

Totalna sinteza halogeniranih derivata marinoaziridina

Renić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:580416>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-22**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijски odsjek

Marija Renić

TOTALNA SINTEZA HALOGENIRANIH DERIVATA MARINOAZIRIDINA

Diplomski rad

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

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za stereoselektivnu katalizu i biokatalizu, Zavoda za organsku kemiju i biokemiju, Instituta Ruđer Bošković pod mentorstvom dr. sc. Marina Roje, v. znan. sur i neposrednim voditeljstvom mag. chem. Anđele Buljan. Nastavnik imenovan od strane Kemijskog odsjeka je doc. dr. sc. Đani Škalamera.

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta *Bioprospecting Jadranskog mora* (KK.01.1.01.0002), Znanstveni centar izvrsnosti za Bioprospecting mora – BioProCro, voditeljica projekta: dr. sc. Rozelindra Čož-Rakovac.

Zahvale

Veliko hvala mentoru dr. sc. Marinu Roji na pruženoj prilici i pomoći prilikom izrade diplomskog rada. Hvala na mogućnosti rada na brojnim instrumentima, s raznim aparaturama i kemikalijama te na svakom savjetu, podršci, razumijevanju i udjeljivanju znanja.

Zahvaljujem neposrednoj voditeljici Anđeli Buljan, mag. chem. što je uvijek bila tu kadgod je nešto zatrebalo. Hvala na nesebičnom dijeljenju znanja i vještina te potpunoj predanosti prilikom izrade ovoga rada.

Zahvaljujem nastavniku dr. sc. Đaniju Škalameri na podršci i brojnim savjetima. Hvala na svojoj brizi da svi formulari, molbe te prijave teme budu predani na vrijeme.

Zahvaljujem svim kolegama iz Laboratorija za stereoselektivnu katalizu i biokatalizu na ugodnoj radnoj atmosferi te svakoj pomoći i savjetu.

Hvala cijeloj ekipi Znanstvenih čarolija na prekrasnim uspomnama tokom studiranja.

Zahvaljujem svojoj dragoj obitelji na neizmjerljivoj podršci, ljubavi i vjeri. Hvala mojim roditeljima što su mi uvijek bili oslonac i što su vjerovali u mene. Hvala braći i sestrama na svakodnevnom nasmijavanju i bodrenju, posebno onda kada bi se stvari zakomplicirale.

Zahvaljujem svojim dragim prijateljima na svom prekrasno utrošenom zajedničkom vremenu. Hvala na svim kavama, zajedničkim učenjima, putovanjima, izlascima itd. Uz vas su studentski dani bili još ljepši.

Gratias Tibi ago pro omnes.

Sadržaj

SAŽETAK.....	IX
ABSTRACT	XI
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Totalna sinteza.....	3
2.2. Aziridini	5
2.2.1. <i>Kemija aziridina.....</i>	5
2.2.2. <i>Sinteza aziridina.....</i>	6
2.2.2.1. <i>Adicija nitrena ili nitrenoida na alkene.....</i>	7
2.2.2.2. <i>Sinteza aziridina ciklizacijom.....</i>	8
2.2.2.3. <i>Reakcija imina s karbenima, karbenoidima ili ilidima.....</i>	9
2.2.3. <i>Biološka aktivnost aziridina.....</i>	12
2.3. Kiralna tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti	13
2.3.1. <i>Podjela kiralnih nepokretnih faza.....</i>	15
2.3.2. <i>Mehanizam kiralnog prepoznavanja.....</i>	17
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	19
3.1. Materijali i metode.....	19
3.2. Priprava kinolinonske sulfonijeve soli (6).....	21
3.2.1. <i>Priprava N-metil-N-fenilacetoacetanilida (1).....</i>	21
3.2.2. <i>Priprava 1,4-dimetilkinolin-2(1H)-ona (2).....</i>	21
3.2.3. <i>Priprava 1-metilkinolin-2(1H)-on-4-karbaldehida (3)</i>	22
3.2.4. <i>Priprava 4-hidroksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona (4)</i>	23
3.2.5. <i>Priprava 4-brommetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona (5).....</i>	24
3.2.6. <i>Priprava dimetil((1-metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijeve triflate (6).....</i>	25
3.3. Priprava N-tosil imina (7a-7h)	26
3.3.1. <i>Priprava N-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida (7a).....</i>	27
3.3.2. <i>Priprava N-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7b)</i>	27
3.3.3. <i>Priprava N-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7c).....</i>	28
3.3.4. <i>Priprava N-(3-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7d).....</i>	28
3.3.5. <i>Priprava N-(2-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7e).....</i>	29
3.3.6. <i>Priprava N-(2,6-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7f)</i>	29
3.3.7. <i>Priprava N-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7g).....</i>	30

3.3.8. Priprava <i>N</i> -(2,4,5-trifluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7h).....	31
3.4. Priprava racemičnih derivata marinoaziridina (8a-8h)	32
3.4.1. Priprava (±)-1-metil-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (8a)	33
3.4.2. Priprava (±)-4-(3-(4-klorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (8b).....	34
3.4.3. Priprava (±)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (8c).....	35
3.4.4. Priprava (±)-4-(3-(3-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (8d).....	36
3.4.5. Priprava (±)-4-(3-(2-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (8e).....	37
3.4.6. Priprava (±)-4-(3-(2,6-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (8f)	38
3.4.7. Priprava (±)-4-(3-(3,4-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (8g).....	39
3.4.8. Priprava (±)-1-metil-4-(1-tosil-3-(2,4,5-trifluorfenil)aziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (8h).....	40
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	41
4.1. Uvod	41
4.2. Priprava akiralne kinolinonske sulfonijeve soli (6).....	43
4.3. Priprava <i>N</i> -tosil zaštićenih imina (7a-7h)	48
4.4. Priprava racemičnih derivata marinoaziridina (8a-8h)	50
4.5. Razdvajanje racemičnih derivata marinoaziridina (8a-8h)	52
§ 5. ZAKLJUČAK	60
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	62
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	64
§ 8. DODATAK.....	XV
§ 9. ŽIVOTOPIS	XXVIII



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

TOTALNA SINTEZA HALOGENIRANIH DERIVATA MARINOAZIRIDINA

Marija Renić

U sklopu diplomskog rada razvijena je metoda sinteze halogeniranih derivata marinoaziridina. Strukturni derivati **8a-8h** pripremljeni su reakcijom različito supstituiranih *N*-tosil imina **7a-7h** i akiralne 2-kinolinonske sulfonijeve soli **6** u prisustvu baze, kao smjese *cis* i *trans* izomera u dobrom iskorištenju. Ispitan je utjecaj baze, temperature i iminskog supstituenta na iskorištenje i dijastereoselektivnost reakcije. Uočeno je da baza nema bitan utjecaj na dijastereoselektivnost aziridacije. Dijastereoselektivnost reakcije je različita i ovisna je o iminskom supstituentu. U većini slučajeva prevladava *trans* izomer, dok je neobična *cis* dijastereoselektivnost uočena kod derivata **8d**. U drugom dijelu istraživanja ispitani su uvjeti odjeljivanja enantiomera novosintetiziranih spojeva na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama temeljenim na derivatima amiloze i celuloze primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije. *Chiral ART Cellulose SC* nepokretna faza sa selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamat) celulozom pokazala se najboljim izborom u odjeljivanju enantiomera, ali i u odjeljivanju *cis* i *trans* izomera.

(66 + xxviii stranica, 9 slika, 23 shema, 8 tablica, 53 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

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

Ključne riječi: enantiomeri, dijastereoizomeri, 2-kinolinoni, marinoaziridini, *N*-tosil imini, sumporovi ilidi, totalna sinteza

Mentor: dr. sc. Marin Roje, v. znan. sur.

Neposredni voditelj: Anđela Buljan, mag. chem.

Nastavnik (imenovan od strane Kemijskog odsjeka): doc. dr. sc. Đani Škalamera

Ocjenitelji:

1. doc. dr. sc. Đani Škalamera
2. izv. prof. dr. sc. Ivica Đilović
3. doc. dr. sc. Adriana Kendel

Zamjena: doc. dr. sc. Nikola Cindro

Datum diplomskog ispita: 16. srpnja 2021.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

TOTAL SYNTHESIS OF HALOGENATED MARINOAZIRIDINE DERIVATIVES

Marija Renić

In this thesis, a method of synthesis of halogenated marinoaziridine derivatives was developed. Structural derivatives **8a-8h** were prepared by reaction of variously substituted *N*-tosyl imines **7a-7h** and achiral 2-quinolinone sulfonium salt **6** in the presence of a base, as a mixture of *cis* and *trans* isomers in good yield. The effect of base, temperature and imine substituent on the yield and diastereoselectivity of the reaction was investigated. It was observed that the base had no significant effect on the diastereoselectivity of aziridination. The diastereoselectivity of the reaction is different and depends on the imine substituent. In most cases, the *trans* isomer predominates, while unusual *cis* diastereoselectivity was observed in derivative **8d**. In the second part of this research, the conditions of enantioseparation of newly synthesized compounds on polysaccharide chiral stationary phases based on amylose and cellulose derivatives were investigated using high performance liquid chromatography. *Chiral ART Cellulose SC* stationary phase with selector cellulose *tris*-(3,5-dichlorophenylcarbamate) proved to be the best choice in the enantioseparation, but also in the separation of *cis* and *trans* isomers.

(66 + xxviii pages, 9 figures, 23 schemes, 8 tables, 53 references, original in Croatian)

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

Keywords: enantiomers, diastereoisomers, marinoaziridine, *N*-tosyl imine, 2-quinolinone, sulfonium ylides, total synthesis

Mentor: Dr. Marin Roje, Senior Research Associate

Assistant mentor: Anđela Buljan, mag. chem.

Supervisor (appointed by the Department of Chemistry): Dr. Đani Škalamera, Assistant Prof.

Reviewers:

1. Dr. Đani Škalamera, Assistant Professor
2. Dr. Ivica Đilović, Associate Professor
3. Dr. Adriana Kendel, Assistant Professor

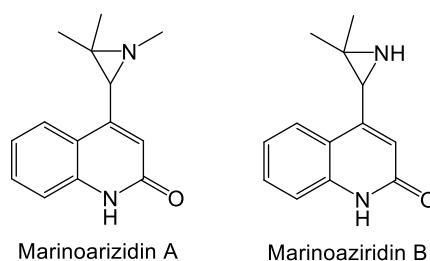
Substitute: Dr. Nikola Cindro, Assistant Professor

Date of exam: 16th July 2021

§ 1. UVOD

Među prirodnim ekosustavima, morsko stanište većinom je neistraženo područje koje predstavlja zanimljivu lokaciju istraživanja znanstvenika za otkrivanje novih bioaktivnih molekula.¹ Veliki broj prirodnih spojeva izoliranih iz morskih organizama pokazuje bioaktivna svojstva i na taj način dobar su trag u otkrivanju lijekova, ali njihova dostupnost i iskoristivost je vrlo ograničena.² Bioprospecting kao novi koncept održivog korištenja biološke raznolikosti daje poticaj za očuvanjem prirodnih resursa primjenom novih analitičkih metoda i protokola za izolaciju i obogaćivanje morskih biomolekula i biomaterijala.³

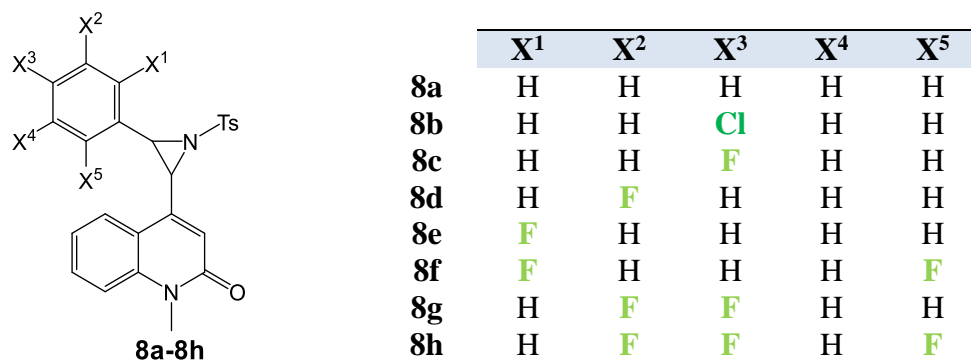
Kao proizvod Bioprospectinga su marinoaziridini A i B (slika 1), kiralni alkaloidi nedavno izolirani iz Gram negativnih bakterija reda *Cytophagales* morskog sedimenta.⁴ U svojoj strukturi sadrže zanimljivi aziridinski i 2-kinolinonski farmakofor često prisutan u prirodnim bioaktivnim i sintetskim farmaceutskim molekulama.^{5,6} Temeljem vrlo ograničenih bioloških ispitivanja na *Pontibacillus sp.* i *V. shiloi* utvrđeno je da marinoaziridini A i B ne pokazuju antibiotsko djelovanje.⁴



Slika 1. Strukturne formule novootkrivenih prirodnih spojeva, Marinoaziridina A i B.⁴

U Laboratoriju za stereoselektivnu katalizu i biokatalizu Instituta Ruđer Bošković, provedene su računalne studije na temelju kojih su dizajnirani strukturni derivati marinoaziridina **8a-8h** (slika 2) s potencijalno boljim bioaktivnim svojstvima. Ciljne molekule retrosintetski su razrađene te je predloženo nekoliko sintetskih protokola za njihovu pripravu. Predmet istraživanja ovog diplomskog rada bio je ispitati mogućnosti jednog od sintetskih puteva koji se temelji na aziridinaciji odgovarajućih *N*-tosil imina korištenjem sumporovih ilida izvedenih iz sumporovih soli u prisustvu baze. Predložena sinteza rezultirala je totalnom sintezom

derivata marinoaziridina **8a-8h** te su također dobivena i vrijedna saznanja o postupcima pripreve i dijastereoselektivnosti reakcije.



Slika 2. Strukturne formule derivata marinoaziridina **8a-8h**.

U drugom dijelu ovog diplomskog rada ispitani su uvjeti odjeljivanja enantiomera novosintetiziranih derivata marinoaziridina **8a-8h** na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama utemeljenim na derivatima amiloze i celuloze primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti. Određeni su kromatografski parametri: faktor zadržavanja enantiomera k_1 i k_2 , separacijski faktor α i razlučivanje enantiomera R_s .

§ 2. LITERATURNI PREGLED

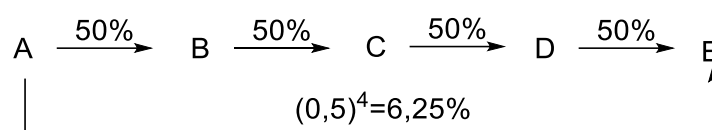
2.1. Totalna sinteza

Totalna sinteza podvrsta je organske sinteze koja podrazumijeva kemijsku sintezu ciljne molekule (CM) iz relativno jednostavnih i jeftinih početnih reagensa dostupnih u laboratoriju.⁷ Struktura ciljne molekule najčešće je složena struktura prirodnog spoja, koja nakon provedene sinteze svoju primjenu pronalazi u područjima znanosti, tehnologije i/ili svakodnevnog života poput lijekova, boja, kozmetike i slično.^{7,8}

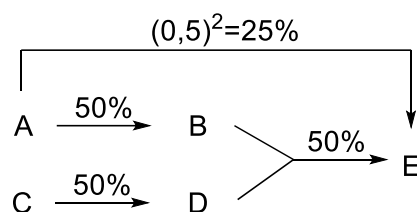
Predviđeni algoritam totalne sinteze sadrži četiri osnovna koraka.⁸ U prvom koraku potrebno je odabrati ciljnu molekulu, zatim se napravi retrosintetski pristup molekuli kojem slijedi odabir reagensa te konačno eksperimentalna izvedba samog sintetskog puta. Jedan od najvažnijih koraka je retrosinteza. Retrosinteza je misaoni proces u kojem se neka ciljna molekula rastavlja na jednostavnije strukture ili sintone. „Alati“ koji se koriste prilikom retrosintetske analize su diskonekcija veze (DIS), interkonverzija funkcijske skupine (IFS), adicija funkcijske skupine (AFS), eliminacija funkcijske skupine (EFS) te rekonekcija (RKN).^{7,8,9}

Postoje različiti načini izvedbe totalne sinteze, pri čemu razlikujemo linearnu, konvergentnu ili divergentnu sintezu.⁹ Linearna sinteza je postupak kemijske sinteze u kojem se niz reakcija linearne transformacije koristi za prevođenje reaktanata u konačan produkt. Ovaj postupak sinteze opisuje najduži put za pripremu ciljne molekule pa je stoga rezultirajući prinos niži zbog gubitka spojeva koji nastaju tijekom cijelog procesa. Ukupni prinos opada svakim korakom reakcije. Primjerice, ako imamo sintetski put $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D \rightarrow E$ te pretpostavimo da je iskorištenje svakog sintetskog koraka 50 %, ukupno iskorištenje iznosilo bi 6,25 % (Shema 1a). Kako bi se poboljšalo iskorištenje reakcije može se pristupiti konvergentnoj ili divergentnoj sintezi. U konvergentnoj sintezi nekoliko fragmenata ciljne molekule sintetizira se zasebno te se u završnom koraku odabirom dobrih uvjeta i/ili varijacijom istih, spajaju u željenu (ciljnu) molekulu. Primjerice, ako imamo $A \rightarrow B$; $C \rightarrow D$; $B + D \rightarrow E$ te pretpostavimo da je iskorištenje svakog sintetskog koraka 50 %, ukupno iskorištenje reakcije iznosilo bi 25 % (shema 1b).^{9,10}

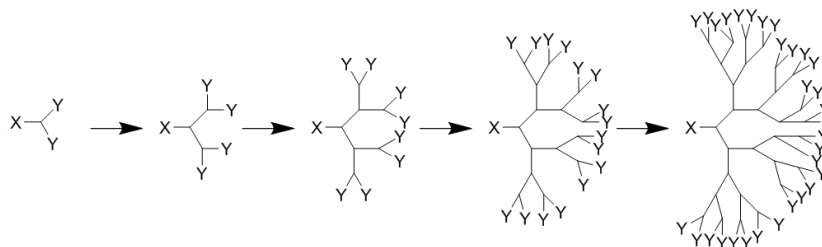
a)



b)

Shema 1. Usporedba ukupnih iskorištenja: a) linearne, b) konvergentne sinteze.¹⁰

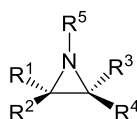
U divergentnoj sintezi, reaktant reagira s određenim brojem molekula stvarajući tako prvu generaciju spojeva koja potom reagira s drugim skupom molekula. Jedan od dobrih primjera divergentne sinteze je priprava dendrimera prikazana na shemi 2.¹¹

Shema 2. Divergentna sinteza dendrimera.¹¹

2.2. Aziridini

2.2.1. Kemija aziridina

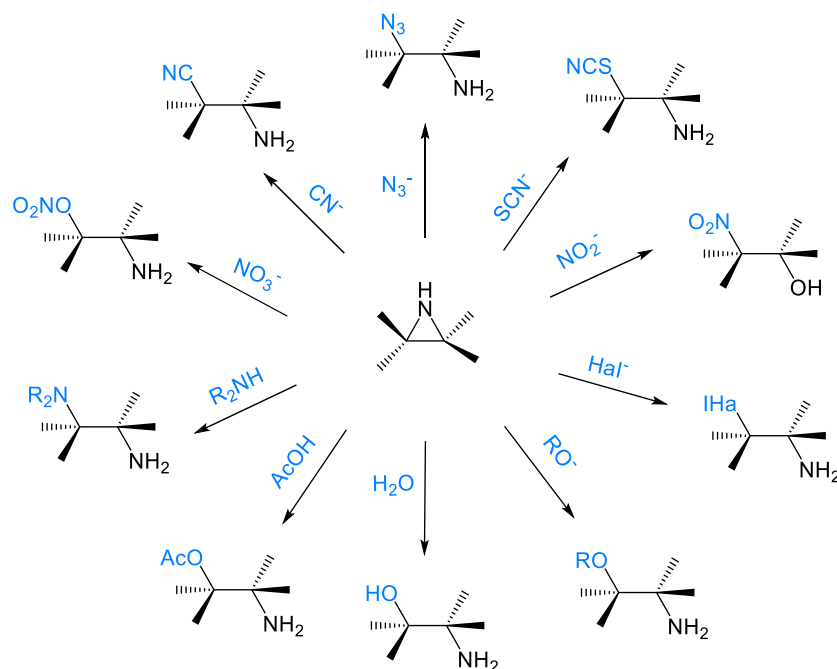
Aziridini, poznati još i kao azaciklopropani, najmanji su heterociklički spojevi koji sadrže jedan atom dušika (Slika 3).^{12,13} Ovu klasu spojeva svrstajemo u skupinu amina, točnije cikličkih amina.¹³ Najjednostavniji aziridin, etilenimin, prvi put je zabilježen 1888. godine kao produkt Gabrielove sinteze.¹⁴ U odnosu na alifatske sekundarne amine ($pK_a = 11$), aziridini su manje bazični spojevi ($pK_a = 7,98$) zbog povećanog *s* karaktera neveznog elektronskog para na atomu dušika.¹⁵



Slika 3. Općenita strukturalna formula aziridina.

Obzirom na izraženu polarnost uzrokovanu dušikovim atomom, danas se aziridini smatraju vrlo reaktivnim spojevima.¹⁶ Osim dušikovog atoma, na reaktivnost utječe i rigidnost strukture. Tročlani prsten, zbog velike kutne napetosti (kutovi $\sim 60^\circ$) koja je procjenjena na oko 111 kJ mol^{-1} za etilenimin, posjeduje tendenciju prema pucanju veze i otvaranju prstena.¹⁷ Zbog svega navedenog, kemijom aziridina dominiraju reakcije otvaranja prstena (Shema 3) te cikloadicijske reakcije s dipolarofilima.^{17,18}

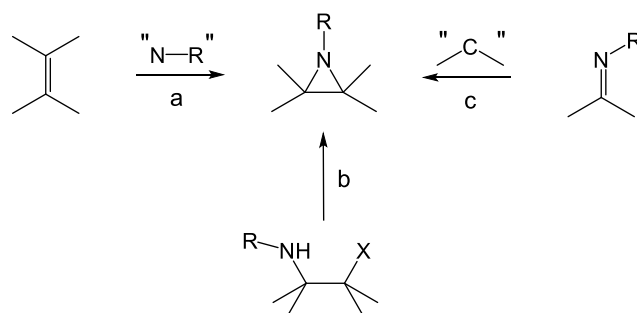
Kemijskim transformacijama prstena omogućena je regio- i stereoselektivna sinteza spojeva različite funkcionalnosti što ih čini iznimno zanimljivim građevnim blokovima i korisnim međuproduktima u sintetskoj organskoj kemiji.¹⁵



Shema 3. Pregled mogućih nukleofilnih reakcija otvaranja aziridinskog prstena.^{17,18}

2.2.2. Sinteza azirdina

Uslijed biološke važnosti aziridina kao farmakofora, razvijene su različite sintetske metode za njihovu pripravu. Aziridini se mogu pripremiti a) adicijom nitrena ili nitrenoida na alkene, b) intramolekulskom ciklizacijom te c) adicijom karbena ili karbenoida na imine (Shema 4).¹⁹



Shema 4. Pregled osnovnih metoda sinteze aziridina.¹⁹

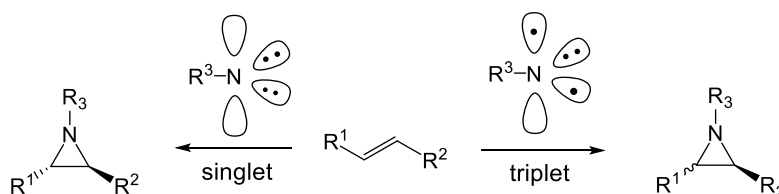
2.2.2.1. Adicija nitrena ili nitrenoida na alkene

Nitreni su reaktivni intermedijeri koji pronalaze široku primjenu u organskoj kemiji. Ovisno o elektronskoj konfiguraciji mogu postojati kao tripletni ili singletni nitreni; obje vrste su vrlo reaktivne. Singletni nitreni se u reakcijama ponašaju kao nukleofili/elektrofilni, vrlo često u usklađenim reakcijama, dok se tripletni nitreni ponašaju kao biradikali.²⁰ Unutar ovog područja postoje dva općenita pristupa ovisno da li se reakcija provodi u jednom ili dva koraka. Nitreni ili metalonitreni reagiraju s alkenima u jednom stupnju, dok nemetalni nitrenoidi reagiraju u dva koraka kroz adicijsko-eliminacijski mehanizam.⁶

Do sada su poznate različite metode za generiranje nitrena ili nitrenoida u reakcijama:²¹

- termolitički ili fotolitički raspad organskih azida
- bazno inducirana α -eliminacija metalnih halida iz metalnih *N*-arensulfonil-*N*-haloamida
- oksidacija primarnih amina
- metalom katalizirana reakcija [*N*-(alkan/arensulfonil)imino]ariljodana
- α -eliminacija HX molekule iz amina ili amida s elektronegativnim atomom (X = O, halogen) na amino skupini

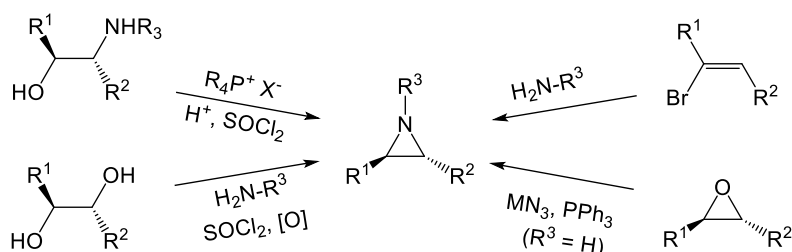
Termolitički ili fotolitički raspad azida uvijek dovodi do nastajanja smjese reaktivnijeg singletnog i stabilnijeg tripletnog nitrena. Na primjeru reakcije prikazane na shemi 5, može se uočiti kako multiplicitet nitrena utječe na stereoselektivnost reakcije. U reakciji alkena s nitrenom u singletnom stanju nastaje stereospecifičan produkt usklađenim mehanizmom zadržavajući prostorni odnos skupina kao kod alkena (*trans* alken dat će *trans* aziridin), dok tripletni nitreni ne reagiraju stereospecifično, nastaje međuprodukt biradikal, kod kojeg može doći do rotacije oko C-C veze.²¹



Shema 5. Reakcije alkena sa singletnim i tripletnim stanjem nitrena.²¹

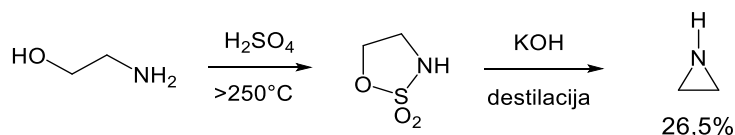
2.2.2.2. Sinteza aziridina ciklizacijom

Na shemi 6 prikazane su najčešće reakcije dobivanja aziridina intramolekulskom ciklizacijom.^{20,22}



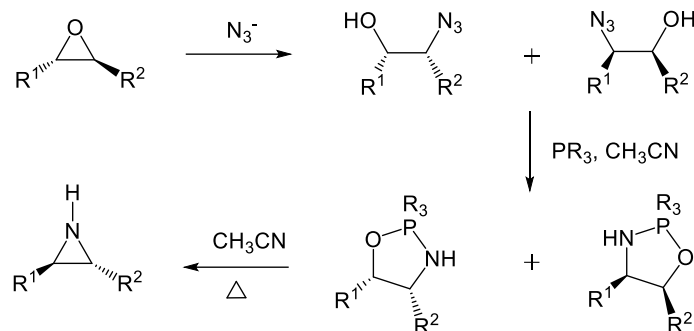
Shema 6. Najčešće reakcije dobivanja aziridina intramolekulskom ciklizacijom.

Prva opisana sinteza aziridina bila je Gabrielova slučajna sinteza aziridina iz 1888. koja se sastojala iz kloriranja etanolamina tionil kloridom i bazne inducirane ciklizacije.¹⁴ Wenker je 1935. godine opisao sintezu aziridina polazeći iz etanolamina i sumporne kiseline (shema 7).²³ U nastavku su razvijene različite metode aktivacije hidroksilne skupine u Mitsunobi uvjetima.²⁴



Shema 7. Wenkerova sinteza aziridina iz aminoalkohola.²⁴

Staudingerova sinteza aziridina iz enantiomerno čistih epoksida prikazana je na shemi 8. U prvom koraku reakcije epoksidi se regioselektivno otvaraju u 1,2-azidoalkohole, koji djelovanjem trifenilfosfina prelaze u oksazafosfolidine, peteročlane dijastereoizomerne međuprodukte koji zagrijavanjem u acetonitrilu cikliziraju u aziridine.²⁵

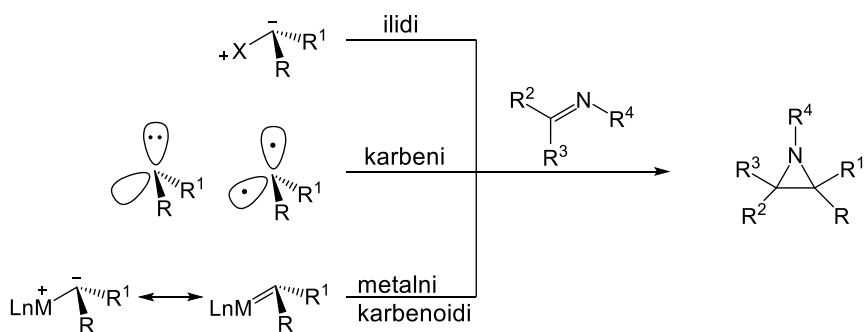


Shema 8. Stereoselektivna sinteza aziridina iz enantiomerno čistih epoksida.²⁵

2.2.2.3. Reakcija imina s karbenima, karbenoidima ili ilidima

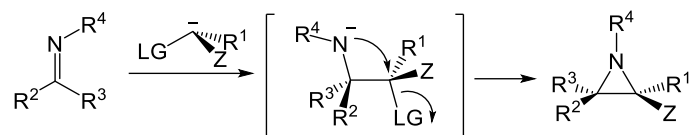
Posebno proučavana metoda sinteze aziridina je reakcija adicije karbena ili odgovarajućih karbenoida na imine.⁶ Ovo područje može se podijeliti na (shema 9):

- reakciju imina s α -haloenolatima (aza-Darzens reakcija)
- reakcija imina s karbenima
- reakcija imina s ilidima



Shema 9. Priprava aziridina u reakciji imina s ilidima, karbenima ili metalnim karbenoidima.⁶

Aza-Darzensova reakcija je reakcija između imina sa stabiliziranim anionima koji u α -položaju imaju dobru izlaznu skupinu.⁶ Anion može biti stabiliziran s velikim brojem supstituenta (Z) poput karbonilnih, heterocikličkih, etilnih, benzilnih skupina, dok su izlazne skupine (LG) uglavnom halogenidi. Mehanizam reakcije odvija se u dva koraka. U prvom koraku dolazi do nukleofilnog napada na C = N vezu imina, pri čemu slijedi intramolekulska ciklizacija i nastanak aziridina (shema 10).¹⁹

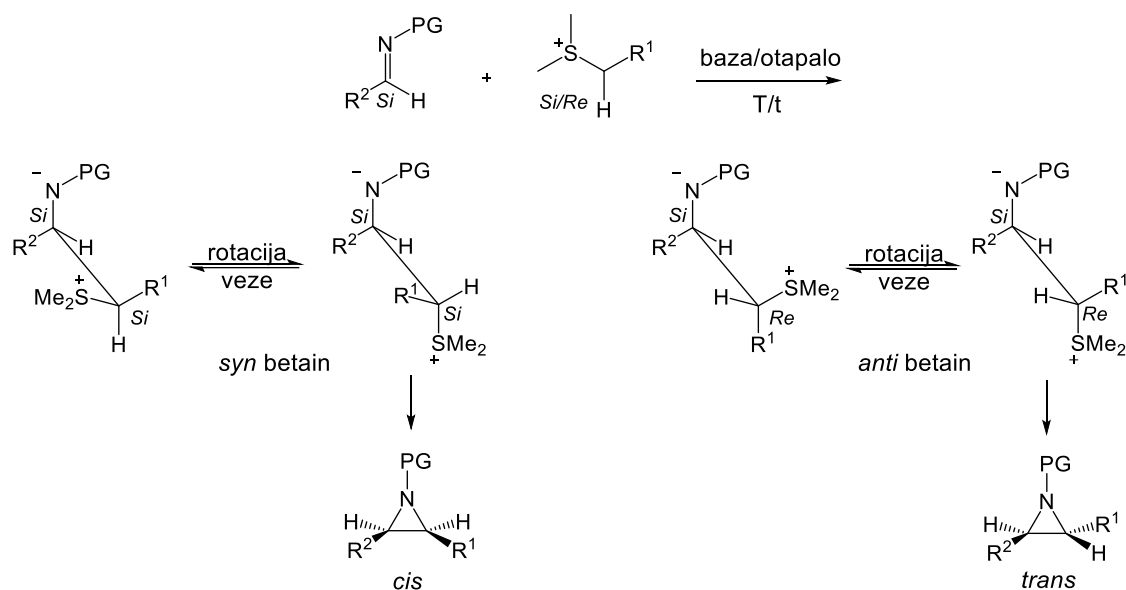
Shema 10. Aza-Darzensova reakcija priprave azirdina.¹⁹

U području adicije karbena na imine, izvor karbena obično su diazo-spojevi, najčešće etil-diazoacetat. Kao promotori reakcije koriste se Lewisove ili Brønstedove kiseline te kompleksi prijelaznih metala, pri čemu nastaju aziridinski karboksilati u dobrom iskorištenju.²¹

Za ovaj rad, od iznimne važnosti je sinteza aziridina korištenjem sumpornih ilida koja se počela razvijati 1996. g. Među prvima Dai²⁶ je sa suradnicima opisao reakciju akiralne alilsulfonijeve soli s aromatskim *N*-tozilaziridinima. U nastavku, Aggarwal i suradnici²⁷ razvili su protokol za katalitičku stereoselektivnu aziridiniciju imina korištenjem kiralnog sulfida. Ruano i suradnici²⁸ opisali su supstratom kontroliranu stereoselektivnu aziridiniciju enantiomerno čistih sulfinilimina dimetilsulfoksonijevim supstratom. U Laboratoriju za stereoselektivnu katalizu i biokatalizu Instituta Ruđer Bošković 2003. godine u suradnji s A. Solladie-Cavallo sa Sveučilišta Louis Pasteur u Strasbourgu, provedena je stereoselektivna sinteza *N*-tozil-2,3-disupstituiranih aziridina iz *N*-tozil-imina i benzil-sulfonijeve soli izvedene iz Elielovog oksatiana uz vrlo visoku enantioselektivnost (> 99 %). Kao baza za generiranje ilida korištena je fosfazenska baza, EtP₂. Kao produkti dobiveni su *cis/trans* smjese aziridina pri čemu je dijastereoselektivnost ovisna o iminskom supstituentu. U slučaju *tert*-butilnog supstituenta postignuta je potpuna *cis* selektivnost.²⁹

Mehanizam aziridinicije imina sumpornim ilidima sastoji se od dva koraka. U prvom koraku dolazi do adicije sulfonijevego ilida na imin, pri čemu mogu nastati dva dijastereoizomerna betaina *syn* i *anti*, dok u drugom koraku dolazi do eliminacije sulfida i zatvaranja prstena. Budući da u koraku nukleofilne adicije sulfonijevego ilida na imin mogu biti uključene *Si* i *Re* strane imina i ilida, moguća su četiri nukleofilno-adicijska ishoda (*Si-Si*, *Si-Re*, *Re-Si*, *Re-Re*). Na shemi 11 prikazana je adicija *Si/Re* strane ilida na *Si* stranu imina, vidljivo je kako u slučaju *Si-Si* ishoda dolazi do nastanka *syn* betaina te konačnog nastanka *cis* aziridina. S druge strane, u slučaju *Si-Re* ishoda dolazi do nastanka *anti* betaina i konačnog nastanka *trans* aziridina. U slučaju stabiliziranih ilida ($R^1 = \text{COOMe}, \text{CO}_2\text{NEt}_2$), nastajanje betaina je

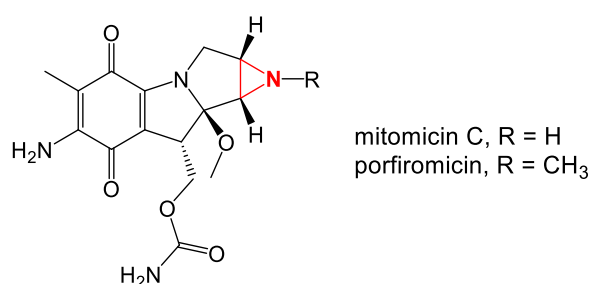
reverzibilan korak te će zadnji korak, ciklizacija, određivati dijastereselektivnost reakcije, pri čemu prevladava nastajanje *trans* aziridina. U slučaju polustabiliziranih ilida (R^1 = aril, alkenil), korak nastanka betaina je ireverzibilan te će sterički utjecaj supstituenata na iminu određivati dijastereselektivnost reakcije i prevladavat će nastanak *cis* aziridina.^{19,29,30}



Shema 11. Nastajanje *cis* i *trans* izomera aziridina. (PG=zaštitina skupina).¹⁹

2.2.3. Biološka aktivnost aziridina

Aziridini su primarno toksični spojevi,³¹ no mnogi od njih u literaturi poznati su po biološkoj aktivnosti. Među najpoznatijim predstavnicima bioaktivnih aziridina su mitomicin C i porfiromicin prikazani na slici 4.³² Opisani spojevi, koriste se u medicini kao kemoterapijska sredstva. Mehanizam djelovanja mitomicina C bazira se na nukleofilnom napadu dušične baze gvanina molekule DNA na azirdinski prsten, pri čemu slijedi otvaranje prstena i stvaranje kovalentne veze između dušične baze i mitomicina C. To uzrokuje pucanje lanca molekule DNA što konačno inhibira replikaciju DNA, a time i umnažanje stanica raka.^{31,32}



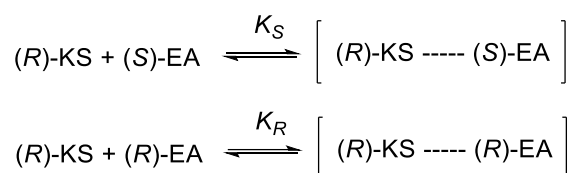
Slika 4. Strukturna formula kemoterapeutika mitomicina C i porfiromicina.³¹

Aziridini su važni heterociklički spojevi, visoko rasprostranjeni u sintezi brojnih lijekova i biološki aktivnih prirodnih spojeva i njihovih derivata. Mnogi alkaloidi s aziridinskim prstenom posjeduju antikancerogena i antibakterijska svojstva, što upućuje na to da je postojanje aziridnskog prstena u strukturama takvih molekula ključno za njihova bioaktivna svojstva.^{31,32}

2.3. Kiralna tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Kiralna tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti široko je rasprostranjena metoda u farmaceutskoj industriji. Pri istraživanju i razvoju novog lijeka, enantioselektivne kromatografske metode koriste se za kontrolu enantiomerne čistoće, provjeru procesa racemizacije te za stereoselektivna farmakološka ispitivanja.³³

Metoda se temelji na odjeljivanju enantiomera na kiralnim nepokretnim fazama (KNF). Kiralna nepokretna faza sastoji se od enantiomerno obogaćenog spoja (kiralnog selektora, KS) adsorbiranog ili kovalentno vezanog na inertnu podlogu (najčešće silikagel). Interakcijom selektora i para enantiomera analita (EA) nastaju dijastereomerni kompleksi različite stabilnosti (shema 12):³³



Shema 12. Nastajanje dijastereoizomernih kompleksa između selektora i para analita.³³

Kako bi se postiglo odjeljivanje enantiomera, razlike slobodnih energija ($\Delta G = -RT \ln K$) dijastereomernih kompleksa moraju biti dovoljno velike. Enantiomer koji stvara stabilniji dijastereomerni kompleks dulje će se zadržavati na koloni, a manje stabilan kompleks zadržava se kraće i prvi se ispire s kolone.^{33,34}

Svako kromatografsko odjeljivanje temelji se na uspostavljanju ravnoteže između analita u pokretnoj i nepokretnoj fazi. Neki od parametara koji se određuju su faktor zadržavanja (k), broj teorijskih tavana (N), faktor odjeljivanja (α) te razlučivanje (R_s).³⁵ Faktor zadržavanja (k) izražava se prema prikazanoj jednadžbi, pri čemu t_M označava mrtvo vrijeme, a t_R koliko dugo se analit zadržava na koloni u odnosu na mobilnu fazu. Uobičajeni raspon faktora zadržavanja pri kojemu se postiže dobro odjeljivanje analiziranih spojeva je 1-5. Ukoliko je $k < 1$ tada se spoj eluira prebrzo, a ukoliko je $k > 5$ vrijeme zadržavanja analita je predugo.³⁵

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (1)$$

Broj teorijskih tavana (N) opisuje kvalitetu odvajanja sastojaka na koloni te se izražava pomoću sljedeće jednačbe, pri čemu w_b označava širinu kromatografskog pika, a w_h širinu pika na polovici visine pika:³⁵

$$N = 16 \times \left(\frac{t_R}{w_b}\right)^2 = 5,545 \times \left(\frac{t_R}{w_b}\right)^2 \quad (2)$$

Faktor odjeljivanja (α) izražava selektivnost kromatografske kolone te je po definciji njegova vrijednost uvijek veća od 1. Kolona je selektivnija što je faktor odjeljivanja veći, odnosno što su vremena odjeljivanih sastojaka različitija i izražava se prema sljedećoj jednačbi:³⁵

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M} \quad (3)$$

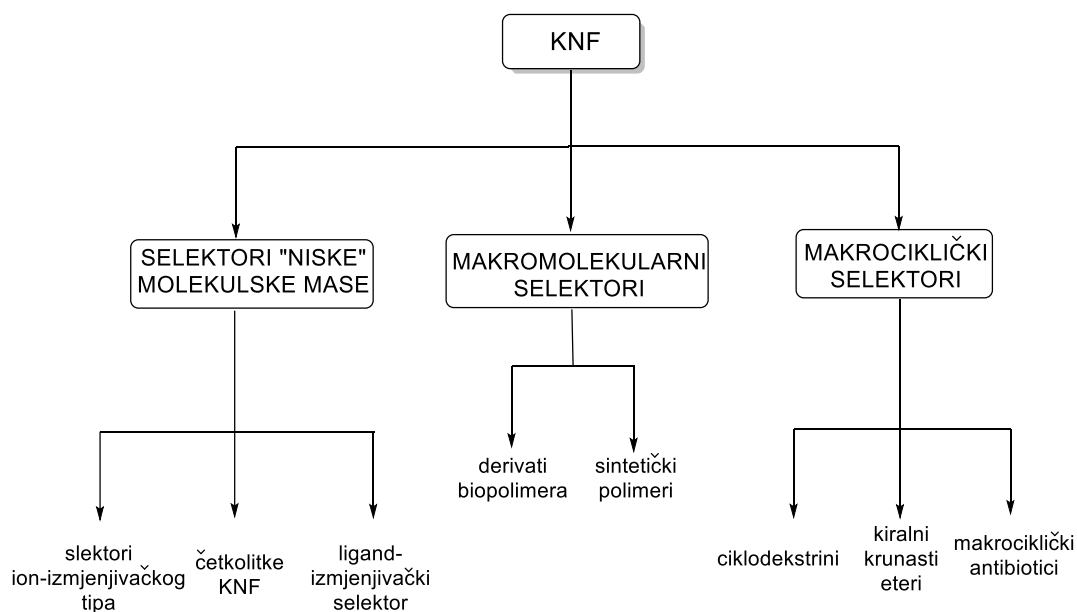
Razlučivanje (R_s) mjera je odjeljivanja dvaju sastojaka smjese koja uključuje i selektivnost i djelotvornost kolone i izražava se prema sljedećoj jednačbi:³⁵

$$R_s = 2 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{b1} - w_{b2}} = 1,18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{h1} - w_{h2}} \quad (4)$$

Smatra se da su dva pika potpuno razdvojena kada je vrijednost R_s veća od 1,5.³⁵

2.3.1. Podjela kiralnih nepokretnih faza

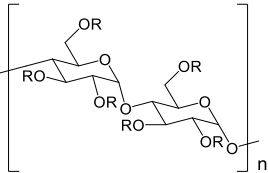
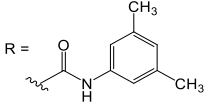
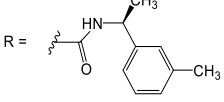
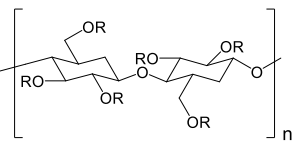
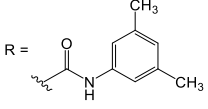
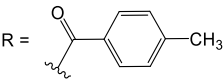
Prema kiralnom spoju koji je adsorbiran ili kovalentno vezan na inertnu podlogu, razlikujemo više vrsta kiralnih nepokretnih faza koje se dijele na makromolekularne selektore, makrocikličke selektore, makrocikličke selektore i selektore “niske” molekulske mase (shema 13).³⁶



Shema 13. Podjela kiralnih nepokretnih faza prema vrsti kiralnog selektora.³⁶

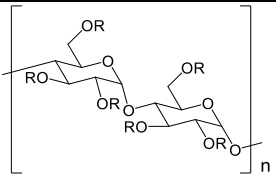
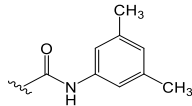
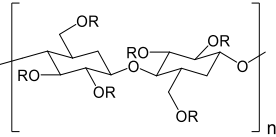
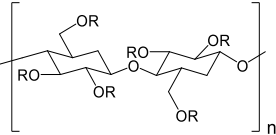
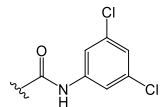
Najčešće korištene kiralne nepokretne faze su polisaharidne koje se temelje na celuloznim i amiloznim esterima i karbamatima adsorbiranim na silikagelnom nosaču. Najpoznatije četiri takve kolone su *Chiralpak AD*, *Chiralpak AS*, *Chiralcel OJ*, *Chiralcel OD*, poznate pod nazivom „zlatna četvorka“ (engl. *golden four*) japanske tvrtke *Daicel Chemical Industries* koje su prikazane u tablici 1.³⁷

Tablica 1. Polisaharidne kolone temeljene na amiloznim i celuloznim derivatima, tzv. "zlatna četvorka".³⁷

Kolona	Kiralni selektor (KS)	
<i>Chiralpak AD</i>	 derivat amiloze	 <i>tris</i> -(3,5-dimetilfenilkarbamat) amiloza
<i>Chiralpak AS</i>		 <i>tris</i> -[(<i>S</i>)- α -metilbenzilkarbamat] amiloza
<i>Chiralcel OD</i>	 derivat celuloze	 <i>tris</i> -(3,5-dimetilfenilkarbamat) celuloza
<i>Chiralcel OJ</i>		 <i>tris</i> -(4-metilbenzoat) celuloza

U kromatografiji normalnih faza „zlatna četvorka“ može se koristiti s pokretnim fazama na bazi smjese otapala alkan-alkohol ili s polarnim organskim otapalima poput acetonitrila ili metanola. S druge strane, u kromatografiji obrnutih faza koriste se pokretne faze na bazi voda-organsko otapalo. Nedostatak ovih kolona je što otapala poput diklormetana, kloroforma, etil-acetata, tetrahidrofurana, dioksana, toluena i acetona, nepovoljno djeluju na polisaharide uzrokujući njihovo otapanje što za posljedicu ima ispiranje kiralnog selektora sa silikagela te se kolona nepovratno uništava. Ako se kiralni selektor ne adsorbira već imobilizira na silikagel, tada neće doći do uništavanja kolone korištenjem istih otapala.³⁷ Primjeri kolona kod kojih je kiralni selektor kovalentno vezan na silikagel prikazane su u tablici 2. Navedene su tri kolone ovog tipa: *Chiral Art Amylose SA*, *Chiral Art Cellulose SB* i *Chiral Art Cellulose SC*.³⁸

Tablica 2. Imobilizirane kiralne nepokretne faze.³⁸

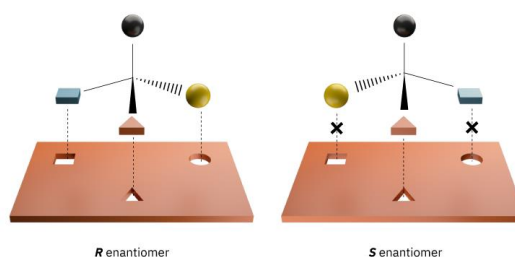
Kolona	Kiralni selektor (KS)	
<i>CHIRAL ART Amylose-SA</i>	 Amiloza <i>tris</i> (3,5-dimetilfenilkarbamat)	 R = 3,5-dimetilfenilkarbamat
<i>CHIRAL ART Cellulose-SB</i>	 Celuloza <i>tris</i> (3,5-dimetilfenilkarbamat)	
<i>CHIRAL ART Cellulose-SC</i>	 Celuloza <i>tris</i> (3,5-dimetilfenilkarbamat)	 R = 3,5-dimetilfenilkarbamat

*Normalna faza = *n*-heksan, *n*-heptan, metanol, 2-propanol, acetonitril, etil-acetat, tetrahidrofuran, kloroform, *t*-butil-metil-eter

*Reverzna faza = acetonitril, metanol, etanol, 2-propanol, tetrahidrofuran, voda, pufer

2.3.2. Mehanizam kiralnog prepoznavanja

Model interakcije između tri točke najčešći je model u objašnjavanju kiralnog prepoznavanja. Model se temelji na pretpostavci da su za kiralno prepoznavanje potrebne minimalno tri točke vezanja između kiralnog supstrata i kiralnog receptora što je prikazano na slici 5.³⁹

Slika 5. Model interakcije između tri točke.³⁹

Interakcije koje se mogu stvoriti između analita i receptora su ionske interakcije, ion-dipol interakcije, vodikove veze, Van der Waalsove sile, π - π interakcije i hidrofobne interakcije. Vodikove veze stvarat će interakcije samo u jednoj točki, dok π - π i dipol-dipol interakcije najmanje u dvije točke. Ionske interakcije su jake interakcije, ali zbog njihove neusmjerenosti, nestereoselektivne su prirode. S druge strane, vodikove veze, π - π interakcije te dipolne interakcije nastaju jedino kada postoji određena geometrija vezanja te su one odgovorne za kiralno prepoznavanje. Također, odabir pokretne faze ima važnu ulogu prilikom enantioseparacije. Otapalo definira svojstva interakcijske okoline u kojoj se događa kiralno prepoznavanje, odnosno utječe na jačinu i kvalitetu procesa molekularnog prepoznavanja. Učinkovito vezanje enantiomera analita na receptor moguće je ako postoje sterička podudarnost (komplementarna veličina ili oblik), elektrostatska podudarnost (povoljna geometrijska i prostorna orijetnacija funkcionalnih skupina), hidrofobna, dinamička i inducirana podudarnost.³⁹

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

Tijek reakcija, sastav frakcija, kontrola čistoće sintetiziranih spojeva ispitani su tankoslojnom kromatografijom na pločicama silikagela (DC-Alufolien-Kieselgel F254, *Sigma Aldrich*). Za pročišćavanje spojeva korišteni su postupci kolonske kromatografije s običnim silikagelom (0.063-0.200 mm, Merck) ili *flash* silikagelom (0.040-0.063 mm, Merck) kao nepokretnom fazom i/ili prekrystalizacije iz različitih otapala.

Analize tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti provedene su tehnikom obrnutih faza na instrumentu Shimadzu 10A VP HPLC sustavu, na HPLC kolonama Nucleosil 100-5-C18 (250 x 4,6 mm) uz gradijentno eluiranje 50-100 %. Korištene su sljedeće mobilne faze: pokretna A faza: 10 % metanol; 90 % voda (0,5 % fosforna kiselina), pokretna B faza: metanol. Mjerenja su provedena na 35 °C uz protok 1 mL min⁻¹.

Razdvajanje enantiomera provedeno je na instrumentu Shimadzu 10A VP HPLC sustavu, na kiralnim nepokretnim fazama *Chiral ART Amylose SA*, *Chiral ART Cellulose SB* i *Chiral ART Cellulose SC* uz UV detektor. Korištene su sljedeće mobilne faze: tetrahidrofuran, kloroform i diklormetan. Mjerenja su provedena na 27 °C uz protok 1 mL min⁻¹.

¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na instrumentu Bruker AV 300 u deuteriranom dimetil-sulfoksidu ili deuteriranom kloroformu. Kemijski pomaci (δ) izraženi su kao ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard za spektre ¹H na 0 ppm, dok su spektri ¹³C kalibrirani prema srednjem signalu otapala. Signali su označeni kao s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet, dd = dublet dubleta, ddd = dublet dublet dubleta, dt = dublet tripleta, td = triplet dubleta, bs= široki signal.

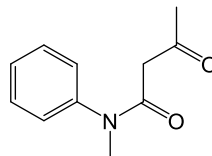
IR spektri snimljeni su na instrumentu PerkinElmer UATR Two spektrometru u ATR modu u rasponu 450-4000 cm⁻¹ uz razlučivost od 4 cm⁻¹ i osam snimaka po spektru.

Temperature taljenja određene su polarizacijskim optičkim mikroskopom Olympus System Microscope (model BX51TF) opremljenim s grijaćim stolićem Linkam THMS 600 i sustavom za kontrolu temperature TMS 93.

Masena spektrometrija visoke rezolucije (*engl.* High-resolution mass spectrometry) provedena je na instrumentu Agilent 6545 LC/Q-TOF MS uz pozitivnu ionizaciju elektroraspršenjem. Uzorci su otopljeni u smjesi metanol/acetoni-tril (9/1) i injektirani su direktno na MS detektor u 70 % acetoni-trila uz 0,1 % mravlje kiseline, odnosno 30 % vode uz 0,1 % mravlje kiseline, protok 0,2 mL min⁻¹. Snimanja i obrada podataka provedeni su u Agilent MassHunter software.

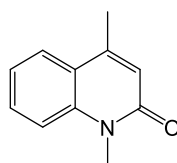
3.2. Priprava kinolinonske sulfonijeve soli (6)

3.2.1. Priprava *N*-metil-*N*-fenilacetoacetanilida (**1**)



N-metilanilin (6,00 mL, 55,38 mmol) i etil-acetoacetat (14,01 mL, 110,76 mmol) zagrijavani su u tikvici s povratnim hladilom 48 h uz octenu kiselinu (30 mL) pri temperaturi od 145 °C. Nastaje smeđa otopina. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1. Po završetku reakcije, višak etil-acetoacetata je uparen pod visokim vakuumom (45 °C, 0,008 mmHg), a dobiveni produkt **1** korišten je u sljedećem sintetskom koraku bez pročišćavanja.

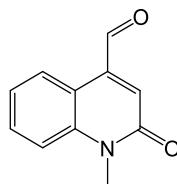
3.2.2. Priprava 1,4-dimetilkinolin-2(1H)-ona (**2**)



Spoj **1** zagrijavan je 1 h u prisustvu koncentrirane sumporne kiseline (24 mL, 96 %) pri 100 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 te tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Dobivena reakcijska smjesa ohlađena je i neutralizirana natrijevim hidroksidom ($c = 6$ mol/L). Vodeni sloj ekstrahiran je etil-acetatom (3 x 20 mL). Organski slojevi su spojeni, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **2** (2,54 g, 27 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,60$ (diklormetan/metanol = 25/1)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,47 (s, 3H); 3,71 (s, 3H); 6,61 (s, 1H); 7,26 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H); 7,38 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H); 7,57 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,71 (d, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

3.2.3. Priprava 1-metilkinolin-2(1H)-on-4-karbaldehida (**3**)

Spoj **2** (2,40 g, 13,86 mmol) zagrijavan je do 150 °C u zatvorenoj ampuli. Zatim je dodan selenijev dioksid (1,54 g, 13,86 mmol) te je reakcijska smjesa miješana 1 h pri 180 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 te visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom. Po završetku reakcije sirovi talog uzastopno je otapan u diklormetanu te odfiltriran preko sinter lijevka s celitom, a filtrat je uparen pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je običnom kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **3** (1,46 g, 56 %) u obliku smeđe krutine.

$R_f = 0,53$ (diklormetan/metanol = 25/1)

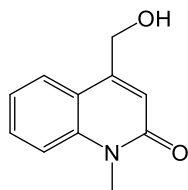
$t_r = 187,1 - 190,5$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3024, 2882, 2772, 1698, 1659, 1587, 1453, 1412, 1392, 1326, 1053, 937, 898, 750, 656, 518, 468.

HRMS $[M+H]^+ m/z$ 188.07098

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ/ppm : 3,67 (s, 3H); 7,28 (s, 1H); 7,36 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,2$ Hz, 1H); 7,62 (dd, $J_1 = 0,7$ Hz, $J_2 = 8,4$ Hz, 1H); 7,71 (ddd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 8,67 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 10,19 (s, 1H).

^{13}C (DMSO- d_6 , 151 MHz) δ/ppm : 30,04; 115,74; 116,39; 123,29; 126,09; 130,93; 131,92; 140,18; 140,70; 161,15; 195,05.

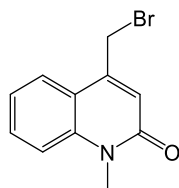
3.2.4. Priprava 4-hidroksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**4**)

Pod atmosferom argona, u bezvodnom etanolu (50 mL, 4 Å MS), suspendiran je aldehid **3** (1,16 g, 6,20 mmol). Potom je dodan natrijev borhidrid (0,24 g, 6,20 mmol) te je reakcijska smjesa miješana 2 h pri sobnoj temperaturi. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 te zaustavljena dodatkom zasićene otopine amonijeva klorida (40 mL). Vodeni sloj ekstrahiran je diklormetanom (3 x 40 mL). Organski slojevi su spojeni, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt proćišćen je obićnom kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **4** (1,01 g, 87 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,25$ (diklormetan/metanol = 25/1)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 3,64 (s, 3H); 4,95 (s, 2H); 6,87 (s, 1H); 7,22-7,30 (m, 1H); 7,34 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,58 (ddd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, $J_3 = 8,5$ Hz, 1H); 7,72 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

3.2.5. Priprava 4-brometil-1-metilkinolin-2(1H)-ona (5)



Pripravljeni alkohol **4** (1,01 g, 5,40 mmol) otopljen je u bezvodnom diklormetanu (500 mL). U dobivenu otopinu dodan je ugljikov tetrabromid (2,84 g, 8,63 mmol). Reakcijska smjesa ohlađena je na 0 °C i dodan je trifenilfosfin (2,52 g, 9,71 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 1 h na 0 °C te potom ostavljena preko noći uz zagrijavanje do sobne temperature. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1. Po završetku reakcije, otapalo je upareno pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je običnom kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Dobiven je spoj **5** (1,22 g, 90 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,66$ (diklormetan/metanol = 25/1)

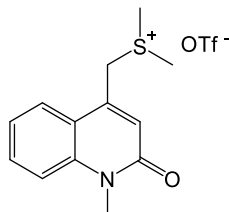
$t_r = 200,5-202,2$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3071; 3028; 2973; 1662; 1641; 1587; 1504; 1563; 1450; 1396; 1323; 1213; 751; 717.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 252.00268

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 3,73 (s, 3H); 4,58 (s, 2H); 6,82 (s, 1H); 7,33 (ddd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,1$ Hz, 1H); 7,42 (m, 1H); 7,62 (ddd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, $J_3 = 8,6$ Hz, 1H); 7,85 (dd, $J_1 = 1,4$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 28,24; 29,51; 114,85; 118,59; 122,19; 122,23; 125,16; 131,08; 140,45; 144,60; 161,62.

3.2.6. Priprava dimetil((1-metil-2-okso-1,2-dihidrokinolin-4-il)metil)sulfonijevog triflata (**6**)

U bezvodnom diklormetanu (50 mL, 4 ÅMS) otopljeni su spoj **5** (1,22 g, 4,84 mmol) i dimetil-sulfid (0,43 mL, 5,81 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 20 min pri sobnoj temperaturi u atmosferi argona prije nego li je dodan srebrov triflat (1,37 g, 5,32 mmol). Srebrov bromid odmah počinje taložiti. Miješanje je nastavljeno tijekom 20 h te je reakcija praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1. Po završetku reakcije otapalo je upareno pod vakuumom. Talog je otopljen u dimetil-sulfoksidu, a netopljivi srebrov bromid je profiltriran preko celita. Dimetil-sulfoksid uparen je pod visokim vakuumom (40 °C, 0,008 mbar), a sirovi talog pročišćen je prekrizacijom iz metanola. Dobiven je spoj **6** (1,73 g, 94 %) u obliku žutonarančaste krutine.

$R_f = 0$ (diklormetan/metanol = 25/1)

$t_r = 184,2-186,6$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3430; 3020; 2994; 2951; 1647; 1588; 1562; 1506; 1455; 1258; 1154; 1023; 760; 632.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ/ppm : 2,95 (s, 6H); 3,65 (s, 3H); 4,87 (s, 2H); 6,86 (s, 1H); 7,34-7,45 (m, 1H); 7,64 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 7,69-7,80 (m, 1H); 8,12 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H).

^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ/ppm : 24,87 (2C); 29,24; 42,71; 115,49; 118,40; 122,15; 125,13; 125,20; 131,67; 137,29; 140,11; 159,94.

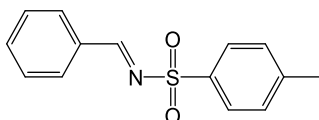
3.3. Priprava *N*-tosil imina (7a-7h)

Općeniti postupak 1⁴⁰

U bezvodnom diklormetanu, pod atmosferom argona, redom su otopljeni toluen-4-sulfonamid (1 ekv.), trietilamin (4 ekv.) i benzaldehid (1 ekv.). Smjesa je ohlađena na 0 °C i dokapana je 1 M otopina titanijevog tetraklorida u diklormetanu (1 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je 1 h na 0 °C, a zatim 22 h pri sobnoj temperaturi. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 (nepokretna faza: aloks). Smjesa je filtrirana preko celita, a filtrat je uparen pod vakuumom. Na ostatak nakon uparavanja dodan je toluen. Nastali talog trietilamonijevog klorida je odfiltriran i opran toluenom. Filtrat je ponovno uparen pod vakuumom. Sirovi imin pročišćen je prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2.

Općeniti postupak 2

Reakcijska smjesa sastavljena iz odgovarajućeg aldehida (1 ekv.) i toluen-4-sulfonamida (1,1 ekv.) u toluenu uz katalitičku količinu amberlista-15 ($w = 10\%$) refluksirana je 16 h u Dean-Starkovoj aparaturi uz prisustvo 4Å molekulskih sita (250 mg/mmol). Smjesa je ohlađena na sobnu temperaturu i filtrirana je preko sinter lijevka. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 (nepokretna faza: aloks). Višak otapala (toluena) uparen je pod vakuumom. Sirovi imin pročišćen je prekristalizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/2.

3.3.1. Priprava N-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida (**7a**)

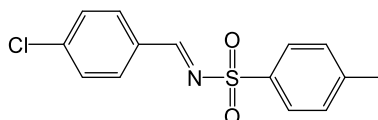
Spoj **7a** pripravljen je iz benzaldehida (0,48 mL, 4,71 mmol), toluen-4-sulfonamida (0,81 g, 4,71 mmol), trietilamina (2,63 mL, 18,84 mmol) i titanijevog tetraklorida (4,71 mL, 4,71 mmol) u diklormetanu (20 mL) prema općenitom postupku 1. Nakon prekrystalizacije, dobiven je spoj **7a** (0,69 g, 57 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,65$ (diklormetan)

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3071; 1650; 1596; 1574; 1450; 1317; 1305; 1223; 1155; 1086; 867; 781.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,45 (s, 3H); 7,36 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,50 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H); 7,64 (dd, $J_1 = 6,2$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 7,93 (dd, $J_1 = 7,9$ Hz, $J_2 = 9,9$ Hz, 4H); 9,05 (s, H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 24,65; 128,11 (2C); 129,15 (2C); 129,81 (2C); 131,31 (2C); 132,41; 134,93; 135,17; 144,61; 170,13.

3.3.2. Priprava N-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**7b**)

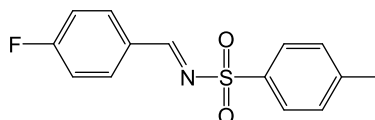
Spoj **7b** pripravljen je iz *p*-klorbenzaldehyda (0,50 g, 3,56 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,67 g, 3,91 mmol) u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrystalizacije, dobiven je spoj **7b** (0,92 g, 88 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,71$ (diklormetan)

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3261; 3064; 1656; 1591; 1558; 1487; 1401; 1315; 1303; 1159; 1082; 820; 786.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,45 (s, 3H); 7,36 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 7,47 (td, $J = 2,3$ Hz, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,84-7,92 (m, 4H); 8,99 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,67; 126,50; 128,16 (2C); 129,62 (2C); 129,86 (2C); 132,35 (2C); 134,93; 141,46; 144,78; 168,60.

3.3.3. Priprava N-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**7c**)

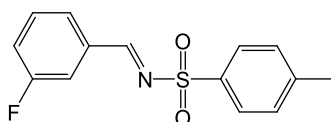
Spoj **7c** pripravljen je iz *p*-fluorbenzalhida (0,42 mL, 4,03 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,76 g, 4,43 mmol) u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrizalizacije, dobiven je spoj **7c** (1,00 g, 89 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,64$ (diklormetan)

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3088; 1607; 1595; 1581; 1506; 1412; 1318; 1304; 1231; 1160; 1149; 1086; 807; 768.

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 2,44 (s, 3H); 7,18 (t, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,35 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H); 7,88 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H); 7,94-7,98 (m, 2H); 9,00 (s, 1H).

^{13}C (CDCl₃, 151 MHz) δ/ppm : 21,66; 116,66 ($^2J_{\text{CF}} = 22,3$ Hz, 2C); 128,11 (2C); 128,79 ($^4J_{\text{CF}} = 2,8$ Hz); 129,83 (2C); 133,79 ($^3J_{\text{CF}} = 9,6$ Hz, 2C); 135,09; 144,68; 166,85 ($J_{\text{CF}} = 258,6$ Hz, CF); 168,50.

3.3.4. Priprava N-(3-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**7d**)

Spoj **7d** pripravljen je iz *m*-fluorbenzalhida (0,51 mL, 4,83 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,91 g, 5,32 mmol) u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrizalizacije, dobiven je spoj **7d** (1,1 g, 81 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,69$ (diklormetan)

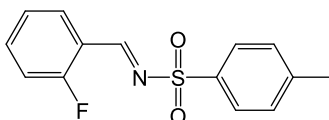
$t_f = 133,7$ - $136,7$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3261; 3081; 2919; 1596; 1575; 1452; 1315; 1304; 1157; 1086; 819; 793.

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 2,45 (s, 3H); 7,36 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H); 7,48 (td, $J_1 = 2,6$ Hz, $J_2 = 5,4$ Hz, 1H); 7,64-7,70 (m, 2H); 7,80-7,83 (m, 1H); 7,89 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H); 9,00 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,68; 116,68 ($^2J_{\text{CF}} = 22,5$ Hz); 121,95 ($^2J_{\text{CF}} = 21,6$ Hz); 126,48; 128,21 (2C); 129,90 (2C), 130,85 ($^3J_{\text{CF}} = 7,8$ Hz); 134,51 ($^3J_{\text{CF}} = 7,6$ Hz), 134,76; 144,91; 162,89 ($J_{\text{CF}} = 249,4$ Hz, CF); 168,73.

3.3.5. Priprava N-(2-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7e)



Spoj **7e** pripravljen je iz *o*-fluorbenzaldehida (0,36 mL, 3,4 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,65 g, 3,78 mmol) u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrizalizacije, dobiven je spoj **7e** (0,94 g, 98 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,67$ (diklormetan)

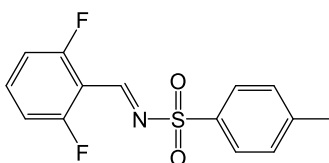
$t_f = 134,4\text{-}139,3$ °C

IR $\tilde{\nu}_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3260; 1605; 1572; 148; 1456; 1320; 1305; 1281; 1087; 830; 761.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,44 (s, 3H); 7,11-7,24 (m, 2H); 7,36 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 7,55-7,61 (m, 1H); 7,90 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H); 8,03-8,13 (m, 1H); 9,36 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,67; 116,38 ($^2J_{\text{CF}} = 20,5$ Hz); 120,53 ($^2J_{\text{CF}} = 8,7$ Hz); 124,84 ($^3J_{\text{CF}} = 3,6$ Hz); 128,24 (2C); 129,38 ($^4J_{\text{CF}} = 0,8$ Hz); 129,86 (2C); 134,81; 136,99 ($^3J_{\text{CF}} = 9,2$ Hz); 144,80; 163,63 ($^3J_{\text{CF}} = 6,2$ Hz); 164,31 ($J_{\text{CF}} = 258,3$ Hz, CF).

3.3.6. Priprava N-(2,6-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7f)



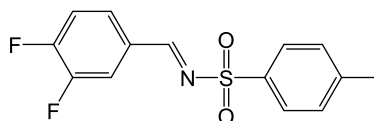
Spoj **7f** pripravljen je iz 2,6-difluorbenzaldehida (0,56 g, 3,93 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,74 g, 4,32 mmol) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrizalizacije u reakcijskoj smjesi zaostaje toluen-4-sulfonamid što je potvrđeno NMR spektroskopijom. Nakon prekrizalizacije, dobiven je spoj **7e** (0,66 g, 57 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,63$ (diklormetan)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,44 (s, 3H); 7,01 (t, $J = 8,7$ Hz, 2H); 7,36 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H); 7,56 (tt, $J_1 = 6,1$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, 1H); 7,91 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H); 9,31 (s, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,69; 112,44 ($^2J_{CF} = 3,6$ Hz); 112,58 ($^2J_{CF} = 3,8$ Hz); 126,50 (2C); 128,31; 129,74 (2C); 129,86; 134,67; 136,49 ($^2J_{CF} = 11,4$ Hz); 144,26 ($J_{CF} = 178,5$ Hz, 2C, CF); 160,95.

3.3.7. Priprava N-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (7g)



Spoj **7g** pripravljen je iz 3,4-difluorbenzalhida (0,47 mL, 4,22 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,80 g, 4,64 mmol) u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrizalizacije, dobiven je spoj **7g** (1,0 g, 81 %) u obliku bijele krutine.

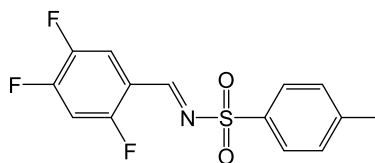
$R_f = 0,71$ (diklormetan)

$t_f = 105,1-106,7$ °C

$\text{IR } \tilde{\nu}_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3260; 3059; 1678; 1579; 1520; 1428; 1319; 1300; 1154; 1088; 830; 783.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,45 (s, 3H); 7,25-7,38 (m, 1H); 7,36 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,65-7,69 (m, 1H); 7,73-7,84 (m, 1H); 7,86-7,90 (m, 2H); 8,96 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,69; 118,27 ($^2J_{CF} = 18,2$ Hz); 118,86 ($^3J_{CF} = 1,7$ Hz, $^2J_{CF} = 18,1$ Hz); 128,19 (2C); 129,15 ($^4J_{CF} = \text{Hz}$, $^3J_{CF} = 7,7$ Hz); 129,58 ($^4J_{CF} = 3,5$ Hz, $^3J_{CF} = 9,4$ Hz); 129,92 (2C); 134,69; 144,97; 150,87 ($^2J_{CF} = 13,4$ Hz, $J_{CF} = 252,6$ Hz, CF); 154,66 ($^2J_{CF} = 12,9$ Hz, $J_{CF} = 260,7$ Hz, CF); 167,53.

3.3.8. Priprava N-(2,4,5-trifluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida (**7h**)

Spoj **7h** pripravljen je iz 2,4,5-trifluorbenzalhida (0,41 mL, 3,75 mmol) i toluen-4-sulfonamida (0,71 g, 4,12 mmol) u toluenu (20 mL) prema općenitom postupku 2. Nakon prekrystalizacije, dobiven je spoj **7h** (0,90 g, 77 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,77$ (diklormetan)

$t_f = 95,6-99,4$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3357; 3261; 3071; 1613; 1594; 1506; 1438; 1338; 1322; 1296; 1154; 1087; 888; 786.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,45 (s, 3H), 7,05 (td, $J_1 = 6,1$ Hz, $J_2 = 9,4$ Hz, 1H); 7,35-7,39 (m, 2H); 7,87-7,93 (m, 3H); 9,25 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,70; 106,64; ($^2J_{CF} = 21,3$ Hz, 26,8 Hz); 116,65 (dt, $^3J_{CF} = 2,5$ Hz, $^2J_{CF} = 20,3$ Hz); 117,78; 128,31 (2C); 129,96 (2C); 134,37; 145,15; 147,57 ($^4J_{CF} = 3,3$ Hz, $^3J_{CF} = 13,2$ Hz, $J_{CF} = 249,8$ Hz, CF); 155,02 ($^3J_{CF} = 12,7$ Hz, $^2J_{CF} = 14,9$ Hz, $J_{CF} = 263,9$ Hz, CF); 160,17 ($^4J_{CF} = 1,9$ Hz, $^3J_{CF} = 10,3$ Hz, $J_{CF} = 259,5$ Hz, CF); 161,50 ($^3J_{CF} = 5,1$ Hz).

3.4. Priprava racemičnih derivata marinoaziridina (8a-8h)

Općeniti postupak 1

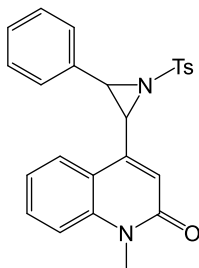
U bezvodnom tetrahidrofuranu, pod atmosferom argona, suspendirana je kinolinonska sulfonijeva sol **6** (1 ekv.). U ohlađenu suspenziju pri -78 °C dokapana je fosfazenska baza (1,2 ekv.) te je reakcija miješana 30 min prije nego što je dodan odgovarajući *N*-tosil zaštićeni imin **7a-7h** (1 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je pri -78 °C dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je prekinuta dodatkom vode. Vodeni sloj ekstrahiran je s diklormetanom (3 x 20 mL). Organski slojevi su spojeni, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Omjer *cis* i *trans* izomera određen je NMR spektroskopijom.

Općeniti postupak 2

U bezvodnom tetrahidrofuranu, pod atmosferom argona, suspendirana je kinolinonska sulfonijeva sol **6** (1 ekv.). U ohlađenu suspenziju pri -78 °C dokapan je *tert*-butillitij (1,1 ekv.) te je reakcija miješana 30 min prije nego što je dodan odgovarajući *N*-tosil zaštićeni imin **7a-7h** (1 ekv.). Reakcijska smjesa miješana je pri -78 °C dok se tankoslojnom kromatografijom (diklormetan/metanol = 25/1) nije utvrdio završetak reakcije. Reakcija je zaustavljena dodatkom vode. Vodeni sloj ekstrahiran je s diklormetanom (3 × 20 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt pročišćen je *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Omjer *cis* i *trans* izomera određen je NMR spektroskopijom.

Općeniti postupak 3

U bezvodnom acetonitrilu, pod atmosferom argona, otopljeni su kinolinonska sulfonijeva sol **6** (1 ekv.) i odgovarajući *N*-tosil zaštićeni imin **7a-7h** (1 ekv.). Potom je dodan kalijev hidroksid (2 ekv.) u čvrstom stanju te je reakcijska smjesa miješana 20 h pri sobnoj temperaturi. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 te zaustavljena dodatkom vode. Vodeni sloj ekstrahiran je s diklormetanom (3 x 20 mL). Organski slojevi spojeni su, osušeni nad bezvodnim natrijevim sulfatom i upareni pod vakuumom. Sirovi produkt je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela uz korištenje mobilne faze diklormetan/metanol = 25/1. Omjer *cis* i *trans* izomera određen je NMR spektroskopijom.

3.4.1. Priprava (\pm)-1-metil-4-(3-fenil-1-tosilaziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (**8a**)

Spoj **8a** pripremljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,18 g, 0,46 mmol), *N*-(benziliden)-toluen-4-sulfonamida **7a** (0,19 g, 0,46 mmol) i kalijevog hidroksida (0,05 g, 0,91 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 14/86. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je azirdin **8a** (0,15 g, 77 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,46$ (*cis*); 0,36 (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

$t_f = 90,0-91,1$ °C

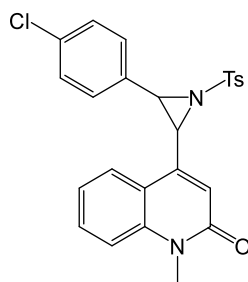
IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3062; 1649; 1591; 1499; 1455; 1321; 1158; 1087; 911; 812; 750; 687.

HRMS $[M+Na]^+$ m/z 453.12602

Trans izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,41 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 4,06 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H); 4,60 (dd, $J = 0,6$ Hz, $J = 4,6$ Hz, 1H); 6,67 (d, $J = 0,6$ Hz, 1H); 1,18-7,26 (m, 3H); 7,37-7,45 (m, 4H); 7,49-7,56 (m, 2H); 7,57-7,69 (m, 3H); 7,88 (dd, $J = 1,1$ Hz, $J = 8,0$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,64; 29,48; 45,71; 50,58; 114,65; 119,76; 120,21; 122,34; 125,04; 127,73 (2C); 128,68 (2C); 128,82 (2C); 129,22; 129,61 (2C); 131,08; 131,45; 136,34; 139,90; 142,39; 144,65; 161,63.

3.4.2. Priprava (\pm)-4-(3-(4-klorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**8b**)

Spoj **8b** pripravljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,18 g, 0,46 mmol), *N*-(4-klorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7b** (0,13 g, 0,46 mmol) i kalijevog hidroksida (0,05 g, 0,91 mmol) u bezvodnom acetonirilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 21/79. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8b** (0,18 g, 87 %) u obliku bijele krutine.

R_f = 0,34 (*cis*); 0,22 (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

t_r = 216,3-219,6 °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3050; 1655; 1590; 1493; 1456; 1375; 1319; 1158; 1087; 914; 810; 753; 679.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 465.10437

Trans izomer:

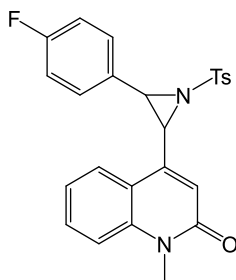
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,41 (s, 3H); 3,69 (s, 3H); 4,02 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H); 4,54 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H); 6,65 (s, 1H); 7,26-7,32 (m, 3H); 7,36-7,44 (m, 3H); 7,45-7,50 (m, 2H); 7,66 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H); 7,82 (t, $J = 8,3$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,66; 29,51; 45,96; 49,70; 114,73; 119,67; 120,21; 122,41; 124,92; 126,45; 127,70 (2C); 128,95 (2C); 129,69 (2C); 130,14 (2C); 131,17; 135,29; 136,18; 139,89; 142,10; 144,87; 161,60.

Cis izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,46 (s, 3H); 3,59 (s, 3H); 4,38 (dd, $J = 0,7$ Hz, $J = 7,2$ Hz, 1H); 4,46 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,59 (d, $J = 0,7$ Hz, 1H); 7,05 (s, 4H); 7,24 (m, 2H); 7,38 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,53 (m, 1H); 7,75 (dd, $J = 0,9$ Hz, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,96 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,76; 29,36; 45,34; 46,17; 114,78; 118,94; 121,21; 122,27; 123,97; 128,03 (2C); 128,46 (2C); 128,58 (2C); 129,62; 130,14 (2C); 130,98; 134,20; 134,36; 139,57; 139,67; 145,51; 161,33.

3.4.3. Priprava (\pm)-4-(3-(4-fluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**8c**)

Spoj **8c** pripravljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,05 g, 0,13 mmol), *N*-(4-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7c** (0,04 g, 0,13 mmol) i kalijevog hidroksida (0,01 g, 0,26 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 17/83. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8c** (0,06 g, 95 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,84$ (*cis*); 0,72 (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

$t_r = 99,6-102,0$ °C

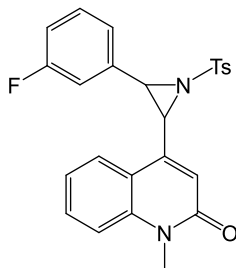
IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3065; 1652; 1592; 1513; 1456; 1371; 1322; 1158; 1087; 940; 814; 751; 685.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 449.13412

Trans izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,42 (s, 3H); 3,71 (s, 3H); 4,00 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H); 4,59 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H); 6,63 (s, 1H); 7,12 (t, $J = 8,6$ Hz, 2H); 7,23 (s, 3H); 7,40 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,47-7,57 (m, 2H); 7,58-7,71 (m, 3H); 7,84 (dd, $J = 0,9$ Hz, $J = 7,8$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,67; 29,50; 45,62; 50,18; 114,73; 115,82 ($^2J_{CF} = 21,9$ Hz, 2C); 119,65; 120,11; 122,38; 124,85; 126,50; 127,70 (2C); 129,69 (2C); 130,80 ($^3J_{CF} = 8,3$ Hz, 2C); 131,15; 136,30; 139,94; 142,29; 144,81; 161,60; 163,21 ($J_{CF} = 249,6$ Hz, CF).

3.4.4. Priprava (\pm)-4-(3-(3-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**8d**)

Spoj **8d** pripravljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(3-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7d** (0,11 g, 0,39 mmol) i kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 100/0. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8d** (0,09 g, 51 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,50$ (*cis*), (diklormetan/metanol = 25/1)

$t_r = 215,5$ - $217,9$ °C

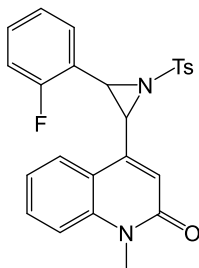
IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3034; 1656; 1591; 1491; 1451; 1322; 1155; 1088; 954; 869; 749; 675.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 449.13452

Cis izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 2,44 (s, 3H); 3,54 (s, 3H); 4,38 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, 1H); 4,47 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H); 6,58 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H); 6,74 (tdd, $J_1 = 0,8$ Hz, $J_2 = 2,6$ Hz, $J_3 = 16,8$ Hz, 1H); 6,81 (dt, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz, 1H); 6,91 (m, 1H); 7,02 (dt, $J_1 = 5,8$ Hz, $J_2 = 7,9$ Hz, 1H); 7,22 (m, 2H); 7,37 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 7,50 (m, 1H); 7,76 (dd, $J_1 = 0,9$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, 1H); 7,95 (dt, $J_1 = 1,9$ Hz, $J_2 = 6,6$ Hz, 2H).

^{13}C (CDCl_3 , 151 MHz) δ/ppm : 21,74; 29,30; 45,33; 46,23 ($^4J_{CF} = 2,3$ Hz); 114,57 ($^2J_{CF} = 22,9$ Hz); 114,70; 115,36 ($^2J_{CF} = 21,2$ Hz); 118,90; 121,19; 122,28; 123,06 ($^4J_{CF} = 2,8$ Hz); 124,02; 128,05 (2C); 129,84 ($^3J_{CF} = 8,3$ Hz); 130,15 (2C); 130,98; 133,61 ($^3J = 7,8$ Hz); 134,30; 139,53; 139,64; 145,54; 161,29; 161,32 ($J_{CF} = 247,1$ Hz, CF).

3.4.5. Priprava (\pm)-4-(3-(2-fluorofenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**8e**)

Spoj **8e** pripravljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(2-fluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7e** (0,11 g, 0,39 mmol) te kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonirilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 21/79. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8e** (0,12 g, 70 %) u obliku bijele krutine.

R_f = 0,37 (*cis*); 0,29 (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

t_r = 97,3-97,9 °C

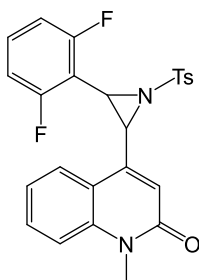
IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3355; 3260; 3065; 2923; 1646; 1588; 1495; 1455; 1328; 1305; 1157; 1086; 915; 813; 753; 687.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 449.13472

Trans izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,41 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 4,15 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H); 4,63 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H); 6,70 (s, 1H); 7,19-7,31 (m, 5H); 7,36-7,43 (m, 2H); 7,62-7,67 (m, 2H); 7,77-7,83 (m, 2H); 7,94 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,66; 29,51; 44,85 ($^3J_{CF} = 3,7$ Hz); 44,99 ($^4J_{CF} = 1,8$ Hz); 114,66; 115,74 ($^2J_{CF} = 21,3$ Hz); 119,73; 120,28; 122,39; 124,27 ($^2J_{CF} = 3,5$ Hz); 125,06 ($^4J_{CF} = 1,0$ Hz); 126,43 (2C); 127,85 (2C); 129,65 ($^3J_{CF} = 1,4$ Hz, 2C); 131,12; 135,81; 139,87; 142,22; 143,43; 144,88; 161,64; 162,16 ($J_{CF} = 247,7$ Hz, CF).

3.4.6. Priprava (\pm)-4-(3-(2,6-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**8f**)

Spoj **8f** pripravljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,10 g, 0,26 mmol), *N*-(2,6-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7f** (0,12 g, 0,31 mmol) i kalijevog hidroksida (0,03 g, 0,52 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 0/100. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8f** (0,08 g, 65 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,49$ (*cis*); 0,35 (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

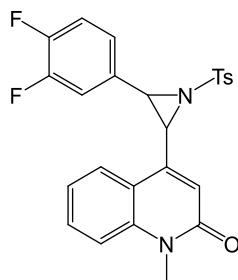
$t_r = 91,2$ - $92,0$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3067; 1648; 1590; 1469; 1455; 1372; 1325; 1160; 1084; 995; 938; 682.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 468.12759

Trans izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,43 (s, 3H); 3,69 (s, 3H); 3,78 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H); 5,15 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H); 6,64 (s, 1H); 7,00 (t, $J = 8,5$ Hz, 1H); 7,25-7,36 (m, 3H); 7,37-7,44 (m, 2H); 7,62 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H); 7,76 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H); 8,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).

3.4.7. Priprava (\pm)-4-(3-(3,4-difluorfenil)-1-tosilaziridin-2-il)-1-metilkinolin-2(1H)-ona (**8g**)

Spoj **8g** pripremljen je iz kinolinonske sulfonijeve soli **6** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7g** (0,12 g, 0,39 mmol) te kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 14/85. Aziridin je pročišćen *flash* kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8g** (0,09 g, 51 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,50$ (*cis*); 0,41 (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

$t_r = 217,1$ - $218,8$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3043; 1654; 1590; 1518; 1455; 1317; 1203; 1159; 1086; 938; 898; 753; 686.

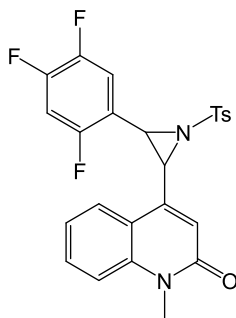
HRMS $[M+H]^+$ m/z 467.12482

Trans izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,42 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 4,04 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H); 4,47 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H); 6,65 (s, 1H); 7,15-7,40 (m, 6H); 7,57-7,71 (m, 3H); 7,75-7,88 (m, 2H).

^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,65; 29,51; 46,53; 48,67; 114,74; 117,75 ($^3J_{CF} = 4,3$ Hz, $^2J_{CF} = 6,4$ Hz); 119,66; 120,39; 122,42; 124,93; 125,09 ($^3J = 5,1$ Hz); 126,43; 127,73 (2C); 128,84 ($^3J_{CF} = 4,9$ Hz); 129,72 (2C); 131,21; 136,01; 139,89; 141,67; 145,02; 148,91 ($^2J_{CF} = 14,1$ Hz, $J_{CF} = 39,7$ Hz, CF); 152,28 ($^2J_{CF} = 14,3$ Hz, $J_{CF} = 41,1$ Hz, CF); 161,53.

3.4.8. Priprava (\pm)-1-metil-4-(1-tosil-3-(2,4,5-trifluorfenil)aziridin-2-il)kinolin-2(1H)-ona (**8h**)



Spoj **8h** pripremljen je iz kinolinonske sulfonijeve sol **6** (0,15 g, 0,39 mmol), *N*-(3,4-difluorbenziliden)-toluen-4-sulfonamida **7h** (0,12 g, 0,39 mmol) i kalijevog hidroksida (0,04 g, 0,78 mmol) u bezvodnom acetonitrilu (15 mL) prema općenitom postupku 3. U sirovoj reakcijskoj smjesi omjer *cis* i *trans* izomera je 33/67. Aziridin je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela. Nakon pročišćavanja, dobiven je aziridin **8h** (0,05 g, 26 %) u obliku bijele krutine.

$R_f = 0,69$ (*cis*); $0,54$ (*trans*), (diklormetan/metanol = 25/1)

$t_f = 182,0-184,8$ °C

IR $\tilde{\nu}_{max}/\text{cm}^{-1}$: 3069; 1652; 1594; 1519; 1456; 1429; 1378; 1337; 1159; 1087; 951; 878; 756; 677.

HRMS $[M+H]^+$ m/z 485.11589

Cis izomer:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 2,48 (s, 3H); 3,60 (s, 3H); 4,41 (dd, $J_1 = 1,0$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 1H); 4,59 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H); 6,54 (d, $J = 0,7$ Hz, 1H); 6,68 (td, $J_1 = 3,2$ Hz, $J_2 = 6,3$ Hz, 1H); 6,83-7,01 (m, 1H); 7,22-7,33 (m, 2H); 7,36-7,47 (m, 2H); 7,50-7,61 (m, 1H); 7,75-7,84 (m, 1H); 7,97 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H).

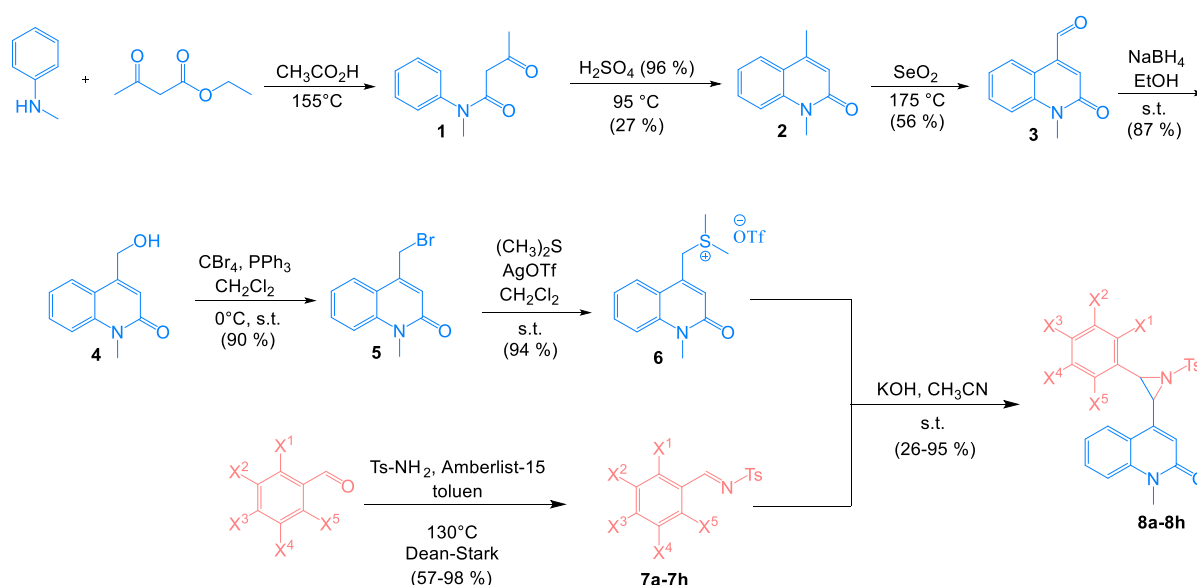
^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 21,79; 29,39; 41,12; 45,27; 105,14; 105,42 ($J = 10,4$ Hz); 105,77; 114,69; 116,78 ($J = 6,5$ Hz); 117,12 ($J = 8,8$ Hz); 118,70 (2C); 121,00; 122,34; 124,09 ($J = 3,0$ Hz); 128,11 (2C); 130,27 (2C); 131,18; 133,97; 139,27; 139,67; 145,85; 161,20.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Uvod

Marinoaziridini su alkaloidi nedavno izolirani iz Gram-negativnih bakterija reda *Cytophagales* iz morskog sedimenta, čija totalna sinteza još nije poznata kao ni apsolutna konfiguracija.⁴ U svojoj strukturi sadrže aziridinski i 2-kinolinonski strukturni farmakofor, često prisutan u prirodnim biološki aktivnim i farmaceutskim sintetskim spojevima.^{41,42,43}

U sklopu projekta *Bioprospecting Jadranskog mora*, u Laboratoriju za stereoselektivnu katalizu i biokatalizu Instituta Ruđer Bošković, provedene su računalne studije na temelju kojih su dizajnirani strukturni derivati **8a-8h** opisanih prirodnih spojeva s potencijalno boljim biološkim svojstvima. Na temelju detaljne retrosintetske analize strukturnih derivata **8a-8h** predložen je sintetski put njihove pripreme prikazan na shemi 14.



Shema 14. Prikaz totalne sinteze derivata marinoaziridina **8a-8h**.

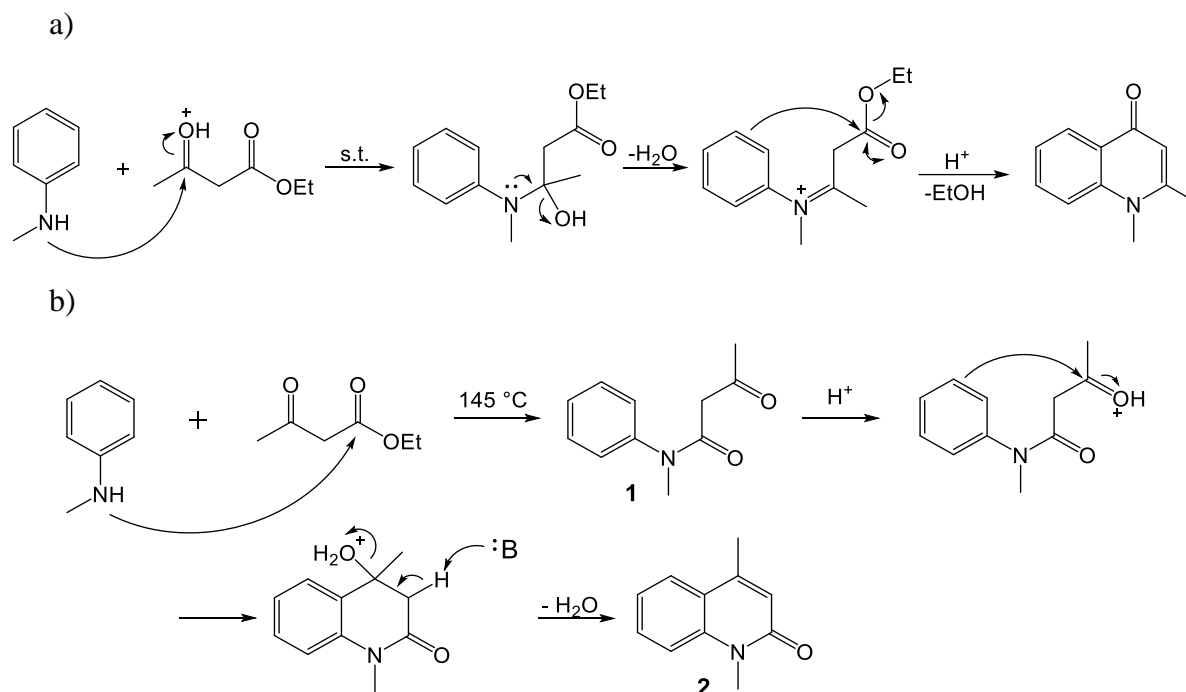
Sintetski put pripreve derivata marinoaziridina **8a-8h** sastoji se iz nekoliko sintetskih koraka. U prvoj fazi, Knorrovom sintezom u dvo-stupanjskom procesu, iz komercijalno dostupnih kemikalija *N*-metilanilina i etil-acetoacetata, uz octenu kiselinu kao katalizator nastaje spoj **1**. Dobiveni spoj **1** cikliziran je u Knorrov produkt **2** uz pomoć koncentrirane sumporne kiseline. U nastavku Rileyevom oksidacijom aktivirajuće metilenske skupine spoja **2** dobiven je aldehid **3**. Aldehid **3** preveden je u alkohol **4** uz pomoć natrijevog borhidrida kao reducensa u bezvodnom etanolu. U sljedećem sintetskom koraku sintetiziran je spoj **5** Appelovom reakcijom uz tetrabrommetan i trifenilfosfin kao reagens u diklormetanu. Spoj **5** preveden je u akiralnu sulfonijevu sol **6** uz pomoć dimetil-sulfida kao reagensa i srebrovog triflata kao promotora u diklormetanu. Osim sulfonijeve soli, u prvoj fazi istraživanja pripremljeni su i iminski supstrati **7a-7h** za reakcije aziridacije. Takvi iminski supstrati moraju biti aktivirani tj. dušikov atom mora biti zaštićen pogodnom skupinom. U tu svrhu odabrana je toluensulfonilna (Ts) zaštitna skupina. Nakon pripreve kinolinonske sulfonijeve soli **6** i imina **7a-7h**, provedena su preliminarna istraživanja utjecaja baze, otapala i temperature na diastereoselektivnost i iskorištenje reakcije. Poseban naglasak stavljen je na istraživanje utjecaja iminskog C-supstituenta na diastereoselektivnost aziridacije. S obzirom na dobivene rezultate, kao primarna baza u zadnjem sintetskom koraku, odabran je kalijev hidroksid, pri čemu su dobiveni derivati marinoaziridina **8a-8h** uglavnom kao smjese *cis* i *trans* izomera.

U drugom dijelu diplomskog rada razvijena je enantioselektivna metoda za razdvajanje stereoizomera novosintetiziranih spojeva **8a-8h** na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama koje su utemeljene na derivatima celuloze i amiloze primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije. Glavni cilj bio je ispitati koji kiralni selektor pokazuje najbolje kiralno prepoznavanje za novosintetizirane spojeve. Za svaku kombinaciju sastava pokretne faze i polisaharidne kiralne nepokretne faze određeni su kromatografski parametri: faktor zadržavanja enantiomera k_1 i k_2 , separacijski faktor α i razlučivanje enantiomera R_s .

4.2. Priprava akiralne kinolinonske sulfonijeve soli (6)

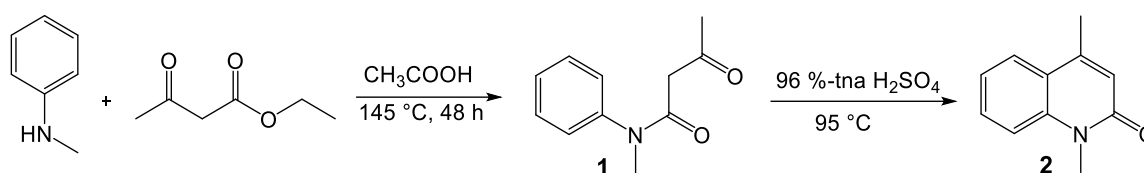
U prvoj fazi istraživanja provedena je sinteza akiralne kinolinonske sulfonijeve soli **6**, kao važnog prekursora u sintezi derivata marinoaziridina **8a-8h**. Sinteza je opisana u šest sintetskih koraka i započinje Knorrovom sintezom 2-kinolinona.

Knorrova sinteza jedan je od najpoznatijih postupaka za pripremu 2-kinolinona ili 4-kinolinona. Reakcija opisuje dvo-stupanjski proces u kojem iz komercijalno dostupnih kemikalija, odgovarajućih anilina (*m*- i *p*-metilanilina, *m*- i *p*-nitroanilina te *m*-metoksianilina) i etil-acetoacetata, uz dodatak kiselog katalizatora (*p*-toluensulfonske kiseline ili octene kiseline) nastaje Knorrov prekursor 2-kinolinona ili 4-kinolinona. Regioselektivnost ovakve reakcije ovisna je o temperaturi. Pri sobnoj temperaturi doći će do nukleofilnog napada na keto-skupinu te nastanka kinetičkog produkta (Shema 15a), dok pri višim temperaturama (iznad 140 °C) dolazi do nukleofilnog napada na estersku skupinu etil-acetoacetata te nastanka termodinamičkog produkta (Shema 15b). U drugom stupnju, prekursori cikliziraju uz pomoć sumporne kiseline u Knorrove produkte reakcijom elektrofilne aromatske supstitucije uz eliminaciju vode.⁴⁴



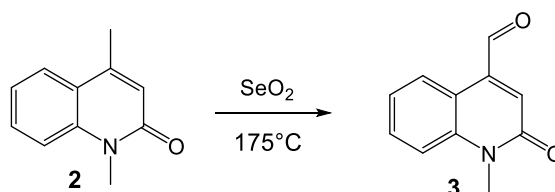
Shema 15. Mehanizam nastanka a) kinetičkog produkta b) termodinamičkog produkta 2-kinolinona **2**.⁴⁴

Knorrov produkt **2** sintetiziran je iz *N*-metilanilina i etil-acetoacetata koji je u suvišku, uz octenu kiselinu kao katalizator. Reakcija se izvodi tijekom 48 h pri 145 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Po završetku reakcije, suvišak etil-acetotaceta je uparen pod visokim vakuumom ($p = 0,01$ mmHg , $\theta = 45-50^{\circ}\text{C}$), a nastali produkt *N*-metil-*N*-fenilacetoacetanilid **1** cikliziran je u sljedećem stupnju reakcije korištenjem jako kiselih reakcijskih uvjeta, koncentrirane sumporne kiseline. Nakon obrade reakcijske smjese i čišćenja spoja kromatografijom na stupcu silikagela izoliran je Knorrov produkt **2** uz prinos 27 %. Struktura spoja **2** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom (shema 16).



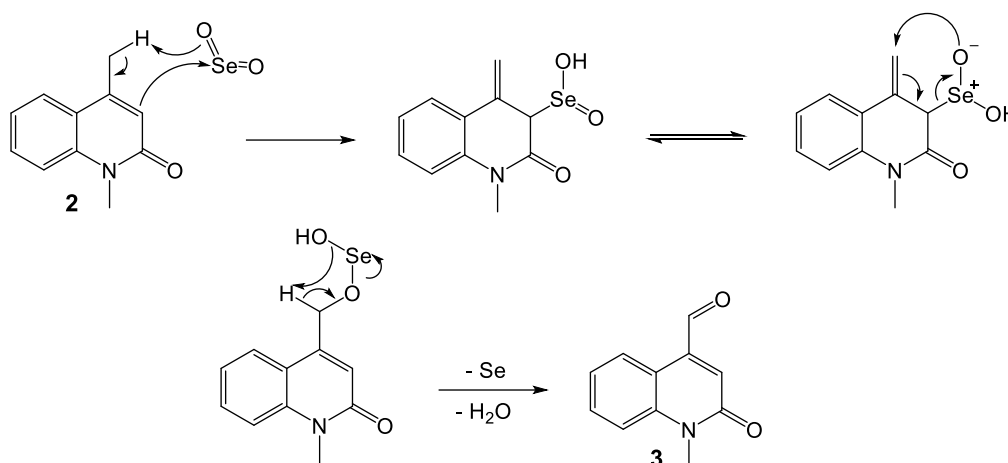
Shema 16. Sintetski put priprave 1,4-dimetilkinolin-2(1*H*)-ona **2**.

U sljedećem sintetskom koraku provedena je Rileyeva oksidacija aktivirajuće metilne skupine spoja **2** uz selektivni reagens selenijev dioksid (shema 17). Literaturno je poznato da se najbolji rezultati selektivne oksidacije postižu dodavanjem SeO_2 u reakcijsku smjesu u temperaturnom rasponu 145-175 °C.⁴⁵ Reakcija je provedena bez upotrebe otapala u zatvorenom sustavu pri 175 °C. Reakcija je praćena tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Nakon obrade reakcijske smjese i čišćenja spoja kromatografijom na stupcu silikagela izoliran je spoj **3** uz prinos 56 %. Struktura spoja **3** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.



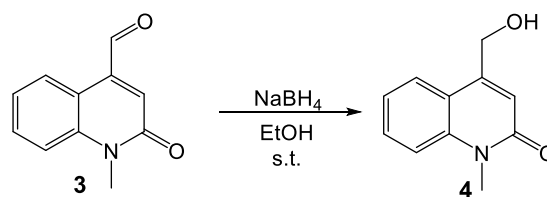
Shema 17. Sintetski korak priprave 1-metilkinolin-2(1*H*)-on-4-karbaldehida **3**.

Mehanizam Rileyeve oksidacije prikazan je na shemi 18. U prvom stupnju reakcije dolazi do Alder-en [4+2] cikloadicije koja opisuje reakciju između alilnog vodika, dvostruke veze i selenijevog dioksida, stvarajući tako novu σ -vezu uz pomak dvostruke veze te [1,5] sigmatropni pomak vodika. Nastaje alilna selenska kiselina te dolazi do [2,3] sigmatropne pregradnje. Eliminacijom vode i selena dolazi do nastanka Rileyevog produkta.^{46,47}

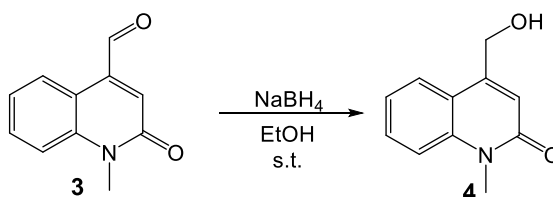


Shema 18. Mehanizam Rileyeve oksidacije 1,4-dimetilkinolin-2(1*H*)-ona **2** do 1-metilkinolin-2(1*H*)-on-4-karbaldehida **3**.⁴⁶

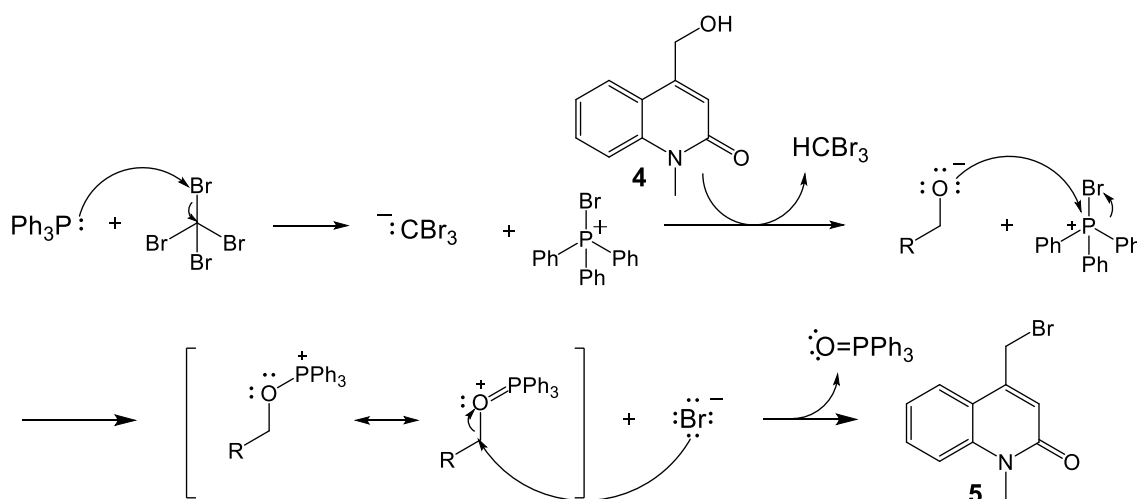
U sljedećem koraku, pripravljeni aldehyd **3** podvrgnut je selektivnoj redukciji (Shema 19). Kao reducens odabran je natrijev borhidrid jer korištenje drugih reducensa dovodi do redukcije polarizirane dvostruke veze unutar 2-kinolinona što nije cilj ovog sintetskog koraka. Reakcija se izvodi pri sobnoj temperaturi u bezvodnom etanolu, a njen tijek praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. U zadnjem stupnju provodi se hidroliza alkoksida dodatkom 5 %-tne otopine NH₄Cl. Nakon obrade reakcijske smjese i čišćenja spoja kromatografijom na stupcu silikagela izoliran je alkohol **4** uz prinos 87 %. Struktura spoja **4** potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

Shema 19. Sintetski korak pripreve 4-hidroksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona **4**.

Spoj **5** priređen je Appelovom reakcijom bromiranja spoja **4** uz korištenje trifenilfosfina i ugljikovog tetrabromida (Shema 20). Reakcija je miješana 1 h pri 0 °C te potom 16 h pri sobnoj temperaturi, a praćena je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala diklormetan/metanol = 25/1 i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Kao nusprodukt reakcije nastaje trifenilfosfonijev oksid koji je uspješno odijeljen od bromida **5** korištenjem kromatografije na stupcu silikagela. Izoliran je čisti produkt **5** uz prinos 90 %. Struktura spoja **5** potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

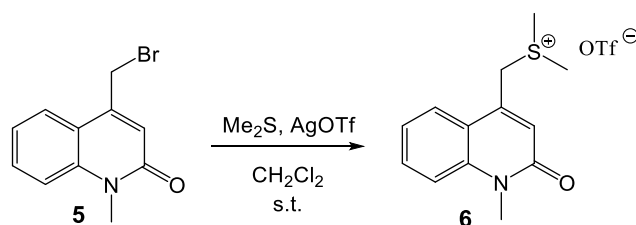
Shema 20. Sintetski korak pripreve 4-bromksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona **5**.

Mehanizam Appelove reakcije prikazan je na shemi 21. Reakcija započinje halogeniranjem trifenil-fosfina, nakon čega slijedi stvaranje alkoksida iz polaznog alkohola **4**. Zatim slijedi nukleofilni napad alkoksidnog iona na elektrofilni fosfor, pri čemu se oslobađa bromid. Zadnji korak reakcije odvija se prema S_N2 mehanizmu te nastaje konačni produkt **5** i nusprodukt reakcije, trifenilfosfonijev oksid. Stvaranjem jake dvostruke veze P=O pomiče se reakcija u smjeru nastanka produkta.⁴⁸



Shema 21. Mehanizam Appelove reakcije bromiranja 4-hidroksimetil-1-metilkinolin-2(1H)-ona **4**.⁴⁹

Kinolinonska sulfonijeva sol **6** pripravljena je iz spoja **5** i dimetil-sulfida uz srebrov triflat kao promotor nukleofilnom supstitucijskom reakcijom (S_N2) (Shema 22). U ovoj nukleofilnoj supstitucijskoj reakciji nukleofil, dimetil-sulfid, napada supstrat-halogenalkan sa strane suprotne od one na kojoj se nalazi izlazna skupina. Na samom početku procesa uočava se taloženje srebrovog bromida. Nakon završetka reakcije, nastalu organsku sol **6** bilo je potrebno razdvojiti od anorganske soli, srebrovog bromida. Spoj **6** netopiv je u većini organskih otapala, osim u dimetil-sulfoksidu. Smjesi soli dodan je dimetil-sulfoksid, pri čemu dolazi do otapanja spoja **6** dok srebrov bromid zaostaje kao talog u otopini. Srebrov bromid je odfiltriran, a dimetil-sulfoksid je uparen pod visokim vakuumom ($p = 0,01$ mmHg, $\theta = 45-50$ °C). Nakon uparavanja dobiven je čisti produkt **6** u iskorištenju od 94 %. Struktura spoja **6** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

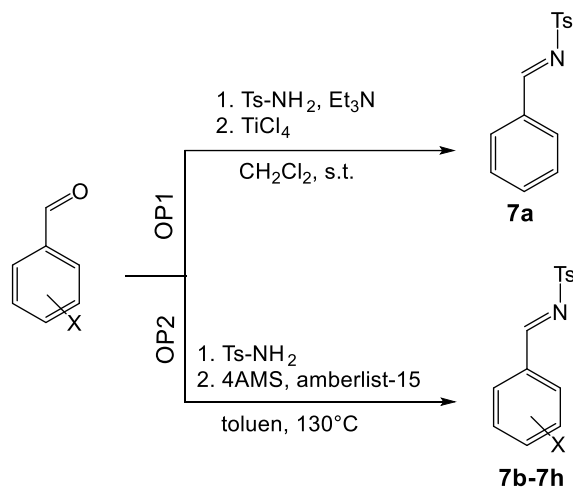


Shema 22. Sintetski korak dobivanja 2-kinolinonske sulfonijeve soli **6**.

4.3. Priprava *N*-tosil zaštićenih imina (7a-7h)

Priprava *N*-tosil zaštićenih imina puno je zahtjevnija u odnosu na sintezu Schiffovih baza s alkilnim ili arilnim supstituentima na dušiku koja se u uglavnom provodi reakcijom između aldehida i odgovarajućeg amida pri sobnoj temperaturi. Za priprava *N*-tosilsulfonil imina potrebno je korištenje katalizatora i/ili povišena temperatura. Tosilna skupina jedna je od najčešće korištenih zaštitnih skupina u organskoj kemiji. Uz to što ima zaštitnu ulogu, imini zaštićeni tosilnom skupinom smatraju se aktiviranim zbog prisustva elektron odvlačće skupine koja ih čini elektrofilnijim u reakcijama aziridacije.¹⁶ Ova skupina je vrlo stabilna i otporna na različite reakcijske uvjete što je ujedno prednost, ali i nedostatak jer su za njezino uklanjanje potrebni ili jako kiseli ili reduktivni uvjeti koji nisu kompatibilni s aziridinskim prstenom.

Za priprava imina **7a-7h** korišten je općeniti postupak 1 i 2 (Shema 23). Imin **7a** pripremljen je prema općenitom postupku 1, dok je za priprava preostalih imina **7b-7h** korišten općeniti postupak 2. Općeniti postupak 2 pokazao se boljom metodom te je iz tog razloga i odabran kao glavni protokol za priprava većine imina u ovom radu.



Shema 23. Sintetski put priprave *N*-tosil zaštićenih imina prema općenitom postupku 1 i 2.

Reakcija priprave imina ravnotežna je reakcija (reverzibilna) s relativno niskom konstantom ravnoteže, pri čemu je potrebno uklanjati jedan od produkata, vodu ili imin, iz reakcijske smjese ili dodati reaktant u suvišku kako bi se ravnoteža pomakla u desno ka nastanku produkta. U

ovom slučaju korišten je prvi pristup koji se temelji na uklanjanju vode korištenjem Dean-Starkove aparature, molekulskih sita 4 Å ili Lewisove kiseline.

Za pripravu *N*-tosil zaštićenog imina **7a** polazni spojevi su benzaldehid, toluen-4-sulfonamid, trietilamin te titanijev tetraklorid. U ovom sintetskom procesu titanijev tetraklorid ima dvojaku ulogu da koordinira kisikov atom karbonilne skupine, čineći tako karbonilni ugljikov atom elektrofilnijim, i da veže oslobođenu vodu kako ne bi došlo do reverzibilne reakcije hidrolize imina u aldehid. Trietilamin služi kao baza koja odcjepljuje proton na dušiku amino-skupine toluen-4-sulfonamida čineći ga boljim nukleofilom. Sirovi imin **7a** pročišćen je prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/10 uz prinos 57 %. Struktura spoja **7a** potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

Za pripravu *N*-tosil zaštićenih imina **7b-7h** polazni spojevi bili su odgovarajući aldehid i toluen-4-sulfonamid uz katalitičku količinu amberlista-15. Korištena je Dean-Starkova aparatura koja je potrebna za kontinuirano odvlačenje vode nastale prilikom izvođenja reakcije kako ne bi došlo do reverzibilne reakcije hidrolize imina u aldehid. Također, u istu svrhu, reakcijskoj smjesi dodana su i 4Å molekulska sita koja imaju ulogu da apsorbiraju oslobođenu vodu u reakciji. Sirovi imini **7b-7h** pročišćeni su prekrizacijom iz smjese otapala diklormetan/heksan = 1/10 uz prinos 57-98 % (Tablica 3). Strukture svih pripremljenih imina **7b-7h** potvrđene su ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom.

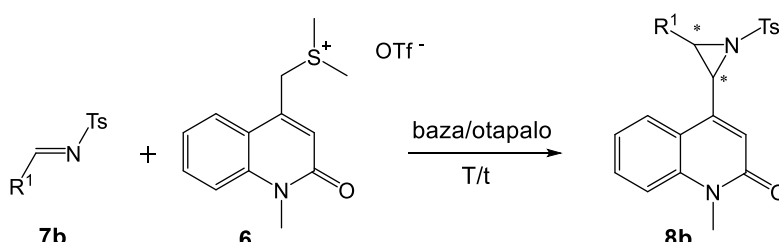
Tablica 3. Prinosi pripreve *N*-tosil zaštićenih imina **7a-7h**.

R ¹	IMIN	η (%)
fenil	7a	57
<i>p</i> -klorfenil	7b	88
<i>p</i> -fluorfenil	7c	89
<i>m</i> -fluorfenil	7d	81
<i>o</i> -fluorfenil	7e	98
2,6-difluorfenil	7f	57
3,4-difluorfenil	7g	81
2,4,5-trifluorfenil	7h	77

4.4. Priprava racemičnih derivata marinoaziridina (8a-8h)

Za pripravu racemičnih derivata marinoaziridina **8a-8h** ispitani su reakcijski uvjeti na dobivanju derivata **8b**. Pri tom smo željeli provjeriti kakav je utjecaj baze na dijastereoselektivnost i iskorištenje reakcije. Derivat **8b** pripremljen je prema općenitim postupcima 1, 2 i 3, a glavna mijenjana varijabla bila je baza kao što je prikazano u tablici 4. Uočeno je da baza nema bitnog utjecaja na dijastereoselektivnost reakcije. Najbolja iskorištenja postignuta su korištenjem kalijevog hidroksida, dok upotreba *tert*-butillitija i fosfazenske baze dovodi do loše konverzije polaznog materijala, odnosno loših prinosa. Kad je u reakciji korišten kalijev hidroksid kao baza, reakcija se provodi pri sobnoj temperaturi, dok uz *tert*-butillitij i fosfazensku bazu reakcija se provodi na -78 °C. Uočeno je da temperatura reakcije bitno utječe na iskorištenje reakcije jer u reakciji sudjeluje loše topljiva kinolinonska sol **6** čija se topljivost dodatno pogoršava snižavanjem temperature. Zadovoljavajući rezultati postignuti su korištenjem kalijevog hidroksida u acetonitrilu pri sobnoj temperaturi bez gubitka dijastereoselektivnosti, što je ujedno i dobar razlog da se isti postupak koristi za pripravu ostalih aziridina **8a, 8c-8h**.

Tablica 4. Optimizacija reakcije aziridinicije u pripravi derivata marinoaziridina **8b**.



metoda ^a	baza	otapalo	$\theta/^\circ\text{C}$	<i>t/h</i>	konverzija ^b /%
OP 1	EtP ₂	THF	-78	4	20
OP 2	<i>t</i> -BuLi	THF	-78	4	26
OP 3	KOH	CH ₃ CN	25	20	95

^aOP=općeniti postupak

^bkonverzija reakcije određena je korištenjem kromatografije visoke djelotvornosti.

Dobiveni racemični derivati marinoaziridina **8a-8h** pripremljeni su uglavnom kao smjese *cis* i *trans* izomera. Dijastereoselektivnost reakcije određena je ¹H NMR spektroskopijom na sirovim reakcijskim smjesama prije kromatografije jer kromatografija može utjecati na omjer dijastereoizomera. Konstante sprege za signale protona vezane na ugljikove atome u prstenu kreću se 4,5-5 Hz za *trans*, te 7,2-7,6 Hz za *cis* izomer što je sukladno s Karplusovom krivuljom.

Kao što je vidljivo iz tablice 5, dijastereoselektivnost reakcije poprilično je visoka te većini slučajeva prevladava *trans* izomer. Kod dva derivata **8d** i **8f** može se opaziti potpuna dijastereoselektivnost. U slučaju derivata **8d** dolazi do nastanka isključivo *cis* izomera, dok je nastanak *trans* izomera opažen kod derivata **8f**. Korištenjem kromatografije na stupcu silikagela uspješno su odijeljeni neki od *cis* i *trans* izomera.

Tablica 5. Dijastereoselektivnost reakcije azirdinacije s obzirom na različite supstituente (R¹).

R ¹	marinoazirdin	<i>cis/trans</i>	η (%)
fenil	8a	14/86	77
<i>p</i> -klorfenil	8b	21/79	95
<i>p</i> -fluorfenil	8c	17/83	87
<i>m</i> -fluorfenil	8d	100/0	51
<i>o</i> -fluorfenil	8e	21/79	70
2,6-difluorfenil	8f	0/100	65
3,4-difluorfenil	8g	15/85	51
2,4,5-trifluorfenil	8h	33/67	26

Zbog zahtjevnosti cijelog sintetskog postupka i opsega istraživanja, u ovom diplomskom radu nisu provedena računalna ispitivanja koja bi objasnila 100 % *cis* selektivnost kod spoja **8d**, te 100 % *trans* selektivnost kod spoja **8f**. Daljnja istraživanja usmjerit će se računalnim istraživanjima reakcijskih profila dviju aziridinacijskih reakcija koje su rezultirale 100 %-tnom dijastereoselektivnošću.

4.5. Razdvajanje racemičnih derivata marinoaziridina (8a-8h)

Kiralno prepoznavanje na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije temelji se na složenom fenomenu kiralnih i akiralnih interakcija.⁴⁹ Vrlo je teško predvidjeti koji će kiralni selektor pojedine kiralne nepokretne faze odijeliti enantiomere, a ujedno i koja će pokretna faza biti najpovoljnija pri odjeljivanju enantiomera. Mnogobrojna istraživanja pokazala su da je sastav pokretne faze važan faktor u razdvajanju enantiomera jer definira svojstva interakcijske okoline u kojoj se odvija kiralno prepoznavanje.⁵⁰ Svaka promjena u kromatografskom sustavu utječe na kiralno prepoznavanje, odnosno na kromatografske parametre. Faktor zadržavanja enantiomera k pokazuje selektivnost, odnosno selektivno ili neselektivno vezanje enantiomera na kiralnu nepokretnu fazu, dok separacijski faktor α opisuje razliku u afinitetu pojedinih enantiomera i pokretne faze za interakcijska mjesta na kiralnoj nepokretnoj fazi. Faktor razlučivanja R_s opisuje efikasnost i selektivnost odjeljivanja enantiomera.³⁵

U ovom dijelu diplomskog rada ispitani su uvjeti razdvajanja enantiomera derivata marinoaziridina **8a-8h** na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama utemeljenim na derivatima amiloze i celuloze primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije. Neki od sintetiziranih dijastereoizomera **8a-8h** uspješno su odijeljeni primjenom akiralne kromatografije na stupcu silikagela (**8b**, **8c** i **8g**), dok je spoj **8d** sintetiziran kao *cis* izomer, a spoj **8f** kao *trans* izomer. *Cis* i *trans* izomeri preostalih analita u seriji (**8a**, **8e** i **8h**) nisu uspješno odijeljeni akiralnom kromatografijom na stupcu silikagela, stoga je mogućnost odjeljivanja njihovih enantiomera istražena na uzorcima dijastereomernih smjesa (tablica 6).

Tablica 6. Dijastereomerni sastav sintetiziranih derivata marinoaziridina **8a-8h**.

derivat	dijastereoizomer
8a	<i>cis/trans</i>
8b	<i>trans</i>
8c	<i>trans</i>
8d	<i>cis</i>
8e	<i>cis/trans</i>
8f	<i>trans</i>
8g	<i>trans</i>
8h	<i>cis/trans</i>

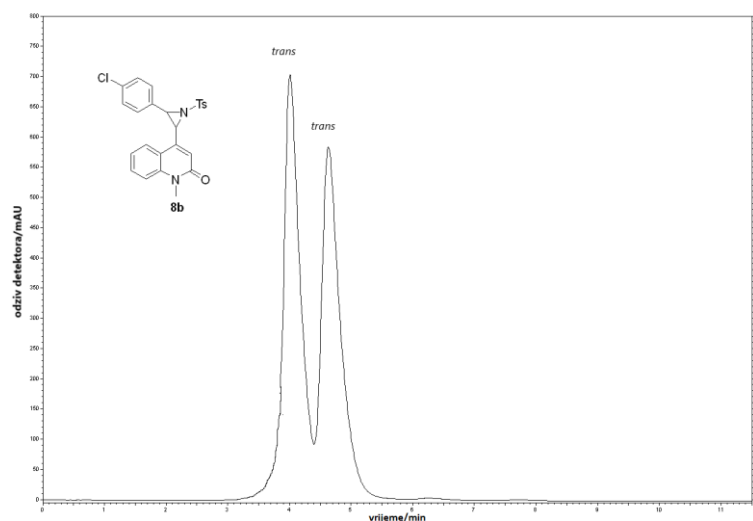
Na samom početku našeg istraživanja, uočili smo da su pripremljeni derivati **8a-8h** poprilično slabo topljivi u nepolarnim otapalima te da ih je potrebno otopiti u smjesama koje sadrže visoke udjele diklormetana, kloroforma ili tetrahidrofurana. Zbog toga polisaharidne nepokretne faze japanske tvrtke *Daicel Chemical Industries*, tržišnih imena *Chiralpak AD*, *Chiralpak AS*, *Chiralpak OJ* i *Chiralpak OD* nisu bile dobar izbor za odjeljivanje enantiomera ovih novosintetiziranih spojeva, budući da nisu opstojne uz prije navedena otapala. U odnosu na njih, imobilizirane polisaharidne nepokretne faze imaju nekoliko prednosti poput kemijske inertnosti, kompatibilnosti s različitim pokretnim fazama te primjene na širok spektar analita.⁵¹ Stoga smo odlučili ispitati tri nama dostupne imobilizirane kolone *Chiral ART Amylose SA*, *Chiral ART Cellulose SB* i *Chiral ART Cellulose SC*.

U prvoj fazi provedena su preliminarna istraživanja utjecaja pokretne faze na odjeljivanje enantiomera na nepokretnoj fazi *Chiral ART Amylose SA*. Glavna kiralna adsorbirajuća mjesta kiralne nepokretne faze su karbamatne polarne skupine koje stupaju u interakciju s analitom stvarajući vodikove veze preko NH i C=O skupina, dipol-dipol interakcije preko C=O skupina te aromatske skupine koje omogućuju π - π interakcije s analitom. Prisutnost dviju metilnih skupina na fenilkarbamatnoj jedinici kiralnog selektora povećava elektronsku gustoću na kisiku karbonilne skupine, što za posljedicu može dati snažnije vodikove veze. Potencijalna vodikova veza između kiralnog selektora i serije analita derivata **8a-8h** može se ostvariti interakcijom preko NH skupine kiralnog selektora s C=O skupinom ili atomima klora ili fluora u strukturi analita. Nekovalentna intermolekulska interakcija vodikova veza značajno utječe na strukturu tj. konformaciju molekule o kojoj ovisi inkluzija analita u kiralnu šupljinu nepokretne faze. Uz vodikovu vezu, funkciju kontroliranja inkluzije analita u kiralne šupljine nepokretne faze imaju i dvije metilne skupine na fenilkarbamatnoj jedinici, kao i fizikalno-kemijska svojstva pokretne faze, budući da derivati polisaharida uz različita otapala pokazuju različit stupanj bubrenja (*engl.* swelling), a to neposredno utječe na veličinu i oblik kiralne šupljine.^{52,53}

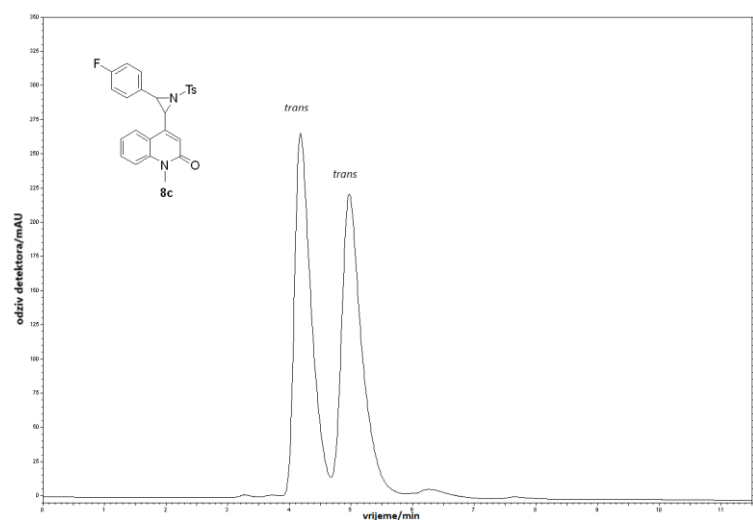
Svi analiti u seriji vrlo brzo izlaze iz kolone *Chiral ART Amylose SA*, gotovo bez zadržavanja, stoga dobiveni rezultati ukazuju na jaku kompeticiju analita i pokretne faze za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Uočeno je odjeljivanje jedino tri analita iz serije **8b**, **8c**, i **8g** uz diklormetan kao pokretnu fazu. Spoj **8b** koji u svojoj strukturi sadrži klor u *para*

položaju na fenilnoj skupini C-iminskog supstituenta, slabije se odjeljuje od spoja **8c** koji u svojoj strukturi umjesto atoma klora sadrži fluor (slika 6). Fluor je manji i elektronegativniji od atoma klora te su stoga manja sterička ometanja pri ulasku u šupljinu kiralnog selektora i jače su dipol-dipol interakcije što ujedno dovodi do boljeg kiralnog prepoznavanja.

a)



b)



Slika 6. Odjeljivanje enantiomera na koloni *Chiral ART Amylose SA* uz diklormetan kao pokretnu fazu: a) **8b**, b) **8c**.

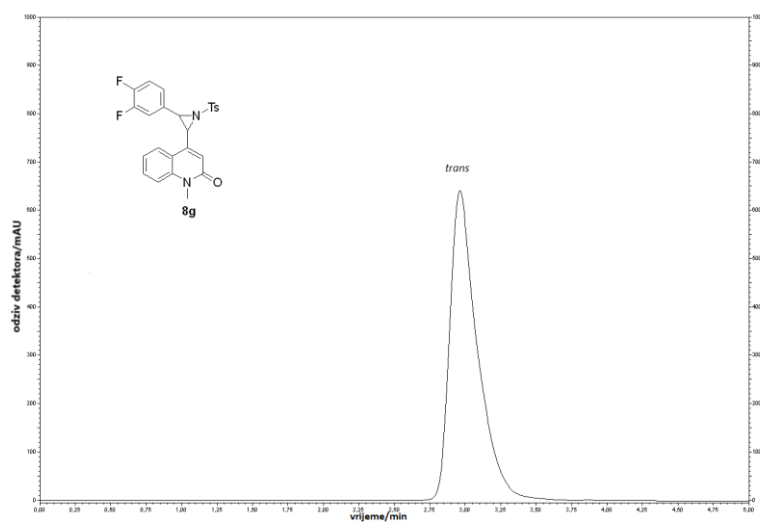
Primjenom kloroforma kao pokretne faze uočava se odjeljivanje jedino analita **8g**, dok uz tetrahidrofuran dolazi do potpunog izostanka enantioselektivnosti. Zanimljivi rezultati odjeljivanja enantiomera analita **8g** u ovisnosti o pokretnoj fazi prikazani su na slici 7 i u tablici 7. Uz primjenu halogenih otapala povećavaju se vrijednosti faktora zadržavanja, separacijskih faktora i razlučivanja enantiomera spoja **8g**. α -vrijednosti naglo se povećavaju što ukazuje da pokretna faza značajno utječe na svojstva interakcijske okoline i kiralno prepoznavanje. Uz diklormetan nešto je bolje enantioprepoznavanje spoja **8g** ($\alpha = 2,85$) nego li uz kloroform **8g** ($\alpha = 1,59$), pri čemu uzrok može biti razlika u polarnosti dvaju otapala. Isto tako literaturno je poznato da se neka otapala udružuju s kiralnom nepokretnom fazom i uzrokuju bubrenje kolone, što dovodi do otvaranja kiralnih šupljina. Pri tome, inkluzijske interakcije enantiomera slabe, a vremena zadržavanja enantiomera se smanjuju.⁵³

Tablica 7: Utjecaj pokretne faze na odjeljivanje enantiomera strukturnog derivata **8g**.

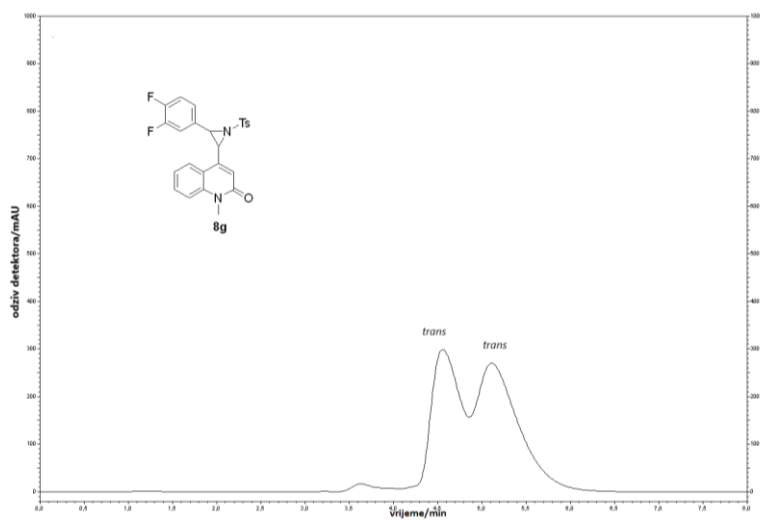
kolona ^a	otapalo	k_1	k_2	α	R_s
KNF-1	tetrahidrofuran	0,03	0,03	1,00	0,00
	kloroform	0,26	0,41	1,59	0,65
	diklormetan	0,14	0,41	2,85	1,18

^a*KNF-1-Chiral Art Amylose SA.*

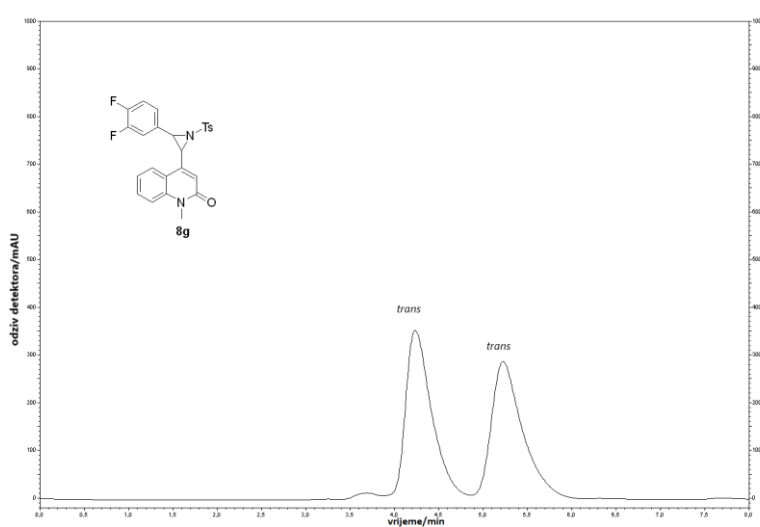
a)



b)



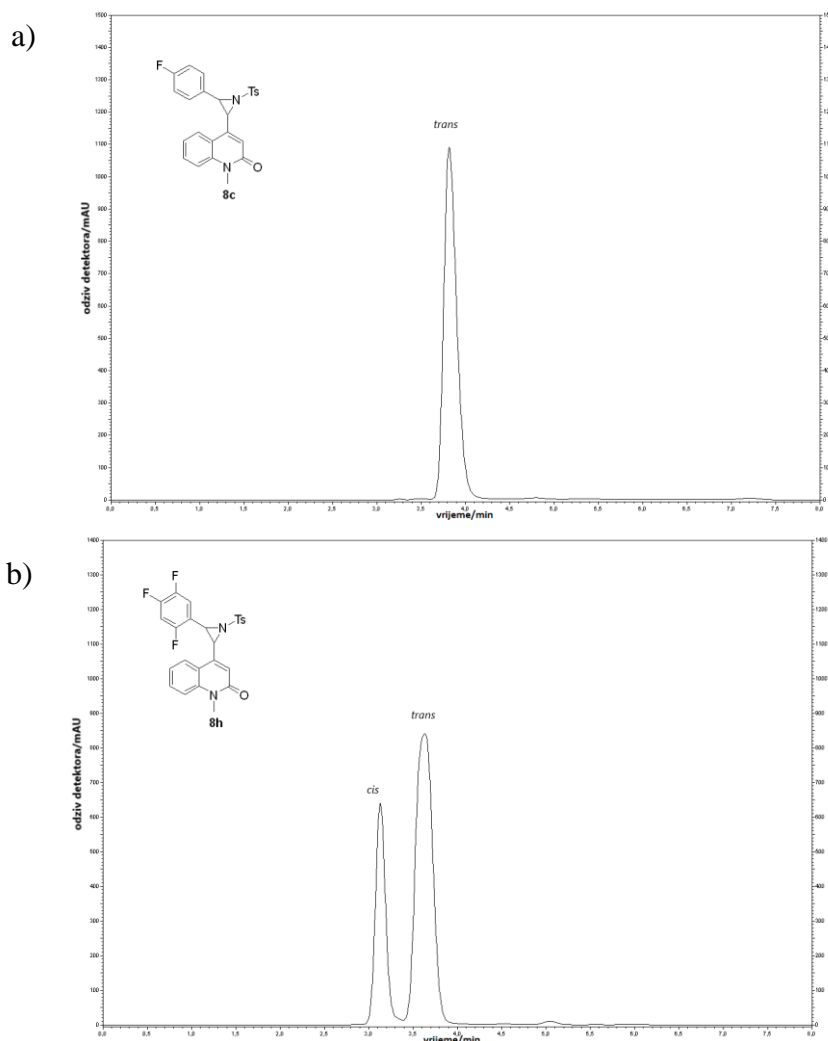
c)



Slika 7. Kromatogrami spoja **8g** na koloni *Chiral Art Amylose SA* korištenjem pokretne faze: a) tetrahidrofuran, b) kloroform, c) diklormetan.

U nastavku istraživanja kromatografskog odjeljivanja enantiomera novosintetizirane serije spojeva **8a-8h** primijenjene su preostale dvije polisaharidne kiralne nepokretne faze, koje su utemeljene na imobiliziranim derivatima celuloze na silikagelu.

Uz diklormetan kao pokretnu fazu, na koloni *Chiral ART Cellulose SB* nije zabilježeno odjeljivanje enantiomera niti jednog analita u seriji, spojevi vrlo brzo izlaze s kolone, gotovo bez zadržavanja. Možemo pretpostaviti da su uzrok tomu sterička ometanja koja onemogućavaju da analit i kiralni selektor nepokretne faze dođu u povoljnu konformaciju kako bi se ostvarile maksimalne interakcije koje bi dovele do enantioselektivnosti. Na slici 8 prikazani su kromatogrami spoja **8c** te spoja **8h** kod kojeg se uočava razdvajanje *cis* i *trans* izomera, koje nismo uspjeli razdvojiti akiralnom kromatografijom na stupcu silikagela, ali ne i enantiomera dotičnih spojeva.



Slika 8. Odjeljivanje diastereomera na koloni *Chiral Art Cellulose SB* uz diklormetan kao pokretnu fazu: a) **8c**, b) **8h**.

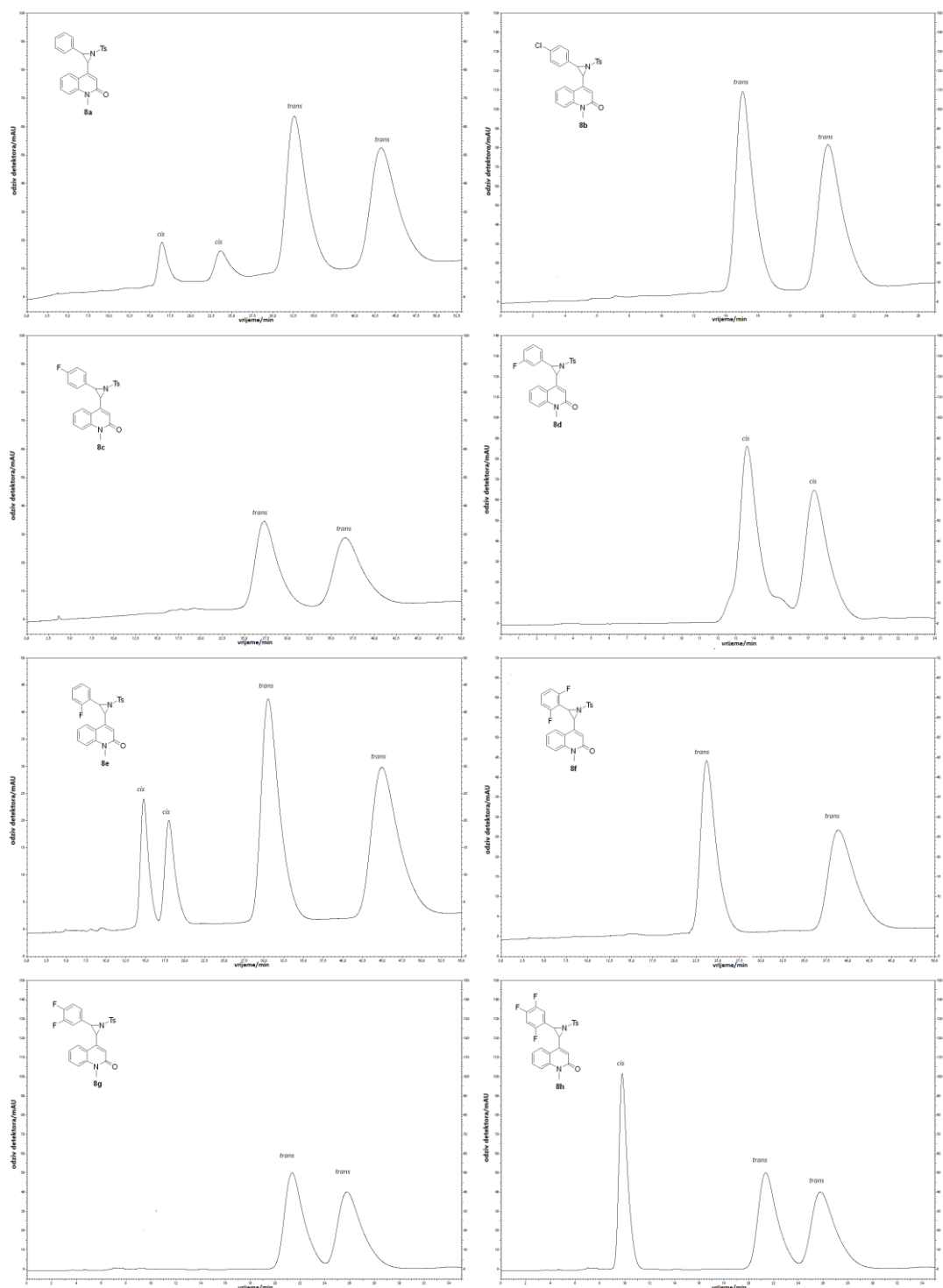
Primjenom druge celulozne nepokretne faze *Chiral ART Cellulose SC* uz diklormetan kao pokretnu fazu, utvrđeno je da analiti iz serije **8a-8h** pokazuju drugačiju sliku odvajanja enantiomera. Svi pripremljeni racemični derivati vrlo se dobro razdvajaju na nepokretnoj fazi sa selektorom *tris*-(3,5-diklorfenilkarbammat)celulozom. Jedino je zabilježen slabiji rezultat u odjeljivanju *cis* izomera derivata **8h**, dok je kod *trans* izomera zabilježeno zadovoljavajuće odjeljivanje do bazne linije. Također treba primjetiti da su vremena zadržavanja analita na koloni, što se može vidjeti promatrajući podatke k_1 i k_2 , puno duža u odnosu na vremena zadržavanja na kolonama **KNF-1** i **KNF-2**. Iz toga se može zaključiti kako su nekovalentne interakcije koje analiti stvaraju s 3,5-diklorfenilkarbammatnom skupinom snažnije nego s 3,5-dimetilfenilkarbammatnom skupinom. Zanimljivo je primijetiti da se jedino *trans* izomer spoja **8g** iz serije odjeljuje na svim kolonama. U svojoj strukturi sadrži dva atoma fluora u *meta* i *para* položaju C-iminskog supstituenta. *Cis* izomer spoja **8h** s tri atoma fluora ne odjeljuje se niti na jednoj polisaharidnoj nepokretnoj fazi. Rezultati odjeljivanja enantiomera derivata marinoaziridina **8a-8h** na kolonama **KNF-1** – **KNF-3** prikazani su u tablici 8.

Tablica 8. Rezultati odjeljivanja enantiomera derivata marinoaziridina **8a-8h** na kolonama **KNF-1** – **KNF-3**, Ψ (diklormetan) = 100; 1 mL/min; 254 nm.

kolona ^a		<i>cis</i> 8a	<i>trans</i> 8a	<i>cis</i> 8b	<i>trans</i> 8c	<i>cis</i> 8d	<i>cis</i> 8e	<i>trans</i> 8e	<i>trans</i> 8f	<i>trans</i> 8g	<i>cis</i> 8h	<i>trans</i> 8h
KNF-1	k_1	0,08	0,42	0,33	0,38	0,23	0,18	0,27	0,24	0,40	0,13	0,35
	k_2	0,08	0,42	0,53	0,64	0,23	0,18	0,34	0,34	0,73	0,13	0,35
	α	1,00	1,00	1,62	1,68	1,00	1,00	1,00	1,40	1,82	1,00	1,00
	R_s	0,00	0,00	1,21	1,51	0,00	0,00	0,00	0,08	1,72	0,00	0,00
KNF-2	k_1	0,21	0,23	0,24	0,25	0,11	0,08	0,18	0,14	0,19	0,01	0,19
	k_2	0,21	0,23	0,24	0,25	0,11	0,08	0,18	0,14	0,24	0,01	0,19
	α	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,25	1,00	1,00
	R_s	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00
KNF-3	k_1	4,40	9,67	3,93	7,93	3,47	3,84	8,99	6,75	7,99	0,25	6,00
	k_2	6,74	13,12	5,67	10,99	4,68	4,89	13,69	11,72	9,84	0,25	7,44
	α	1,53	1,36	1,44	1,38	1,35	1,27	1,52	1,73	1,23	1,00	1,24
	R_s	2,66	1,97	2,25	1,73	1,88	1,53	2,71	3,35	1,36	0,00	1,38

KNF-1-Chiral Art Amylose SA, **KNF-2**-Chiral Art Cellulose SB, **KNF-3**-Chiral Art Cellulose SC.

Obradom svih dobivenih rezultata može se zaključiti da se najbolje mogućnosti enantioseparacije novosintetizirane serije derivata **8a-8h** postižu na koloni *Chiral ART Cellulose SC* koja sadrži *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamatni) celulozni kiralni selektor uz diklormetan kao pokretnu fazu što je prikazano na slici 9.



Slika 9. Odjeljivanje enantiomera analita serije **8a-8h** na koloni *Chiral Art Cellulose SC* uz diklormetan kao pokretnu fazu.

§ 5. ZAKLJUČAK

- ❖ Uspješno je provedena totalna sinteza halogeniranih derivata marinoaziridina **8a-8h** reakcijom akiralne sulfonijeve soli **6** i *N*-tosil zaštićenih imina **7a-7h** uz kalijev hidroksid u acetonitrilu pri sobnoj temperaturi. Ukupno iskorištenje totalne sinteze je 3-11 % (7 koraka).
- ❖ Akiralna sulfonijeva sol **6** pripravljena je reakcijom bromida **5**, dimetil-sulfida i srebrovog triflata uz prinos 94 %.
- ❖ *N*-tosil imini **7a-7h** pripremljeni su iz odgovarajućih aldehida i toluen-4-sulfonamida uz prinos od 57-98 % korištenjem općenitog postupka 1 i 2. Općeniti postupak 2 pokazao se boljom metodom za pripremu *N*-tosil imina **7a-7h**.
- ❖ Provedene su reakcije aziridinacije *N*-tosil imina **7b** korištenjem akiralne sulfonijeve soli **6** pri čemu je ispitan utjecaj baze (*tert*-butillitij, fosfazenska baza, kalijev hidroksid) na dijastereoselektivnost i prinos reakcije. Uočeno je da baza nema bitan utjecaj na dijastereoselektivnost reakcije. Najbolji prinosi postignuti su uz kalijev hidroksid kao bazu pri sobnoj temperaturi.
- ❖ Strukturni derivati **8a-8h** pripremljeni su većinom kao smjese *cis* i *trans* izomeri. Dijastereoselektivnost reakcije poprilično je visoka te u većini slučajeva prevladava *trans* izomer. Kod dva derivata **8d** i **8f** može se opaziti potpuna dijastereoselektivnost. U slučaju derivata **8d** dolazi do nastanka isključivo *cis* izomera, dok je nastanak *trans* izomera opažen kod derivata **8f**.
- ❖ Uspješno je razvijena enantioselektivna kromatografska metoda odjeljivanja enantiomera novosintetizirane serije strukturnih derivata **8a-8h** na *Chiral ART Cellulose SC* nepokretnoj fazi koja sadrži celuloza *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamatni) kiralni selektor uz diklormetan kao pokretnu fazu.
- ❖ Ispitan je utjecaj otapala (tetrahidrofurana, kloroforma, diklormetana) na odjeljivanje analita **8g** na kiralnoj koloni *Chiral ART Amylose SA*. Uočeno je kiralno prepoznavanje korištenjem halogeniranih otapala, dok uz tetrahidrofuran dolazi do izostanka enantioselektivnosti.

- ❖ Na *Chiral ART Amylose SA* opaženo je da svi analiti u seriji vrlo brzo izlaze s kolone, gotovo bez zadržavanja. Uočeno je odjeljivanje jedino tri analita iz serije **8b**, **8c**, i **8g** uz diklormetan kao pokretnu fazu.
- ❖ Na *Chiral ART Cellulose SB* nije zabilježeno odjeljivanje enantiomera niti na jednom od analita u seriji uz diklormetan kao pokretnu fazu, spojevi vrlo brzo izlaze s kolone, gotovo bez zadržavanja.
- ❖ Zbog zahtjevnosti cijelog sintetskog postupka i opsega istraživanja, u ovom diplomskom radu nisu provedena računalna ispitivanja koja bi objasnila 100 %-tnu *cis* selektivnost kod derivata **8d**, te 100 %-tnu *trans* selektivnost kod derivata **8f**. Iz istog razloga predmet istraživanja nisu niti biološka ispitivanja kao ni određivanje apsolutne konfiguracije.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

4 Å MS = 4 Å molekulska sita

AgOTf = srebrov triflat

B = baza

CBr₄ = ugljikov tetrabromid

CH₃CN = acetonitril

CH₃COOH = octena kiselina

COOMe = metil-formijat

CO₂NEt₂ = *N,N*-dietilmetanamid

d = dublet

dd = dublet dubleta

ddd = dublet dublet dubleta

DCM = diklormetan

EA = enantiomerni par analita

EtOH = etanol

EtP₂ = fosfazenska baza

H₂SO₄ = sumporna kiselina

HPLC = tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

J = konstanta sprege

KNF = kiralna nepokretna faza

KOH = kalijev hidroksid

KS = kiralni selektor

LG = izlazna skupina

m = multiplet

MeOH = metanol

Me₂S = dimetil-sulfid

NaBH₄ = natrijev borhidrid

NaH = natrijev hidrid

NaOAc = natrijev acetat

PPh₃ = trifenilfosfin

R_f = faktor zaostajanja

s = singlet

SeO_2 = selenijev dioksid

SOCl_2 = tionil klorid

s. t. = sobna temperatura

t = triplet

t_f = točka taljenja

TLC = tankoslojna kromatografija

THF = tetrahidrofur

TiCl_4 = titanijev tetraklorid

Ts-NH₂ = toluen-4-sulfonamid

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. J. Hassfeld, M. Kalesse, T. Stellfeld, M. Christmann, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **97** (2005) 133-203.
2. R. D. Little, G. A. Nishiguchi, *Elsevier* **35** (2008) 3-56.
3. M. C. Leal, C. Madeira, C. A. Brandao, J. Puga, R. Calado, *Molecules* **17** (2012) 9842-9854.
4. E. J. Choi, S.-J. Nam, L. Paul, D. Beatty, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *Chem. Biol.* **22** (2015) 1270-1279.
5. X. - F. Shang, S. L. Morris-Natschke, Y. - Q. Liu, X. Guo, X. - S. Xu, M. Goto, J. - C. Li, G. - Z. Yang, K. - H. Lee, *Med. Res. Rev.* **38** (2017) 775-828.
6. L. Degennaro, P. Trinchera, R. Luisi, *Chem. Rev.* **114** (2014) 7881-7929.
7. V. Šunjić, V. Petrović Peroković, *Organic Chemistry from Retrosynthesis to Asymmetric Synthesis*, Springer, Zagreb, str. 1-13.
8. K. C. Nicolaou, E. J. Sorensen, *Classics in Total Synthesis*, VCH Publishers, Weinheim, 1996, str. 1-18.
9. M. B. Smith, *Organic Synthesis*, 4th Edition, 2010, str. 912-914.
10. L. Velluz, J. Valls, J. Mathieu, *Angew. Chem. Intermit. Edit.* **6** (1967) 789.
11. P. Holister, C. R. Vas, T. Harper, *Dendrimers: Technology White Papers*, Cientifica, 2003.
12. A. K. Yudin, *Aziridines and Epoxides in Organic Synthesis*, WILEY-VCH, Toronto, 2006 str. 117-141.
13. G. S. Singh, *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Vol. 129, University of Botswana, Gaborone, Botswana, 2019, str. 245-335.
14. S. Gabriel, *Ber. Dtch. Chem. Ges.* **21** (1888) 1049-1057.
15. A. R. Katritzky, C. A. Ramsden, E. F. V. Scriven, R. J. K. Taylor, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*, Vol. 1, Oxford, 2008.
16. J. B. Sweeney, *Chem. Soc. Rev.* **31** (2002) 247-258.
17. X. E. Hu, *Tetrahedron* **60** (2004) 2701-2743.
18. G. S. Singh, S. Sudheesh, N. Keroletswe, *Arkivoc* **1** (2018) 50-113.
19. L. Degennaro, P. Trinchera, R. Luisi, *Chem. Rev.* **114** (2014) 7881-7929.

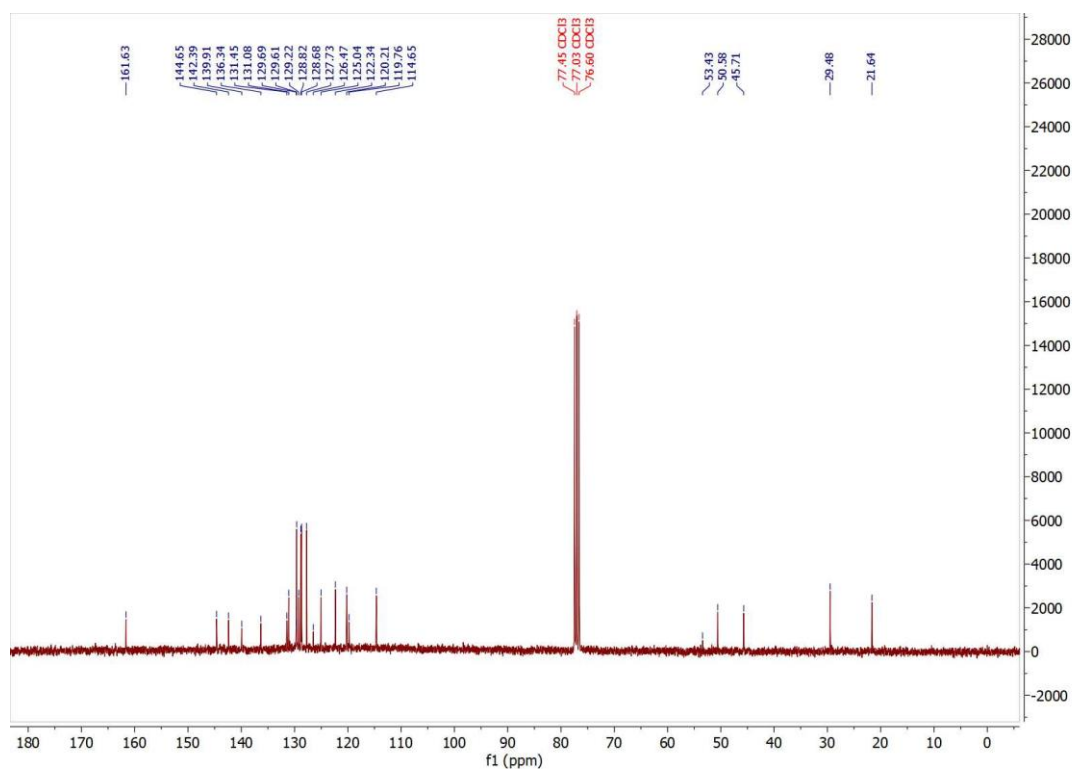
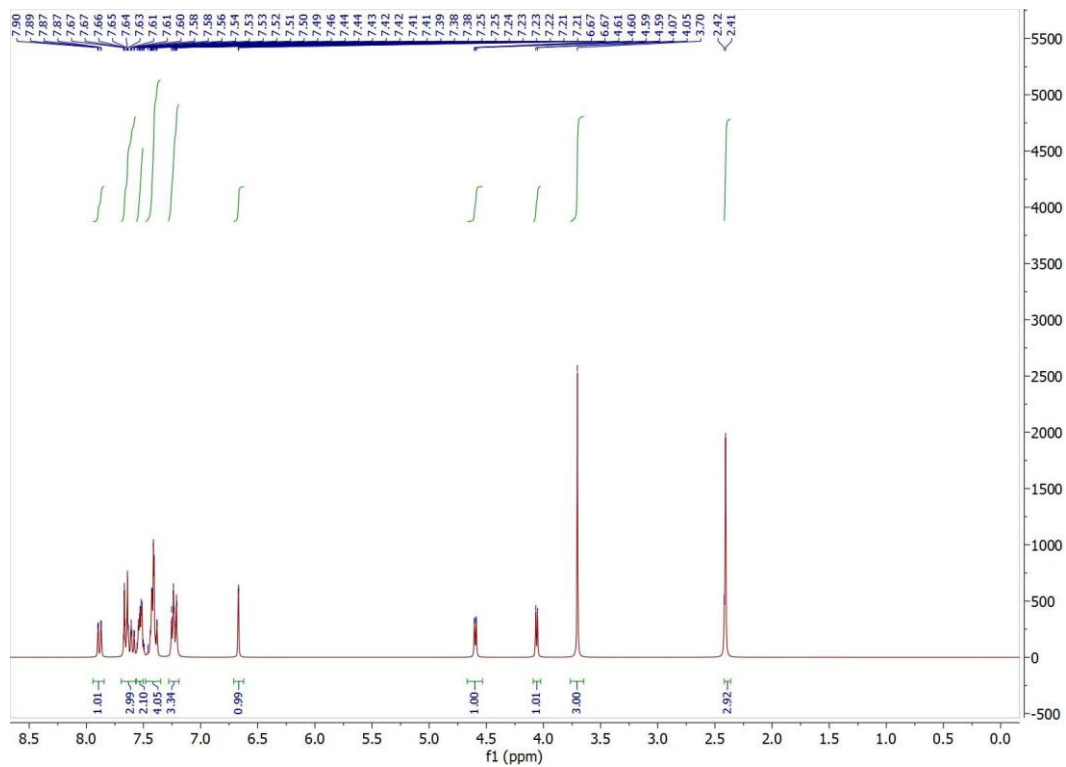
20. P. F. Kuijpers, I. J. I. Van der Vlugt, S. Schneider, B. de Bruin, *Chem. Eur. J.* **56** (2017) 13819-13829.
21. H. Pellissier, *Tetrahedron* **66** (2010) 1509-1555.
22. A. K. Yudin, *Aziridines and Epoxides in Organic Synthesis*, WILEY-VCH, Toronto, str. 117-141.
23. H. Wenker, *J. Am. Chem. Soc.* **57** (1935) 2328.
24. M. Ho, J. K. K. Chung, N. Tang, *Tetrahedron Lett.* **34** (1993) 6513-6516
25. D. Tanner, P. Somfai, *Tetrahedron* **44** (1988) 619-624.
26. A. H. Li, L. X. Dai, X. L. Hou, M. B. Chen, *J. Org. Chem.*, **61** (1996) 4641-4648,
27. V. K. Aggarwal, A. Thompson, R. V. H. Jones, M. C. H. Standen, *J. Org. Chem.* **61** (1996) 8368-8369.
28. J. L. G. Ruano, I. Fernandez, M. Catalina, A. A. Cruz, *Tetrahedron Asymmetry* **7** (1996) 3407-3414.
29. A. Solladie-Cavallo, M. Roje, R. Welter, V. Šunjić, *J. Org. Chem.* **69** (2004) 1409-1412.
30. I. Stipetić, M. Roje, Z. Hameršak, *Synlett* **20** (2008) 3149-3152.
31. A. Kowalczyk, A. M. Pieczonka, M. Rachwalski, S. Leśniak, P. Stączek, *Molecules*, **23** (2018) 45.
32. F. M. D. Ismail, D.O. Levitsky, V. M. Dembitsky, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 3373-3387.
33. E. Juaristi, *Introduction to Stereochemistry and Conformational Analysis*, John Wiley & Sons, New York, 1991.
34. S. Ahuja, S. Scypinski, *Separation Science and Technology*, Vol.10, Academic Press, 2011, str. 251-282.
35. N. Galić, V. Drevenkar, *Kromatografija*, Zavod za analitičku kemiju, Kemijski odsjek, PMF, Zagreb, 2006.
36. M. Lämmerhofer, *J. Chromatogr. A* **1217** (2010) 814-856.
37. T. Zhang, M. Schaeffer, P. Franco, *J. Chromatogr. A* **1083** (2005) 96-101.
38. HPLC Column/Packing Material with Polysaccharide Derivatives Chiral Selector, *CHIRAL ART*, YMC CO., PB-0066E.
39. H. Pirkle, T. C. Pochapsky, *Chem. Rev.* **89** (1989) 347-362.
40. W. B. Jennings, C. J. Lovely, *Tetrahedron* **47** (1977) 3109-3113.

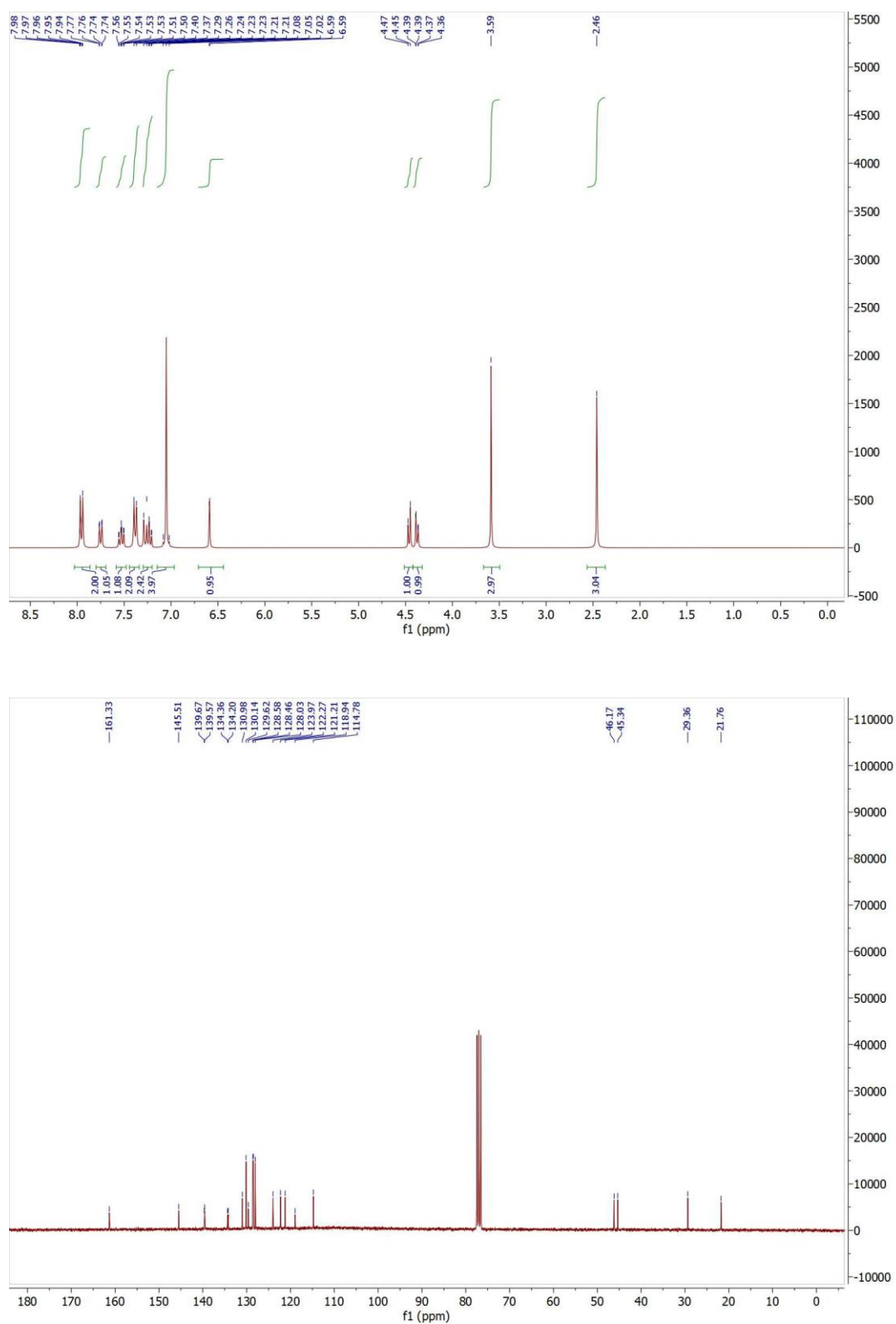
41. X. - F. Shang, S. L. Morris-Natschke, Y. - Q. Liu, X. Guo, X. S. Xu, M. Goto, J. -C. Li, G. - Z. Yang, K. - H. Lee, *Med. Res. Rev.* **38** (2017) 775-828.
42. T. Tashima, *Bioorg. Med. Chem. Lett., Elsevier* **23** (2015) 4093-5078.
43. M. S. Kuo, D. A. Yurek, S. A. Mizesak, *J. Antibiot.* **29** (1976) 357-360.
44. Z. Wang, Conrad-Limpach Quinoline Synthesis, *In Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, John Wiley & Sons, 2010, str. 692-695.
45. G. R. Waltkins, C. W. Clark, *Chem. Rev.* **36** (1945) 235.
46. D. J. Cook, M. Stamper, *J. Am. Chem. Soc.* **69** (1947) 1467.
47. C. E. Kaslow, D. J. Cook, *ibid.* **67** (1945) 1969.
48. R. Appel, *Angewandte Chemie International Edition in English*, **14** (1975) 801-811.
49. S. Abu-Lafi, M. Sterin, S. Levin, *J. Chromatogr. A* **69** (1994) 47-58.
50. Y. K. Agrawal, R. N. Patel, *J. Chromatogr. B* **820** (2005) 23-31.
51. A.-E. Dascalu, D. Speybrouck and M. Billamboz, D. Corens, A. Ghinet, E. Lipka, *J. Chromatogr. A* **1622** (2020) 461125.
52. R. M. Wenslow, Jr. Wang, Tao Wang, *Anal. Chem.* **72** (2001) 4190-4195.
53. D. Ibrahim, A. Ghanem, *Molecules* **24** (2019) 1287.

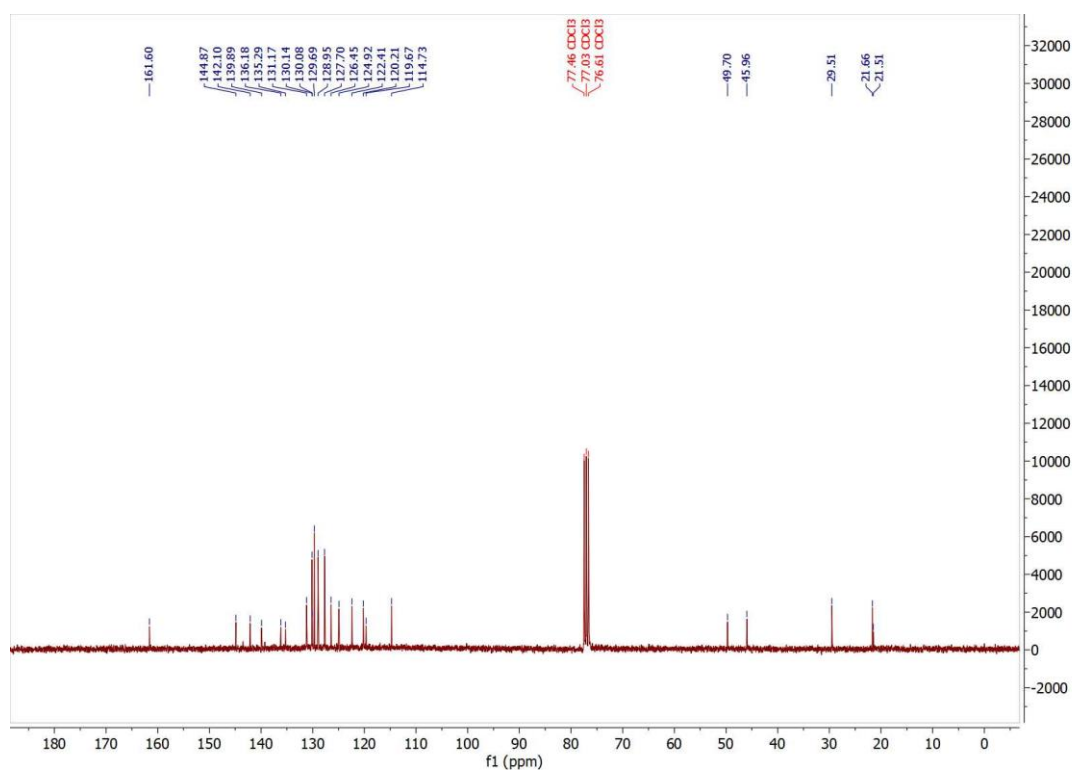
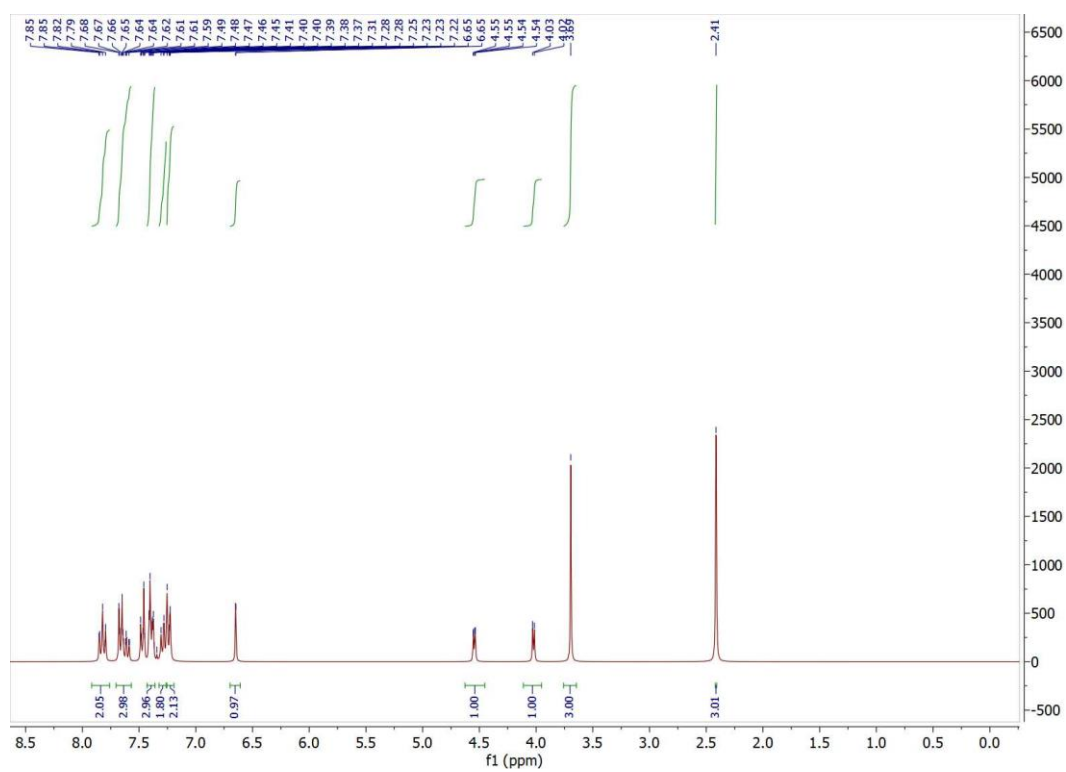
§ 8. DODATAK

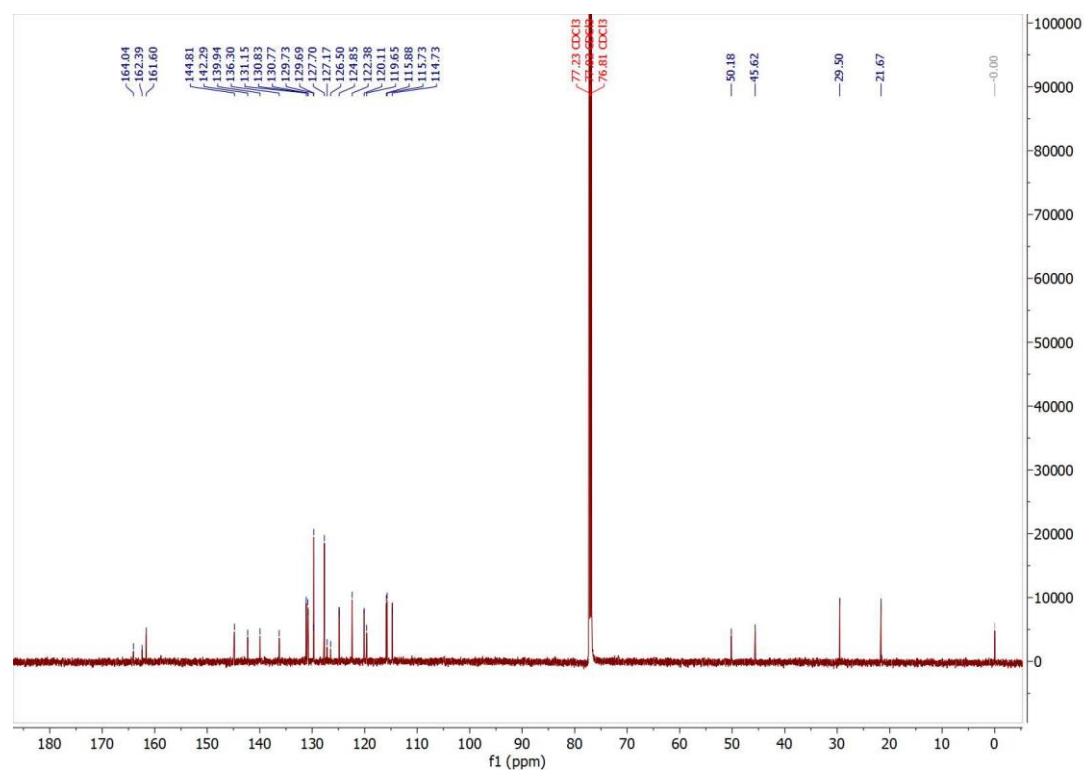
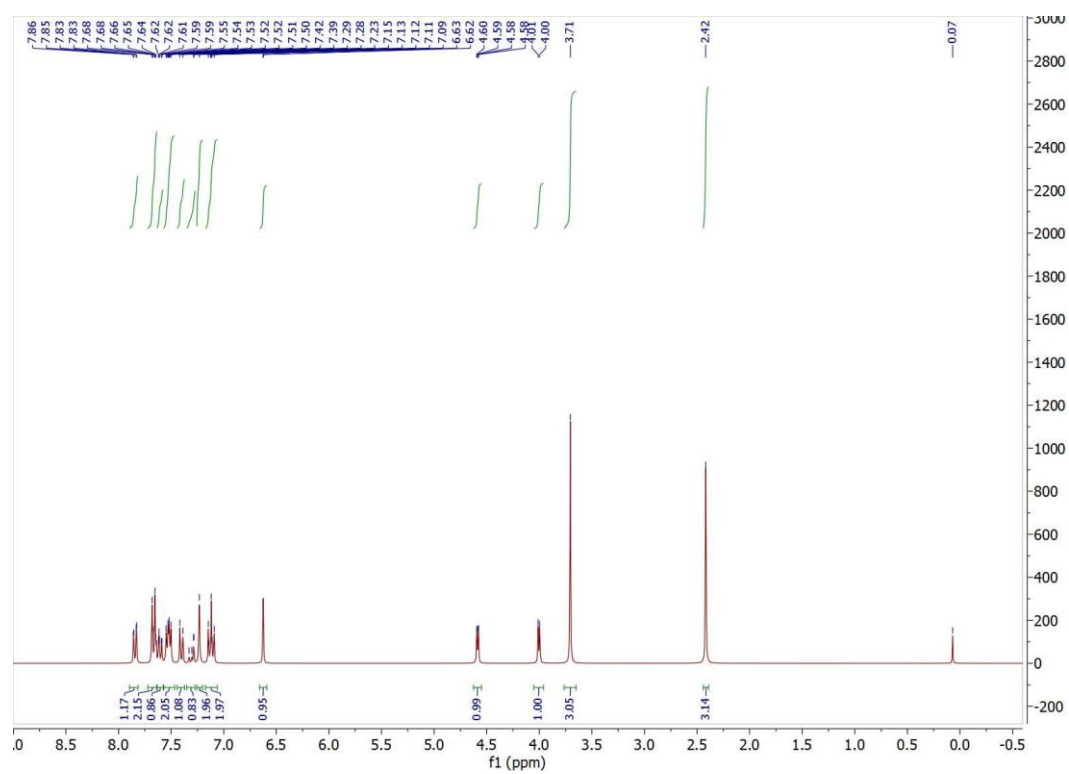
Dodatak 1. NMR spektri

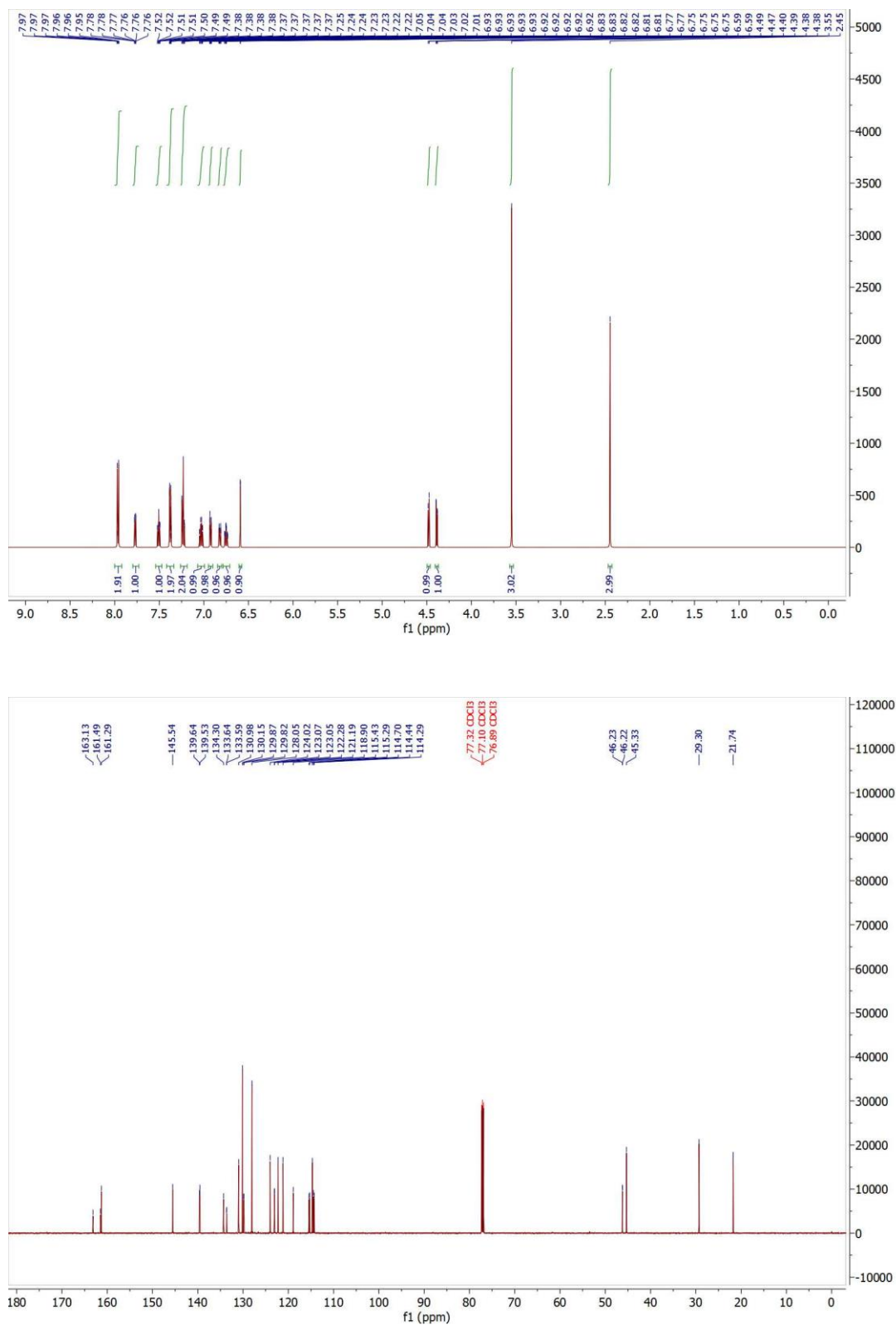
Dodatak 1.1. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8a** (*trans*).

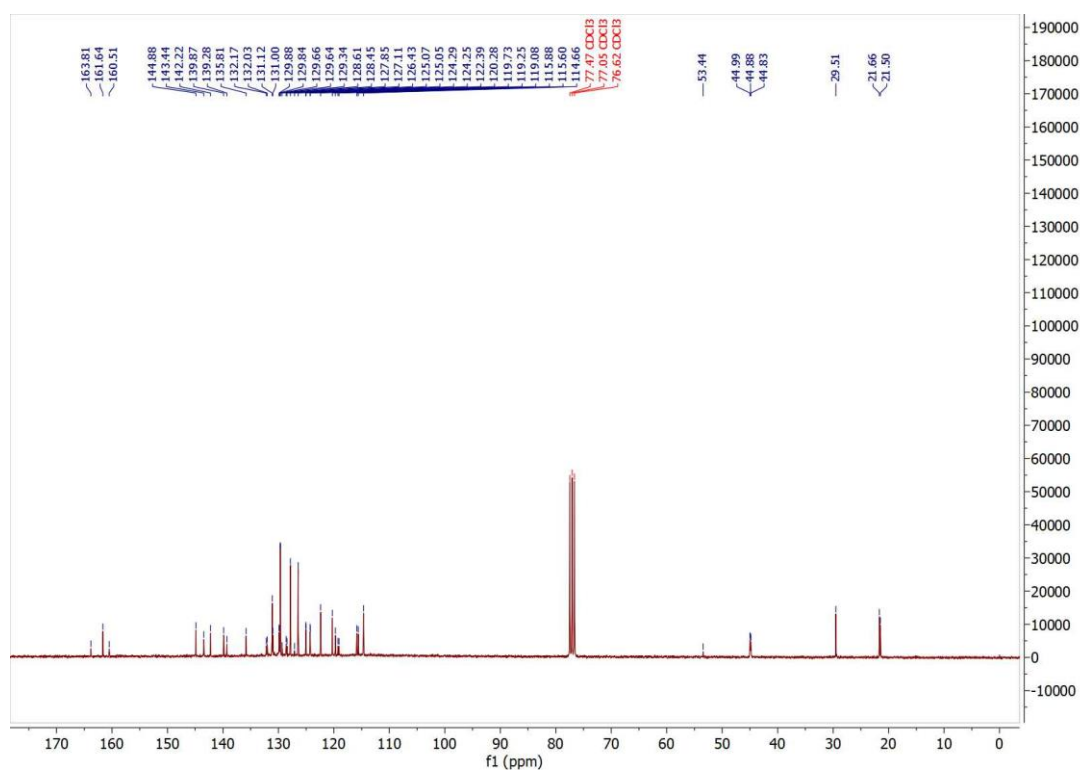
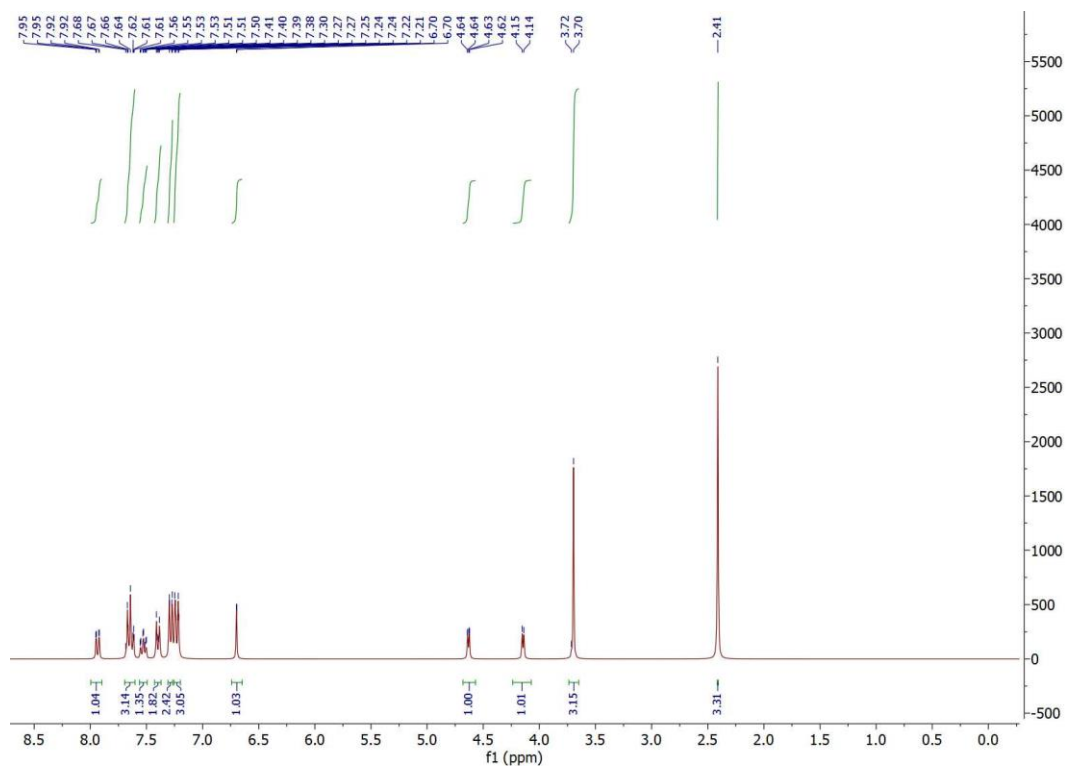


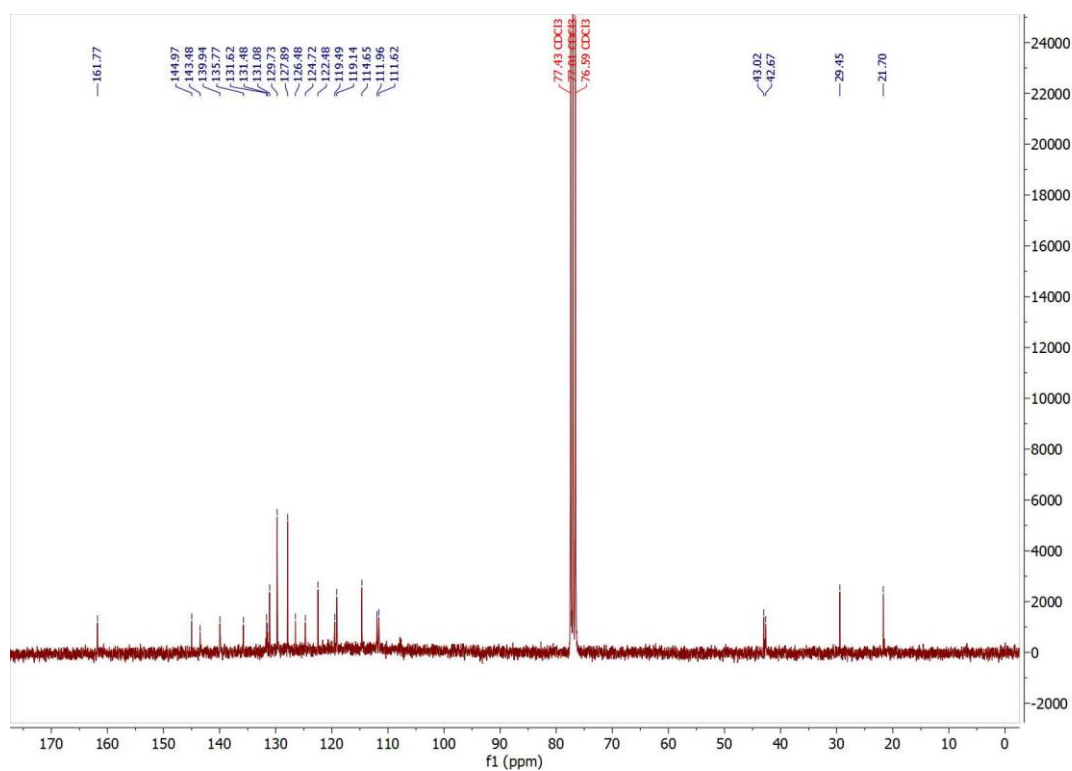
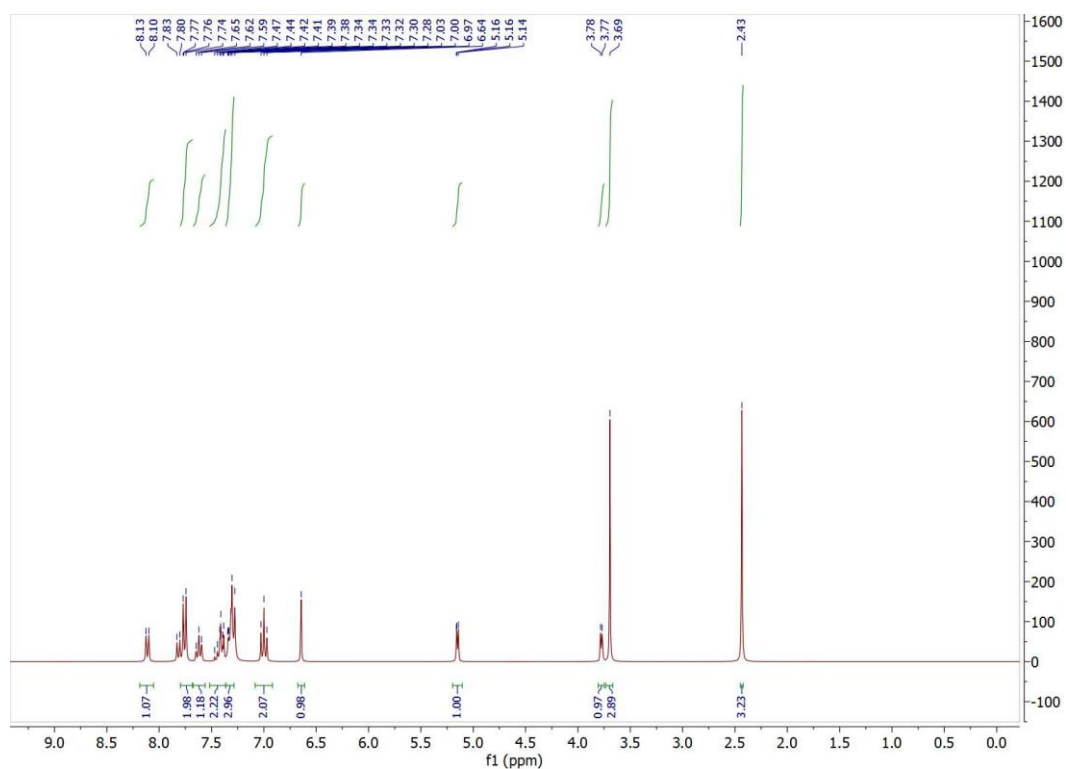
Dodatak 1.2. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8b** (*cis*).

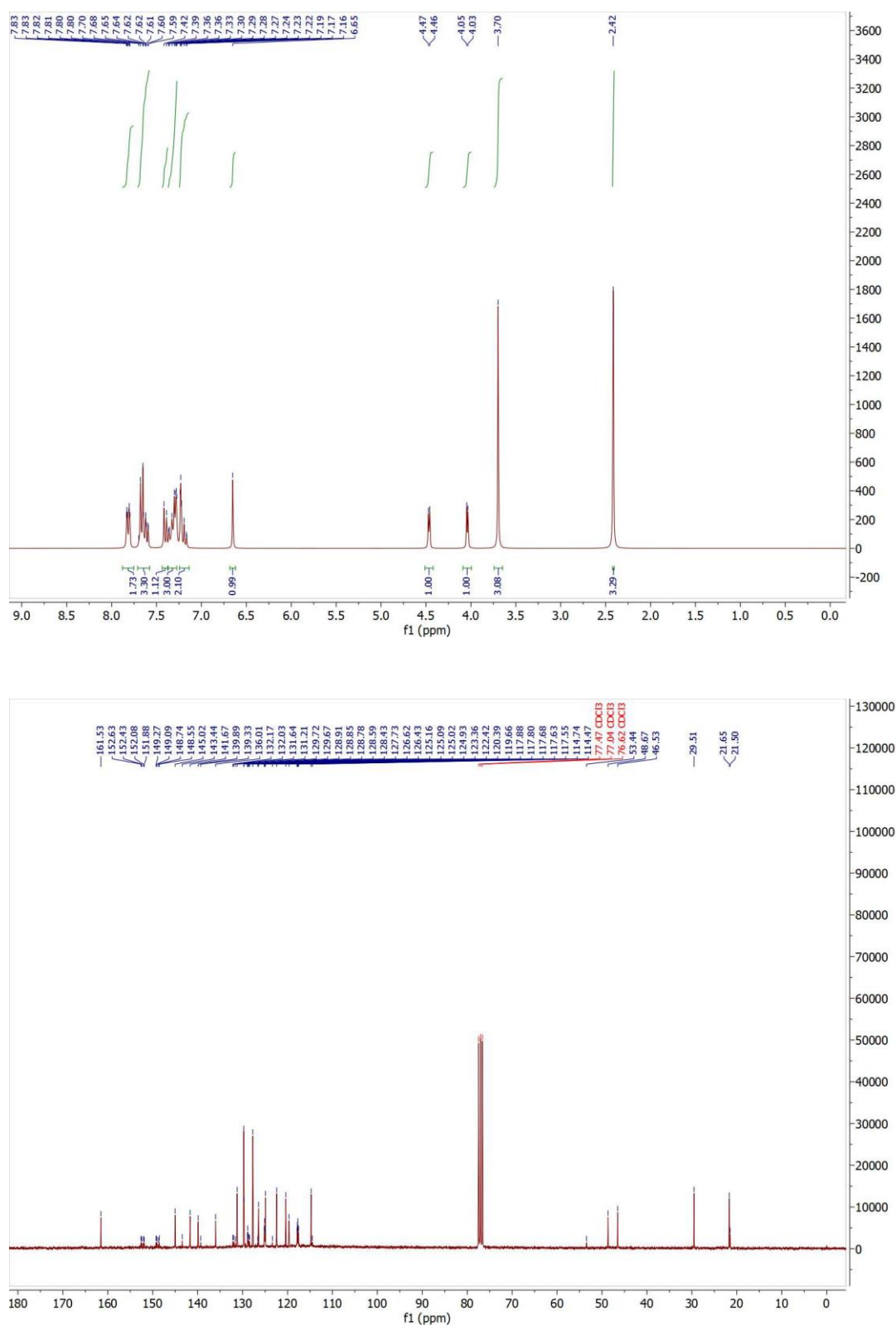
Dodatak 1.3. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8b** (*trans*).

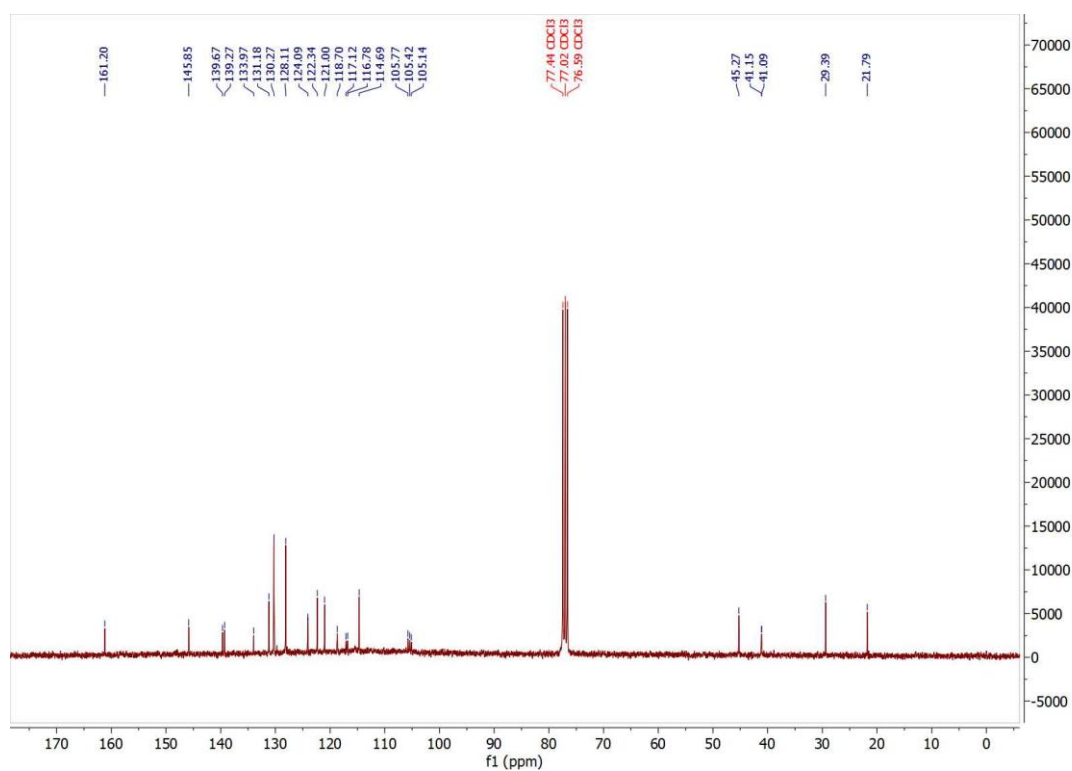
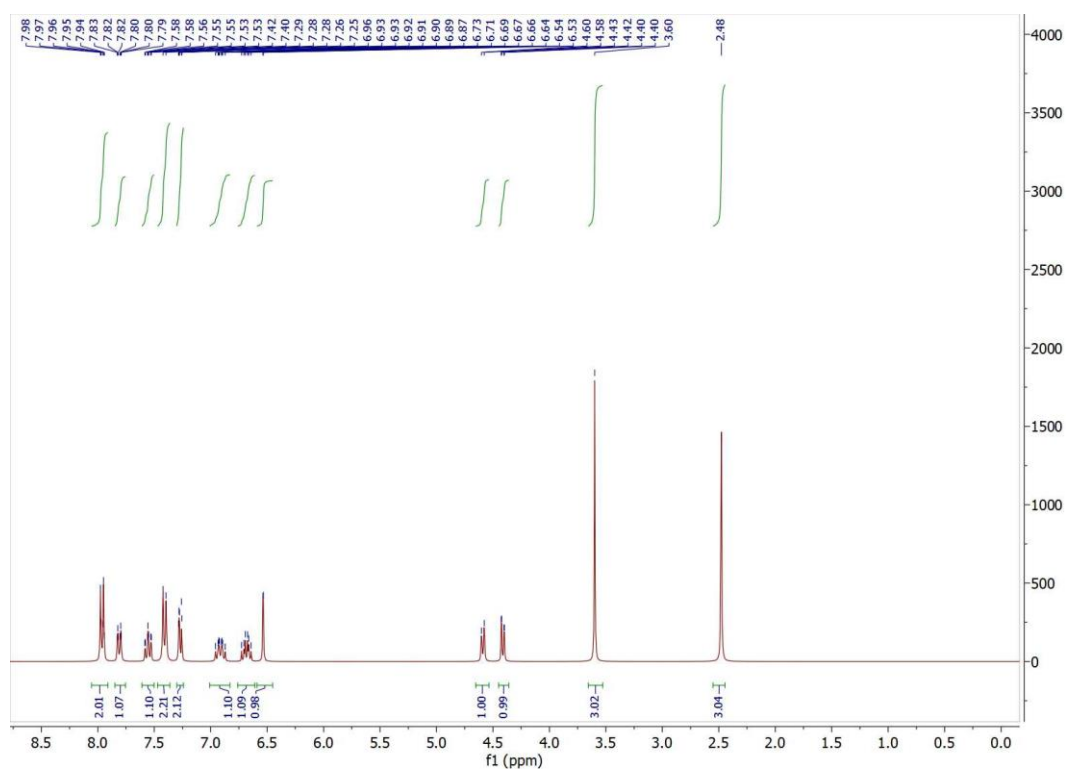
Dodatak 1.4. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8c** (*trans*).

Dodatak 1.5. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8d** (*cis*).

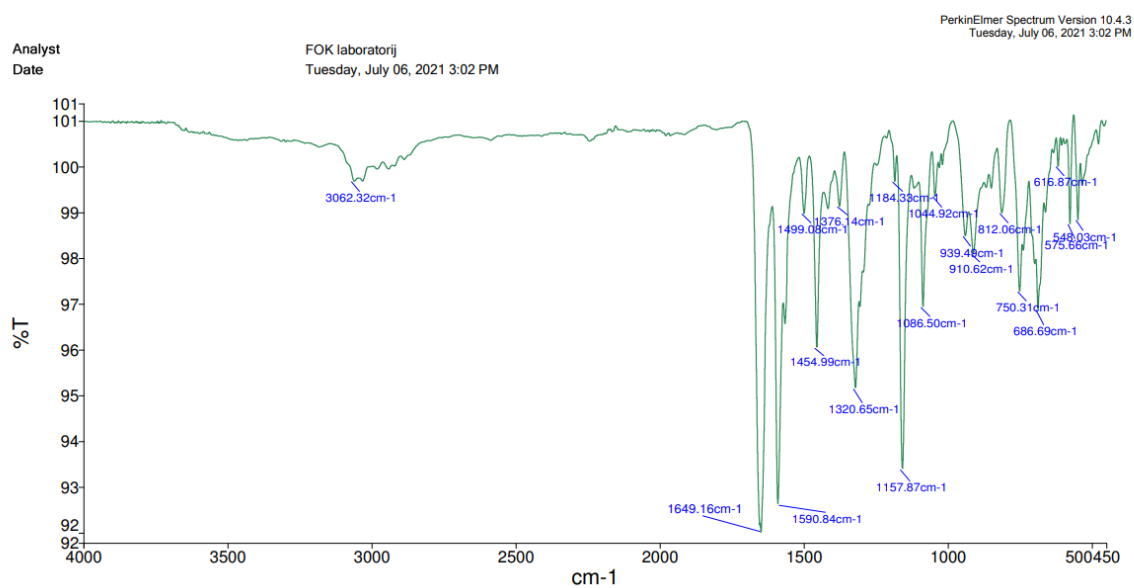
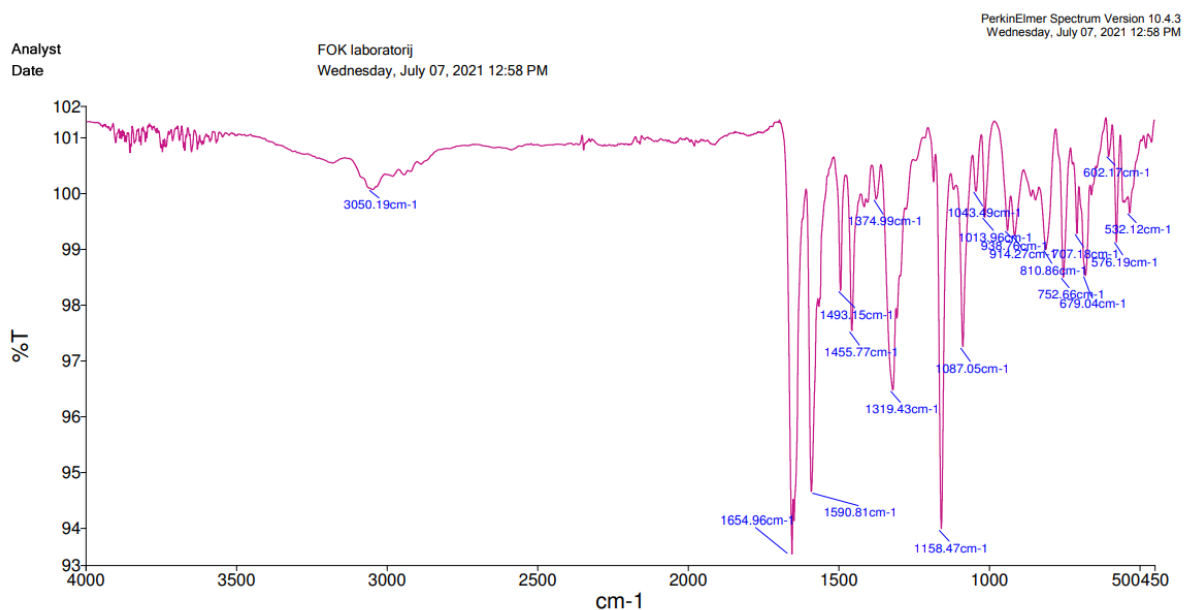
Dodatak 1.6. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8e** (*trans*).

Dodatak 1.7. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8f** (*trans*).

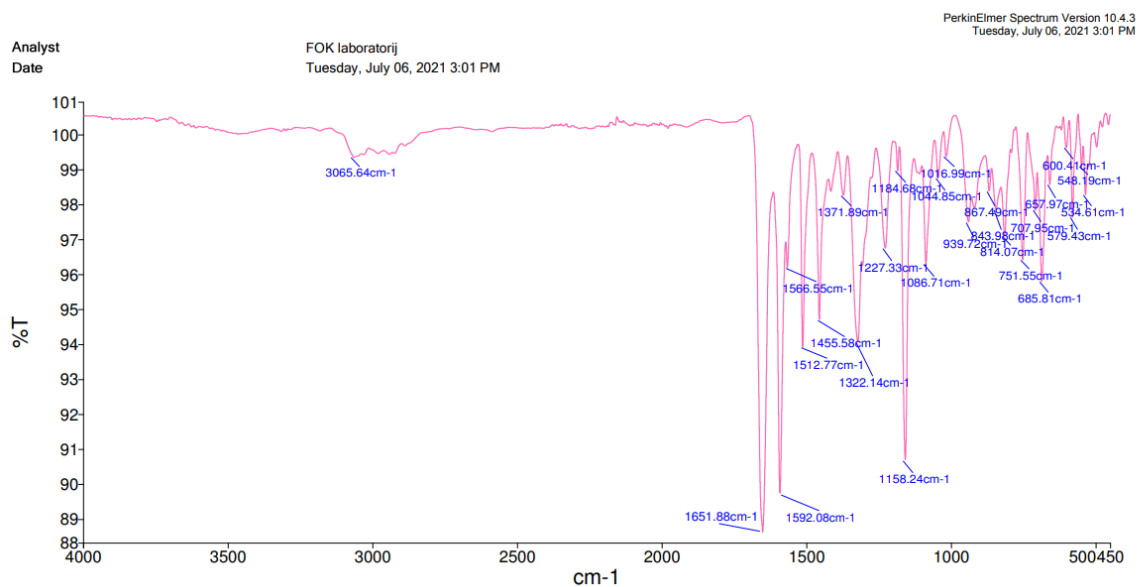
Dodatak 1.8. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8g** (*trans*).

Dodatak 1.9. ^1H i ^{13}C NMR spoja **8h** (*cis*).

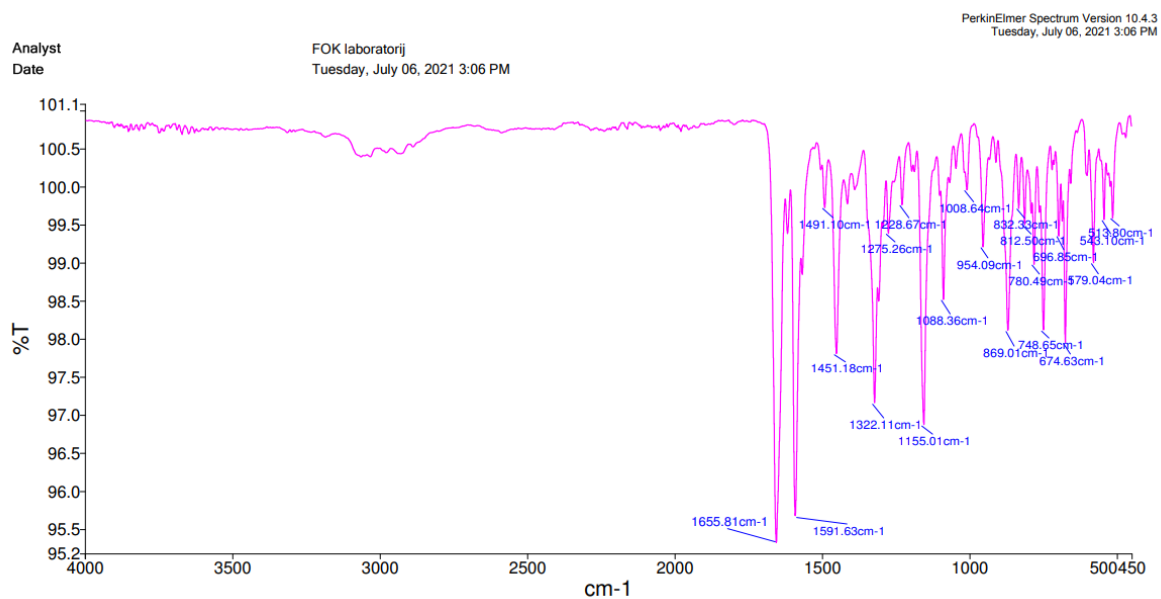
Dodatak 2. IR spektri

Dodatak 2.1. IR spektar spoja **8a**.Dodatak 2.2. IR spektar spoja **8b**.

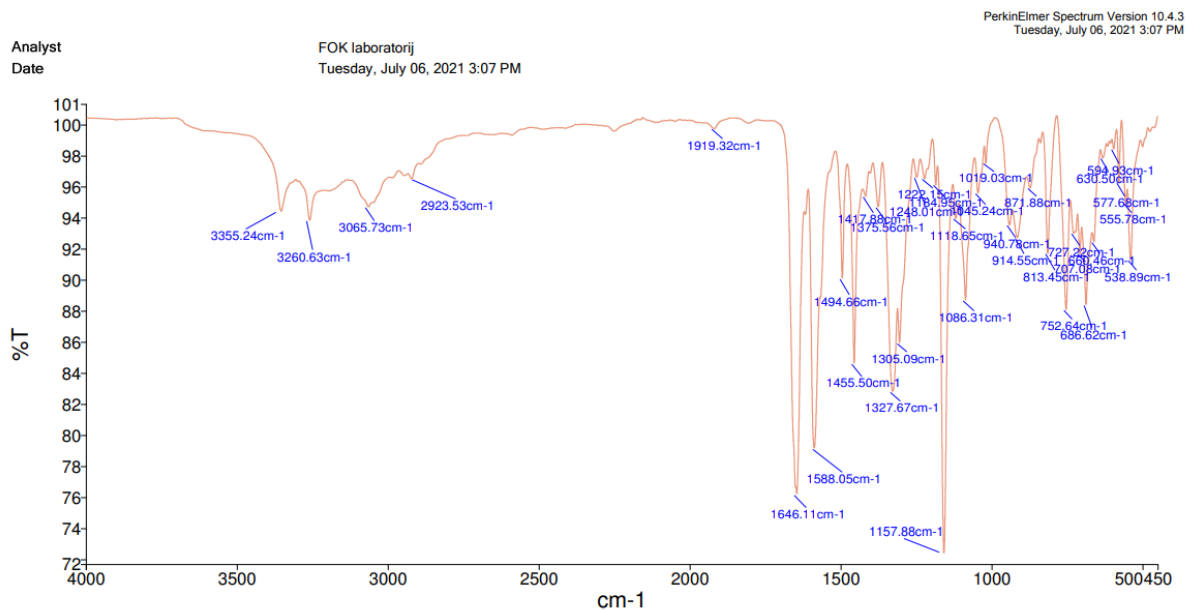
Dodatak 2.3. IR spektar spoja **8c**.



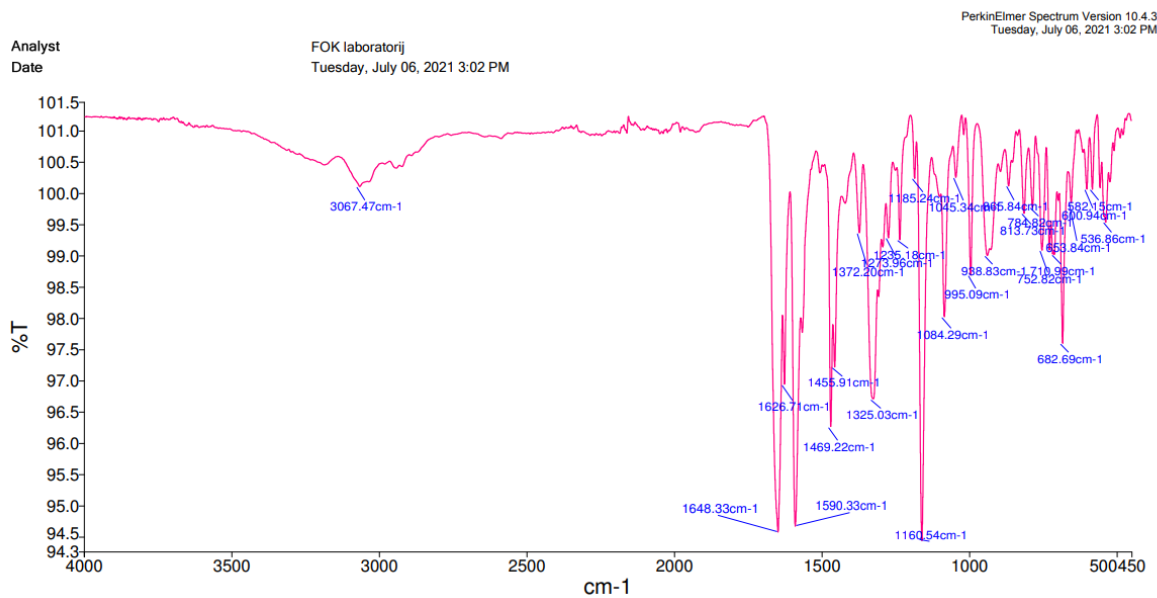
Dodatak 2.4. IR spektar spoja **8d**.



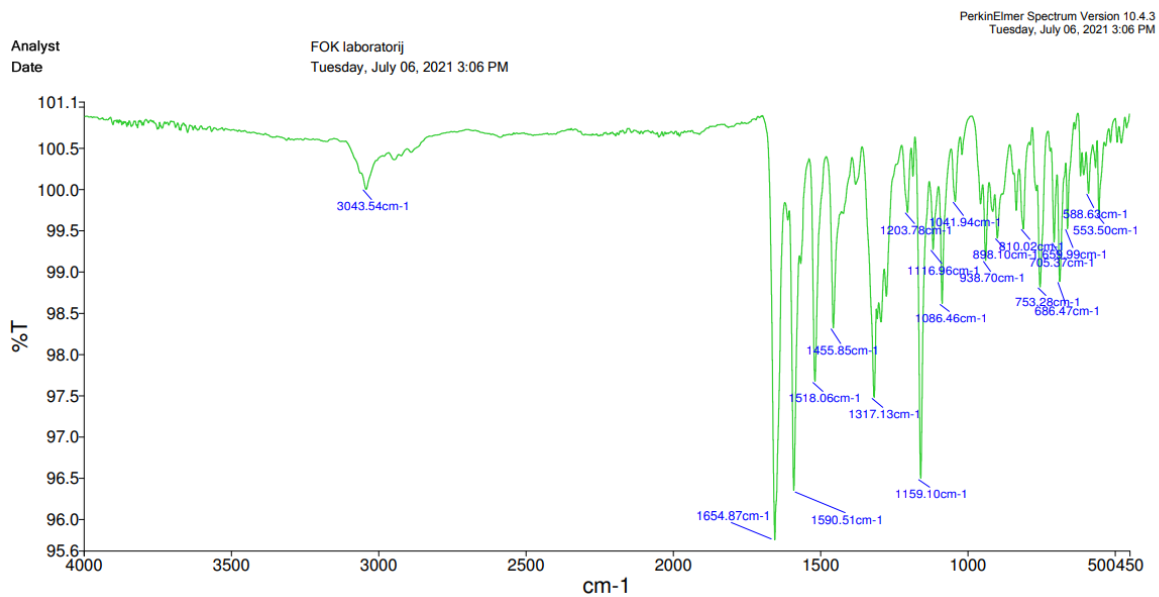
Dodatak 2.5. IR spektar spoja **8e**.



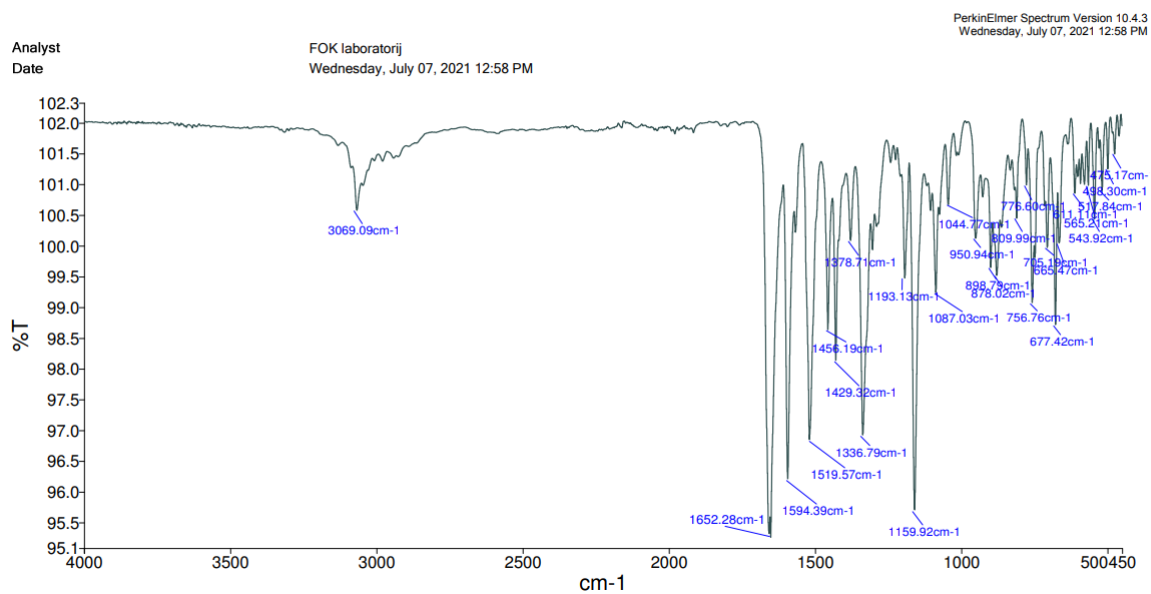
Dodatak 2.6. IR spektar spoja **8f**.



Dodatak 2.7. IR spektar spoja **8g**.



Dodatak 2.8. IR spektar spoja **8h**.



§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Marija Renić

Datum rođenja: 24. kolovoza 1996.

Mjesto rođenja: Zagreb

Obrazovanje

2003–2011 Osnovna škola Malešnica, Zagreb

2011–2015 Gimnazija Lucijana Vranjanina, Zagreb

2015–2019 Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, preddiplomski sveučilišni studij Kemija

2019-2021 Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, diplomski sveučilišni studij Kemija, smjer: istraživački, grane: organska i anorganska kemija

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2017-2021 Znanstvene čarolije, Studentska sekcija Hrvatskog kemijskog društva

2017-2019 BASF projekt, radionice *Clever Foodies*

2016-2021 Otvoreni dan Kemijskog odsjeka (2020. nije održan)