H3', H7') 7,79–7,94 (4 H, m, ArH'') 7,96 (1 H, d, *J*=4,40 Hz, H6') 8,11 (1 H, d, *J*=8,07 Hz, H8') 8,37 (1 H, d, *J*=7,58 Hz, H5') 8,95 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 22,45 (C7) 24,81 (C5) 28,63 (C4) 39,00 (C3) 56,14 (C6) 58,22 (C2) 63,58 (CH2) 67,08 (C9) 69,34 (C8) 118,12 (C11) 121,38 (C6') 122,74 (C8') 124,61 (C3'') 126,30 (C1'') 128,05 (C10') 129,36 (C5') 130,40 (C7') 131,34 (C2'', C6'') 137,16 (C10) 137,78 (C3'', C5'') 147,42 (C4') 148,89 (C9') 151,18 (C2') 152,24 (C4''); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₈F₃N₂O₂⁺ 469,2097 nađeno 469,2100.

3.2.2.28. *Sinteza N-(2-fluor-6-trifluormetilbenzil)cinhoninijevog bromida (40)*

Spoj **40** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,19 g spoja **40** (24 %); *t*_f 237 °C; $[\alpha]_D^{24} = +114^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 7,53 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3420 (O–H) 3112 (C–H_{Ar}) 1577 (C=N) 1127 (C–O) 774 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 1,05–1,12 (1 H, m, H7a) 1,85–2,01 (3 H, m, H4; H5) 2,43–2,55 (1 H, m, H7b) 2,69 (1 H, q, *J*=8,72 Hz, H3) 3,88–3,99 (1 H, m, H2b) 4,15 (1 H, t, *J*=9,66 Hz, H6b) 4,40–4,51 (1 H, m, H6a) 5,02 (1 H, d, *J*=12,96 Hz, CH2a) 5,20–5,34 (3 H, m, H11, CH2b) 6,01–6,14 (1 H, m, H10) 6,67 (1 H, d, *J*=2,45 Hz, H9) 7,29 (2 H, t, *J*=8,56 Hz, H6'; H7') 7,68–7,78 (2 H, m,) 7,79–7,90 (2 H, m,) 7,97 (1 H, d, *J*=4,65 Hz, H3') 8,13 (1 H, dd, *J*=8,44; 1,10 Hz, H8') 8,33 (1 H, d, *J*=8,56 Hz, H5') 8,91–9,00 (1 H, m, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 20,96 (C7) 23,39 (C5) 26,52 (C4) 37,66 (C3) 51,40 (C6) 55,13 (CH₂) 56,67 (C2, *J*_{C-F}=3,5 Hz) 65,69 (C9) 67,80 (C8) 112,17 (C) 112,20 (C) 112,39 (C) 112,43 (C) 116,60 (C) 119,86 (C) 122,80 (C) 124,79 (C) 127,67 (C) 128,89 (C) 129,02 (C) 129,85 (C) 133,51 (C) 134,14 (C) 134,25 (C) 134,36 (C) 136,22 (C) 145,73 (C)

147,37 (C) 149,66 (C) 162,34 (C^{2''}, $J_{C-F}=251,3$; 6,7 Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₂₇F₄N₂O⁺ 471,2054 nađeno 471,2054.

3.2.2.29. Sinteza N-(2-fluor-4-brombenzil)cinhoninijevog bromida (**41**)

Spoj **41** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,33 g spoja **41** (40 %); t_f 234–235 °C; $[\alpha]_D^{24} = +94^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,83 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3416 (O–H) 3110 (C–H_{Ar}) 1587 (C=N) 1131 (C–O) 776 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,03–1,15 (1 H, m, H7a) 1,86–1,96 (3 H, m, H4; H5) 2,41–2,51 (1 H, m, H7b) 2,67 (1 H, q, $J=8,56$ Hz, H3) 3,22–3,27 (1H, m, H2a) 3,41–3,50 (1 H, m, H6b) 3,91–3,99 (1 H, m, H2b) 4,09 (1 H, t, $J=9,54$ Hz, H8) 4,39–4,48 (1 H, m, H6a) 5,07 (1 H, d, $J=12,96$ Hz, CH2a) 5,18 (1 H, d, $J=12,72$ Hz, CH2b) 5,24–5,30 (2 H, m, H11) 6,00–6,11 (1 H, m, H10) 6,63 (1 H, d, $J=2,20$ Hz, H9) 7,61 (1 H, dd, $J=8,31$; 1,71 Hz, H7') 7,66 (1 H, dd, $J=9,78$; 1,96 Hz, H6') 7,76–7,84 (2 H, m, H3''; H6'') 7,84–7,89 (1 H, m, H5'') 7,96 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 8,10–8,14 (1 H, m, H8') 8,36 (1 H, d, $J=7,83$ Hz, H5') 8,95 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 22,43 (C7) 24,84 (C5) 28,37 (C4) 39,09 (C3) 56,65 (C6, $J=3,54$ Hz) 57,53 (C2) 58,17 (CH₂, $J=1,48$ Hz) 67,13 (C9) 69,32 (C8) 115,86 (C4'', $J=14,23$ Hz) 118,13 (C11) 121,34 (C3'', $J=1,81$ Hz) 121,60 (C3') 124,47 (C7') 126,29 (C9') 127,34 (C1'', $J=10,5$ Hz) 129,31 (C6') 130,01 (C5'', $J=3,5$ Hz) 130,42 (C5') 131,36 (C8') 137,73 (C10) 138,10 (C6'', $J=2,7$ Hz) 147,31 (C4') 148,89 (C10') 151,19 (C2') 162,29 (C2'', $J=254,1$ Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇BrF₄N₂O⁺ 481,1285 nađeno 481,1286.

3.2.2.30. Sinteza N-(2-klor-6-fluorbenzil)cinhoninijevog bromida (**42**)

Spoj **42** pripremljen je prema postupku 3.2.2. Dobiveno je 0,50 g spoja **42** (65 %); t_f 241 °C; $[\alpha]_D^{24} = +171^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,30 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3419 (O–H) 3115 (C–H_{Ar}) 1567 (C=N) 1124 (C–O) 775 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 1,08 (1 H, t, $J=12,96$ Hz, H7a) 1,83–2,00 (3 H, m, H4; H5) 2,41–2,54 (1 H, m, H7b) 2,68 (1 H, q, $J=8,64$ Hz, H3) 3,45–3,53 (2 H, m, H2) 4,05 (1 H, br. s., H6b) 4,18 (1 H, t, $J=9,54$ Hz, H8) 4,54–4,63 (1 H, m, H6a) 5,11 (1 H, d, $J=12,96$ Hz, CH2a) 5,24–5,30 (2 H, m, CH2b; H11a) 5,44 (1 H, d, $J=13,94$ Hz, H11b) 6,07 (1 H, ddd, $J=17,18$; 10,45; 7,34 Hz, H10) 6,68–6,72 (1 H, m, H9) 7,41 (1 H, t, $J=8,80$ Hz, H6') 7,58 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H7') 7,79–7,90 (2 H, m, ArH'') 7,96–8,00 (1 H, m, ArH'') 8,13 (1 H, d, $J=7,83$ Hz, H8') 8,33 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H5') 8,96 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 22,60 (C7) 25,05 (C5) 27,92 (C4) 39,30 (C3) 56,34 (CH₂) 57,00 (C6) 58,46 (C2) 67,35 (C9) 69,52 (C8) 116,32 (C1'', $J=16,9$ Hz) 116,91

(C5'', $J=23,5$ Hz) 118,10 (C11) 121,39 (C3'') 124,33 (C7') 126,35 (C9') 128,47 (C5'', $J=3,3$ Hz) 129,22 (C6') 130,44 (C5') 131,39 (C8') 135,34 (C4'', $J=10,5$ Hz) 137,83 (C10) 139,58 (C2'', $J=4,1$ Hz) 147,39 (C10') 148,91 (C4') 151,21 (C2') 164,52 (C6'', $J=239,9$ Hz); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₇ClFN₂O⁺ 437,1790 nađeno 437,1791.

3.3. Sinteza 10,11-dihidrocinhonidina i cinhonina

3.3.1. Opći postupak

Cinhonidin/cinhonin (7 mmol) otopljen je u metanolu (45 mL) i dokapana je mravlja kiselina (5,1 mmol) uz snažno miješanje. Zatim je dodan amonijev formijat (8,6 mmol) i paladij na ugljiku (3,1 mmol). Reakcijska smjesa zagrijana je na 50° C kroz sat vremena te ostavljena na toj temperaturi 22 sata. Tijek reakcije praćen je TLC-om u sustavu otapala CHCl₂:acetone:CH₃OH:NH₃=6:2:2:0,1. Reakcijska smjesa je ohlađena te je dokapano 0,66 mL mravlje kiseline uz snažno miješanje. Reakcijska smjesa je profiltrirana preko celita, a filtrat uparen do suha. U suhi ostatak zaostao nakon uparavanja dodana je H₂O (5 mL) te amonijak (25 mL). Nakon 15 minuta miješanja, reakcijska smjesa je profiltrirana i dobiveni talog je ispran vodom (25 mL). Prekristalizacijom taloga iz acetona dobiven je produkt.

3.3.1.1. Sinteza 10,11-dihidrocinhonidina (**43**)

Spoj **43** pripremljen je prema postupku 3.3.1. Dobiveno je 3,7 g spoja **43** (67 %); t_f 233,1 °C; $[\alpha]_D^{24} = -138^\circ$ (c 0,1; MeOH); FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3435 (O–H) 2930 (C–H) 2857 (C–H) 1111 (C–N); ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 0,92-0,98 (3H, t, $J=7,1$ Hz, H11) 1,11–1,15 (1H, m, H5a) 1,53-1,63 (6H, m, H3, H4, H5b, H7a, H10) 1,76 (1H, s, H7b) 2,15-2,20 (1H, m, H2a) 2,79-2,93 (1H, m, H6b) 2,94–2,96 (2H, m, H2b, H6a) 3,13–3,14 (1H, m, H8) 5,74 (1H, d, $J=3,7$ Hz, H9) 7,67–7,69 (m, 1H, H7') 7,76 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H3') 7,80–7,82 (1H, m, H6') 8,09 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H8') 8,21 (1H, d, $J=8,3$ Hz, H5') 8,85 (d, 1H, $J=4,6$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 10,89 (C11) 20,57 (C10) 25,37 (C4) 27,15 (C5) 27,46 (C7) 37,19 (C3) 42,64 (C2) 57,98 (C6) 60,19 (C9) 70,94 (C8) 118,56 (C3') 123,16 (C6') 125,78 (C9') 126,74 (C7') 128,64 (C8') 129,29 (C5') 147,45 (C10') 149,52 (C2') 150,94 (C4'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₁₉H₂₅N₂O⁺ 297,1961 nađeno 297,1963.

3.3.1.2. Sinteza 10,11-dihidrocinhonina (**44**)

Spoj **44** pripremljen je prema postupku 3.3.1. Dobiveno je 3,9 g spoja **44** (79 %); t_f 248,2 °C; $[\alpha]_D^{24} = +161^\circ$ (c 0,1; MeOH); FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3435 (O–H) 2930 (C–H) 2857 (C–H) 1111

(C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 0,95 (3H, t, $J=7,1$ Hz, H11) 1,05–1,17 (1H, m, H5) 1,44–1,62 (m, 5H, H3, H4, H5, H7a, H10) 1,76 (1H, m, H7b) 2,13 (1H, dd, $J=13,08$; 9,17 Hz, H2a) 2,71–2,81 (1H, m, H6a) 2,82–2,93 (2H, m, H2b, H6b) 3,06 (1H, td, $J=9,05$; 3,67 Hz, H8) 3,23–3,29 (1 H, m,) 5,68 (1 H, d, $J=3,91$ Hz, H9) 7,63–7,69 (1 H, m, H6') 7,73 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H3') 7,77 (1 H, dd, $J=7,64$; 1,10 Hz, H7') 8,06 (1 H, d, $J=8,31$ Hz, H8') 8,19 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H5') 8,82 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 10,88 (C11) 20,10 (C10) 24,75 (C5) 26,09 (C4) 26,41 (C7) 37,08 (C3) 49,54 (C2) 50,37 (C6) 59,98 (C8) 70,85 (C9) 118,50 (C3') 123,10 (C6') 125,77 (C9') 126,73 (C7') 128,62 (C8') 129,27 (C5') 147,41 (C10') 149,50 (C2') 150,75 (C4'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}^+$ 297,1961 nađeno 297,1960.

3.4. Sinteza *N*-kvaternih derivata 10,11-dihidrocinhonidina i cinhonina

3.4.1. Opći postupak

10,11-dihidrocinhonidin/cinhonin (0,95 mmol) i odgovarajući benzil-bromid (0,95 mmol) refluksirani su u suhom toluenu (13 mL) 22 sata. Tijek reakcije praćen je TLC-om u sustavu otapala CHCl_3 : MeOH : $\text{NH}_3 = 85$: 14 : 1. Hlađenjem i filtracijom reakcijske smjese izoliran je talog koji je prekrizaliziran iz smjese metanola i etera.

3.4.1.1. Sinteza *N*-benzil-10,11-dihidrocinhonidinijevog bromida (**45**)

Spoj **45** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,2 g spoja **45** (49 %); t_f 201,2 °C; $[\alpha]_D^{24} = -146^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,34 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3432 (O–H) 3083 (C–H) 1126 (C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 0,80 (3H, t, $J=7,3$ Hz, H11) 1,45–1,21 (3H, m, H4, H5a, H7b) 1,88–1,82 (2H, m, H10) 2,07 (1H, s, H7) 2,32–2,23 (2H, m, H3 i H5b) 3,50–3,40 (3H, m, H2, H6b) 4,02 (1H, t, $J=8,8$ Hz, H6) 4,50–4,45 (1H, m, H8) 4,98–4,94 (1H, d, $J=12,3$ Hz, H7'') 5,21–5,18 (1H, d, $J=12,3$ Hz, H7'') 6,68 (1H, s, H9) 7,60–7,62 (3H, m, H3'', H4'', H5'') 7,73–7,77 (2H, m, H2'', H6'') 7,81–7,90 (2H, m, H3', H7') 8,00–7,99 (1H, d, $J=4,4$ Hz, H6') 8,14–8,16 (1H, d, $J=8,2$ Hz, H8') 8,30 (1H, d, $J=8,2$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,5$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 10,29 (C11) 20,76 (C10) 24,22 (C4) 25,09 (C5) 26,06 (C7) 35,96 (C3) 51,43 (C2) 62,69 (C6) 63,84 (C7'') 64,89 (C8) 68,25 (C9) 120,04 (C3') 122,78 (C6') 124,77 (C9') 127,43 (C1'') 127,81 (C7') 128,98 (C2'', C6'') 129,00 (C8') 129,79 (C4'') 130,31 (C5') 133,50 (C5'', C3'') 146,28 (C10') 147,36 (C4') 149,66 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}^+$ 387,2431 nađeno 387,2432.

3.4.1.2. *Sinteza N-(3-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinchonidinijeva bromida (46)*

Spoj **46** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,17 g spoja **46** (41 %); t_f 213,2 °C; $[\alpha]_D^{24} = -141^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,42 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3429 (O–H) 3180 (C–H_{Ar}) 1155 (C–N) 785 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 0,81 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,21–1,45 (3H, m, H4, H5a, H7b) 1,80–1,91 (2H, m, H10) 2,07 (1H, d, $J=2,5$ Hz, H7) 2,25–2,33 (2H, m, H3, H5b) 3,36–3,51 (3H, m, H2, H6b) 4,02 (1H, t, $J=9,1$ Hz, H6) 4,49–4,52 (1H, m, H8) 5,01 (1H, d, $J=12,4$ Hz, H7'') 5,21 (1H, d, $J=12,4$ Hz, H7'') 6,66 (1H, s, H9) 7,34–7,39 (1H, m, H6'') 7,57–7,65 (3H, m, H2'', H4'', H5'') 7,81–7,90 (m, 2H, H3', H7') 8,00 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H6') 8,13–8,16 (1H, dd, $J=8,5; 1,2$ Hz, H8') 8,32 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H5') 8,97 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 10,29 (C11) 20,77 (C10) 24,09 (C4) 25,06 (C5) 26,03 (C7) 35,96 (C3) 51,60 (C2) 62,80 (C6) 63,00 (C7'') 64,89 (C8) 68,46 (C9) 117,13 (C3') 120,12 (C8') 120,35 (C6') 122,79 (C5'') 124,75 (C9') 127,84 (C7') 128,96 (C6'') 129,55 (C5') 129,79 (C2'') 130,79 (C8'') 130,87 (C4'') 146,19 (C1'') 147,36 (C3'') 149,66 (C2') 161,59 (C10') 164,05 (C4'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₃₀FN₂O⁺ 405,2337 nađeno 405,2334.

3.4.1.3. *Sinteza N-(4-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinchonidinijeva bromida (47)*

Spoj **47** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,36 g spoja **47** (87 %); t_f 220,6 °C; $[\alpha]_D^{24} = -180^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,45 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3435 (O–H) 3144 (C–H) 1167 (C–N) 753 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 0,82 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,21–1,45 (3H, m, H5b, H10) 1,79–1,89 (2H, m, H4, H7a) 2,07 (1H, d, $J=2,5$ Hz, H7) 2,24–2,32 (2H, m, H2a, H3) 3,36–3,45 (2H, m, H2b, H6a) 4,00 (1H, t, $J=9,2$ Hz, H6) 4,42–4,48 (1H, m, H8) 4,98 (1H, d, $J=12,5$ Hz, CH2a) 5,20 (1H, d, $J=12,5$ Hz, CH2b) 6,67 (s, 1H, H9) 7,31–7,35 (2H, t, $J=8,7$ Hz, H3', H7') 7,77–7,90 (4H, m, H2'', H3'', H5'', H6'') 8,00 (1H, d, $J=4,5$ Hz, H6') 8,15 (1H, dd, $J=8,5; 1,2$ Hz, H8') 8,32 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*3) δ/ppm : 10,28 (C11) 20,73 (C10) 24,20 (C4) 25,05 (C5) 26,07 (C7) 35,95 (C3) 51,28 (C2) 62,54 (C6) 62,89 (CH₂) 64,87 (C8) 68,29 (C9) 115,77 (C3') 115,99 (C6') 120,02 (C5'') 122,71 (C7') 123,57 (C9') 127,80 (C8') 128,99 (C6'') 129,78 (C5') 135,71 (C2'') 135,80 (C3'') 146,22 (C10') 147,37 (C4') 149,66 (C2') 162,86 (C1'') 165,35 (C4''); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₃₀FN₂O⁺ 405,2337 nađeno 405,2337.

3.4.1.4. *Sinteza N-(3-trifluorometilbenzil)-10,11-dihidrocinchonidinijeva bromida (48)*

Spoj **48** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,26 g spoja **48** (58 %); t_f 213,8 °C; $[\alpha]_D^{24} = -171^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 8,16 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3432 (O–H) 3171 (C–H) 1131 (C–

N) 776 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 0,81 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,20–1,38 (m, 2H, H5a, H7b) 1,41–1,47 (1H, m, H4) 1,81–1,91 (2H, m, H10) 2,08 (1H, d, $J=2,6$ Hz, H7) 2,23–2,34 (2H, m, H3, H5a) 3,44–3,46 (2H, m, H2) 4,04 (1H, t, $J=9,2$ Hz, H6b) 4,51–4,55 (1H, m, H8) 5,10 (1H, d, $J=12,5$ Hz, CH2a) 5,32 (1H, d, $J=12,5$ Hz, CH2b) 6,68 (s, 1H, H9) 7,80–7,94 (4H, m, H2'', H4'', H5'', H6'') 8,00 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H6') 8,05–8,15 (2H, m, H3', H7') 8,15 (1H, dd, $J=8,5; 1,4$, Hz, H8') 8,33 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 10,27 (C11) 20,76 (C10) 24,11 (C4) 25,03 (C5) 26,00 (C7) 35,91 (C3) 51,59 (C2) 62,70 (C6) 62,90 (CH2) 64,89 (C8) 68,59 (C9) 120,02 (C3') 122,80 (C6') 124,76 (C9') 127,06 (C5'') 127,84 (C7') 128,85 (C8'') 128,98 (C8') 129,80 (C6'') 129,95 (C5') 130,10 (C2'') 131,03 (C1'') 131,36 (C3'') 137,35 (C4'') 146,13 (C10') 147,38 (C4') 149,66 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}^+$ 455,2305 nađeno 455,2305.

3.4.1.5. Sinteza N-(4-trifluormetilbenzil)-10,11-dihidrocinchonidinijeva bromida (**49**)

Spoj **49** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,29 g spoja **49** (66 %); t_{r} 223,5 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -166^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 8,27 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3432 (O–H) 3147 (C–H) 1123 (C–N) 785 (C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 0,81 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,21–1,46 (3H, m, H4, H5a, H7b) 1,80–1,89 (2H, m, H10) 2,22–2,34 (2H, m, H3, H5b) 2,07 (1H, s, H7a) 3,36–3,52 (3H, m, H2, H6b) 4,06 (1H, t, $J=9,0$ Hz, H6a) 4,50–4,61 (1H, m, H8) 5,10 (1H, d, $J=12,3$ Hz, CH2a) 5,30 (1H, d, $J=12,4$ Hz, CH2b) 6,68 (1H, s, H9) 7,91–7,92 (4H, m, H2'', H3'', H5'', H6'') 7,98–8,00 (3H, m, H6', H3', H7') 8,15 (1H, d, $J=8,2$ Hz, H8') 8,34 (1H, d, $J=8,1$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 10,28 (C11) 20,80 (C10) 24,11 (C4) 25,04 (C5) 26,03 (C7) 35,94 (C3) 51,67 (C2) 62,82 (C6, CH2) 64,94 (C8) 68,56 (C9) 120,05 (C3') 122,56 (C4'') 122,81 (C6') 124,74 (C9') 125,72 (C5'') 125,75 (C7') 127,85 (C8) 128,97 (C6'') 129,79 (C5') 131,86 (C8'') 132,22 (C1'') 134,38 (C3'') 146,14 (C10') 147,36 (C4') 149,66 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}^+$ 455,2305 nađeno 455,2305.

3.4.1.6. Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinchonidinijeva bromida (**50**)

Spoj **50** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,24 g spoja **50** (50 %); t_{r} 212,7 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -150^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 8,16 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3444 (O–H) 3182 (C–H) 1155 (C–N) 779 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*3) δ /ppm: 0,81 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,18–1,37 (2H, m, H5a, Hb7) 1,41–1,47 (1H, m, H4) 1,82–1,92 (2H, m, H10) 2,08 (1H, s, H7) 2,23–2,34 (2H, m, H3, H5b) 3,37–3,53 (3H, m, H2, H6b) 4,03 (1H, t, $J=9,0$ Hz, H6) 4,48–4,52 (1H, m,

H8) 5,04 (1H, d, $J=12,4$ Hz, CH2a) 5,25 (1H, d, $J=12,4$ Hz, CH2a) 6,66 (1H, s, H9) 7,55 (1H, d, $J=8,1$ Hz, H6') 7,70–7,90 (5H, m, H2'', H4'', H5'', H6'', H7') 7,99 (1H, d, $J=4,5$ Hz, H3') 8,1 (1H, d, $J=4,2$ Hz, H8') 8,32 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 10,25 (C11) 20,77 (C10) 24,17 (C4) 25,04 (C5) 26,04 (C7) 35,92 (C3) 51,61 (C2) 62,73 (C6) 62,85 (CH2) 64,88 (C8) 68,58 (C9) 119,23 (C1'') 120,02 (C3') 122,77 (C6') 122,82 (C4'') 124,76 (C9') 126,08 (C5'') 127,82 (C7') 128,98 (C8') 129,79 (C6'') 129,88 (C8'') 130,78 (C5') 132,39 (C2'') 146,13 (C10') 147,38 (C4') 149,38 (C3'') 149,66 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2^+$ 471,2254 nađeno 471,2257.

3.4.1.7. *Sinteza N-(4-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhonidinijeva bromida (51)*
Spoj **51** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,18 g spoja **51** (39 %); t_{f} 228,3 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -155^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 8,43 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3432 (O–H) 3144 (C–H) 1161 (C–N) 788 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 0,82 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,18–1,39 (m, 2H, H5a, H7b) 1,42–1,45 (1H, m, H4) 1,81–1,92 (2H, m, H10) 2,08 (1H, s, H7a) 2,22–2,33 (2H, m, H3, H5b) 3,36–3,49 (3H, m, H2, H2a, H6b) 4,03 (1H, t, $J=9,1$ Hz, H6a) 4,46–4,51 (1H, m, H8) 5,03 (1H, d, $J=12,5$ Hz, CH2a) 5,23 (1H, d, $J=12,5$ Hz, CH2b) 6,67 (1H, s, H9) 7,51 (2H, d, $J=8,1$ Hz, H6', H7') 7,81–7,90 (4H, m, H2'', H3'', H5'', H6'') 8,00 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H3') 8,15 (1H, d, $J=4,2$ Hz, H8') 8,33 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 10,29 (C11) 20,77 (C10) 24,16 (C4) 25,04 (C5) 26,06 (C7) 35,93 (C3) 51,44 (C2) 62,66 (C6, CH2) 64,91 (C8) 68,41 (C9) 119,23 (C1'') 120,04 (C3') 121,17 (C3'', C5'') 122,77 (C6') 124,75 (C9') 126,55 (C8'') 127,83 (C7') 128,98 (C8') 129,79 (C5') 135,57 (C2'', C6'') 146,18 (C10') 147,37 (C4') 149,66 (C2') 150,68 (C4''); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2^+$ 471,2254 nađeno 471,2257.

3.4.1.8. *Sinteza N-benzil-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (52)*
Spoj **52** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,26 g spoja **52** (64 %); t_{f} 241,2 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +112^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 7,31 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3438 (O–H) 3118 (C–H) 1123 (CN); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 0,96 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,11–1,04 (1H, m, H5a) 1,67–1,58 (m, 1H, H10) 1,77–1,87 (3H, m, H4, H5b, H7a) 1,96 (1H, s, H7b) 2,44 (1H, t, $J=11,8$ Hz, H3) 3,12–3,04 (1H, m, H2a) 3,65 (1H, t, $J=11,1$ Hz, H6b) 3,94 (1H, m, H2b) 4,04 (1H, t, $J=9,4$ Hz, H6a) 4,20–4,14 (1H, m, H8) 5,01 (1H, d, $J=12,3$ Hz, CH2a) 5,11 (1H, d, $J=12,4$ Hz, CH2b) 6,64 (1H, d, $J=1,5$ Hz, H9) 7,61 (3H, t, $J=2,7$ Hz, H4'', H3', H7') 7,90–7,76 (4H, m, H2'', H3'', H6'', H5'') 8,01 (1H, d, $J=4,5$ Hz, H6') 8,15–8,13 (1H, d, $J=8,2$ Hz, H8') 8,34 (1H, d, $J=8,2$

Hz, H5') 8,97 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 10,26 (C11) 20,65 (C10) 23,86 (C5) 23,98 (C7) 24,69 (C4) 35,46 (C3) 56,44 (C2) 56,83 (C6) 63,14 (C7'') 65,47 (C8) 67,74 (C9) 119,87 (C3') 123,01 (C6') 124,77 (C9') 127,49 (C1'') 127,78 (C7') 128,86 (C2'', C6'') 129,00 (C8') 129,79 (C4'') 130,30 (C5') 133,52 (C5'', C3'') 146,05 (C10') 147,35 (C4') 149,66 (C2'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}^+$ 387,2431 nađeno 387,2430.

3.4.1.9. Sinteza N-(3-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (**53**)

Spoj **53** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,20 g spoja **53** (48 %); t_f 223,7 °C; $[\alpha]_D^{24} = +110^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,45 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3400 (O–H) 3162 (C–H) 1152 (C–N) 782 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 0,96 (3H, t, $J=7,4$ Hz, H11) 1,04–1,11 (1H, m, H5a) 1,58–1,71 (2H, m, H10) 1,79–1,91 (3H, m, H4, H5b, H7a) 1,97 (1H, s, H7b) 2,46 (1H, t, $J=11,9$ Hz, H3) 3,07–3,14 (1H, m, H2a) 3,64 (1H, t, $J=11,1$ Hz, H6b) 3,93–4,06 (2H, m, H6a, H2b) 4,15–4,21 (1H, m, H8) 5,02 (1H, d, $J=12,4$ Hz, CH2a) 5,15 (1H, d, $J=12,4$ Hz, CH2b) 6,61 (1H, s, H9) 7,34–7,40 (1H, m, H6'') 7,61–7,66 (3H, m, H2'', H4'', H5'') 7,81–7,90 (2H, m, H3', H7') 8,00 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H6') 8,14 (1H, d, $J=4,7$ Hz, H8') 8,36 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 10,26 (C11) 20,66 (C10) 23,84 (C5) 23,95 (C7) 24,58 (C4) 35,44 (C3) 56,66 (C2) 56,91 (C6) 62,30 (CH2) 65,47 (C8) 67,96 (C9) 117,12 (C3') 119,87 (C8') 120,36 (C6') 123,03 (C5'') 124,75 (C9') 127,80 (C7') 128,85 (C6'') 129,54 (C5') 129,78 (C8'') 129,78 (C8'') 130,89 (C4'') 145,97 (C1'') 147,33 (C3'') 149,65 (C2') 161,61 (C10') 164,06 (C4'); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_2\text{O}^+$ 405,2337 nađeno 405,2335.

3.4.1.10. Sinteza N-(4-fluorbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (**54**)

Spoj **54** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,09 g spoja **54** (26 %); t_f 271,0 °C; $[\alpha]_D^{24} = +110^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 7,48 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3423 (O–H) 3136 (C–H) 1225 (C–N) 782 (C–F); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 0,95–0,98 (3H, t, $J=7,3$ Hz, H11) 1,08–1,12 (1H, m, H5) 1,59–1,71 (2H, m, H10) 1,80–1,85 (3H, m, H4, H5, H7) 1,97 (1H, s, H7) 2,45 (1H, t, $J=11,8$ Hz, H3) 3,04–3,12 (m, 1H, H2) 3,63 (1H, t, $J=11,1$ Hz, H6) 3,85 (1H, m, H2) 3,98 (1H, t, $J=9,0$ Hz, H6) 4,13–4,18 (1H, m, H8) 4,98 (1H, d, $J=12,5$ Hz, H7'') 5,08 (1H, d, $J=12,5$ Hz, H7'') 6,61 (1H, s, H9) 7,35 (2H, t, $J=8,5$ Hz, H3', H7') 7,77–7,91 (4H, m, H2'', H3'', H5'', H6'') 8,00 (1H, d, $J=4,4$ Hz, H6') 8,15 (1H, d, $J=8,3$ Hz, H8') 8,33 (1H, d, $J=8,3$ Hz, H5') 8,98 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_3) δ /ppm: 10,24 (C11) 20,64

(C10) 23,82 (C5) 23,92 (C7) 24,59 (C4) 35,40 (C3) 56,71 (C2) 56,78 (C6) 62,21 (C7'') 65,48 (C8) 68,13 (C9) 119,86 (C3') 122,99 (C6') 124,75 (C9') 127,06 (C5'') 127,08 (C7') 127,79 (C8'') 128,88 (C8') 129,80 (C6'') 129,97 (C5') 130,09 (C2'') 131,06 (C1'') 131,38 (C3'') 137,36 (C4'') 145,92 (C10') 147,35 (C4') 149,66 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za izračunato za C₂₆H₃₀F₃N₂O⁺ 405,2337 nađeno 405,2338.

3.4.1.11. Sinteza N-(3-trifluorometilbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (**55**)

Spoj **55** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,18 g spoja **55** (40 %); *t_f* 231,6 °C; $[\alpha]_D^{24} = +89^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t_r* 8,19 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3423 (O–H) 3168 (C–H) 1126 (C–N) 782 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 0,96 (3H, t, *J*=7,4 Hz, H11) 1,09–1,13 (m, 1H, H5) 1,59–1,72 (2H, m, H10) 1,80–1,88 (3H, m, H4, H5, H7) 1,98 (1H, s, H7) 2,46 (1H, t, *J*=11,8 Hz, H3) 3,04–3,11 (1H, m, H2) 3,60 (1H, t, *J*=11,0 Hz, H6) 3,95–4,07 (2H, m, H6, H2) 4,20–4,25 (1H, m, H8) 5,10 (1H, d, *J*=12,5 Hz, H7'') 5,28 (1H, d, *J*=12,5 Hz, H7'') 6,40 (1H, s, H9) 7,81–7,95 (4H, m, H2'', H4'', H5'', H6'') 8,01 (1H, d, *J*=4,5 Hz, H6') 8,07 (1H, d, *J*=7,6 Hz, H8') 8,15 (2H, d, *J*=7,2 Hz, H3', H7') 8,38 (1H, d, *J*=8,0 Hz, H5') 8,98 (1H, d, *J*=4,6 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 10,24 (C11) 20,64 (C10) 23,82 (C5) 23,92 (C7) 24,59 (C4) 35,40 (C3) 56,71 (C2) 56,78 (C6) 62,21 (CH2) 65,48 (C8) 68,13 (C9) 119,86 (C3') 122,99 (C6') 124,75 (C9') 127,06 (C5'') 127,08 (C7') 127,79 (C8'') 128,88 (C8') 129,80 (C6'') 129,97 (C5') 130,09 (C2'') 131,06 (C1'') 131,38 (C3'') 137,36 (C4'') 145,92 (C10') 147,35 (C4') 149,66 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₃₀F₃N₂O⁺ 455,2305 nađeno 455,2305.

3.4.1.12. Sinteza N-(4-trifluorometilbenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (**56**)

Spoj **56** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,33 g spoja **56** (72 %), *t_f* 234,7 °C, $[\alpha]_D^{25} = +95^\circ$ (*c* 0,1; MeOH); *t_r* 8,25 min; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3168 (O–H) 2959 (C–H) 1134 (C–N) 782 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 0,96 (3H, t, *J*=7,4 Hz, H11) 1,04–1,11 (1H, m, H5) 1,62 (2H, dq, *J*=6,6; 14,0 Hz, H10) 1,81–1,90 (3H, m, H4, H5, H7) 1,97 (1H, s, H7) 2,42 (1H, t, *J*=11,8 Hz, H3) 3,04–3,11 (1H, m, H2) 3,60 (1H, t, *J*=11,1 Hz, H6) 3,94–3,90 (1H, m, H2) 4,04 (1H, t, *J*=9,2 Hz, H6) 4,13–4,18 (1H, m, H8) 5,00 (1H, d, *J*=12,5 Hz, H7'') 5,12 (1H, d, *J*=12,5 Hz, H7'') 6,62 (1H, s, H9) 7,34 (2H, t, *J*=8,5 Hz, H3', H7') 7,80–7,90 (4H, m, H2'', H3'', H6'', H5'') 8,00 (1H, d, *J*=4,5 Hz, H6') 8,14 (1H, d, *J*=8,2 Hz, H8') 8,32 (1H, d, *J*=8,0 Hz, H5') 8,98 (1H, d, *J*=4,5 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ/ppm : 10,27 (C11) 20,64 (C10) 23,97 (C5) 24,68 (C7) 35,44 (C4) 48,46 (C3) 56,34 (C2) 56,69 (C6) 62,17 (C7'') 65,45 (C8) 67,77 (C9) 115,79 (C3') 115,79 (C3') 116,00 (C6') 119,86 (C5'') 123,00

(C7') 123,59 (C1'') 124,76 (C9') 127,80 (C8') 128,85 (C6'') 129,79 (C5') 135,75 (C2'') 135,83 (C3'') 146,02 (C10') 147,32 (C4') 149,64 (C2') 162,86 (C4'') 165,34 (C8''); HRMS/⁺ESI: HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₃₀F₃N₂O⁺ 455,2305 nađeno 455,2305.

3.4.1.13. *Sinteza N-(3-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (57)*
Spoj **57** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,31 g spoja **57** (66 %); *t*_i 214,8 °C; [α]_D²⁵ = +90 ° (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 8,16 min; **FTIR** $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 3441 (O–H) 3159 (C–H) 2954 (C–H) 1252 (–C–O–C–) 1161 (C–N) 782 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ /ppm: 0,96 (3H, t, *J*=7,4 Hz, H11) 1,12–1,08 (m, 1H, H5) 1,60–1,70 (2H, m, H10) 1,84–1,86 (3H, m, H4, H5, H7) 1,97 (1H, s, H7) 2,45 (1H, t, *J*=11,8 Hz, H3) 3,05–3,12 (1H, m, H2) 3,64 (1H, t, *J*=11,1 Hz, H6) 3,94–3,96 (1H, m, H2) 4,04 (1H, t, *J*=9,3 Hz, H6) 4,18–4,22 (1H, m, H8) 5,06 (1H, d, *J*=12,4 Hz, H7'') 5,20 (1H, d, *J*=12,4 Hz, H7'') 6,62 (1H, s, H9) 7,56 (1H, d, *J*=8,1 Hz, H7') 7,72 (1H, t, *J*=7,9 Hz, H3') 7,79–7,88 (4H, m, H2'', H4'', H5'', H6'') 8,00 (1H, d, *J*=4,5 Hz, H6') 8,13 (1H, d, *J*=8,0 Hz, H8') 8,36 (1H, d, *J*=8,0 Hz, H5') 8,98 (1H, d, *J*=4,5 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ /ppm: 10,23 (C11) 20,66 (C10) 23,82 (C5) 23,97 (C7) 24,65 (C4) 35,40 (C3) 56,69 (C2) 56,83 (C6) 62,10 (C7'') 65,47 (C8) 68,06 (C9) 119,24 (C1'') 119,87 (C3') 122,81 (C6') 123,02 (C4'') 124,75 (C9') 126,10 (C5'') 127,80 (C7') 128,86 (C8') 129,80 (C6'') 129,95 (C8'') 130,80 (C5') 132,44 (C2'') 145,93 (C10') 147,33 (C4') 149,39 (C3'') 149,65 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₃₀F₃N₂O₂⁺ 471,2254 nađeno 471,2257.

3.4.1.14. *Sinteza N-(4-trifluormetoksibenzil)-10,11-dihidrocinhoninijeva bromida (58)*
Spoj **58** pripremljen je prema postupku 3.4.1. Dobiveno je 0,11 g spoja **58** (26 %); *t*_i 241,9 °C; [α]_D²⁵ = +77 ° (*c* 0,1; MeOH); *t*_r 8,43 min; **FTIR** $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 3435 (O–H) 3153 (C–H) 2883 (C–H) 1272 (–C–O–C–) 1161 (C–N) 785 (C–F); **¹H NMR** (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ /ppm: 0,96 (3H, t, *J*=7,4 Hz, H11) 1,05–1,12 (m, 1H, H5) 1,59–1,73 (m, 2H, H10) 1,80–1,86 (m, 3H, H4, H5, H7) 1,97 (s, 1H, H7) 2,46 (t, 1H, *J*=11,8 Hz, H3) 3,06–3,13 (m, 1H, H2) 3,62 (t, 1H, *J*=11,0 Hz, H6) 3,92–3,97 (m, 1H, H2) 4,04 (t, 1H, *J*=9,4 Hz, H6) 4,15–4,21 (m, 1H, H8) 5,02 (d, 1H, *J*=12,5 Hz, H7'') 5,16 (d, 1H, *J*=12,5 Hz, H7'') 6,63 (s, 1H, H9) 7,52 (d, 2H, *J*=8,0 Hz, H3', H7') 7,81–7,92 (m, 4H, H2'', H3'', H5'', H6'') 8,00 (d, 1H, *J*=4,6 Hz, H6') 8,14 (d, 1H, *J*=4,6 Hz, H8') 8,36 (1H, d, *J*=7,9 Hz, H5') 8,98 (1H, d, *J*=4,6 Hz, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, MeOD-*d*₃) δ /ppm: 10,25 (C11) 20,65 (C10) 23,82 (C5) 23,96 (C7) 24,65 (C4) 35,40 (C3) 56,54 (C2) 56,80 (C6) 61,97 (C7'') 65,48 (C8) 67,93 (C9) 119,18 (C1'') 119,86 (C3') 121,18 (C3'', C5'') 122,99

(C6') 124,76 (C9') 126,60 (C8'') 127,79 (C7') 128,87 (C8') 129,79 (C5') 135,58 (C2'', C6'') 145,95 (C10') 150,69 (C4'') 147,35 (C4') 149,65 (C2'); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₇H₃₀F₃N₂O₂⁺ 471,2254 nađeno 471,2257.

3.5. Sinteza 9-O-karbamata cinhonidina

3.5.1. Opći postupak

Cinhonidin/cinhonin (1,7 mmol) i odgovarajući izocijanat (2,25 mmol) refluksirani su u toluenu (20 mL) 24 sata. Hlađenjem te filtracijom reakcijske smjese izoliran je talog koji je prekrizaliziran iz acetona.

3.5.1.1. Sinteza 9-(N-fenilkarbamoiloksi)cinhonidina (**59**)

Spoj **59** pripremljen je prema postupku 3.5.1. Dobiveno je 0,4 g spoja **59** (58 %); t_f 221,6 °C; $[\alpha]_D^{25} = +32^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 3,45 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3181 (N–H) 3026 (C–H) 1718 (C=O) 1603 (C=N) 1057 (C–N); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 1,56–1,60 (2H, m, H7, H5) 1,74–1,80 (1H, m, H5) 1,87–1,91 (1H, m, H4) 1,96–2,01 (1H, m, H7) 2,26–2,34 (1H, m, H3) 2,58–2,69 (2H, m, H6, H2) 3,05 (1H, dd, $J=13,7$; 10,1 Hz, H2) 3,13–3,20 (1H, m, H6) 3,43 (1H, q, $J=8,2$ Hz, H8) 5,02–5,07 (2H, m, H11) 5,83–5,92 (1H, m, H10) 6,58 (1H, d, $J=7,9$ Hz, H9) 7,08 (1H, t, $J=7,1$ Hz, H4'') 7,31 (1H, t, $J=7,6$ Hz, H3'') 7,37 (1H, d, $J=7,9$ Hz, H2'') 7,47 (1H, d, $J=4,4$ Hz, H3') 7,62 (1H, t, $J=7,5$ Hz, H7') 7,74 (1H, t, $J=7,3$ Hz, H6') 8,15 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H5') 8,31 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H8') 8,92 (1H, d, $J=4,5$ Hz, H2'); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 22,80 (C5) 26,73 (C7) 27,59 (C4) 39,34 (C3) 42,30 (C6) 56,02 (C2) 59,48 (C8) 73,99 (C9) 113,65 (C11) 118,41 (C3') 118,59 (C4'') 122,99 (C3'') 123,28 (C7') 125,72 (C9') 127,11 (C8') 128,46 (C2'') 128,78 (C5') 129,64 (C6') 138,41 (C1'') 141,19 (C10) 146,77 (C4') 147,66 (C10') 149,50 (C2') 153,12 (C=O); HRMS/⁺ESI: izračunato za HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₈N₃O₂⁺ 414,2176 nađeno 414,2179.

3.5.1.2. Sinteza 9-(N-cikloheksilkarbamoiloksi)cinhonidina (**60**)

Spoj **60** pripremljen je prema postupku 3.5.1. Dobiveno je 1,0 g spoja **60** (70 %); t_f 170,1 °C; $[\alpha]_D^{25} = +12^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_r 3,79 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3178 (N–H) 3071 (C–H) 1710 (C=O) 1596 (C=C) 1274 (CO–N) 1165 (C–O) 1076 (C–N) 760 (=C–H); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 1,15–1,35 (5H, m, H4, H7, H5) 1,59–1,93 (11H, m, H_{Cyhex}) 2,31–2,39 (1H, m, H3) 2,62 (1H, qd, $J=13,7$; 2,4 Hz, H2) 2,66–2,76 (1H, m, H6) 3,06 (1H, dd, $J=13,7$; 10,2 Hz, H2) 3,25–3,31 (2H, m, H8, H6) 4,98 (2H, dd, $J=17,8$; 10,4 Hz, H11) 5,77–5,86 (1H, m, H10) 6,55

(1H, d, $J=5,3$ Hz, H9) 7,60 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H3') 7,69–7,73 (1H, m, H7') 7,80–7,84 (1H, m, H6') 8,10 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H5') 8,34 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H8') 8,85 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 22,51 (C5) 24,78 (C3'') 25,17 (C4'') 26,72 (C7) 27,61 (C4) 32,71 (d, $J=16,5$ Hz, C2'') 39,35 (C3) 42,29 (C6) 50,15 (C1'') 56,05 (C2) 59,45 (C8) 73,63 (C9) 113,64 (C11) 118,31 (C3') 123,31 (C7') 125,72 (C9') 127,04 (C8') 128,75 (C5') 129,58 (C6') 141,20 (C10) 147,12 (C4') 147,64 (C10') 149,45 (C2') 155,38 (C=O); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2^+$ 420,2646 nađeno 420,2645.

3.5.1.3. Sinteza 9-(N-etilkarbamoiloksi)cinhonidina (**61**)

Spoj **61** dobiven je prema postupku 3.5.1. Dobiveno je 0,28 g spoja **61** (21 %); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +64^\circ$ (c 0,1; MeOH); t_{r} 2,29 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3062 (C–H) 1719 (C=O) 1593 (C=C) 1207 (C–O) 1053 (C–N); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 1,08–1,16 (5 H, m, CH_3) 1,49–1,63 (2 H, m, H5) 1,68–1,78 (1 H, m, H4) 1,81–1,96 (2 H, m, H7) 2,27 (1 H, br. s., H3) 2,52–2,69 (2 H, m, H6) 3,02 (1 H, dd, $J=13,69, 10,27$ Hz, H2a) 3,10–3,17 (1 H, m, H2b) 3,18–3,21 (2 H, m, CH_2) 3,21–3,24 (1 H, m, H8) 4,96–5,06 (2 H, m, H11) 5,84 (1 H, ddd, $J=16,99; 10,39; 7,58$ Hz, H10) 6,46 (1 H, d, $J=7,58$ Hz, H9) 7,40 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H3') 7,58 (1 H, ddd, $J=8,38, 6,91, 1,34$ Hz, H7') 7,70 (1 H, ddd, $J=8,38; 6,91; 1,35$ Hz, H6') 8,10–8,14 (1 H, m, H8') 8,21–8,29 (1 H, m, H5') 8,88 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2'); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 15,51 (CH_3) 24,59 (C7) 27,61 (C4) 27,80 (C5) 35,36 (CH_2) 39,79 (C3) 42,35 (C6) 59,59 (C2) 59,85 (C8) 74,10 (C9) 114,42 (C11) 118,78 (C5') 123,56 (C3') 126,24 (C9') 126,74 (C6') 129,10 (C7') 130,39 (C8') 141,85 (C10) 146,00 (C10') 148,66 (C4') 150,00 (C2') 155,41 (C=O); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2^+$ 366,2176 nađeno 366,2178.

3.5.1.4. Sinteza 9-(N-fenilkarbamoiloksi)cinhonina (**62**)

Spoj **62** pripremljen je prema postupku 3.5.1. Dobiveno je 0,5 g spoja **62** (43 %); t_{r} 211 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -64^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_{r} 3,65 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3062 (C–H) 1719 (C=O) 1593 (C=C) 1207 (C–O) 1053 (C–N); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm 1,53–1,59 (m, 2 H, H5) 1,63 (tdd, $J=8,99, 8,99, 4,65, 1,59$ Hz, 1 H, H4) 1,80–1,86 (m, 1 H, H7a) 1,90 (dd, $J=13,45, 8,80$ Hz, 1 H, H7b) 2,27 (q, $J=8,31$ Hz, 1 H, H3) 2,66–2,81 (m, 2 H, H2) 2,87–2,95 (m, 2 H, H6) 3,34 (q, $J=8,56$ Hz, 1 H, H8) 5,07–5,16 (m, 2 H, H11) 6,03 (ddd, $J=17,12, 10,15, 7,21$ Hz, 1 H, H10) 6,58 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H, H9) 7,06 (t, $J=7,21$ Hz, 1 H, H4'') 7,24–7,30 (m, 2H, ArH'') 7,33–7,38 (m, 2 H, ArH'') 7,44 (d, $J=4,40$ Hz, 1 H, H3') 7,59 (ddd, $J=8,38, 6,91, 1,34$ Hz, 1 H, H7') 7,71 (ddd, $J=8,44, 6,97, 1,22$ Hz, 1 H, H6') 8,13 (dd, $J=8,44, 0,86$ Hz, 1 H, H5') 8,25 (d, $J=8,07$

Hz, 1 H, H8') 8,89 (d, $J=4,40$ Hz, 1 H, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 24,24 (C7) 26,50 (C5) 27,76 (C4) 39,75 (C3) 49,03 (C6) 49,74 (C2) 59,80 (C8) 74,27 (C9) 114,81 (C11) 118,76 (C5') 123,47 (C3') 126,28 (C9') 126,84 (C6') 129,10 (ArC'') 129,17 (C4'') 130,41 (C8') 137,44 (C1'') 140,53 (C10) 145,73 (C10') 148,58 (C4') 149,95 (C2') 152,40 (C=O); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2^+$ 414,2176 nađeno 414,2178.

3.5.1.5. Sinteza 9-(N-cikloheksilkarbamoiloksi)cinhonina (**63**)

Spoj **63** pripremljen je prema postupku 3.5.1. Dobiveno je 0,58 g spoja **63** (28 %); t_r 184 °C; $[\alpha]_D^{25} = +78^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_r 4,13 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3062 (C–H) 1719 (C=O) 1593 (C=C) 1207 (C–O) 1053 (C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 1,04–1,35 (m, 5 H, H5, H7, H4) 1,52–1,77 (m, 6 H, Chex H'') 1,77–2,05 (m, 4 H, Chex H'') 2,26 (d, $J=8,80$ Hz, 1 H, H3) 2,62–2,82 (m, 2 H, H2) 2,84–2,96 (m, 2 H, H6) 3,26 (d, $J=8,07$ Hz, 1 H, H8) 3,44 (d, $J=3,91$ Hz, 1 H, H1'') 5,02–5,16 (m, 2 H, H11) 6,04 (ddd, $J=17,24, 10,39, 7,34$ Hz, 1 H, H10) 6,50 (d, $J=7,58$ Hz, 1 H, H9) 7,40 (d, $J=4,40$ Hz, 1 H, H3') 7,58 (ddd, $J=8,44, 6,97, 1,22$ Hz, 1 H, H7') 7,70 (ddd, $J=8,38, 6,91, 1,34$ Hz, 1 H, H6') 8,12 (dd, $J=8,44, 0,86$ Hz, 1 H, H5') 8,24 (d, $J=8,31$ Hz, 1 H, H8') 8,88 (d, $J=4,65$ Hz, 1 H, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 23,90 (C4'') 24,77 (C7) 25,42 (C3'', C5'') 26,52 (C5) 27,87 (C4) 33,26 (C2'') 33,38 (C6'') 39,88 (C3) 49,01 (C6) 49,74 (C2) 50,12 (C1'') 59,81 (C8) 73,45 (C9) 114,71 (C11) 118,58 (C5') 123,60 (C3') 126,35 (C9') 126,70 (C6') 129,06 (C7') 130,30 (C8') 140,62 (C10) 146,34 (C10') 148,54 (C4') 149,94 (C2') 154,70 (C=O); HRMS/ $^+$ ESI: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2^+$ 420,2646 nađeno 420,2646.

3.5.2. Opći postupak

Cinhonidin (1,7 mmol) i trietilamin (1,89 mmol) refluksirani su u toluenu (25 mL) pola sata nakon čega je dodan odgovarajući karbamoil klorid (1,89 mmol). Nakon 24 sata reakcijska smjesa je ohlađena te profiltrirana. Filtrat je uparen do suha, otopljen u kloroformu (10 mL) te prebačen u lijevak za odijeljivanje. Organski sloj je ispran dva puta s vodom (2 mL) te osušen na natrijevom sulfatu. Uparavanjem otapala te kromatografijom na stupcu silikagela izoliran je produkt.

3.5.2.1. Sinteza 9-(N, N'-dimetilkarbamoiloksi)cinhonidina (**64**)

Spoj **64** pripremljen je prema postupku 3.5.2. Dobiveno je 0,41 g uljastog spoja **64** (65 %); $[\alpha]_D^{25} = +10^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_r 2,27 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3077 (C–H) 1707 (C=O) 1637 (C=N) 1509

(C=C) 1181 (C–O) 1053 (C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 1,63–1,72 (1H, m, H4) 1,76–1,90 (4H, m, H5, H7) 2,35–2,42 (1H, m, H3) 2,66 (1H, qd, $J=13,6$; 2,4 Hz, H2) 2,70–2,77 (1H, m, H6) 2,89 (3H, s, H2'') 3,09 (1H, dd, $J=13,7$; 10,2 Hz, H2) 3,15 (3H, s, H1'') 3,26–3,31 (1H, m, H6) 3,40–3,46 (1H, m, H8) 5,01 (2H, tdd, $J=15,9$; 10,4; 1,4 Hz, H11) 5,81–5,90 (1H, m, H10) 6,57 (1H, d, $J=5,6$ Hz, H9) 7,61 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H3') 7,70–7,74 (1H, m, H7') 7,80–7,85 (1H, m, H6') 8,11 (1H, dd, $J=8,5$; 0,9 Hz, H5') 8,36 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H8') 8,86 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 22,99 (C5) 26,82 (C7) 27,54 (C4) 35,02, (CH3) 35,45 (CH3) 39,21 (C3) 42,27 (C6) 55,99 (C2) 59,53 (C8) 74,80 (C9) 113,84 (C11) 118,48 (C3') 123,26 (C7') 125,71 (C9') 127,09 (C8') 128,81 (C5') 129,62 (C6') 141,02 (C10) 146,62 (C4') 147,68 (C10') 149,55 (C2') 156 (C=O); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2^+$ 366,2176 nađeno 366,2176.

3.5.2.2. Sinteza 9-(N, N'-dietilkarbamoiloksi)cinhonidina (**65**)

Spoj **65** pripremljen je prema postupku 3.5.2. Dobiveno je 0,19 g spoja **65** (68 %); $[\alpha]_D^{25} = +9^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_r 2,60 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3077 (C–H) 1702 (C=O) 1593 (C=C) 1272 (CO–N) 1167 (C–O) 1069 (C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 1,07 (3H, t, $J=6,7$ Hz, H4') 1,25 (3H, t, $J=6,9$ Hz, H2'') 1,63–1,76 (2H, m, H7, H5) 1,80–1,99 (3H, m, H4, H7, H5) 2,34–2,41 (1H, m, H3) 2,63 (1H, qd, $J=13,7$; 2,4 Hz, H2) 2,66–2,74 (1H, m, H6) 3,05 (1H, dd, $J=13,7$; 10,2 Hz, H2) 3,24–3,30 (3H, m, H3'', H6) 3,44–3,50 (3H, m, H1'', H8) 4,98–5,06 (2H, m, H11) 5,84–5,93 (1H, m, H10) 6,56 (1H, d, $J=6,7$ Hz, H9) 7,60 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H3') 7,70–7,74 (1H, m, H7') 7,81–7,84 (1H, m, H6') 8,11 (1H, dd, $J=8,4$; 0,9 Hz, H5') 8,40 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H8') 8,86 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 12,17 (C4'') 13,33 (C2'') 23,78 (C5) 26,91 (C7) 27,51 (C4) 39,27 (C3) 41,20 (C3'') 41,78 (C1'') 42,06 (C6) 55,91 (C2) 59,68 (C8) 74,67 (C9) 113,81 (C11) 118,77 (C3') 123,42 (C7') 125,93 (C9') 127,01 (C8') 128,81 (C5') 129,60 (C6') 141,815 (C10) 146,86 (C4') 147,77 (C10') 149,52 (C2') 154,90 (C=O); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2^+$ 394,2489 nađeno 394,2491.

3.5.2.3. Sinteza 9-(N, N'-difenilkarbamoiloksi)cinhonidina (**66**)

Spoj **66** pripremljen je prema postupku 3.5.2. Dobiveno je 0,18 g spoja **66** (23 %); $[\alpha]_D^{25} = +64^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_r 5,91 min; FTIR $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3064 (C–H) 1719 (C=O) 1593 (C=C) 1207 (C–O) 1053 (C–N); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 1,16–1,22 (1H, m, H5) 1,45–1,57 (3H, m, H7, H5) 1,69–1,70 (1H, m, H4) 2,32–2,39 (1H, m, H3) 2,73–2,80 (2H, m, H6, H2) 3,13 (1H, dd, $J=13,5$; 10,4 Hz, H2) 3,20–3,30 (2H, m, H8, H6) 4,94 (2H, dd, $J=17,6$; 10,6 Hz, H11) 5,63–

5,72 (1H, m, H10) 6,88 (1H, d, $J=4,1$ Hz, H9) 7,33–7,47 (10H, m, ArH^{''}) 7,54 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H3[^]) 7,69 (1H, t, $J=7,4$ Hz, H7[^]) 7,83 (1H, t, $J=7,7$ Hz, H6[^]) 8,11 (1H, d, $J=8,1$ Hz, H5[^]) 8,19 (1H, d, $J=8,5$ Hz, H8[^]) 8,92 (1H, d, $J=4,6$ Hz, H2[^]); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ /ppm: 21,68 (C5) 25,75 (C7) 27,11 (C4) 38,57 (C3) 42,70 (C6) 55,70 (C2) 58,95 (C8) 75,42 (C9) 114,15 (C11) 118,14 (C3[^]) 123,04 (C7[^]) 125,14 (C9[^]) 127,34 (C8[^]) 128,93 (C5[^]) 129,07 (CH-Ph) 129,79 (C6[^]) 140,27 (C10) 141,95 (C-Ph) 145,35 (C4[^]) 147,72 (C10[^]) 149,57 (C2[^]) 153,36 (C=O); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₃₂H₃₂N₃O₂⁺ 490,2489 nađeno 490,2490.

3.5.2.4. Sinteza 9-(N, N'-dimetilkarbamoiloksi)cinhonina (**67**)

Spoj **67** pripremljen je prema postupku 3.5.2. Dobiveno je 0,84 g spoja **67** (79 %); $[\alpha]_D^{25} = -80^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_r 2,25 min; FTIR $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 3060 (C–H) 1714 (C=O) 1599 (C=C) 1201 (C–O) 1059 (C–N); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ /ppm: 1,51–1,58 (2 H, m, H5) 1,61 (1 H, m, H4) 1,79–1,92 (2 H, m, H7) 2,26 (1 H, q, $J=8,23$ Hz, H3) 2,62–2,78 (2 H, m, H2) 2,86–2,88 (3 H, s, CH₃) 2,89–2,96 (2 H, m, H6) 3,02 (3 H, s, CH₃) 3,31 (1 H, q, $J=8,72$ Hz, H8) 5,04–5,13 (2 H, m, H11) 5,97–6,09 (1 H, m, H10) 6,45 (1 H, d, $J=8,07$ Hz, H9) 7,38 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H3[^]) 7,58 (1 H, ddd, $J=8,38$; 6,91; 1,35 Hz, H7[^]) 7,69 (1 H, ddd, $J=8,38$; 6,91; 1,34 Hz, H6[^]) 8,11 (1 H, dd, $J=8,44$; 1,10 Hz, H5[^]) 8,23–8,28 (1 H, m, H8[^]) 8,88 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H2[^]); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*), δ /ppm: 24,35 (C7) 26,51 (C5) 27,84 (C4) 36,04 (CH₃) 36,66 (CH₃) 39,95 (C3) 49,11 (C6) 49,72 (C2) 60,11 (C8) 74,75 (C9) 114,81 (C11) 118,70 (C8[^]) 123,64 (C3[^]) 126,32 (C9[^]) 126,64 (C6[^]) 129,04 (C7[^]) 130,41 (C5[^]) 140,36 (C10) 146,56 (C10[^]) 148,63 (C4[^]) 150,00 (C2[^]) 155,56 (C=O); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₂H₂₈N₃O₂⁺ 366,2176 nađeno 366,2177.

3.5.2.5. Sinteza 9-(N, N'-dietilkarbamoiloksi)cinhonina (**68**)

Spoj **68** pripremljen je prema postupku 3.5.2. Dobiveno je 0,20 g spoja **68** (42 %); $[\alpha]_D^{25} = -59^\circ$ ($c = 0,1$; MeOH); t_r 2,65 min; FTIR $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹: 3060 (C–H) 1714 (C=O) 1599 (C=C) 1201 (C–O) 1059 (C–N); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ /ppm: 1,00–1,26 (6 H, m, CH₃) 1,48–1,72 (3 H, m, H5, H4) 1,78–1,91 (2 H, m, H7) 2,26 (1 H, q, $J=8,23$ Hz, H3) 2,60–2,76 (2 H, m, H6) 2,80–2,98 (2 H, m, H2) 3,25–3,38 (4 H, m, CH₂) 5,03–5,13 (2 H, m, H11) 5,95–6,11 (1 H, m, H10) 6,47 (1 H, d, $J=8,56$ Hz, H9) 7,39 (1 H, d, $J=4,40$ Hz, H3[^]) 7,57 (1 H, ddd, $J=8,38$; 6,91; 1,35 Hz, H7[^]) 7,69 (1 H, ddd, $J=8,38$; 6,91; 1,35 Hz, H6[^]) 8,11 (1 H, d, $J=8,44$ Hz, H5[^]) 8,27 (1 H, d, $J=8,56$ Hz, H8[^]) 8,88 (1 H, d, $J=4,65$ Hz, H2[^]); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ /ppm: 13,39 (CH₃) 14,43 (CH₃) 24,72 (C7) 26,48 (C5) 27,82 (C4) 40,02 (C3) 41,26 (CH₂) 42,02 (CH₂) 49,03

(C6) 49,62 (C2) 60,24 (C8) 74,16 (C9) 114,85 (C11) 118,84 (C8') 123,72 (C3') 126,48 (C9') 126,60 (C6') 129,03 (C7') 130,34 (C5') 140,27 (C10) 146,79 (C10') 148,61 (C4') 149,95 (C2') 154,91 (C=O); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₄H₃₂N₃O₂⁺ 394,2489 nađeno 394,2491.

3.6. Sinteza cinhonidin-9-ketona (69)

Cinhonidin (9,5 mmol), benzofenon (19 mmol) i kalijev *tert*-butoksid (23 mmol) refluksirani su u suhom toluenu u atmosferi argona. Nakon 24 sata, reakcijska smjesa je ohlađena, zakiseljena s 2 mol/L klorovodične kiseline te prebačena u lijevak za odijeljivanje. Vodeni sloj je odvojen, ohlađen na ledenoj kupelji te zalužen s 5 mol/L natrijevog hidroksida do pH ≈ 10. Vodena otopina je ekstrahirana tri puta s 40 mL etera, eterski ekstrakti su osušeni na bezvodnom natrijevom sulfatu i upareni do suha. Prekristalizacijom iz acetona dobiveni su svijetložuti kristalići spoja **69** (48 %), *t*_f 113–114 °C; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 1698 (C=O); **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 1,47–1,63 (1H, m, H7a) 1,63–1,76 (1H, m, H4) 1,82–1,98 (2H, m, H5a, H7b) 2,11–2,31 (1H, m, H5b) 2,31–2,46 (1H, m, H3) 2,57–2,72 (1H, m, H2b) 2,76–2,98 (2H, m, H6) 3,04–3,26 (1H, m H2a) 4,14–4,26 (1H, m, H8) 5,02–5,18 (2H, m, H11) 5,90–6,05 (1H, m, H10) 7,59–7,64 (1H, m, H3') 7,64–7,72 (1H, m, H7') 7,77 (1H, ddd, *J*=8,38; 7,06; 1,51 Hz, H6') 8,18 (1H, d, *J*=8,29 Hz, H8') 8,20–8,29 (1H, m, H5') 9,02 (1H, t, *J*=4,14 Hz, H2'); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 21,78 (C7) 26,91 (C5) 27,38 (C4) 39,51 (C3) 49,71 (C6) 55,55 (C2) 63,33 (C8) 114,73 (C11) 119,15 (C3') 124,51 (C9') 125,05 (C5') 127,97 (C7') 129,64 (C6') 130,11 (C8') 141,41 (C10) 143,58 (C4') 149,11 (C10') 149,76 (C2') 202,89 (C=O).

3.7. Sinteza 9-hidroksiiminocinhonidina (70)

Cinhonidin-9-keton (1,2 mmol) i hidroksilamin-hidroklorid (1,8 mmol) otopljeni su u etanolu (2,4 mL) uz dodatak 10% vodene otopine natrijevog hidroksida (1,5 mL). Reakcijska smjesa refluksirana je 24 sata a zatim uparena do suha. Žuto ulje otopljeno je u hladnoj vodi a pH je podešen na 6,5 s 5 mol/L NaOH. Ekstrakcijom s eterom, uparavanjem otapala te kromatografijom na stupcu aluminijskog oksida u sustavu otapala CHCl₃ : MeOH = 9 : 1 dobiveno je 0,19 g spoja **70** (50 %); *t*_f 98-99 °C; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 1634 (C=N–OH); (*S*)-epimer: **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 1,57 (1 H, d, *J*=5,46 Hz, H7a) 1,67–1,80 (1 H, m, H4) 1,82–1,97 (2 H, m, H7b, H5b) 2,05–2,16 (1 H, m, H5a) 2,32 (1 H, s, H3) 2,60–2,85 (2 H, m, H2) 3,04–3,34 (2 H, m, H6) 3,66–3,79 (1 H, m, H8) 4,97–5,12 (2 H, m, H11) 5,80–5,96 (1 H, m, H10) 7,21–7,28 (1 H, m, H3') 7,46–7,63 (1 H, m, H7') 7,65–7,80 (2 H, m, H5', H6') 8,13–8,23 (1 H, m, H8') 8,87–8,99 (1 H, m, H2'); **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ/ppm : 23,02 (C5)

27,67 (C7) 27,73 (C4) 39,67 (C3) 41,92 (C6) 55,64 (C2) 59,90 (C8) 114,50 (C11) 118,64 (C3') 119,91 (C7') 124,68 (C9') 126,94 (C5') 129,41 (C6') 130,09 (C8') 141,76 (C10) 141,92 (C4') 148,04 (C10') 149,91 (C2') 155,12 (C=N); (*R*)-epimer: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 1,43–1,54 (1 H, m, H5a) 1,59 (2 H, d, $J=7,81$ Hz, H7) 1,81 (1 H, H4) 2,22–2,35 (1 H, m, H3) 2,40 (1 H, dd, $J=13,07$; 9,17 Hz, H5b) 2,72–2,93 (3 H, m, H2, H6a) 2,93–3,11 (1 H, m, H6b) 3,61–3,73 (1 H, m, H8) 5,00–5,11 (2 H, m, H11) 5,94–6,06 (1 H, m, H10) 7,15–7,25 (1 H, m, H3') 7,47–7,57 (1 H, m, H7') 7,59–7,72 (2 H, m, H6', H5') 8,12–8,23 (1 H, m, H8') 8,80 (1 H, d, $J=4,29$ Hz, H2'); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3-d) δ/ppm : 23,15, 23,77 (C5) 26,44 (C7) 28,03 (C4) 40,14, 40,30 (C3) 48,07, 48,52 (C6) 48,76, 48,93 (C2) 59,68, 60,54 (C8) 114,60 (C11) 118,57 (C3') 120,22 (C7') 124,94, 125,63 (C9') 125,35 (C5') 126,57, 126,65 (C6') 129,39, 129,82 (C8') 140,44, 140,56 (C10) 142,75, 143,71 (C4') 147,71, 147,78 (C10') 149,61, 149,77 (C2') 153,46, 153,97 (C=N); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$ 308,1757 nađeno 308,1759.

3.8. Sinteza kvaternih derivata 9-hidroksiiminocinhonidina

3.8.1. Opći postupak

Cinhonidin-9-oksimum (3,1 mmol) i odgovarajući alkil-halogenid (3,2 mmol) refluksirani su u suhom acetonu 24 sata. Reakcijska smjesa je ohlađena i uparena do suha. Ostatku je dodano dietil-etera (5 mL). Talog je profiltriran i višekratno ispran s dietil-eterom.

3.8.1.1. Sinteza *N*-metil-9-hidroksiilimino-cinhonidinijevog jodida (**71**)

Spoj **71** pripremljen je prema postupku 3.8.1. Dobiveno je 0,15 g spoja **71** (80 %); t_f 140 °C; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 1634 (C=N–OH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ/ppm : 2,0–2,1 (5H, m, CH₃, H7) 2,11–2,25 (1H, m, H4) 2,29–2,42 (1H, m, H5a) 2,83–2,96 (2 H, m, H5b, H3) 3,46–3,73 (2H, m, H2) 3,73–3,89 (1H, m, H6b) 3,97–4,20 (1H, m, H6a) 4,54–4,80 (1H, m, H8) 5,11–5,35 (2H, m, H11) 5,81–6,10 (1H, m, H10) 7,53–7,62 (1H, m, H3') 7,63–7,77 (2H, m, H7', H6') 7,79–7,88 (1H, m, H5') 8,09–8,15 (1H, m, H8') 9,04 (1H, dd, $J=4,28$; 3,06 Hz, H2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ/ppm : 25,04 (C5) 26,90 (C4) 27,92 (C7) 31,22 (CH₃) 37,62 (C3) 53,23 (C6) 59,48 (C2) 68,06 (C8) 117,65 (C11) 120,67 (C3') 124,50 (C9') 125,26 (C7') 127,58 (C6') 128,15 (C5') 130,26 (C8') 138,13 (C10) 140,47 (C4') 148,31 (C10') 150,42 (C=N) 150,73 (C2); HRMS/ ^+ESI : izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}^+$ 322,1914 nađeno 322,1915.

3.8.1.2. Sinteza *N*-benzil-9-hidroksiilimino-cinhonidinijevog jodida (**72**)

Spoj **72** pripremljen je prema postupku 3.8.1. Dobiveno je 0,12 g spoja **72** (70 %); t_f 170 °C; **FTIR** $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 1634 (C=N–OH); **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 1,82–1,94 (2H, m, H7) 1,94–2,23 (2H, m, H4, H5a) 2,34–2,39 (1H, m, H5b) 2,72–2,83 (1H, m, H3) 3,43–3,65 (2H, m, H2) 3,81–3,98 (1H, m, H6b) 4,09–4,27 (1H, m, H6a) 4,66–4,80 (1H, m, H8) 4,81–5,09 (2H, m, CH₂) 5,19–5,38 (2H, m, H11) 5,83–6,08 (1H, m, H10) 7,45–7,49 (1H, m, H3') 7,53–7,65 (5H, m, Ar'') 7,72–7,80 (2H, m, H5', H7') 7,84–7,98 (1H, m, H6') 8,06–8,17 (1H, m, H8') 8,99–9,11 (1H, m, H2'); **¹³C-NMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ/ppm : 24,46 (C5) 26,98 (C4) 28,46 (C7) 37,30 (C3) 55,83 (C6) 59,90 (C2) 65,39 (CH₂) 66,93 (C8) 117,64 (C11) 121,37 (C3') 124,73 (C9') 125,73 (C7') 127,57 (C4'') 128,05 (C6') 128,11 (C1'') 129,56 (C3'', C5'') 130,27 (C5'') 130,73 (C8') 134,04 (C2'', C6'') 137,43 (C10) 140,22 (C4') 148,25 (C10') 150,73 (C2') 150,41 (C=N); HRMS/⁺ESI: izračunato za C₂₆H₂₈N₃O⁺ 398,2227 nađeno 398,2227.

3.9. Određivanje antimikrobnog potencijala spojeva

3.9.1. Reagensi, mediji i bakterijske kulture

Testirani mikroorganizmi su iz kolekcije Mikrobiološkog laboratorija, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu ili iz ATCC kolekcije. Korištene su bakterijske kulture Gram-pozitivnih bakterija *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Clostridium perfringens* (FNSST 4999) i *Staphylococcus aureus* (ATCC 25323) te bakterijske kulture Gram-negativnih bakterija *Escherichia coli* (FNSST 982), *Pseudomonas aeruginosa* (FNSST 982) i *Klebsiella pneumoniae* (FNSST 011).

Sterilni Muller-Hilton agar raspodijeljen je po petrijevim posudama i ostavljen 2 sata na sobnoj temperaturi. Otopine spojeva pripremljene su u dimetil-sulfoksidu, početne koncentracije 10 mg/mL. Bakterijske kulture kultivirane su preko noći na 37 °C u bujonu do optičke gustoće 0,5 McFarlanda ($1,5 \cdot 10^6$ cfu/mL). Sterilnom ezom uzorkovana je jedna kolonija koja je resuspendirana u sterilnom fosfatnom puferu (engl. *phosphate buffer saline*, PBS) te je 50 μL suspenzije nanoseno pomoću sterilne eze preko cijele ploče s agarom.

3.9.2. Metoda difuzije na disku

Nakon što se bakterijska kultura upila u podlogu (15 minuta) na ploče su stavljeni prazni papirnati diskovi (promjera 6 mm) koji su blago utisnuti u podlogu. 50 μL otopine spoja stavljeno je na prazni disk. Gentamicin (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) je korišten kao pozitivna kontrola a DMSO

kao negativna. Ploče su inkubirane 24 sata na 37 °C. Zona inhibicije izmjerena je ravnalom u milimetrima.

3.10. Određivanje antiproliferativne aktivnosti

3.10.1. Reagensi, mediji i stanične linije

Od staničnih linija korištena su adherentna stanična linija embrionalnih stanica bubrega čovjeka HEK 293T (ATCC CCL-1573; *American type culture collection*, Manassas, SAD) i adherentna stanična linija karcinoma vrata grlića maternice HeLa (ATCC CCL-2). Stanične linije uzgajane su pri 5 % CO₂ i 37 °C u *Dulbecco's modified eagle's medium* (DMEM, Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD) uz dodatak 5 % (v/v) fetalnog seruma goveda (engl. *fetal bovine serum*, FBS; Gibco, Paisley, UK) i 2 mmol/L glutamina. Za odvajanje stanica od podloge koristila se 0,25 % otopina tripsina i EDTA (etilendiamintetraoctena kiselina, Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD). Za potrebe pokusa, stanične linije su nasađene u mikrotitarske pločice s 96 jažica u koncentraciji od 6·10⁴ stanica po jažici 24 sata prije izvođenja pokusa.

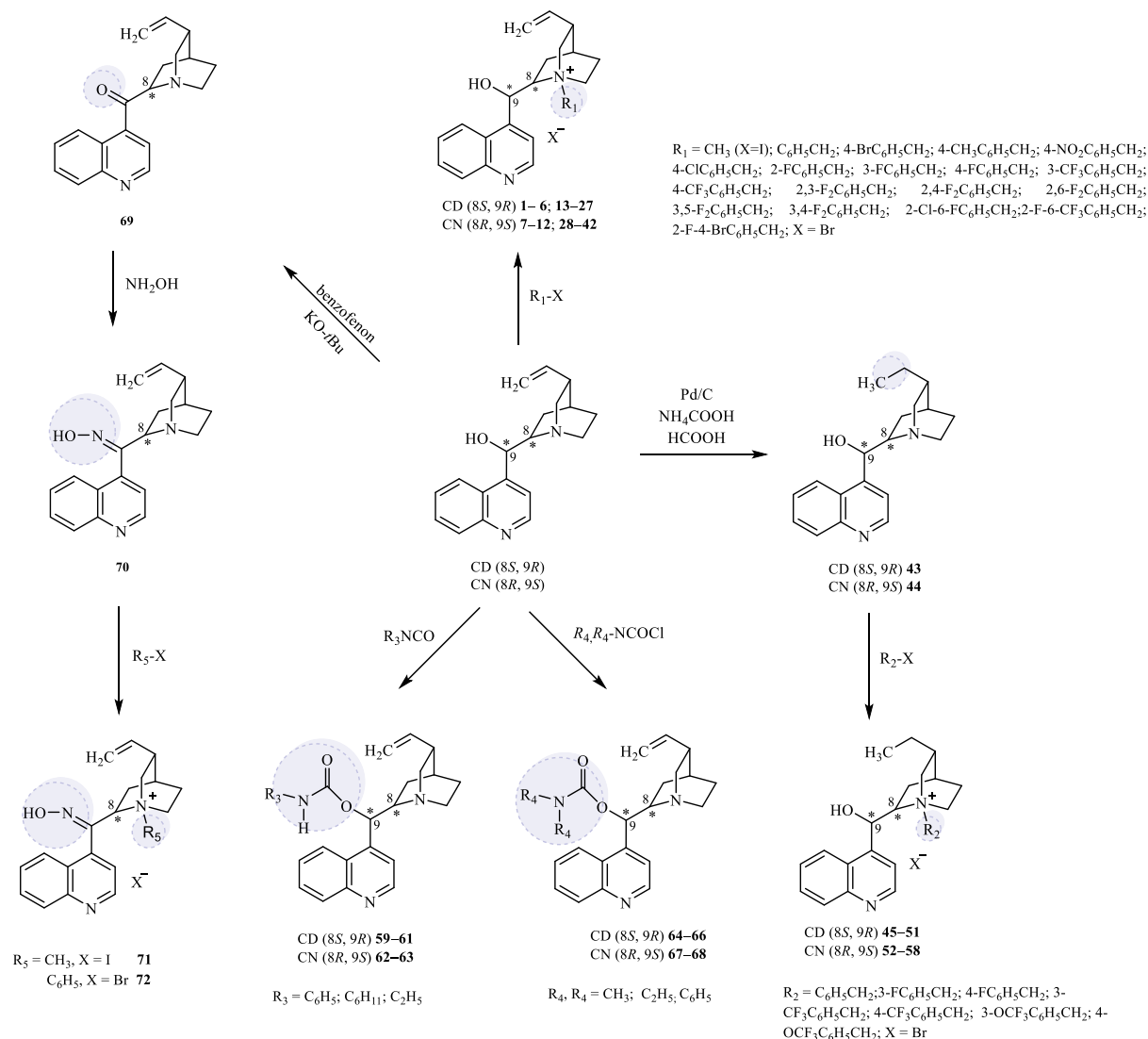
3.10.2. Određivanje antiproliferativne aktivnosti spojeva

Na dan pokusa stanični medij je zamijenjen otopinama spojeva u staničnom mediju u nizu serijskih koncentracija (sustavna razrijeđenja spojeva 1:2 počevši od 1 mg/mL) ukupnog volumena 100 µL. Stanice su inkubirane s otopinama spojeva 24 sata pri 5 % CO₂ i temperaturi 37 °C. Nakon inkubacije stanice su isprane s fosfatnim puferom te je dodan MTT reagens ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijev bromid) ukupnog volumena 50 µL. Nakon inkubacije od 2 sata, u svaku jažicu dodano je 100 µL 0,04 mol/L klorovodične kiseline u 2-propanolu. Apsorbancija je očitana pri 490 nm.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Dizajn novih derivata *Cinchona* alkaloida

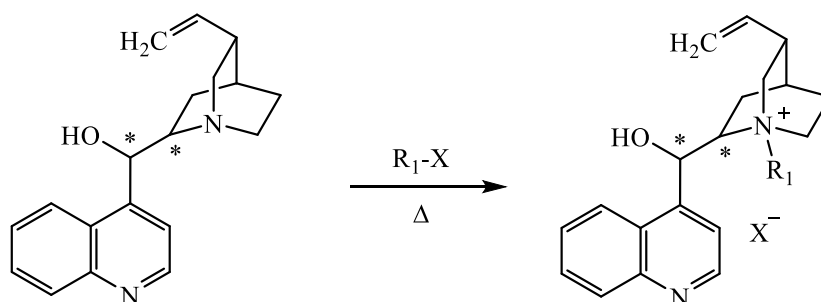
Osnovni kostur cinchonidina (CD) i njegovog kvazienantiomera cinchonina (CN) modificiran je u više sintetskih puteva, shema 23. Kvaternizacijom kinuklidinskog atoma dušika cinchonidina i cinchonina pripremljeni su kvaterni jodidi i bromidi **1–42**. Kao kvaterni reagensi korišteni su metil-jodid te benzil-bromidi bez i sa supstituentima različitih elektronskih i steričkih karakteristika. Katalitičkim prijenosnim hidrogeniranjem cinchonidina i cinchonina pripremljeni su njihovi 10,11-dihidro derivati **43** i **44** koji su kvaternizirani s benzil-bromidima s fluorom, trifluorometil- i trifluorometoksi skupinama u *meta* i *para* položaju. Karbamoilacijom hidroksilne skupine cinchonidina i cinchonina pripremljeni su različito mono- i disupstituirani karbamati **59–68**. Oksidacijom cinchonidina priređen je cinchonidin-9-keon koji je reakcijom s hidroksilaminom preveden u oksim **70**. Spoj **70** je reakcijom s metil-jodidom i benzil-bromidom preveden u odgovarajuće kvaternerne soli (**71–72**). Pripremljenim spojevima struktura je potvrđena 1D i 2D spektroskopijom NMR te spektrometrijom masa visoke razlučivosti. Pripremljenim derivatima određena je antimikrobna aktivnost prema reprezentativnom panelu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija te inhibitorni potencijal prema enzimima acetil-(AChE) i butirilkolinesterazi (BChE).



Shema 23. Struktura pripremljenih spojeva.

4.2. Sinteza kvaternih derivata cinchonidina i cinchonina

N-kvaterni derivati cinchonidina i cinchonina pripremljeni su reakcijom alkaloida i odgovarajućeg alkil/aril halogenida u refluksirajućem suhom toluenu ili 2-propanolu s vrlo dobrim iskorištenjem, shema 24.

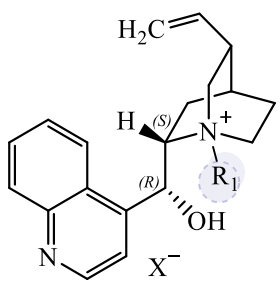
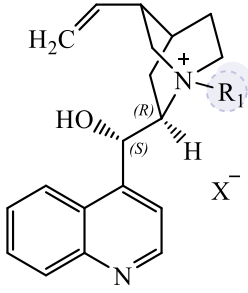


Shema 24. Priprava *N*-kvaternih derivata cinhonidina i cinhonina.

Strukture svih pripremljenih derivata prikazane su u tablici 3. s pripadajućim iskorištenjima. Pripremljeni derivati **10**, **25**, **26**, **27**, **35**, **36**, **37**, **38**, **39**, **40**, **41** i **42** do sada nisu opisani u literaturi.

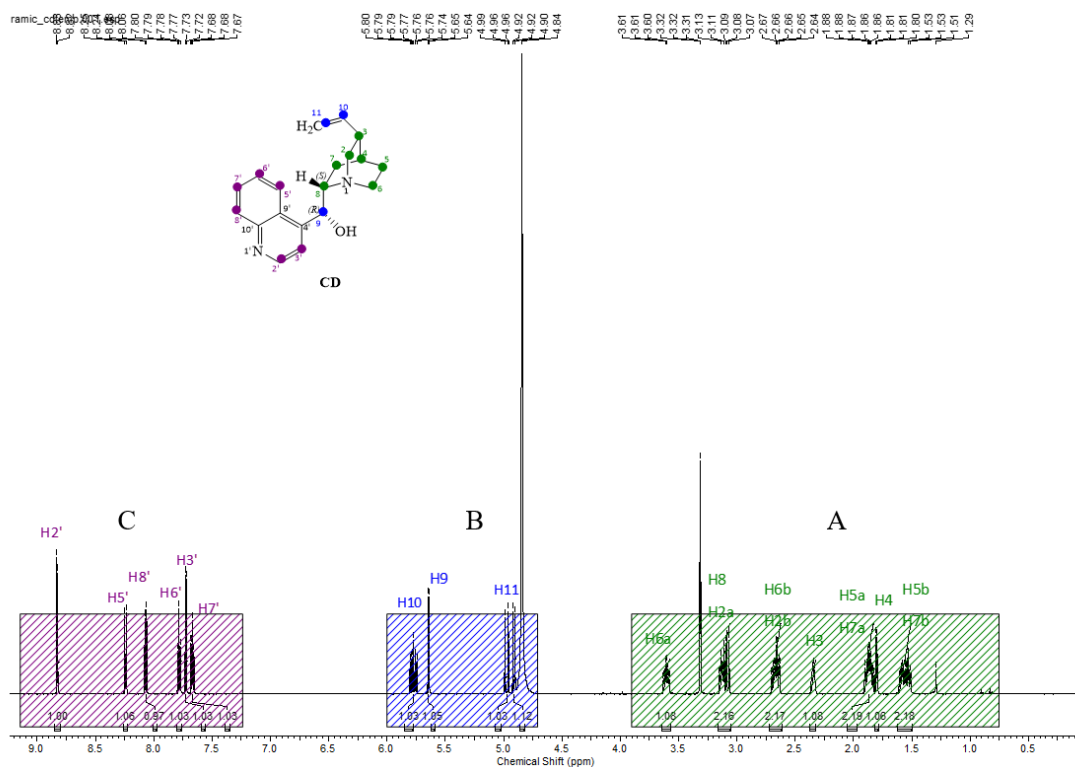
Reakcija tercijarnog amina i alkil/aril halogenida pri čemu nastaje kvaterna amonijeva sol naziva se Menshutkinova reakcija i ovisna je o polarnosti otapala u kojem se reakcija odvija.^{95, 96} S obzirom na bazičnost kinuklidinskog atoma dušika reakcije su brze i s visokim iskorištenjima. Reakcije su izvođene u suhom otapalu da bi se spriječila hidroliza aril-halogenida. Benzil-bromidi koji su korišteni kao reagensi za kvaternizaciju supstituirani su u *para* položaju s atomima Cl i Br te skupinama CH₃ i NO₂. Korišteni su i benzil-bromidi koji sadrže atom fluora, trifluormetilnu- (CF₃) ili trifluormetoksilnu (OCF₃) skupinu u *ortho*, *meta* ili *para* položaju. S obzirom na njihova elektronska i sterička svojstva, uvođenje tih supstituenata mijenja kemijska i biološka svojstva molekule.⁹⁷ Uvođenjem atoma fluora u molekulu mijenja se njezina metabolička stabilnost, lipofilnost, konformacija molekule itd. što utječe na aktivnost u fiziološkim uvjetima te se atom fluora i skupine koje ga sadrže često uvode u molekule koje su potencijalni kandidati za lijekove.⁹⁸⁻¹⁰⁰

Tablica 3. Pripravljene *N*-kvaterni derivati cinchonidina i cinchonina **1–42** s iskorištenjima reakcija.

					
1–6, 13–27		7–12, 22–42			
R ₁	X	Spoj	η (%)	Spoj	η (%)
CH ₃	I	1	69	7	60
Bzl	Br	2	90	8	61
<i>p</i> -BrBzl	Br	3	80	9	72
<i>p</i> -CH ₃ Bzl	Br	4	72	10	80
<i>p</i> -NO ₂ Bzl	Br	5	68	11	65
<i>p</i> -ClBzl	Br	6	92	12	72
<i>o</i> -FBzl	Br	13	69	28	71
<i>m</i> -FBzl	Br	14	70	29	58
<i>p</i> -FBzl	Br	15	79	30	57
<i>m</i> -CF ₃ Bzl	Br	16	68	31	80
<i>p</i> -CF ₃ Bzl	Br	17	73	32	81
3,5-FBzl	Br	18	53	33	38
3,4-FBzl	Br	19	79	34	59
2,3-FBzl	Br	20	65	35	70
2,4-FBzl	Br	21	75	36	51
2,6-FBzl	Br	22	89	37	36
<i>m</i> -OCF ₃ Bzl	Br	23	78	38	86
<i>p</i> -OCF ₃ Bzl	Br	24	56	39	74
2-F-6-CF ₃ Bzl	Br	25	44	40	24
4-Br-2-FBzl	Br	26	67	41	40
2-Cl-6-FBzl	Br	27	34	42	65

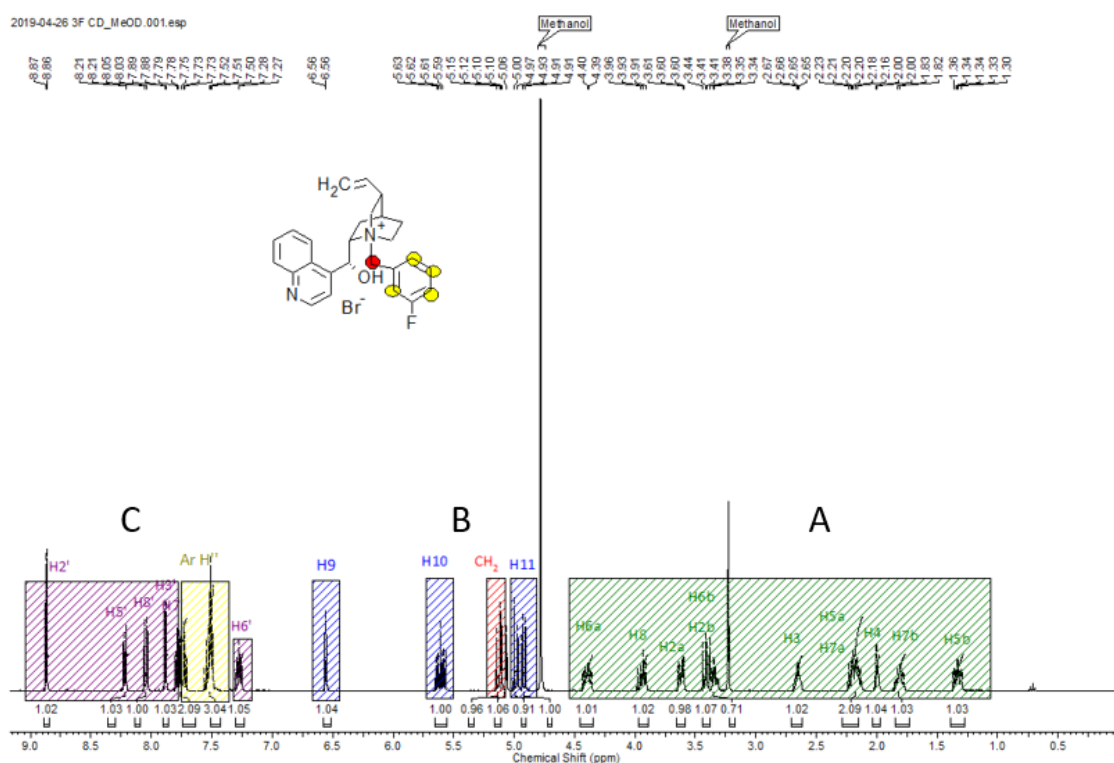
Pripravljenim kvaternim derivatima cinchonidina i cinchonina struktura je određena i potvrđena 1D i 2D spektroskopijom NMR. FTIR spektri kvaternih derivata **1–42** imaju vrlo slične vrpce istezanja kao i cinchonidin i cinchonin u području istezanja funkcijskih skupina (4000–1000 cm⁻¹). Spektrometrijom masa visokog razlučivanja u pozitivnom načinu rada potvrđena je molarna masa derivata **1–42**. Čistoća spojeva određena je gradijentnom HPLC metodom te kvaterni derivati **1–6** i **13–27** imaju čistoću >95 % dok kvaterni derivati **7–12** i **28–42** imaju čistoću >85 %.

^1H NMR spektar cinhonidina i cinhonina može se podijeliti u tri regije: od 1 do 4 ppm rezoniraju signali alifatskih kinuklidinskih protona, od 4,8–6,7 ppm rezoniraju signali protona H9 i vinilne skupine, a od 7,0–9,5 ppm rezoniraju signali aromatskih protona kinolinskog prstena, slika 16.



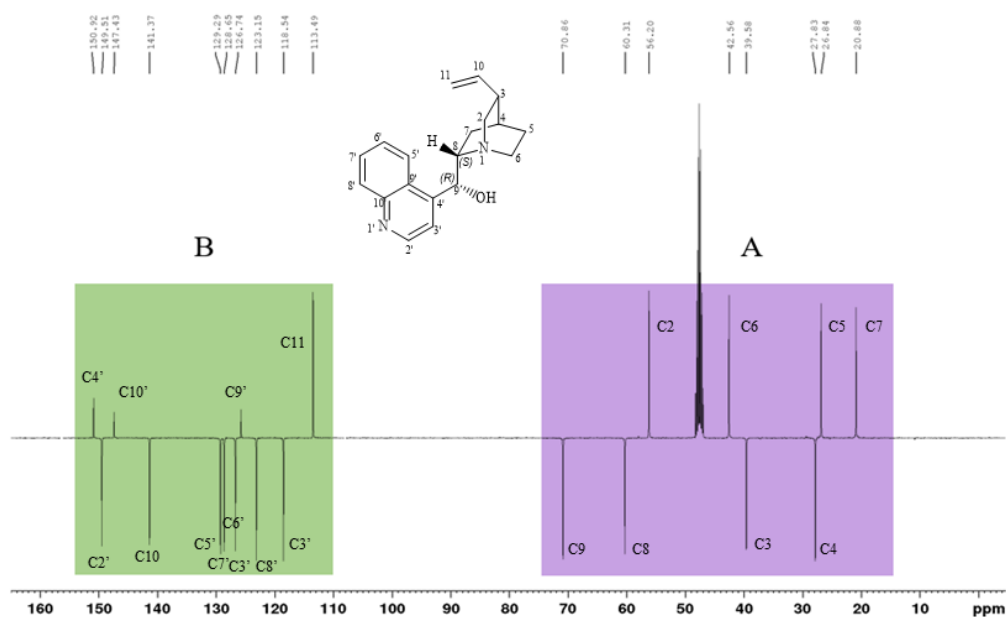
Slika 16. ^1H NMR spektar cinchonidina s označenim područjima: područje A – alifatski kinuklidinski protoni; područje B – protoni vinilne skupine i H9 proton; područje C – aromatski kinolinski protoni.

Kvaternizacijom kinuklidinskog atoma dušika benzilnom skupinom dolazi do pojave signala metilenskih protona u ^1H NMR spektru pri kemijskom pomaku $\delta \approx 4,9\text{--}5,2$ ppm te do pojave signala protona aromatskog prstena pri kemijskom pomaku $\delta \approx 7,10\text{--}8,00$ ppm, slika 17. Vrsta supstitucije na benzenskom prstenu (*ortho*-, *meta*-, *para*-) može se zaključiti iz konstanti sprega koje iznose $J_{\text{ortho}} \approx 7\text{--}10$ Hz i $J_{\text{meta}} \approx 2\text{--}3$ Hz.¹⁰¹



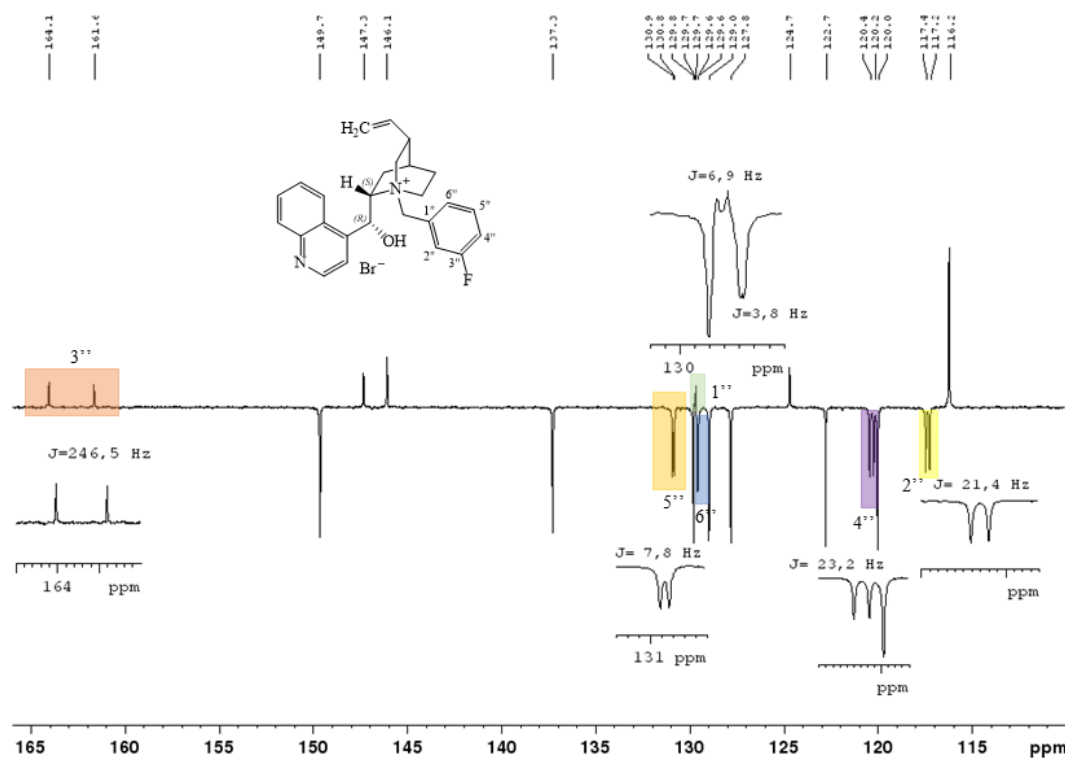
Slika 17. ^1H NMR spektar spoja **8** s označenim područjima: područje A – alifatski kinuklidinski protoni; područje B – protoni vinilne skupine, H9 proton i protoni CH_2 skupine; područje C – aromatski kinolinski protoni i protoni benzenskog prstena.

U ^{13}C NMR spektru cinchonidina uočavaju se dvije regije, jedna od 10 do 75 ppm u kojoj se pojavljuju signali kinuklidinskih atoma ugljika i druga od 105 do 170 ppm u kojoj se pojavljuju signali atoma ugljika vinilne skupine i aromatskih kinolinskih atoma ugljika, slika 18.



Slika 18. ^{13}C NMR spektar cinchonidina s označenim područjima: područje A – alifatski kinuklidinski ugljikovi atomi; područje B – aromatski kinolinski ugljikovi atomi te ugljikovi atomi vinilne skupine.

U spojevima s fluorom, s obzirom da je ^{19}F vrlo zastupljen izotop fluora vidi se sprezanje s ugljikom na sličan način kao što se dva protona sprežu u ^1H NMR spektru te se u ^{13}C NMR spektru uočavaju karakteristična cijepanja. Ovisno o položaju fluorovog atoma/skupine na benzenskom prstenu, moguće je odrediti različite sprege signala ugljikovih atoma u ^{13}C NMR spektru kao što je prikazano na slici 19. za spoj 14.

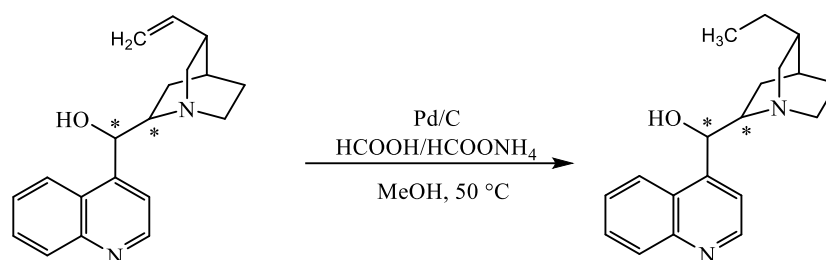


Slika 19. Dio ¹³C NMR spektra spoja 14 s označenim cijepanjima signala za ugljikove atome u susjedstvu atoma fluora.

Izračunate konstante sprega u skladu su s literaturnim vrijednostima: $^1J_{(C-F)} \sim 200\text{--}350$ Hz, $^2J_{(C-F)} \sim 20\text{--}40$ Hz, $^3J_{(C-F)} \sim 5\text{--}20$ Hz i $^4J_{(C-F)} \sim 1\text{--}5$ Hz.¹⁰²

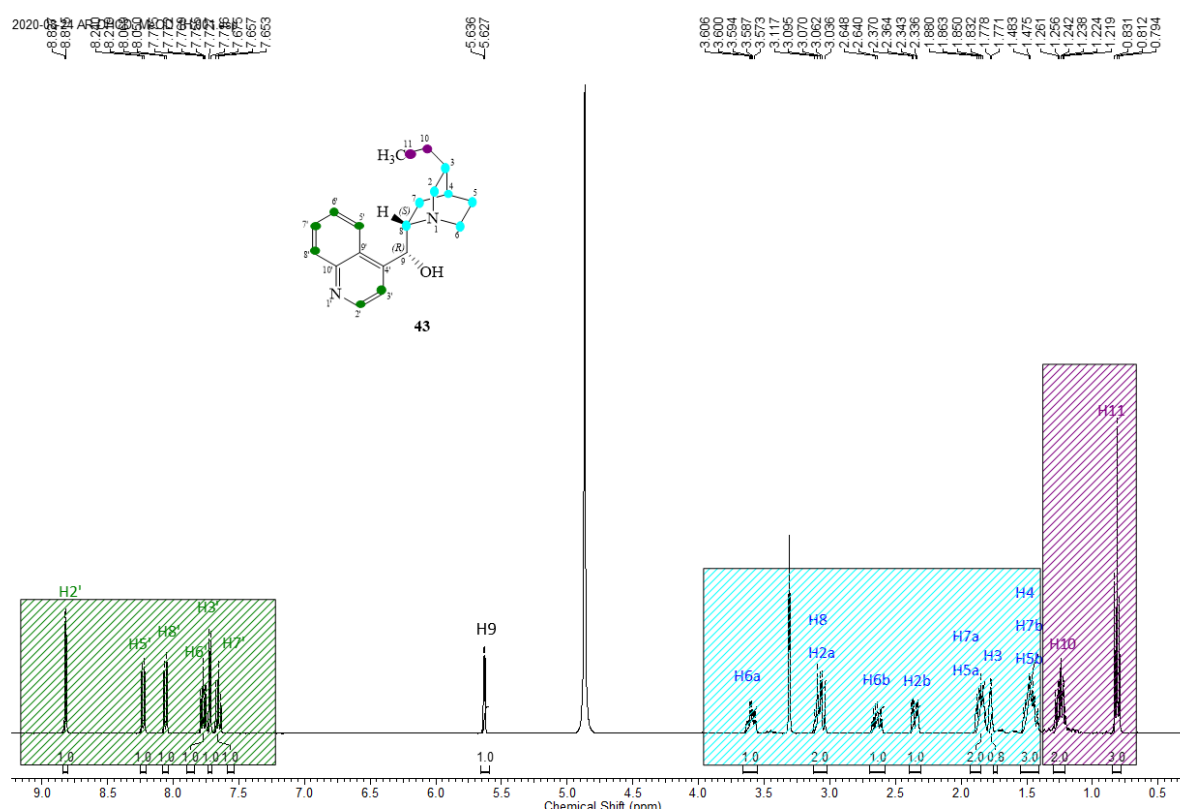
4.3. Sinteza 10,11-derivata cinchonidina i cinchonina i njihovih *N*-kvaternih derivata

Cinchonidin i cinchonin su katalitičkim hidrogeniranjem pomoću paladija na ugljiku kao katalizatora i koristeći sustav amonijev formijat/mravlja kiselina prevedeni u 10,11-dihidroderivate prema shemi 25.¹⁰³ Prednost ove metode je da se ne koristi molekularni vodik s kojim je potrebno oprezno rukovati te nije potrebno koristiti posebnu opremu za izvođenje reakcija.



Shema 25. Sinteza *N*-kvaternih derivata 10,11-dihidrocinchonidina i cinchonina.

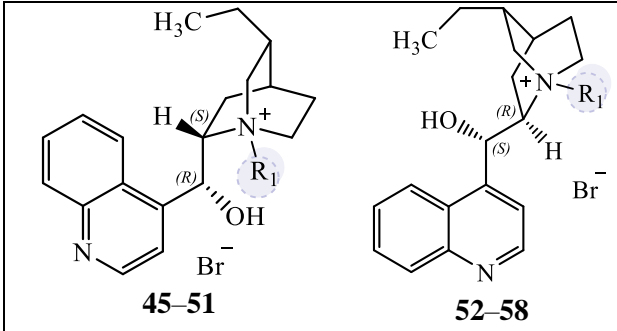
U FTIR spektrima spojeva **43** i **44** uočavaju se vrpce simetričnih istežanja aromatskih =C-H veza u području oko 3100 i alifatskih –C–H veza u području oko 2900 cm^{-1} . U području oko 1100 cm^{-1} uočava se vrpca istežanja –C–N veze kinuklidinskog prstena. Spektrometrijom masa visokog razlučivanja u pozitivnom načinu rada potvrđena je molarna masa spojeva **43** i **44**, dok HPLC čistoća spojeva iznosi >95 %. Struktura produkata **43** i **44** potvrđena je 1D i 2D spektroskopijom NMR. Redukcijom vinilne skupine u ^1H NMR spektru umjesto signala protona vinilne skupine uočavaju se signali protona etilne skupine u području $\delta \approx 1,22\text{--}1,30$ ppm, a signali metilnih protona (CH_3) pojavljuju se kao triplet pri kemijskom pomaku $\delta \approx 0,83$ ppm s konstantom sprege $J = 7,4$ Hz, slika 20.



Slika 20. ^1H NMR spektar spoja **43**.

Spojevi **43** i **44** iskorišteni su kao polazni reagensi za pripremu serije *N*-benzilnih kvaternih derivata reakcijom s *meta* i *para* fluor-, trifluormetil- i trifluormetoksibenzil-bromidima čija je struktura prikazana u tablici 4.

Tablica 4. Pripravljene 10,11-dihidrocinhonidin **43** i 10,11-dihidrocinhonin **44** te *N*-kvaterni derivati **45–51** i **52–58** s pripadajućim iskorištenjima.



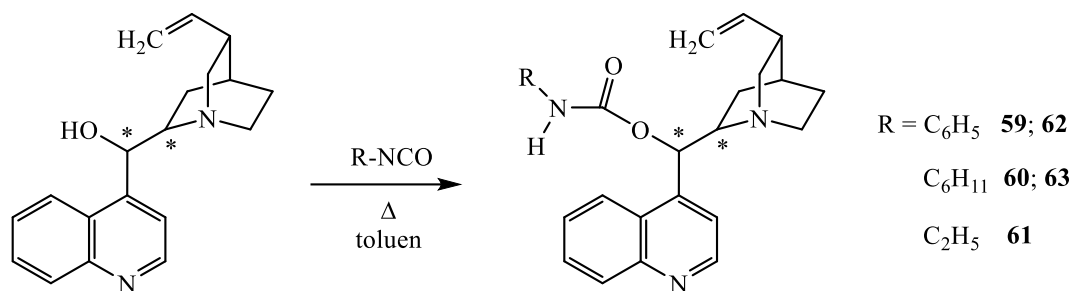
R ₁	spoj	η (%)	spoj	η (%)
-	43	67	44	79
Bzl	45	49	52	64
<i>m</i> -FBzl	46	41	53	48
<i>p</i> -FBzl	47	87	54	26
<i>m</i> -CF ₃ Bzl	48	58	55	40
<i>p</i> -CF ₃ Bzl	49	66	56	72
<i>m</i> -OCF ₃ Bzl	50	50	57	66
<i>p</i> -OCF ₃ Bzl	51	39	58	26

Spektri pojedinih parova kvazienantiomera su izrazito slični i imaju karakteristike spojeva **43** i **44**. Derivati koji sadrže fluor kao supstituent na benzenskom prstenu imaju karakterističnu vrpca C–F istezanja oko 780 cm⁻¹, a oni koji sadrže trifluorometoksi skupinu imaju karakterističnu vrpca O–CF istezanja pri 1250 cm⁻¹. Spektrometrijom masa visokog razlučivanja u pozitivnom načinu rada potvrđena je molarna masa spojeva **43–58** koja je u skladu s izračunatom molarnom masom. HPLC čistoća produkata je veća od 95 %.

Struktura 10,11-dihidro derivata potvrđena je 1D i 2D spektroskopijom NMR. U ¹H NMR spektru signali CH₂ skupine čine jedan spinski sustav i sprežu se u dublet s kontantom sprege *J*=12,5 Hz. Pomaci i cijepanja aromatskih protona benzilne skupine ovise o supstituentima i nalaze se u području od 7–9 ppm.

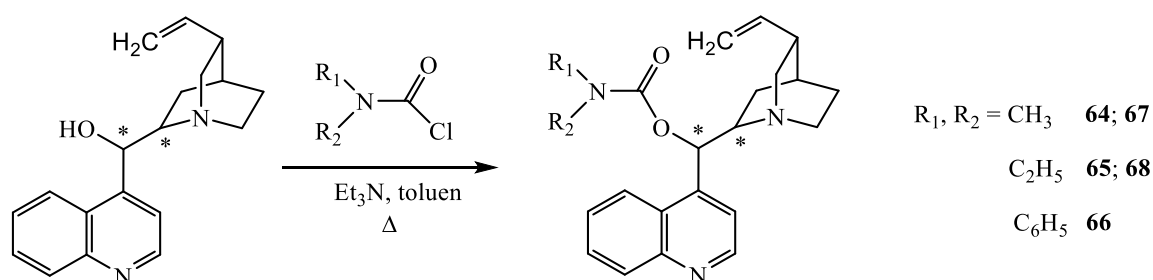
4.4. Sinteza cinhonidin i cinhonin C-9-O-karbamata

Cinhonidin i cinhonin su reakcijom s cikloheksil-, etil- i fenil-izocijanatom u toluenu prevedeni u odgovarajuće karbamate, shema 26. Topljivost alkaloida postaje značajan problem u reakciji s etil-izocijanatom (*t_v*=60 °C) što je vjerojatni razlog niskog iskorištenja reakcije pripreve spoja **64** kao i nemogućnost pripreve odgovarajućeg kvazienantiomernog derivata cinhonina. Pripravljene derivati karbamata prikazani su u tablici 5. s pripadajućim iskorištenjima.



Shema 26. Reakcijska shema pripreve *N*-supstituiranih karbamata iz izocijanata i njihova struktura.

Reakcijom cinchonidina i cinhonina s dimetil-, dietil- i difenil-karbamoil kloridom uz trietilamin kao bazu pripremljeni su odgovarajući karbamati, shema 27.



Shema 27. Reakcijska shema pripreve *N, N'*-supstituiranih karbamata iz karbamoil-klorida i njihova struktura.

Tablica 5. Pripremljeni karbamatni derivati cinchonidina i cinhonina **59–68** s pripadajućim iskorištenjima.

59–61		62–63		64–66		67–68			
R ₁	Spoj	η (%)	Spoj	η (%)	R ₁ , R ₂	Spoj	η (%)	Spoj	η (%)
C ₆ H ₅	59	58	62	43	CH ₃	64	65	67	79
C ₆ H ₁₁	60	70	63	28	CH ₃ CH ₂	65	68	68	42
CH ₃ CH ₂	61	21			C ₆ H ₅	66	23		

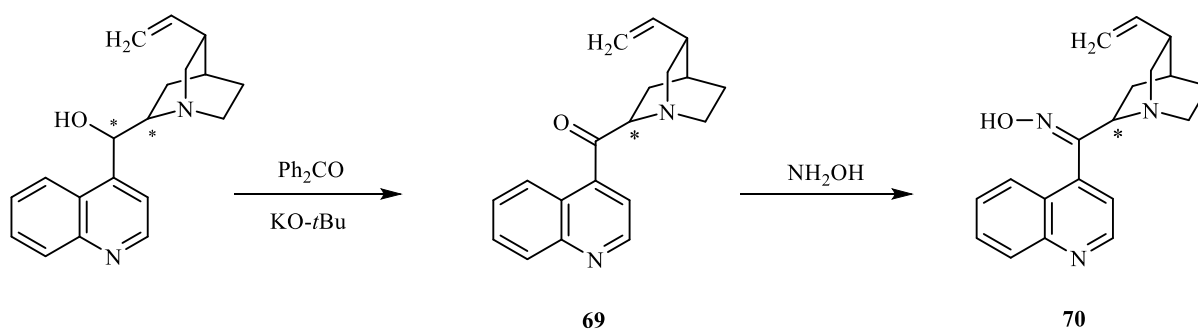
U FTIR spektru karbamatnih derivata uočavaju se vrpce istezanja aromatskih C–H pri oko 3200 cm⁻¹, vrpce simetričnog i asimetričnog istezanja alifatskih C–H pri oko 2900 cm⁻¹, jaka vrpca istezanja C=O skupine pri oko 1710 cm⁻¹ te vrpca istezanja C–N veze pri oko 1500 cm⁻¹. Monosupstituirani karbamatni derivati **56–63** sadrže dodatno vrpca istezanja N–H veze pri oko

3100 cm^{-1} . Molarna masa pripremljenih derivata potvrđena je spektrometrijom masa visokog razlučivanja a čistoća im je određena HPLC metodom te iznosi >95 %.

Struktura sintetiziranih karbamata potvrđena je 1D i 2D spektroskopijom NMR. Spektri pripremljenih karbamata **59–68** slijede karakteristike nemodificiranih alkaloida. Signali protona kinolinskog prstena, vinilne skupine i protona H9 imaju vrlo slične kemijske pomake i konstante sprege u svim pripremljenim karbamatnim derivatima. Signali protona H2' i H3' tvore jedan spinski sustav i sprežu se u dublet s kontantom sprege $J=4,4$ Hz. Drugi spinski sustav tvore protoni H5', H6', H7' i H8' koji imaju tipične konstante sprege aromatskog prstena, $^3J(\text{ortho}) = 6\text{--}10$ Hz, $^4J(\text{meta}) = 0\text{--}4$ Hz. I kod cinhonidina i kod cinhonina proton H10 spreže se u dublet dublet dubleta (ddd) trans konstantom sprege $J_1 \approx 17$ Hz i cis konstantom sprege $J_2 \approx 10$ Hz te geminalnom konstantom sprege $J_3 \approx 7$ Hz. Kemijski pomaci kinuklidinskog prstena su različiti za kvazienantiomere i djelomično ovise o prirodni supstituenta na dušikovom atomu karbamatne skupine.

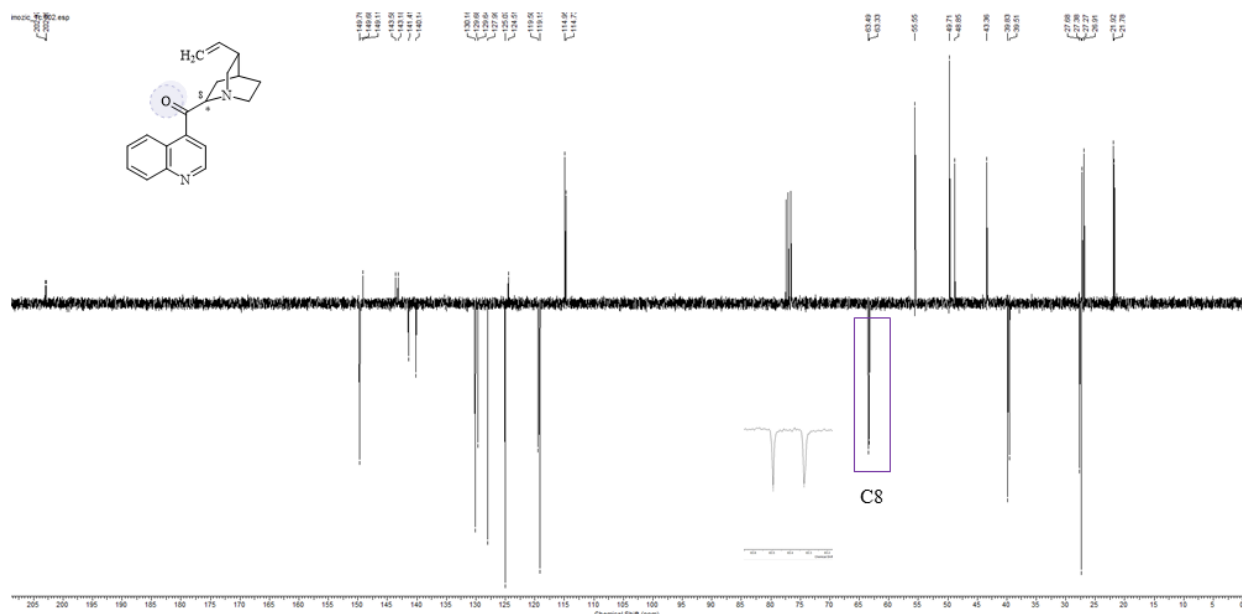
4.5. Sinteza cinhona-9-oksima

Cinhonidin-9-oksime pripremljen je iz cinhonidin-9-ona. Keton **69** pripremljen je oksidacijom cinhonidina s kalijevim *tert*-butoksidom i benzofenonom u refluksirajućem toluenu, a reakcijom ketona s hidrosilaminom u etanolu pripremljen je cinhona-9-oksime **70**, shema 28.



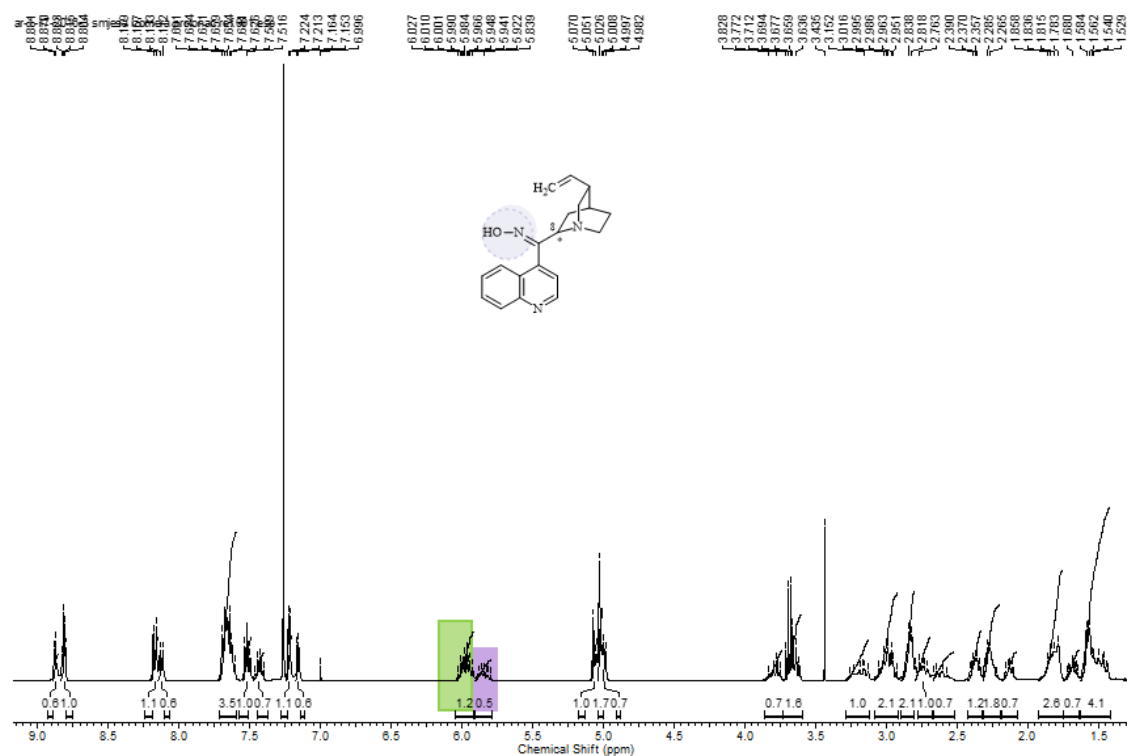
Shema 28. Priprava cinhonidin-9-oksima.

U FTIR spektru spoja **70** uočava se jaka vrpca istežanja karbonilne skupine pri oko 1670 cm^{-1} . U otopini dolazi do brze mutarotacije ketona i nastaje smjesa 8*S*- i 8*R*- epimera, što se uočava i u ^{13}C spektru NMR, slika 21. ¹⁰⁴



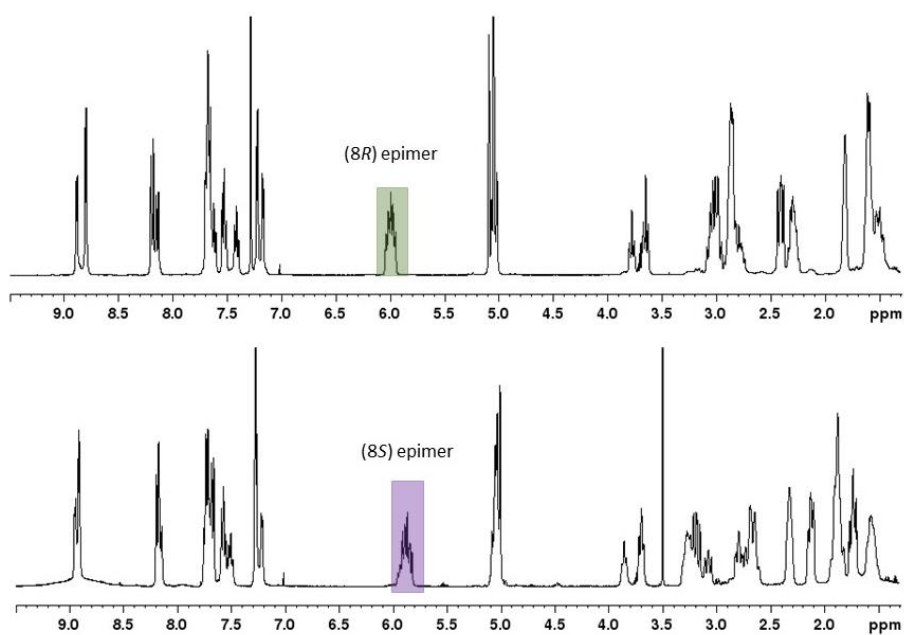
Slika 21. ^{13}C NMR spektar spoja **69** s izdvojenim signalom epimernog ugljika C8.

Isti efekt se uočava i kod spojeva **70–72** gdje dodatno postoji mogućnost nastanka *sin*- i *anti*-izomera oksima. Prilikom sinteze oksima u etanolu, očekivano dolazi do epimerizacije na položaju C8 kinuklidinskog prstena, s omjerom epimera $8R:8S = 70:30$ koji je određen iz ^1H NMR spektra integracijom signala protona H10, slika 22.



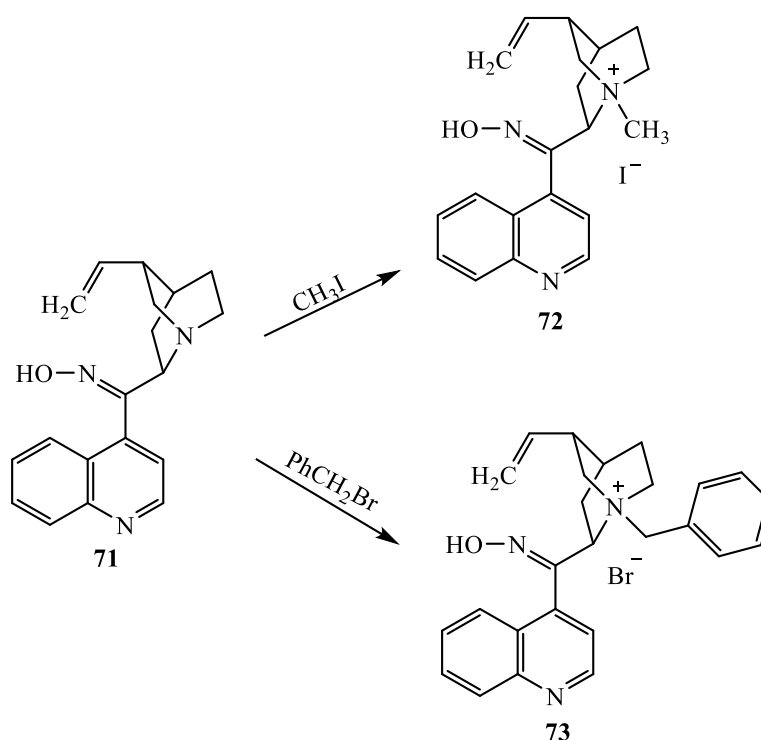
Slika 22. ^1H NMR spektar spoja **70** s označenim signalima protona H10.

Epimeri spoja **70** su uspješno odvojeni kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela. Konfiguracija epimera određena je ^1H spektroskopijom NMR usporedbom kemijskog pomaka signala protona H10. Kod jednog epimera signal protona H10 nalazi se na kemijskom pomaku 5,94–6,06 ppm kao i kod cinhonina (*8R*) dok kod drugog epimera signal tog protona nalazi se na 5,80–5,96 ppm kao kod cinhonidina (*8S*), slika 23.



Slika 23. ^1H NMR spektar a) (*8R*)- i b) (*8S*)-epimera spoja **70**.

Kinuklidinski atom dušika spoja **70** uspješno je kvaterniziran s metil-jodidom i benzilbromidom u suhom acetonu, shema 29.



Shema 29. Priprava kvaternih derivata oksima.

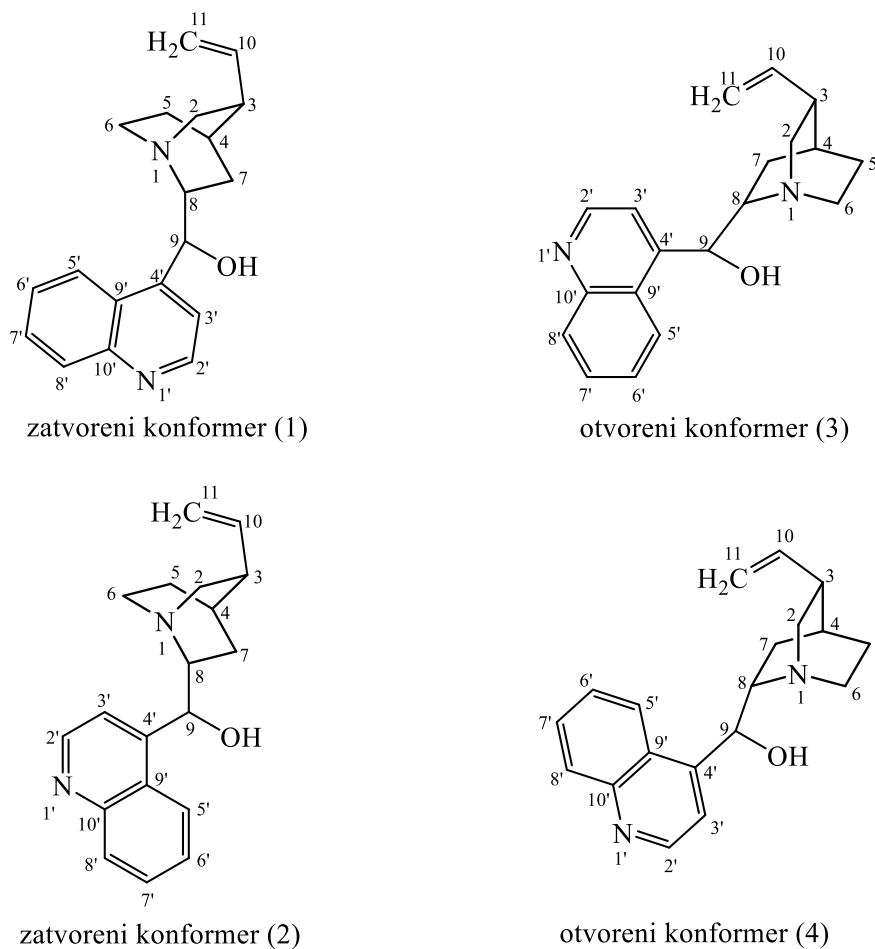
Pripremljeni kvaterni derivati oksima također podliježu epimerizaciji na položaju 8 i to u omjeru epimera $8R:8S = 60:40$ za spoj **71** te $8R:8S = 50:50$ za spoj **72** prema ^1H spektroskopiji NMR. U FTIR spektru spoja **70** kao i njegovih derivata **71–72** uočava se široka vrpca pri 3400 cm^{-1} što odgovara vrpci istezanja hidroksilne skupine te snažna vrpca pri oko 1640 cm^{-1} što odgovara istezanju $\text{C}=\text{N}$ veze. Molarna masa spojeva potvrđena je spektrometrijom masa visokog razlučivanja u pozitivnom načinu rada te je u skladu s izračunatim vrijednostima.

4.6. Konformacijska analiza

Konformacija molekula cinchonidina i njegovog kvazienantiomera cinhonina te njihovih *N*-metilnih (**1** i **7**) i *N*-benzilnih (**18** i **33**) derivata u otopini proučavana je 1D i 2D tehnikama (^1H , ^{13}C , COSY (engl. *correlated spectroscopy*), NOESY (engl. *nuclear Overhauser effect*), HSQC (engl. *heteronuclear single quantum coherence*), HMBC (engl. *heteronuclear multiple bond correlation*) spektroskopije NMR. NOESY tehnika temelji se na sprezanju protona kroz prostor i zbog toga je korisna za određivanje stereokemijskih odnosa u molekuli.

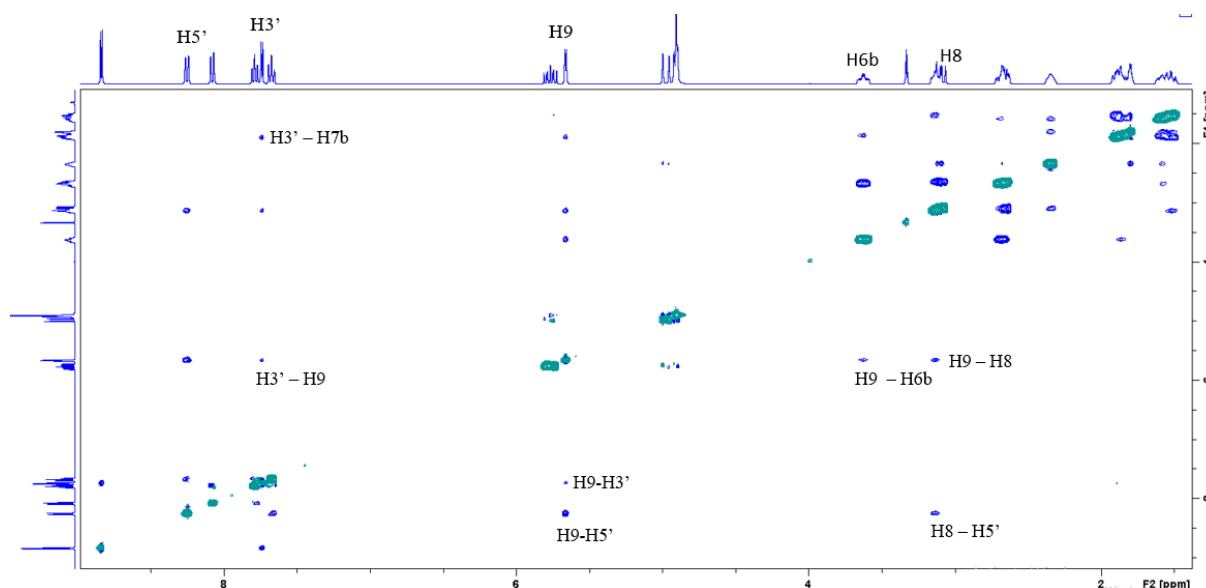
Konformeri cinchonidina su proučavani raznim spektroskopskim metodama i metodama molekularne dinamike, te je identificirano 10 konformera koji mogu postojati u otopini.^{105,106}

Najčešći konformeri su zatvoreni konformer (1) i (2) te otvoreni konformer (3) i (4) koji se razlikuju ovisno o međusobnoj orijentaciji kinuklidinskog i kinolinskog prstena, slika 24.



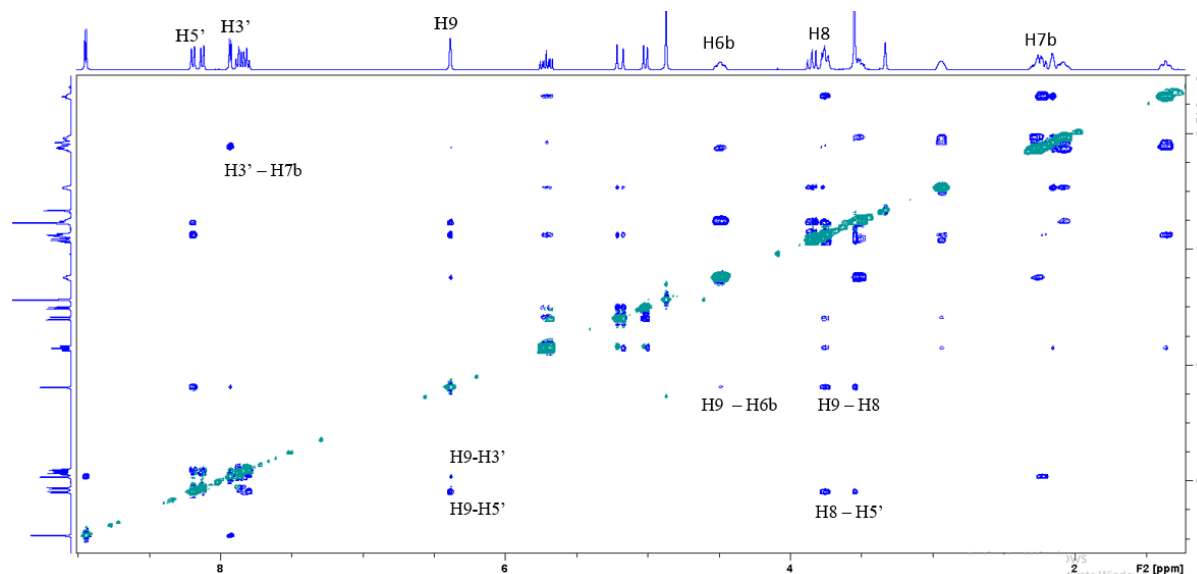
Slika 24. Prikaz zatvorenog (1) i (2) i otvorenog konformera (3) i (4).

Stoga je snimljen NOESY spektar cinchonidina gdje se uočava velik broj interakcija što upućuje na veći broj prisutnih konformera. Jak NOE signal protona H8 i H9 s kinolinskim protonom H5' te slabiji NOE signal protona H9 i kinolinskog protona H3' kao i NOE signali protona H3' i protona H7b odgovaraju slobodnoj rotaciji C8–C9 i C9–C4' veze, slika 25.



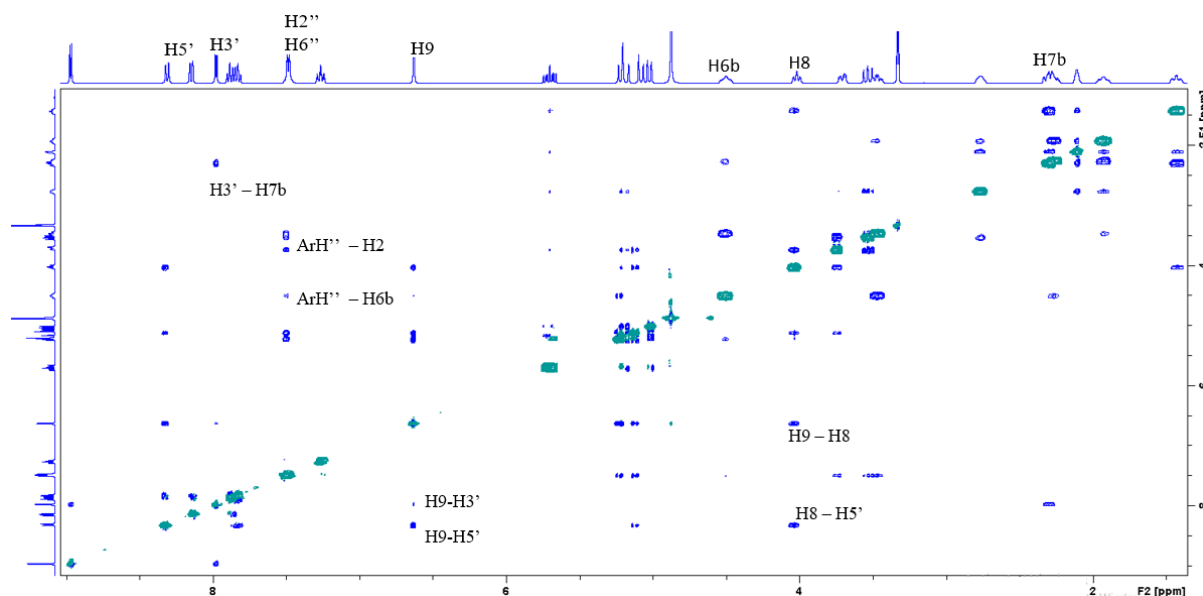
Slika 25. NOESY spektar cinchonidina.

Kvaternizacijom kinuklidinskog atoma dušika cinchonidina metilnom skupinom uočavaju se NOE signali između kinolinskih protona H3' i H5' s protonima H8 i H9 kao i kod nemodificiranog cinchonidina, slika 26, koji su mogući kod obje konformacije.



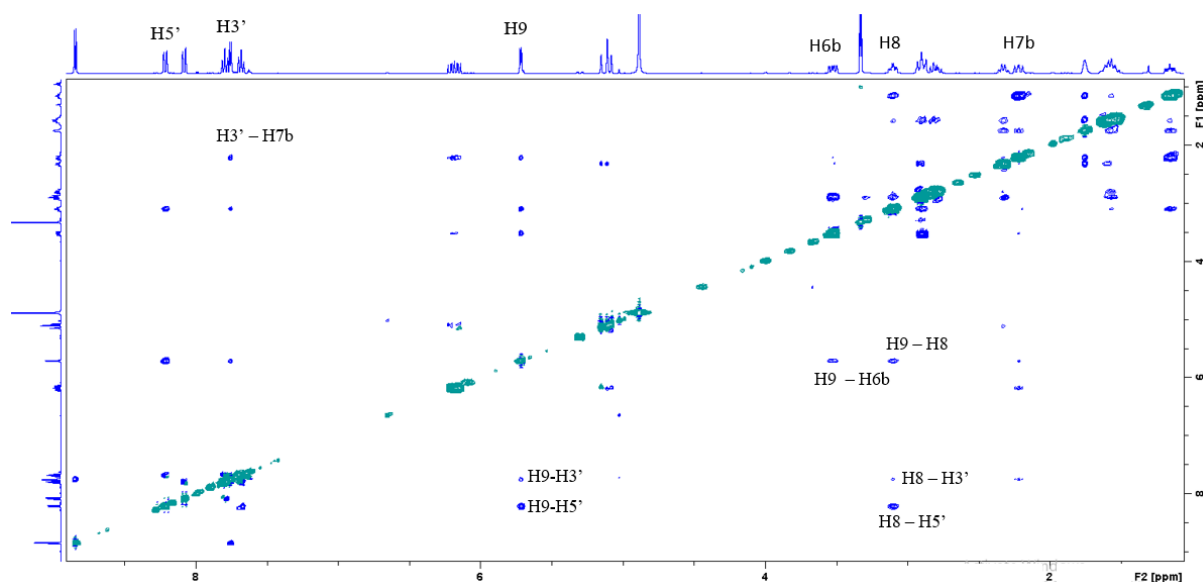
Slika 26. NOESY spektar spoja 1.

Uvođenjem 3,5-difluorbenzilne skupine na kinuklidinskom atomu dušika u molekuli cinchonidina uočavaju se jake NOE interakcije između H8 i H9 protona s kinolinskim protonom H5' dok interakcija s protonom H3' izostaje ili je jako slaba, što upućuje da konformer otvorene konformacije prevladava u otopini. Također, benzilni protoni H2'' i H6'' daju jake NOE signale s kinuklidinskim protonima H2, slika 27.



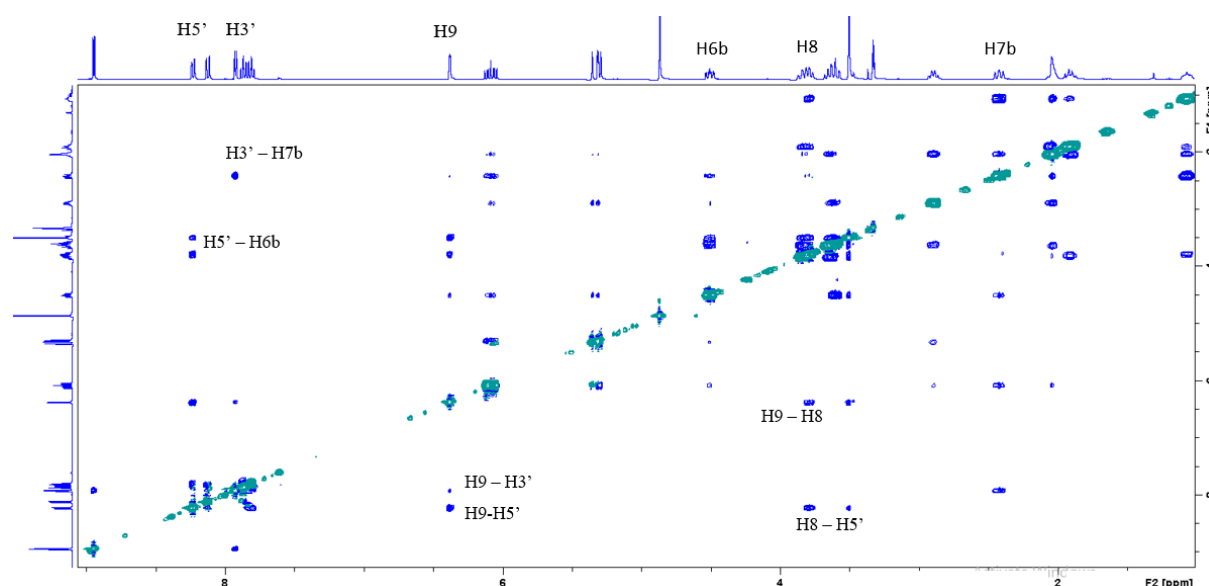
Slika 27. NOESY spektar spoja 18.

U NOESY spektru cinhonina također se uočavaju jaki signali kinolinskog protona H5' s protonima H8 i H9 te slabi signali kinolinskog protona H3' s protonima H8 i H9, što je očekivano s obzirom na slobodnu rotaciju C8–C9 i C4'–C9 veze, slika 28.



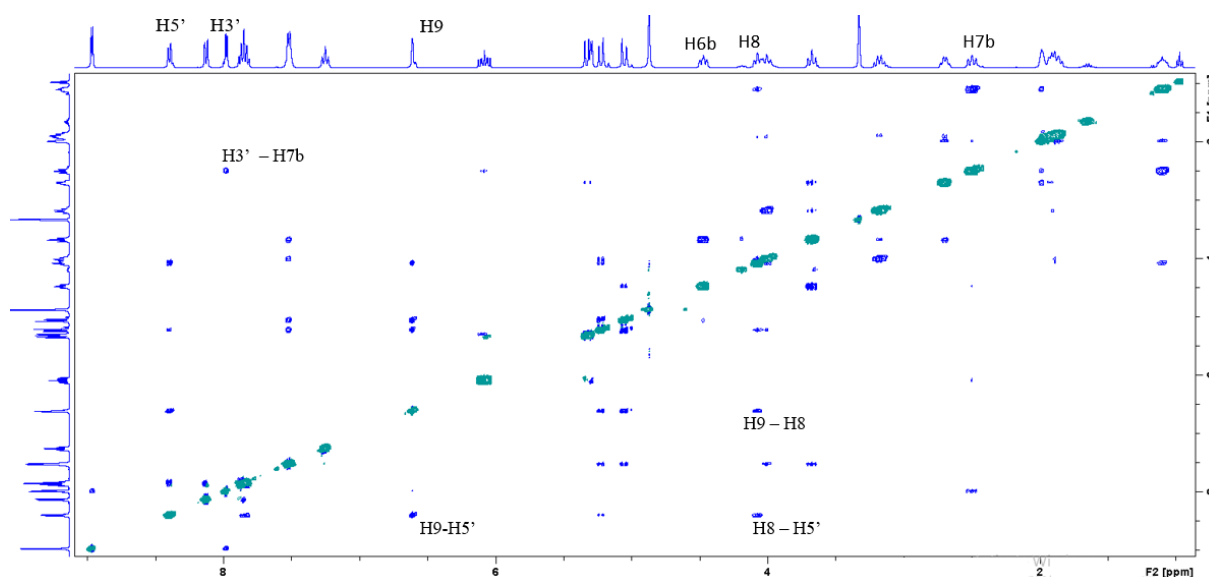
Slika 28. NOESY spektar cinhonina.

Kvaternizacijom kinuklidinskog atoma dušika cinhonina metilnom skupinom uočavaju se NOE signali sličnog inteziteta kao i kod cinhonina između kinolinskih protona H3' i H5' s protonima H8 i H9, slika 29.



Slika 29. NOESY spektar spoja 7.

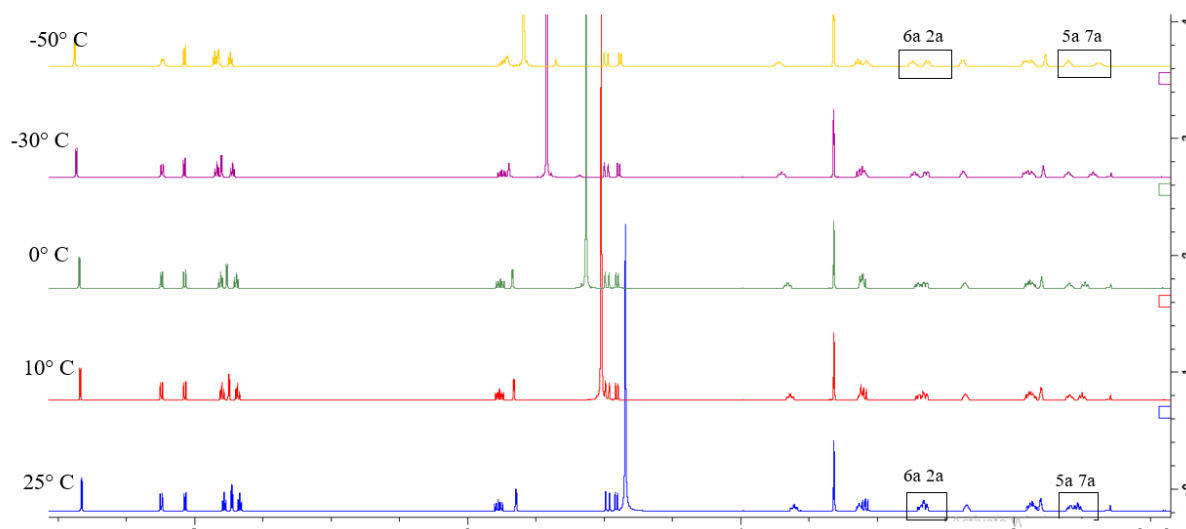
Kvaternizacijom kinuklidinskog atoma dušika cinhonina sa sterički voluminoznom 3,5-difluorbenzilnom skupinom NOE signal između H8 i H9 atoma s H3' je znatno slabiji, dok NOE signala između H5' protona i H6b protona nema što odgovara otvorenom konformeru, slika 30.



Slika 30. NOESY spektar spoja 33.

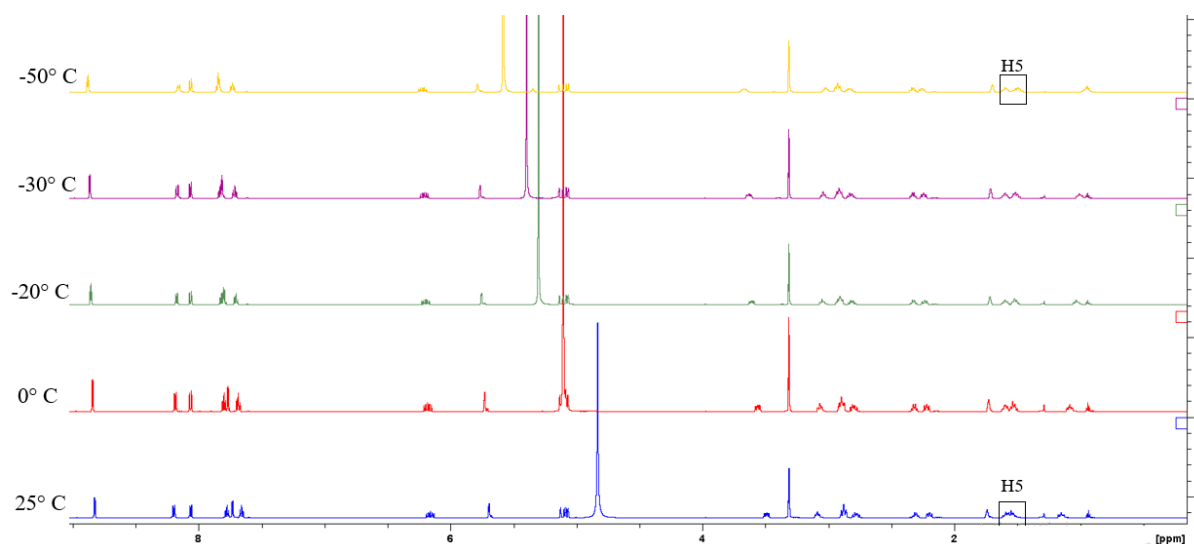
Snižavanjem temperature tijekom snimanja ^1H NMR cinhonidina (od $+25\text{ }^\circ\text{C}$ do $-50\text{ }^\circ\text{C}$) dolazi do razdvajanja signala aksijalnih protona kinuklidinskog prstena. Signali protona H5a i H7a razdvojeni su već pri $10\text{ }^\circ\text{C}$ dok se signali aksijalnih protona H2a i H6a počinju razdvajati tek pri $-30\text{ }^\circ\text{C}$, slika 31. Konstanta sprege $^3J_{(\text{H}8,\text{H}9)}$ iznosi $4,2\text{ Hz}$ pri $25\text{ }^\circ\text{C}$ i smanjuje se

snižavanjem temperature te pri -30°C iznosi 1,9 Hz što odgovara najstabilnijem konformeru otvorene (3) konfiguracije.



Slika 31. ^1H spektri CD pri 25°C (plavo), 10°C (crveno), 0°C (zeleno), -30°C (ljubičasto), -50°C (žuto); snimljeno u $\text{MeOD-}d_3$; Bruker Avanse 600.

Usporedbom ^1H spektara NMR cinchonina snimljenih pri temperaturama od $+25^{\circ}\text{C}$ do -50°C uočava se potpuno razdvajanje signala kinuklidinskih protona te su signali protona H5 potpuno razdvojeni pri temperaturi od -50°C , slika 32.



Slika 32. ^1H spektri cinchonina pri 25°C (plavo), 0°C (crveno), -20°C (zeleno), -30°C (ljubičasto), -50°C (žuto); snimljeno u $\text{MeOD-}d_3$; Bruker Avanse 600.

Konstanta sprege ${}^3J_{(H8,H9)}$ iznosi 4,1 Hz pri 25° C i smanjuje se snižavanjem temperature te pri –30° C iznosi 2,5 Hz što odgovara najstabilnijem konformeru otvorene (3) konfiguracije.

4.7. Biološka aktivnost spojeva

Antimikrobni potencijal spojeva određen je na Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Mirjane Skočibušić. Pokusi određivanja antiproliferativne aktivnosti rađeni su u Generi d.d., Kalinovica. Kinetičke konstante reakcija pripremljenih spojeva s kolinesterazama odredila je dr. sc. Anita Bosak, zn. sur., Jedinica za biokemiju i organsku analitičku kemiju Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb.

4.7.1. Antimikrobna aktivnost

Kvaternim derivatima **1–12** određena je antimikrobna aktivnost na panel reprezentativnih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija uz gentamicin kao pozitivnu kontrolu primjenom metode difuzije na disku. Rezultati pokazuju da pripremljeni kvaterni derivati posjeduju srednje do jaku aktivnost prema testiranim bakterijama u usporedbi s gentamicinom, antibiotikom koji se koristi u kliničkoj praksi, tablica 7. Antimikrobna aktivnost klasificirana je ovisno o promjeru inhibitorne zone (uključujući i disk): 0–9 mm – nema antimikrobne aktivnosti; 10–15 mm – srednja antimikrobna aktivnost; >21 mm – jaka antimikrobna aktivnost. Spoj **5**, derivat cinhonidina koji sadrži nitro skupinu u *para* položaju na benzenskom prstenu, pokazao je najjaču antibakterijsku aktivnost prema testiranim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama. Promjeri zona inhibicije spoja **5** prema testiranim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama su veći (21,8–27,4 mm) u usporedbi s gentamicinom (11,5–23,9 mm), osim prema bakteriji *S. aureus* (17,4 mm za spoj **5** i 21,7 mm za gentamicin). Derivati cinhonidina s atomom broma odnosno klora u *para* položaju na benzenskom prstenu, spojevi **3** i **6**, pokazali su znatno jaču antibakterijsku aktivnost prema bakterijama *E. coli* (25,7 i 24,5 mm) i *P. aeruginosa* (25,7 i 17,2 mm) nego gentamicin (11,5 mm odnosno 9,7 mm). Kvaterni derivati kvazienantiomera cinhonina **8** i **12**, čiji je kinuklidinski atom dušika kvaterniziran s benzilnom odnosno *p*-klorbenzilnom skupinom pokazali su najjaču antimikrobnu aktivnost prema *B. cereus* (22,7 i 21,5 mm) i *E. coli* (27,6 i 28,5 mm) u odnosu na gentamicin (18,2 mm i 9,7 mm).

Tablica 7. Antibakterijska aktivnost spojeva **1–12** određena metodom difuzije na disku. Istaknuti su najaktivniji spojevi.

		Promjer zone inhibicije / mm						
		Gram-pozitivne bakterije				Gram-negativne bakterije		
		<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
cinhonidin		10,9±1,7	14,2±0,9	13,3±0,6	14,6±0,7	17,2±1,4	10,2±1,1	6,4±0,9
CH₃	1	12,7±1,1	11,2±1,4	15,7±1,7	14,2±1,3	14,8±1,2	12,4±0,9	15,8±2,1
Bzl	2	9,4±0,5	15,7±1,9	18,5±1,2	8,4±2,2	15,6±1,6	16,7±1,6	16,3±1,7
p-Br	3	16,6±1,4	15,6±2,3	17,4±1,8	15,6±0,9	25,7±2,7	14,7±0,6	25,7±2,4
p-CH₃	4	15,8±2,2	16,8±0,9	17,8±2,3	18,1±0,9	14,8±0,9	15,8±0,9	11,8±0,9
p-NO₂	5	22,8±0,8	27,4±1,7	17,4±0,3	21,8±0,9	23,1±1,4	26,1±2,1	25,1±1,6
p-Cl	6	15,3±1,0	16,3±1,3	15,5±1,7	23,3±1,7	24,5±1,8	19,5±1,3	17,2±1,2
cinhonin		13,2±0,9	14,2±1,9	13,2±1,8	10,2±1,5	16,3±1,2	12,6±1,4	19,2±2,7
CH₃	7	12,4±1,0	13,4±1,5	16,4±1,2	11,4±1,1	14,4±2,1	13,4±1,0	25,4±3,2
Bzl	8	22,7±1,9	9,6±1,6	13,4±1,6	12,1±1,5	15,6±2,5	13,9±0,6	27,6±3,2
p-Br	9	15,7±1,8	17,7±0,9	16,2±1,7	10,7±1,3	11,2±0,7	12,1±2,3	13,2±0,5
p-CH₃	10	8,8±1,3	9,2±1,7	10,8±1,4	11,8±2,6	13,4±1,5	14,2±1,5	10,1±1,3
p-NO₂	11	13,3±1,6	12,9±1,7	15,7±2,5	19,4±2,1	10,5±1,2	14,7±1,2	10,2±2,1
p-Cl	12	21,5±1,5	14,5±1,7	17,5±1,3	10,5±1,1	14,5±1,3	13,5±1,6	28,5±2,8
gen^a		18,2±0,7	14,6±1,4	23,9±0,9	21,7±0,4	11,5±0,9	18,8±0,6	9,7±1,4

^agentamicin

Spojevima je također određena minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) metodom mikrodilucije uz gentamicin i cefotaksim kao pozitivne kontrole, a rezultati su prikazani u tablici 8. Antimikrobna aktivnost klasificirana je ovisno o MIK vrijednosti: MIK > 1000 µg/mL – nema antimikrobne aktivnosti; MIK između 512–1000 µg/mL – slaba antimikrobna aktivnost; MIK između 128–512 µg/mL – dobra antimikrobna aktivnost; MIK između 32–128 µg/mL – snažna antimikrobna aktivnost i MIK < 10 µg/mL – vrlo snažna antimikrobna aktivnost.

Tablica 8. Minimalna inhibitorna aktivnost spojeva 1–12 određena metodom mikrodilucije. Istaknuti su najaktivniji spojevi.

Spoj	MIK / $\mu\text{g/mL}$						
	Gram-pozitivne bakterije				Gram-negativne bakterije		
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CD	100,00	50,00	50,00	50,00	25,00	100,00	125,00
1	50,00	50,00	25,00	50,00	25,00	50,00	50,00
2	100,00	25,00	25,00	125,00	50,00	50,00	50,00
3	25,00	25,00	25,00	25,00	6,25	25,00	1,56
4	25,00	12,50	25,00	25,00	25,00	25,00	50,00
5	12,50	6,25	12,50	12,50	6,25	6,25	6,25
6	25,00	25,00	25,00	6,25	6,25	12,50	25,00
CN	50,00	50,00	50,00	100,00	25,00	50,00	12,50
7	50,00	50,00	25,00	50,00	50,00	50,00	3,12
8	12,50	100,00	50,00	50,00	25,00	50,00	1,56
9	25,00	25,00	25,00	50,00	50,00	50,00	50,00
10	100,00	100,00	100,00	100,00	50,00	50,00	100,00
11	50,00	50,00	25,00	12,50	100,00	50,00	100,00
12	12,50	50,00	25,00	100,00	50,00	50,00	3,12
gen ^a	4,00	4,00	1,00	0,50	32,00	8,00	64,00
cfx ^b	0,25	0,50	0,50	0,10	0,50	0,50	16,00

^agentamicin, ^bcefotaksim

Spoj **5**, cinhonidin kvaterniziran s *para*-nitrobenzil-bromidom pokazuje jaku antimikrobnu aktivnost širokog spektra i njegove MIK vrijednosti kreću se od 6,25–12,50 $\mu\text{g/mL}$ i za Gram-pozitivne i za Gram-negativne bakterije. Spoj **8**, cinhonin kvaterniziran s benzil-bromidom, kao i spoj **3**, cinhonidin kvaterniziran s *para*-brombenzil-bromidom, pokazuju najjaču inhibitornu aktivnost prema *P. aeruginosa* s MIK vrijednosti od 1,25 $\mu\text{g/mL}$ što je otprilike 50 puta bolje od gentamicina i otprilike 13 puta bolje od cefotaksima. Spoj **7**, čiji je kinuklidinski atom dušika kvaterniziran samo s metilnom skupinom i spoj **12**, koji sadrži atom klora u *para* položaju na benzilnom supstituentu imaju vrlo snažnu antimikrobnu aktivnost s MIK vrijednosti od 3,12 $\mu\text{g/mL}$.

4.7.2. Inhibicijski potencijal prema kolinesterazama

Inhibicijski potencijal pripremljenih kvaternih derivata 1–42 ispitan je na rekombinantnoj ljudskoj acetilkolinesterazi (AChE) i pročišćenoj ljudskoj butirilkolinesterazi (BChE) spektroskopskom metodom po Ellmanu pri 415 nm uz ACh kao supstrat.¹⁰⁷ Aktivnost enzima

mjerena je pri različitim koncentracijama supstrata ([S]) bez (v_0) i s (v_i) pripremljenim spojevima. $K_{i,app}$ je izračunata koristeći Hunter-Down jednadžbu (1) i linearnu regresijsku analizu:

$$K_{i,app} = \frac{v_i}{v_0 - v_i} \cdot [I] = K_{(I)} + \frac{K_{(I)}}{K_{(S)}} \cdot [S] \quad (1)$$

Jednadžba se koristi uz pretpostavku da se supstrat veže samo u katalitičko mjesto enzima s obzirom da se u eksperimentima koriste koncentracije supstrata kod kojih ne dolazi do vezanja i u periferno mjesto kolinesteraza. Za razliku od supstrata, inhibitori se mogu vezati i na katalitičko i na periferno mjesto enzima. Ako se inhibitor natječe sa supstratom za vezanje u katalitičko mjesto enzima govorimo o kompetitivnoj inhibiciji, a ako se inhibitor veže na periferno mjesto enzima govorimo o nekompetitivnoj inhibiciji. U slučaju miješane inhibicije inhibitor se može vezati u periferno mjesto enzima i na Michaelisov tip kompleksa enzim-supstrat.

Kvaternim derivatima cinhonidina i cinhonina kao i nemodificiranim alkaloidima ispitan je inhibitorni potencijal prema AChE i BChE, tablica 9. Svi ispitivani derivati cinhonina i cinhonidina pokazali su se reverzibilnim inhibitorima AChE i BChE. Ispitani kvaterni derivati cinhonidina pokazali su znatno veći afinitet prema AChE nego cinhonin. Kvaternizacija kinuklidinskog atoma dušika cinhonidina benzilnom skupinom značajno povećava afinitet prema AChE u odnosu na kvaternizaciju metilnom skupinom. Od derivata cinhonidina, spoj **23** s trifluorometilnom skupinom u *meta* položaju na benzilnom prstenu pokazao je najveći afinitet prema AChE s K_i 5 ± 2 $\mu\text{mol/L}$, a slijede spojevi **21**, **22**, **24**, **26** i **27** s K_i od 6,4 do 7 $\mu\text{mol/L}$. Cinhonin ima sličan afinitet prema AChE kao i njegovi kvaterni derivati od kojih najveći afinitet imaju spojevi **30** i **34** s K_i 3,9 $\mu\text{mol/L}$ odnosno 6,1 $\mu\text{mol/L}$.

Svi ispitani kvaterni derivati cinhonidina pokazali su veći afinitet prema BChE od cinhonidina, dok je afinitet cinhonina sličan kao i kod njegovih kvaternih derivata. Derivat **1** ima vrlo sličan afinitet prema BChE kao cinhonidin, dok uvođenjem benzilnog supstituenta dolazi do povećanja afiniteta prema BChE što ukazuje na to da su veličina kao i elektronska svojstva supstituenta važna za inhibiciju BChE. Derivati **2**, **3**, **14** i **18** su nanomolarni inhibitori BChE s K_i od 38-75 nmol/L što ih kvalificira kao visoko potentne BChE inhibitore.

Ako se promatra utjecaj atoma halogena kao supstituenta u *para* položaju na benzenskom prstenu, uočava se trend porasta inhibicije BChE kvaternim derivatima **15**, **6** i **3**

sa smanjenjem elektronegativnosti halogena, dok kod odgovarajućih kvazienantiomernih parova cinhonina **30**, **12** i **9** to nije slučaj.

Tablica 9. Inhibicija AChE i BChE s kvaternim derivatima **1–42**.

Spoj	$K_i/\mu\text{mol/L}$			Spoj	$K_i/\mu\text{mol/L}$		
	AChE	BChE	$\frac{\text{AChE}}{\text{BChE}}$		AChE	BChE	$\frac{\text{AChE}}{\text{BChE}}$
CD	>400	28±4	14	CN	34±1	4,9±1,4	12
1	67,4±6,2	26,3±3,5	3	7	42,1±4,0	28,8±3,7	1
2	14,9±2,2	0,075±0,00	199	8	121±12	2,91±0,25	42
3	19,1±0,7	0,038±0,005	503	9	30,7±1,3	3,47±0,29	9
4	16,4±0,6	0,17±0,016	96	10	41,7±1,6	3,11±0,33	13
5	35,6±2,0	6,03±0,50	6	11	50,8±2,1	7,64±0,66	7
6	36,8±3,6	0,10±0,008	368	12	39,5±3,6	6,22±0,83	6
13	33±1	0,82±0,03	40	28	80±2	2,4±0,1	33
14	40±2	0,075±0,005	533	29	13,0±0,4	6,1±0,3	2
15	69±3	1,5±0,1	46	30	3,9±0,2	2,6±0,1	2
16	34±1	2,4±0,1	14	31	59±2	4,4±0,2	13
17	21±1	2,0±0,1	11	32	31 ±1	6,0±0,3	5
18	10,0±0,7	0,07±0,01	143	33	35±3	6,0±0,2	6
19	13±1	1,3±0,1	10	34	6,1±0,2	6,1±0,2	1
20	19 ±1	0,71 ±0,08	27	35	45 ±4	9,0 ±0,4	5
21	6,4±0,3	6,1±0,5	1	36	27 ±1	6,0 ±0,2	5
22	7,0 ±0,6	8,6 ±0,8	0,8	37	29 ±2	5,0 ±0,2	6
23	5 ±2	7,4 ±0,4	0,7	38	41 ±3	5,0 ±0,2	8
24	7,0 ±0,3	8,1 ±0,5	0,9	39	18 ±2	8,0 ±0,3	2
25	34 ±2	5,7 ±0,6	6	40	61 ±3	7,0 ±0,4	9
26	7,0 ±0,4	0,68 ±0,05	11	41	16 ±1	5,0 ±0,3	3
27	7,0 ±0,5	5,0 ±0,3	1,4	42	17 ±1	1,0 ±0,04	17
Eth^a	161	0,16±0,03		Don^b	0,043	2,3±1	

^aEthopropazine, ^bDonepezil

Kvaterni derivati cinhonidina pokazali su izrazitu selektivnost prema BChE. Najselektivnijim se pokazao spoj **14**, kojemu je kinuklidinski atom dušika kvaterniziran s *p*-fluorbenzilnom skupinom, s 533 puta većim afinitetom prema BChE nego prema AChE, te spoj **3**, kojemu je kinuklidinski atom dušika kvaterniziran s *p*-brombenzilnom skupinom, s 503 puta većim afinitetom prema BChE nego prema AChE. Kvaterni derivati cinhonina nisu pokazali selektivnost prema BChE osim derivata **8** i **33** s 42 i 33 puta većom selektivnosti prema BChE.

Karbamatni derivati **59–68** su također ispitani kao inhibitori AChE i BChE, tablica 10. Inhibicija AChE i BChE određena je mjerenjem vremenske ovisnosti inhibicije enzima s

karbamatima korištenjem Ellmanove metode.¹⁰⁷ Kao izvor AChE korišteni su ljudski eritrociti, a kao izvor BChE ljudska plazma. Kao mjera inhibicijskog potencijala karbamata korištena je sveukupna konstanta inhibicije (k_i) određena iz izraza $k_i = k_{obs}/[I]$, gdje je $[I] = 5\text{--}100 \mu\text{mol/L}$. Svi ispitivani karbamatni derivati pokazali su se ireverzibilnim inhibitorima AChE i BChE.

Tablica 10. Konstante brzina inhibicije BChE i AChE s karbamatima **59–68**.

	$k_i \cdot 10^3 / \text{L mol}^{-1} \text{min}^{-1}$		$k_{i(\text{AChE})}/k_{i(\text{BChE})}$
	BChE	AChE	
59	0,98±0,19	1,15±0,13	1,17
60	0,78±0,03	0,55±0,07	0,71
61	1,01±0,10	0,85±0,13	0,84
62	1,09±0,12	0,92±0,05	0,84
63	1,42±0,07	0,61±0,05	2,33
64	1,3±0,12	0,74±0,09	0,57
65	0,99±0,10	1,46±0,09	1,47
66	2,34±0,19	1,46±0,11	0,62
67	2,29±0,19	1,47±0,2	0,64
68	3,65±0,34	1,78±0,37	0,49

Svi ispitani derivati karbamata inhibirali su oba enzima s konstantama inhibicije (k_i) u rasponu od $0,55\text{--}3,65 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Najbržim inhibitorom BChE pokazao se spoj **68** čiji je karbamatni atom dušika supstituiran s dvije etilne skupine i ima *8R,9S*-konfiguraciju. Ispitivani karbamati nisu pokazali naglašenu selektivnost prema jednoj od kolinesteraza, iznimka su spojevi **63**, **64** i **68** koji su inhibirali BChE oko dva puta brže nego AChE. Nadalje, BChE i AChE nisu pokazali značajniju stereoselektivnost prema kvazienantiomerima osim prema karbamatu **68** kojeg hidroliziraju za oko četiri puta brže nego njegov kvazienantiomer **65**.

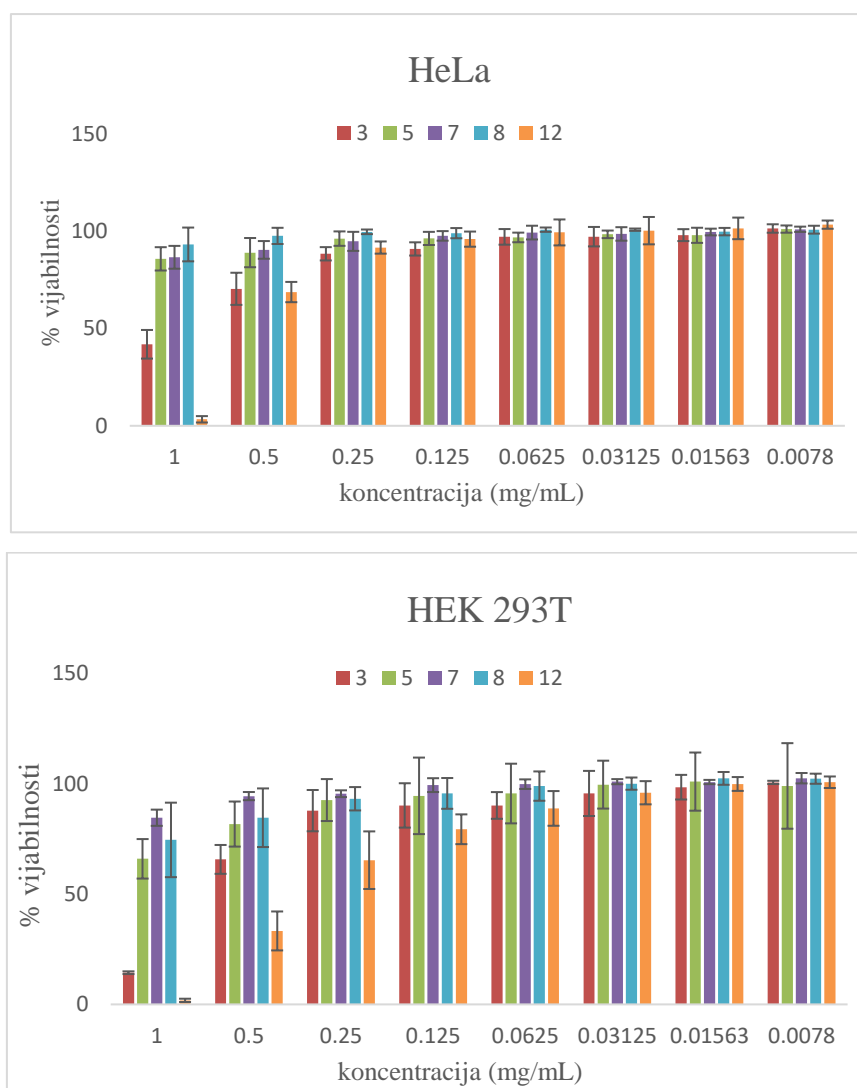
Cinhonidin-9-oksimum **70** i njegovi kvaterni derivati **71** i **12** ispitani su kao reaktivatori AChE i BChE koje su fosforilirane organofosforinim spojevima (tabun, sarin, ciklosarin, paraokson i tabun). Organofosforini spojevi fosforiliraju serin u aktivnom mjestu enzima te na taj način onemogućuju enzimu da hidrolizira acetilkolin što dovodi do inhibicije njegove fiziološke funkcije.¹⁰⁷ Ispitivani derivati bili su učinkoviti u reaktivaciji BChE te su reaktivirali aktivnost enzima do 70 %. Također, pokazali su se kao selektivni reaktivatori BChE, posebice spoj **70** koji je reaktivirao BChE oko 270 puta brže nego AChE.¹⁰⁸

4.7.3. Antiproliferativna aktivnost

Za ispitivanje antiproliferativne aktivnosti u staničnim linijama odabrani su kvaterni derivati cinhonidina **3** i **5** te kvaterni derivati cinhonina **7**, **8** i **12** odnosno derivati koji su pokazali najjači antimikrobni potencijal. Antiproliferativna aktivnost ispitana je na staničnoj liniji ljudskih embrionalnih stanica bubrega čovjeka (HEK 293T) i staničnoj liniji karcinoma vrata grlića maternice (HeLa). Kao metoda za određivanje antiproliferativne aktivnosti korišten je test redukcije tetrazolijeve soli odnosno MTT test koji daje kvantitativnu procjenu proliferacije stanica.¹⁰⁹ To je kolorimetrijska metoda koja se zasniva na mjerenju metaboličke aktivnosti mitohondrija koji reduciraju žutu sol MTT-a u netopljive plave kristale formazana koji se otapaju dodatkom kiselog izopropanola. Broj živih stanica proporcionalan je izmjerenoj apsorbanciji te se broj stanica preživjelih nakon inkubacije s testiranim spojevima izražava kao postotak omjera apsorbancije tretiranih i netretiranih (kontrolnih) stanica prema jednadžbi (2):

$$\% \text{ vijabilnosti} = \frac{A_{\text{tretirane stanice}}}{A_{\text{netretirane stanice}}} \cdot 100 \quad (2)$$

Ispitani spojevi nisu pokazali značajan utjecaj na proliferaciju niti za jednu staničnu liniju osim spoja **12** koji je pokazao snažan antiproliferativni utjecaj na obje stanične linije u koncentraciji od 1 mg/mL i spoja **3** koji je pokazao umjereni antiproliferativni utjecaj na HEK 293T staničnu liniju pri koncentraciji od 1 mg/mL, slika 33.



Slika 33. Utjecaj spojeva **3**, **5**, **7**, **8** i **12** na proliferaciju staničnih linija a) HeLa, b) HEK 293T.

Dodatno, spojevima **3** i **5** koji su pokazali najsnažnije antibiotsko djelovanje određen je oksidativni potencijal na staničnim linijama FB-35 (fibroblasti), HaCaT (epitelne stanice kože) i HMEC-1 (endotelijalne stanice). Iako su spojevi pokazali manje razlike ovisno o staničnoj liniji, te razlike nisu statistički značajne te se može zaključiti da spojevi **3** i **5** ne utječu na stvaranje oksidativnih vrsta u korištenim staničnim linijama.¹¹⁰

§ 5. ZAKLJUČAK

- Pripravljene su *N*-kvaternalni derivati cinhonidina: *N*-metil- (**1**), *N*-benzil- (**2**), *N*-(4-brombenzil)- (**3**), *N*-(4-metilbenzil)- (**4**), *N*-(4-nitrobenzil)- (**5**), *N*-(4-klorbenzil)- (**6**), *N*-(2-fluorbenzil)- (**13**), *N*-(3-fluorbenzil)- (**14**), *N*-(4-fluorbenzil)- (**15**), *N*-(3-trifluormetilbenzil)- (**16**), *N*-(4-trifluormetilbenzil)- (**17**), *N*-(3,5-difluorbenzil)- (**18**), *N*-(3,4-difluorbenzil)- (**19**), *N*-(2,3-difluorbenzil)- (**20**), *N*-(2,4-difluorbenzil)- (**21**), *N*-(2,6-difluorbenzil)- (**22**), *N*-(3-trifluormetoksibenžil)- (**23**), *N*-(3-trifluormetoksibenžil)- (**24**), *N*-(2-fluoro-6-trifluormetilbenzil)- (**25**), *N*-(2-fluoro-4-brombenzil)- (**26**), *N*-(2-klor-6-fluorbenzil)- (**27**). Kvaternalni derivati **25**, **26** i **27** do sada nisu opisani u literaturi.
- Pripravljene su *N*-kvaternalni derivati cinhonina: *N*-metil- (**7**), *N*-benzil- (**8**), *N*-(4-brombenzil)- (**9**), *N*-(4-metilbenzil)- (**10**), *N*-(4-nitrobenzil)- (**11**), *N*-(4-klorbenzil)- (**12**), *N*-(2-fluorbenzil)- (**28**), *N*-(3-fluorbenzil)- (**29**), *N*-(4-fluorbenzil)- (**30**), *N*-(3-trifluormetilbenzil)- (**31**), *N*-(4-trifluormetilbenzil)- (**32**), *N*-(3,5-difluorbenzil)- (**33**), *N*-(3,4-difluorbenzil)- (**34**), *N*-(2,3-difluorbenzil)- (**35**), *N*-(2,4-difluorbenzil)- (**36**), *N*-(2,6-difluorbenzil)- (**37**), *N*-(3-trifluormetoksibenžil)- (**38**), *N*-(3-trifluormetoksibenžil)- (**39**), *N*-(2-fluoro-6-trifluormetilbenzil)- (**40**), *N*-(2-fluor-4-brombenzil)- (**41**) i *N*-(2-klor-6-fluorbenzil)cinhoninijev bromid (**42**). Kvaternalni derivati **10**, **35**, **36**, **37** i **38** do sada nisu opisani u literaturi.
- Katalitičkim prijenosnim hidrogeniranjem cinhonidina i cinhonina pripravljene su 10,11-dihidrocinhonidin (**43**) i 10,11-dihidrocinhonin (**44**).
- Pripravljene su *N*-kvaternalni derivati 10,11-dihidrocinhonidina reakcijom s odgovarajućim supstituiranim benžil-bromidima: *N*-benžil- (**45**), *N*-(3-fluorbenžil)- (**46**), *N*-(4-fluorbenžil)- (**47**), *N*-(3-trifluormetilbenžil)- (**48**), *N*-(4-trifluormetilbenžil)- (**49**), *N*-(3-trifluormetoksibenžil)- (**50**) i *N*-(3-trifluormetoksibenžil)-10,11-dihidrocinhonidinijev bromid (**51**). Kvaternalni derivati **47**, **48**, **50** i **51** do sada nisu opisani u literaturi.

- Pripremljeni su *N*-kvaterni derivati 10,11-dihidrocinhonina reakcijom s odgovarajuće supstituiranim benzil-bromidima: *N*-benzil- (**52**), *N*-(3-fluorbenzil)- (**53**), *N*-(4-fluorbenzil)- (**54**), *N*-(3-trifluorometilbenzil)- (**55**), *N*-(4-trifluorometilbenzil)- (**56**), *N*-(3-trifluorometoksibenzil)- (**57**) i *N*-(3-trifluorometoksibenzil)-10,11-dihidrocinhoninijev bromid (**58**). Kvaterni derivati **53**, **54**, **57** i **58** do sada nisu opisani u literaturi.
- Reakcijom cinhonidina i odgovarajuće supstituiranih izocijanata pripremljeni su monosupstituirani C-9-karbamati: fenil- (**59**), cikloheksil- (**60**) i etil-karbat (**61**), a reakcijom cinhonidina i odgovarajućih karbamoil-klorida u prisustvu trietilamina pripremljeni su disupstituirani C-9-karbamati: dimetil- (**64**), dietil- (**65**) i difenil-karbat (**66**). Karbatni derivati **60**, **61**, **65** i **66** do sada nisu opisani u literaturi.
- Reakcijom cinhonina i odgovarajuće supstituiranih izocijanata pripremljeni su monosupstituirani C-9-karbamati fenil- (**62**) i cikloheksil- (**63**), a reakcijom cinhonina i odgovarajućih karbamoil-klorida u prisustvu trietilamina pripremljeni su disupstituirani C-9-karbamati dimetil- (**67**) i dietil- (**68**). Karbatni derivati **63** i **68** do sada nisu opisani u literaturi.
- Oksidacijom cinhonidina pripremljen je 9-oksocinhonidin (**69**) iz kojeg je zatim reakcijom s hidroksilamin-hidrokloridom pripremljen 9-hidroksiiminocinhonidin (**70**). Reakcijom 9-hidroksiiminocinhonidina i metil-jodida pripremljen je *N*-metil-9-hidroksiimino-cinhonidinijev jodid (**71**), a reakcijom 9-hidroksiiminocinhonidina i benzil-bromida pripremljen je *N*-benzil-9-hidroksiimino-cinhonidinijev bromid (**72**). Keton **69** i oksim **70** kao i kvaterni derivati **71-72** podliježu racemizaciji u otopini te je spoj **70** izoliran kao smjesa epimera (8*S*):(8*R*) u omjeru 70:30, spoj **71** u omjeru 60:40 a spoj **72** u omjeru 50:50 što je određeno ¹H NMR spektroskopijom.
- Kvaternim derivatima **1-12** određen je antimikrobni potencijal na reprezentativnom panelu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. Svi ispitani spojevi pokazali su umjerenu do jaku antimikrobnu aktivnost na testirane sojeve bakterija, osobito spoj **5** koji se pokazao aktivnijim od gentamicina. Nadalje, spojevi **1-42** su pokazali inhibitorni potencijal prema enzimima acetilkolinesterazi i butirilkolinesterazi. Kvaterni derivati cinhonidina **2**, **3**, **6**, **14** i **18** pokazali su se kao selektivni inhibitori butirilkolinesteraze

sa 100–500 puta većim afinitetom prema butirilkolinesterazi s K_i vrijednostima u rasponu od 38–100 nmol/L.

- Antiproliferativna aktivnost kvaternih derivata **3**, **5**, **7**, **8** i **12** određena je na ljudskim embrionalnim stanicama bubrega (HEK 293T) i stanicama karcinoma vrata grlića maternice (HeLa). Ispitani spojevi nisu pokazali značajan utjecaj na proliferaciju obje stanične linije osim spoja **12** koji pokazuje snažan antiproliferativni utjecaj na obje stanične linije u koncentraciji od 1 mg/mL.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

Kratica	Značenje
ACh	acetilkolin
AChE	acetilkolinesteraza
ATCC	zbirka američke kulture stanica (engl. <i>American type culture collection</i>)
BChE	butirilkolinesteraza
CSP	kiralna stacionarna faza (engl. <i>chiral stationary phase</i>)
CSA	kiralni solvatorajući reagens (engl. <i>chiral solvating agent</i>)
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DPPA	difenilfosforilazid
DMEM	Dulbeccov modificirani medij (engl. <i>Dulbecco's modified eagle's medium</i>)
EA	enantiomer analita
FTIR	infracrvena spektroskopija s Furierovom transformacijom (engl. <i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
Fmoc	fluorenilmetoksikarbonil
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. <i>high performance liquid chromatography</i>)
HRMS	spektrometrija masa visokog razlučivanja (engl. <i>high-resolution mass spectrometry</i>)
KS	kiralni selektor
LDA	litijev-diizopropilamid
PCA	analiza glavnih komponenti (engl. <i>principal component analysis</i>)
PTC	katalizator faznog prijelaza (engl. <i>phase transfer catalyst</i>)
ppm	dijelovi na milijun (engl. <i>parts per million</i>)
TLC	tankoslojna kromatografija (engl. <i>thin-layer chromatography</i>)
TMS	tetrametilsilan

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. L. Andersson i A. Antonelli, *Taxon* **54** (2005) 17-28.
2. J. Achan, A. O. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. K. Tibenderana, F. N. Baliraine, P. J. Rosenthal i U. D'Alessandro, *Malar. J.* **10** (2011) 144-156.
3. K. B. Sharpless, W. Amberg, Y. L. Bennani, G. A. Crispino, J. Hartung, K. S. Jeong, H. L. Kwong, K. Morikawa i Z. M. Wang, *J. Org. Chem.* **57** (1992) 2768-2771.
4. I. Ilisz, A. Bajtai, W. Lindner i A. Péter, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **159** (2018) 127-152.
5. L. Pasteur, *Compt. Rend.* **37** (1853) 162-166.
6. H. Wynberg; Samuel H. Wilen Ernest L. Eliel, Norman L. Allinger (ur), *Asymmetric Catalysis by Alkaloids* Wiley, New York, 1986, str. 87-129.
7. J. W. Yang; Choong Eui Song (ur), *Cinchona alkaloids in synthesis and catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2009, str. 105-129.
8. G. P. Moss, *Pure Appl. Chem.* **68** (1996) 2193-2222.
9. D. C. Warhurst, J. C. Craig, I. S. Adagu, D. J. Meyer i S. Y. Lee, *Malar. J.* **2** (2003) 26.
10. H. Park, B. Jeong, M. Yoo, M. Park, H. Huh i S. Jew, *Tetrahedron Lett.* **42** (2001) 4645-4648.
11. S. Jew, B. Jeong, M. Yoo, H. Huh i H. Park, *Chem. Commun.* **14** (2001) 1244-1245.
12. V. Derdau i S. Laschat, *J. Organomet. Chem.* **642** (2002) 131-136.
13. A. Armstrong, R. D. C. Pullin, C. R. Jenner, K. Foo, A. J. P. White i J. N. Scutt, *Tetrahedron: Asymmetry* **25** (2014) 74-86.
14. I. Busygin, V. Nieminen, A. Taskinen, J. Sinkkonen, E. Toukoniitty, R. Sillanpää, D. Y. Murzin i R. Leino, *J. Org. Chem.* **73** (2008) 6559-6569.
15. S. Diezi, A. Szabo, T. Mallata i A. Baikera, *Tetrahedron: Asymmetry* **14** (2003) 2573-2577.
16. S. Cserényi, K. Felföldi, K. Balázsik, G. Szöllösi, I. Bucsi i M. Bartók, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **247** (2006) 108-115.
17. W. Yi, X. Huang, Z. Zhang, D. Zhu, C. Cai i W. Zhang, *Beilstein J. Org. Chem.* **8** (2012) 1233-1240.
18. H. Chen, Y. Jin, R. Jiang, X. Sun, X. Li i S. Zhang, *Catal. Commun.* **9** (2008) 1858-1862.
19. N. M. Maier, S. Schefzick, G. M. Lombardo, M. Feliz, K. Rissanen, W. Lindner i K. B. Lipkowitz, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 8611-8629.
20. H. Brunner, J. Bügler i B. Nuber, *Tetrahedron: Asymmetry* **6** (1995) 1699-1702.
21. S. J. Connon, *Chem. Commun.* **22** (2008) 2499-2510.
22. Y. Wang, K. L. Milkiewicz, M. L. Kaufman, L. He, N. G. Landmesser, D. V. Levy, S. P. Allwein, M. A. Christie, M. A. Olsen, C. J. Neville i K. Muthukumaran, *Org. Process Res. Dev.* **21** (2017) 408-413.
23. P. J. Boratyński, I. Turowska-Tyrk i J. Skarzewski, *Org. Lett.* **10** (2008) 385-388.
24. H. Li, B. Wang i L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 732-733.
25. L. A. Bryant, R. Fanelli i A. J. Cobb, *Beilstein J. Org. Chem.* **12** (2016) 429-443.
26. H. Blaser, H. Jalett, W. Lottenbach i M. Studer, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 12675-12682.
27. E. Schmidt, W. Kleist, F. Krumeich, T. Mallat i A. Baiker, **16** (2010) 2181-2192.
28. H. Martin R. Hoffmann i J. Frackenpohl, *Eur. J. Org. Chem.* **2004** (2004) 4293-4312.

29. Y. Iwabuchi, M. Nakatani, N. Yokoyama i S. Hatakeyama, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 10219-10220.
30. G. Uccello-Barretta, L. Vanni, M. G. Berni i F. Balzano, **23** (2011) 417-423.
31. T. Dinio, A. P. Gorka, A. McGinniss, P. D. Roepe i J. B. Morgan, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **20** (2012) 3292-3297.
32. G. Dijkstra, R. Kellogg, H. Wynberg, J. S. Svendsen, I. Marko i K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **111** (1989) 8069-8076.
33. T. Bürgi i A. Baiker, *J. Am. Chem. Soc.* **120** (1998) 12920-12926.
34. S. E. O'Connor i J. J. Maresh, *Nat. Prod. Rep.* **23** (2006) 532-547.
35. J. E. Isaac, R. J. Robins i M. J. C. Rhodes, *Phytochemistry* **26** (1987) 393-399.
36. P. Rabe i K. Kindler, *Chem. Ber.* **51** (1918) 466-467.
37. R. B. Woodward i W. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **66** (1944) 849-849.
38. R. B. Woodward i W. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **67** (1945) 860-874.
39. A. C. Smith i R. M. Williams, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **47** (2008) 1736-1740.
40. G. Stork, D. Niu, A. Fujimoto, E. R. Koft, J. M. Balkovec, J. R. Tata i G. R. Dake, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 3239-3242.
41. F. Ishibashi i E. Taniguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **61** (1988) 4361-4366.
42. I. T. Raheem, S. N. Goodman i E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 706-707.
43. R. Stevens, *Flavour Frag. J.* **13** (1998) 424-424.
44. M. J. Bunegar, U. C. Dyer, G. R. Evans, R. P. Hewitt, S. W. Jones, N. Henderson, C. J. Richards, S. Sivaprasad, B. M. Skead, M. A. Stark i E. Teale, *Org. Process Res. Dev.* **3** (1999) 442-450.
45. T. J. Kress, R. L. Robey, J. P. Wepsiec, C. A. Alt i G. A. Rhodes WO 032878, 2002.
46. H. Knorr, G. Schlegel i H. Stark WO 95/23805, 1995.
47. H. Wakita, H. Yoshiwara, Y. Kitano, H. Nishiyama i H. Nagase, *Tetrahedron: Asymmetry* **11** (2000) 2981-2989.
48. J. Yin, X. Yang, Z. Chen i Y. Zhang, *Chin. Chem. Lett.* **16** (2005) 1448-1450.
49. T. Manimaran i A. Potter US5162576A, 1992.
50. J. Jacques i C. Fouquey, *Organic Syntheses* **67** (1988) 1-12.
51. F. Guillen, M. Rivard, M. Toffano, J.-Y. Legros, J.-C. Daran i J.-C. Fiaud, *Tetrahedron* **58** (2002) 5895-5904.
52. N. Jonas, E. Lars i B. Jan, *Chirality* **20** (2008) 47-50.
53. J. M. Brunel, *Chem. Rev.* **105** (2005) 857-898.
54. F. Toda, K. Tanaka, Z. Stein i I. Goldberg, *J. Org. Chem.* **59** (1994) 5748-5751.
55. D. Cai, D. L. Hughes, T. R. Verhoeven i P. J. Reider, *Tetrahedron Lett.* **36** (1995) 7991-7994.
56. K.-H. Kellner, A. Blasch, H. Chmiel, M. Lämmerhofer i W. Lindner, *Chirality* **9** (1997) 268-273.
57. N. Grubhofer i L. Schleith, *Sci. Nat.* **40** (1953) 508-508.
58. M. Lämmerhofer i W. Lindner, *J. Chromatogr. A* **741** (1996) 33-48.
59. W. R. Oberleitner, N. M. Maier i W. Lindner, *J. Chromatogr. A* **960** (2002) 97-108.
60. C. Hellriegel, U. Skogsberg, K. Albert, M. Lämmerhofer, N. M. Maier i W. Lindner, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 3809-3816.
61. O. Julínek, M. Urbanová i W. Lindner, *Anal. Bioanal. Chem.* **393** (2009) 303-312.
62. S. Schefzick, W. Lindner, K. B. Lipkowitz i M. Jalaie, *Chirality* **12** (2000) 7-15.
63. N. Grecsó, M. Kohout, A. Carotti, R. Sardella, B. Natalini, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter i I. Ilisz, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **124** (2016) 164-173.

64. R. Sardella, A. Macchiarulo, F. Urbinati, F. Ianni, A. Carotti, M. Kohout, W. Lindner, A. Péter i I. Ilisz, *J. Sep. Sci.* **41** (2018) 1199-1207.
65. M. Abid i B. Török, *Tetrahedron: Asymmetry* **16** (2005) 1547-1555.
66. E. Rudzińska, Ł. Berlicki, P. Kafarski, M. Lämmerhofer i A. Mucha, *Tetrahedron: Asymmetry* **20** (2009) 2709-2714.
67. E. Rudzinska-Szostak, L. Gorecki, L. Berlicki, K. Slepokura i A. Mucha, *Chirality* **27** (2015) 752-60.
68. T. C. Avila, M. M. Reginato, C. Di Vitta, L. C. Ducati, L. H. Andrade i L. Marzorati, *Tetrahedron Lett.* **57** (2016) 2152-2157.
69. G. Uccello-Barretta, F. Balzano i P. Salvadori, *Chirality* **17** (2005) 243-248.
70. J. Klein, H. Hartenstein i D. Sicker, *Magn. Reson. Chem.* **32** (1994) 727-731.
71. G. Uccello-Barretta, D. Pini, A. Mastantuono i P. Salvadori, *Tetrahedron: Asymmetry* **6** (1995) 1965-1972.
72. J. Klein i R. Borsdorf, *Fresenius J. Anal. Chem.* **350** (1994) 644-646.
73. M. J. O'Donnell, S. Wu i J. C. Huffman, *Tetrahedron* **50** (1994) 4507-4518.
74. B. Lygo i P. G. Wainwright, *Tetrahedron Lett.* **38** (1997) 8595-8598.
75. S. Jew, M. Yoo, B. Jeong, I. Y. Park i H. Park, *Org. Lett.* **4** (2002) 4245-4248.
76. D. Feng, J. Xu, J. Wan, B. Xie i X. Ma, *Catal. Sci. Technol.* **5** (2015) 2141-2148.
77. B. A. Jones, T. Balan, J. D. Jolliffe, C. D. Campbell i M. D. Smith, *Angew. Chem. Int. Ed.* **58** (2019) 4596-4600.
78. M. Moliterno, R. Cari, A. Puglisi, A. Antenucci, C. Sperandio, E. Moretti, A. Di Sabato, R. Salvio i M. Bella, *Angew. Chem. Int. Ed.* **55** (2016) 6525-6529.
79. F. Iftikhar, H. Ali i S. G. Musharraf, *RSC Advances* **9** (2019) 17551-17559.
80. P. J. Boratyński, J. Gałęzowska, K. Turkowiak, A. Anisiewicz, R. Kowalczyk i J. Wietrzyk, *ChemistrySelect* **3** (2018) 9368-9373.
81. M. S. Mulani, E. E. Kamble, S. N. Kumkar, M. S. Tawre i K. R. Pardesi, *Front. microbiol.* **10** (2019) 1-24.
82. R. Wolf, A. Baroni, R. Greco, G. Donnarumma, E. Ruocco, M. A. Tufano i V. Ruocco, *Ann. Clin. Microbiol. Antimicro.* **1** (2002) 5.
83. R. Wolf, M. A. Tufano, V. Ruocco, E. Grimaldi, E. Ruocco, G. Donnarumma i A. Baroni, *Int. J. Dermatol.* **45** (2006) 661-663.
84. X. Wang, Y. Zeng, L. Sheng, P. Larson, X. Liu, X. Zou, S. Wang, K. Guo, C. Ma, G. Zhang, H. Cui, D. M. Ferguson, Y. Li, J. Zhang i C. C. Aldrich, *J. Med. Chem.* **62** (2019) 2305-2332.
85. I. Burckhardt, J. Panitz, F. Burckhardt i S. Zimmermann, *Biomed Res Int* **2017** (2017) 4174168-4174168.
86. M. E. Skogman, J. Kujala, I. Busygin, R. Leinob, P. M. Vuorela i A. Fallarero, *Nat. Prod. Commun.* **7** (2012) 1173-1176.
87. A. Latorre-Sánchez, M. Johansson, Y. Zhang, M. Malkoch i J. A. Pomposo, *J. Mater. Chem. B* **6** (2018) 98-104.
88. M. D. Joyce, M. C. Jennings, C. N. Santiago, M. H. Fletcher, W. M. Wuest i K. P. Minbiole, *J. Antibiot. (Tokyo)* **69** (2016) 344-347.
89. A. Bosak, M. Katalinić i Z. Kovarik, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **62** (2011) 175-190.; A. Bosak, I. Primožič, M. Oršulić, S. Tomić i V. Simeon-Rudolf, *Croat. Chem. Acta* **78** (2005) 121-128.
90. E. Giacobini; E. Giacobini (ur), *Butyrylcholinesterase: its role in brain function* Martin Dunitz Ltd., London, 2003. str. 1-20.; S. Cheng, W. Song, X. Yuan i Y. Xu, *Sci. Rep.* **7** (2017) 3219-3219.

91. S. Brimijoin, V. P. Chen, Y.-P. Pang, L. Geng i Y. Gao, *Chem. Biol. Interact.* **259** (2016) 271-275.
92. V. Gupta, C. L. Cadieux, D. McMenemy, C. A. Medina-Jaszek, M. Arif, O. Ahonkhai, E. Wielechowski, M. Taheri, Y. Che, T. Goode, M. P. Limberis, M. Li, D. M. Cerasoli, A. P. Tretiakova i J. M. Wilson, *PLOS ONE* **14** (2019) e0225188.
93. S. A. Nawaz, M. Ayaz, W. Brandt, L. A. Wessjohann, B. Westermann, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **404** (2011) 935-340.; D. Karlsson, A. Fallarero, P. Shinde, C. P. Anju, I. Busygin, R. Leino, C. G. Mohan i P. Vuorela, *Nat. Prod. Commun.* **9** (2014) 455-463.
94. A. I. Vogel; A. J. Hannaford B. S. Furniss, P. W. G. Smith, A. R. Tatchell (ur), *Vogel's textbook of practical organic chemistry* Longman Scientific & Technical, Harlow, 1989, str. 395-465.
95. Z. Wang; *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, John Wiley & Sons, Inc., 2010, 1897-1900.
96. H. Struebing, Z. Ganase, P. G. Karamertzanis, E. Sioumkrou, P. Haycock, P. M. Piccione, A. Armstrong, A. Galindo i C. S. Adjiman, *Nat. Chem.* **5** (2013) 952-957.
97. P. Shah i A. D. Westwell, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **22** (2007) 527-540.
98. H. Mei, J. Han, S. Fustero, M. Medio-Simon, D. M. Sedgwick, C. Santi, R. Ruzziconi i V. A. Soloshonok, *Chem. Eur. J.* **25** (2019) 11797-11819.
99. N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* **61** (2018) 5822-5880.
100. E. P. Gillis, K. J. Eastman, M. D. Hill, D. J. Donnelly i N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* **58** (2015) 8315-8359.
101. D. Pavia i G. Lampman; Lisa Lockwood (ur), *Spectroscopy*, Thomson Learning, Boston, 2009, str. 130-135.
102. A. S. Al-Bogami, T. S. Saleh, A. E. M. Mekky i M. R. Shaaban, *J. Mol. Struct.* **1121** (2016) 167-179.
103. H. Wu i L. Hintermann, *Synthesis* **45** (2013) 888-892.
104. R. J. Robins i M. J. C. Rhodes, *Phytochemistry* **26** (1987) 551-556.
105. S. Molchanov i T. Rowicki, **122** (2018) 7832-7841.
106. A. Urakawa, D. M. Meier, H. Rüegger i A. Baiker, *J. Phys. Chem. A* **112** (2008) 7250-7255.
107. G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **7** (1961) 88-95.; M. B. Čolović, D. Z. Krstić, T. D. Lazarević-Pašti, A. M. Bondžić i V. M. Vasić, *Curr. Neuropharmacol.* **11** (2013) 315-335.
108. M. Katalinić, A. Zandona, A. Ramić, T. Zorbaz, I. Primožič i Z. Kovarik, *Molecules* **22** (2017) 1234-1247.
109. J. van Meerloo, G. J. Kaspers i J. Cloos, *Methods Mol. Biol.* **731** (2011) 237-245.
110. A. Ramić, M. Skočibušić, R. Odžak, A. Čipak Gašparović, L. Milković, A. Mikelić, K. Sović, I. Primožič i T. Hrenar, *Antibiotics* **10** (2021) 659-674.

§ 8. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Ime i prezime Alma Ramić
Datum i mjesto rođenja 06.02.1986. Rijeka
e-mail aramic@chem.pmf.hr

Radno iskustvo

Datum (od–do) 2019.–danas
Ustanova zaposlenja Zavod za organsku kemiju, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu
Radno mjesto Asistent

Datum (od–do) 2013.–2019.
Ustanova zaposlenja Genera d.d. (Dechra Pharmaceuticals PLC)
Radno mjesto Istraživač

Obrazovanje

Datum (od–do) 2014.–danas
Ustanova Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu
Studij Poslijediplomski studij kemije

Datum (od–do) 2009.–2011.
Ustanova Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu
Studij Diplomski studij kemije

Datum (od–do) 2005.–2009.
Ustanova Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu
Studij Preddiplomski studij kemije

Dodatno usavršavanje

1. rujan 2018. - studijski boravak – Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu
2. studeni 2017. – “*Human and veterinary vaccinology*“; University of Oxford, Oxford, Velika Britanija
3. ožujak 2016. – “*Characterization of humoral and cellular immune responses following mucosal vaccination*“; Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Njemačka
4. listopad 2016. – “*Flow Cytometry - From first principles to polychromatic applications*“; Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, Hrvatska
5. lipanj 2016. – XVI. International Chromatography School, Zagreb, Hrvatska
6. svibanj 2015. – “*New Platforms for Molecular Solutions in Research and Development*“; Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska

Sudjelovanje na projektima

1. „*Aktivnošću i in silico usmjeren dizajn malih bioaktivnih molekula*“, Hrvatska zaklada za znanost IP-2016-06-3775, voditelj prof. dr. sc. Tomica Hrenar, suradnica na projektu od 2017. –2021. godine
2. „*Sinteze i enzimske transformacije biološki aktivnih spojeva*“, Ministarstvo znanosti, obrazovanja i sporta, voditeljica: prof. dr. sc. Srđanka Tomić-Pisarović, izrada diplomskog rada i volontiranje, 2011. –2013. godine

Sudjelovanje u nastavi

U akademskoj godini 2011./2012. u svojstvu vanjskog suradnika sudjelovala je u provedbi praktikumske nastave iz kolegija Praktikum organske kemije 1 i 2 (preddiplomski studij kemije), a akademske godine 2014./2015. u izvođenju seminarske nastave iz kolegija Kemija prirodnih organskih spojeva (diplomski studij kemije) i Osnove kemije prirodnih organskih spojeva (integrirani studij biologija i kemija, integrirani studij fizika i kemija). Od akademske godine 2018./2019. u svojstvu asistenta sudjeluje u izvođenju seminarske nastave iz kolegija Heterociklička kemija (diplomski studij kemije) i Organska kemija 2 (integrirani studij biologije i kemije, integrirani studij fizike i kemije) te u izvođenju praktikumske nastave iz kolegija Temelji organske kemije (preddiplomski studij znanost o okolišu), Vježbe iz kemije

(diplomski studij kemije, nastavnički smjer), Organska kemija (preddiplomski studij molekularne biologije, preddiplomski studij biologije) i Praktikum organske kemije 1 (preddiplomski studij kemije).

Neposredna voditeljstva ocjenskih radova

1. Ivona Kurečić: “Priprava 9-*O*-karbamata cinhonidina i 10,11- dihidrocinhonidina“, diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2020.
2. Iva Brekalo: “Priprava i karakterizacija kiralnih derivata kinuklidin-3-ola“, diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2020.
3. Barbara Debanić: “Sinteza i karakterizacija kvaternih 10,11-dihidro derivata cinhonidina i cinhonina“, diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2020.
4. Matias Bliznac: “Otapala u organskoj sintezi“, završni rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2019.

Popis publikacija

1. A. Ramić, M. Skočibušić, R. Odžak, A. Čipak Gašparović, L. Milković, A. Mikelić, K. Sović, I. Primožič i T. Hrenar, *Antibiotics* **10** (2021) 659-674.
2. K. Sović, T. Ostojić, S. Cepić, A. Ramić, R. Odžak, M. Skočibušić, T. Hrenar i I. Primožič, *Croat. Chem. Acta* **92** (2019) 259-267.
3. M. Skočibušić, R. Odžak, A. Ramić, T. Smolić, T. Hrenar i I. Primožič, *Molecules* **23** (2018) 1212-1225.
4. A. Bosak, A. Ramić, T. Šmidlehner, T. Hrenar, I. Primožič i Z. Kovarik, *PLoS One* **1** (2018) 1-18.
5. M. Katalinić, A. Zandona, A. Ramić, T. Zorbaz, I. Primožič i Z. Kovarik, *Molecules* **22** (2017) 1324-1241.
6. I. Primožič, M. Bolant, A. Ramić i S. Tomić, *Molecules* **17** (2012) 786-795.

Sudjelovanje na znanstvenim skupovima

1. A. Mikelić, I. Primožič, A. Ramić, R. Odžak, T. Hrenar: *Machine learning-based prediction of multi-target antimicrobial activity*. Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a, Zagreb, Hrvatska, 2021.
2. A. Ramić, I. Primožič, T. Hrenar: *Characterization of Cinchona alkaloids with NMR spectroscopy*. Adriatic NMR 2020, Peroj, Hrvatska, 2020.
3. A. Ramić, T. Hrenar, A. Matošević, A. Bosak, I. Primožič: *Synthesis and evaluation of fluorinated Cinchona alkaloids as cholinesterases inhibitors*. 16th International Symposium on Cholinergic Mechanisms, Rehovot, Izrael, 2019.
4. A. Ramić, A. Matošević, A. Bosak, Z. Kovarik, T. Hrenar, I. Primožič: *Design, synthesis and characterisation of Cinchona alkaloid carbamates*. 26. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera s međunarodnim sudjelovanjem, Šibenik, Hrvatska, 2019.
5. A. Ramić, I. Primožič, K. Sović, T. Hrenar: *Conformational behavior of Cinchona alkaloids*. Adriatic NMR Conference 2019, Mali Ston, Hrvatska, 2019.
6. I. Primožič, A. Ramić, R. Odžak, M. Skočibušić, T. Hrenar: *Cinchonidines and cinchonines as antimicrobial agents*. 2nd SCI / RSC Symposium on Antimicrobial Drug Discovery, London, Velika Britanija, 2018.
7. A. Ramić, A. Radman, T. Hrenar, I. Primožič: *Characterization of oximes containing heterocyclic aromatic and/or non-aromatic substructures*. 25. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska, 2017.
8. A. Bosak, A. Ramić, T. Šmidlehner, I. Primožič, Z. Kovarik: *Design, synthesis and kinetic evaluation of cinchonines and cinchonidines as selective human butyrylcholinesterase inhibitors*. 41th FEBS Congress: Molecular and Systems Biology for a Better Life, Epheuse/Kusadasi, Turska, 2016.
9. A. Bosak, A. Ramić, T. Šmidlehner, Z. Kovarik, I. Primožič: *Cinchonines and cinchonidines as selective human butyrylcholinesterase inhibitors*. 12th International Meeting on Cholinesterases and 6th Paraaxonase Conference, Elche, Španjolska, 2015.
10. A. Ramić, I. Primožič, S. Tomić: *Synthesis and characterization of imidazole - and benzimidazole-1-trifluoroacetamides*, 23. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Osijek, Hrvatska, 2013.

11. A. Ramić, B. Prugovečki, D. Matković-Čalogović: *Priprava i strukturna karakterizacija kompleksa bakra (II) s 2, 2'-bipiridinom*, 22. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Zagreb, Hrvatska, 2011.

Dodatne aktivnosti

Sudjelovanje u manifestaciji “Otvoreni dan kemije“ 2021. godine.

Članstva u stručnim organizacijama

Hrvatsko kemijsko društvo