

Elektrokemijska sinteza supstituiranih 1,3-oksazolidina iz vicinalnih amino-alkohola

Posavec, Antea

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:238783>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Antea Posavec

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidatkinja **Antea Posavec**

Predala je izrađen diplomski rad dana: 19. rujna 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Irena Škorić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof. dr. sc. Marijana Kraljić Roković, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Dr. sc. Goran Kragol, Selvita d.o.o., Zagreb

Doc. dr. sc. Dragana Vuk, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog
rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 24. rujna 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ
PRIMIJEJENA KEMIJA

Antea Posavec

ELEKTROKEMIJSKA SINTEZA SUPSTITUIRANIH 1,3-OKSAZOLIDINA IZ
VICINALNIH AMINO-ALKOHOLA

DIPLOMSKI RAD

Mentor rada: prof. dr. sc. Irena Škorić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (FKIT)

Komentor rada: dr. sc. Goran Kragol, Selvita d.o.o.

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Irena Škorić, FKIT
2. prof. dr. sc. Marijana Kraljić Roković, FKIT
3. dr. sc. Goran Kragol, Selvita d.o.o.

Zagreb, rujan 2024.

Ovaj rad izrađen je u Selviti d.o.o. čijim zaposlenicima zahvaljujem na susretljivosti i ugodnoj radnoj atmosferi.

Posebno se zahvaljujem dr. sc. Goranu Kragolu na prihvaćenom komentorstvu, predloženoj temi i pruženoj mogućnosti stjecanja novih vještina tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Veliko hvala i doktorandici Ani Rimac, mag. chem., na ugodnoj komunikaciji te na svim upućenim savjetima i uloženom vremenu.

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Ireni Škorić, na ukazanom povjerenju, toplim savjetima i pruženoj pomoći. Hvala Vam i na svom prenesenom znanju tijekom mog školovanja na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije.

Mojoj obitelji i prijateljima od srca zahvaljujem na pruženoj snazi, motivaciji i podršci. Hvala za svaki dan vašeg strpljenja i pomoći.

SAŽETAK

Elektrokemijska sinteza supstituiranih 1,3-oksazolidina iz vicinalnih amino-alkohola

U ovom radu opisan je dizajn i razvoj nove, ekonomične i brze elektrokemijske sinteze supstituiranih 1,3-oksazolidina iz vicinalnih amino-alkohola. Priređeni su derivati oksazolidina fuzionirani na desozamin (**6** - **8**) ili makrolaktonski prsten (**11**) azitromicina, koji su već ranije priređeni klasičnim metodama organske sinteze. Spomenuti spojevi pokazali su veliki potencijal za protuupalne primjene, stoga je ova efikasnija „zelena“ metoda odlična alternativa za sintezu ovih obećavajućih spojeva. Također, ova metoda testirana je i na manjim molekulama, pri čemu su uspješno priređeni (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imin **14** i *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imin **17**, kao nove potencijalno biološki aktivne molekule.

Polazni materijali (odgovarajući amino-alkoholi) za sintezu makrolidnih oksazolidina (**6**, **7**, **8** i **11**) bili su demetilirani derivati azitromicina **1**, **2** i **9**, dok su za sintezu malih molekula **14** i **17** korišteni efedrin-hidroklorid **12** i (1S,2R)-1-amino-2-indanol **15**. Elektrociklizaciji je prethodila klasična sinteza odgovarajućih intermedijera metodama ranije opisanim u literaturi. Korišteni su benzil-izotiocijanat ili fenil-kloroformat kao reagensi, a reakcije su provođene u acetonitrilu uz trietilamin na sobnoj ili povišenoj temperaturi. Sve elektrociklizijske reakcije provođene su u nepodijeljenoj ćeliji uređaja IKA ElectraSyn 2.0 uz C(+) – C(-) sustav elektroda i acetonitril kao otapalo te koncentraciju elektrolita (LiBr ili NaI) od 0.1 mM. Reakcije su provođene pri konstantnoj struji 5 – 10 mA s promjenom polariteta svakih 15 min. Za elektrokemijsku sintezu spojeva **6** i **14** isproban je i *one-pot* pristup polazeći od odgovarajućeg vicinalnog amino-alkohola (**1** ili **12**). Izvedba ovih *one-pot* reakcija provođena je na povišenoj temperaturi što je znatno usporilo sam korak ciklizacije.

Ova metoda pokazala se boljom ne samo zbog svoje brzine i „zelenijeg“ pristupa, već je rezultirala i boljim iskorištenjima od klasičnih procesa.

Strukture svih priređenih spojeva potvrđene su 1D i 2D NMR tehnikama.

Ključne riječi: azitromicin, elektrokemijska sinteza, 1,3-oksazolidini, optimizacija, zelena kemija

SUMMARY

Electrochemical synthesis of substituted 1,3-oxazolidines from vicinal amino alcohols

This paper describes the design and development of a new, economical and rapid electrochemical synthesis of substituted 1,3-oxazolidines from vicinal amino alcohols. Using this method, oxazolidine derivatives fused to desosamine (**6** - **8**) or macrolactone ring (**11**) of azithromycin, which had prior been prepared by classical methods, were synthesized. These compounds showed great potential for anti-inflammatory applications; therefore, this more efficient "green" method is an excellent alternative for the synthesis of these promising agents. Moreover, to test this method on smaller molecules, (4S,5R)-*N*-benzyl-3,4-dimethyl-5-phenyl-oxazolidin-2-imine **14** and *N*-benzyl-1,3a,4,8b-tetrahydroindeno[1,2-*d*]oxazol-2-imine **17** were prepared, as new potentially biologically active molecules.

Starting materials (corresponding amino alcohols), for the synthesis of macrolide oxazolidines (**6**, **7**, **8** and **11**), were demethylated derivatives of azithromycin **1**, **2** and **9**, whereas for the synthesis of small molecules **14** and **17**, ephedrine hydrochloride **12** and (1S,2R)-1-amino-2-indanol **15** were used. Electrocyclization was preceded by the classical synthesis of the corresponding intermediates, using methods previously described in the literature. Benzyl isothiocyanate or phenyl chloroformate were used as reagents, and reactions were carried out in acetonitrile with triethylamine at room or increased temperature. All electrocyclization reactions were carried out in an undivided cell of the IKA ElectraSyn 2.0 device with a C(+) – C(-) electrode system, acetonitrile as solvent and an electrolyte concentration (LiBr or NaI) of 0.1 mM. Reactions were carried out at a constant current of 5-10 mA with a change of polarity every 15 min. For the electrochemical synthesis of compounds **6** and **14**, *one-pot* approach, starting from the corresponding vicinal amino alcohol (**1** or **12**), was tested as well. These *one-pot* reactions were carried out at an increased temperature, which significantly slowed down the cyclization step itself.

This method proved itself to be better than classical synthesis not only because of its speed and "greener" approach, but also due to its greater yields.

The structures of all compounds were confirmed by 1D and 2D NMR techniques.

Key words: azithromycin, electrochemical synthesis, 1,3-oxazolidines, optimization, green chemistry

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	OPĆI DIO	2
2.1.	ELEKTROKEMIJSKA ORGANSKA SINTEZA	2
2.1.1.	Načini provedbe elektrokemijske sinteze	3
2.1.2.	Održivost elektrokemijske sinteze	4
2.2.	OKSAZOLIDINI	5
2.3.	MAKROLIDI.....	10
2.3.1.	Četiri generacije makrolida.....	10
2.4.	DJELOVANJE MAKROLIDNIH ANTIBIOTIKA.....	14
2.4.1.	Sinteza proteina.....	14
2.4.2.	Vezanje makrolida.....	15
2.5.	SUZBIJANJE ANTIBAKTERIJSKOG DJELOVANJA MAKROLIDA	16
2.5.1.	Modifikacija azitromicina ciklizacijom do oksazolidina.....	17
3.	REZULTATI I RASPRAVA	20
3.1.	CILJ RADA	20
3.2.	MAKROLIDI.....	21
3.2.1.	Sinteza intermedijera	21
3.2.2.	Elektrokemijska sinteza cikliziranih derivata – optimizacija uvjeta.....	23
3.2.3.	Strukturna karakterizacija	34
3.3.	MALE MOLEKULE	36
3.3.1.	Sinteza intermedijera	36
3.3.2.	Elektrokemijska sinteza cikliziranih derivata	37
3.3.3.	Strukturna karakterizacija	40
3.4.	REAKCIJE BEZ STRUJE	42
3.5.	USPOREDBA S LITERATURNIM PODACIMA O KLASIČNOJ METODI PRIPRAVE.....	44
4.	EKSPERIMENTALNI DIO	46
4.1.	OPĆE NAPOMENE	46
4.2.	MAKROLIDI.....	47
4.2.1.	Sinteza 3'-N,N-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (2).....	48

4.2.2.	Opći postupak sinteze intermedijera	48
4.2.3.	Opći postupak sinteze cikliziranih produkata	52
4.3.	MALE MOLEKULE	56
4.3.1.	Opći postupak sinteze intermedijera	56
4.3.2.	Opći postupak sinteze cikliziranih produkata	57
5.	ZAKLJUČAK	60
6.	LITERATURA	62
7.	PRILOZI	64

1. UVOD

Konvencionalni pristup kemijskoj sintezi često podrazumijeva teške reakcijske uvjete, uporabu toksičnih ili opasnih reagensa i stvaranje velike količine otpada. Kako bi se ublažili ovi štetni učinci, u današnje vrijeme kemičari pribjegavaju alternativnim „zelenim“ metodama koje promiču razvoj kemije na održiviji način, ekonomičan i manje štetan za okoliš i ljudsko zdravlje. Jedan od tih revolucionarnih pristupa upravo je elektrokemijska sinteza, koja djeluje pretvorbom električne energije u kemijsku. Ova tehnika ne samo da smanjuje toksičnost sintetskog procesa eliminacijom štetnih oksidansa/reducensa, već je i vrlo energetski i vremenski učinkovita, budući da ove reakcije često zahtijevaju kraći vremenski period od klasičnih metoda.¹

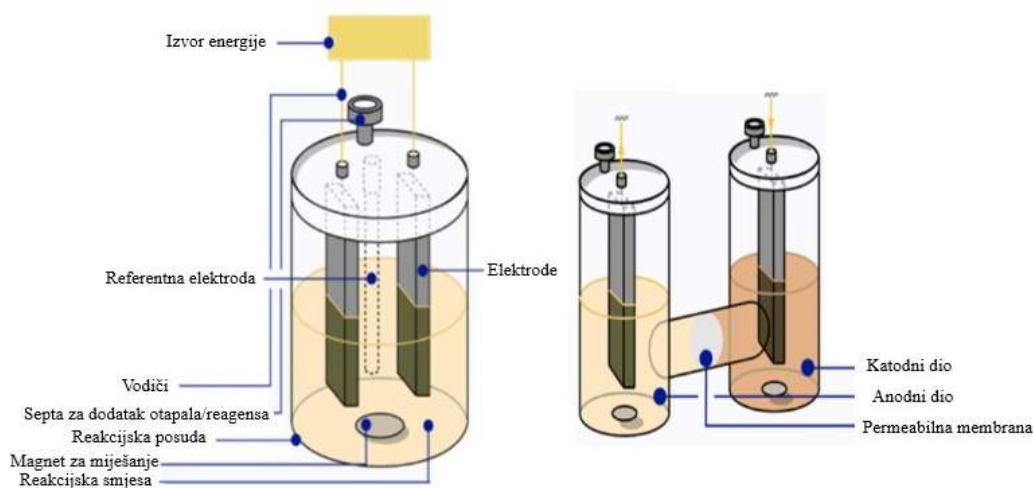
U ovom radu elektrokemijskim pristupom provedena je ciklizacija vicinalnih aminoalkohola do oksazolidina, kao važnih molekula širokog spektra farmakoloških aktivnosti. Najpoznatiji su po svojem antimikrobnom djelovanju, no pokazuju još i dobru antikonvulzivnu, protuupalnu i antikancerogenu aktivnost. Iz tog razloga, supstitucija na jezgri oksazolidina važna je u procesu otkrića novih lijekova.²

Postupak elektrokemijske ciklizacije različito supstituiranih oksazolidina najprije je testiran na strukturi makrolida, a potom i za sintezu malih molekula. Makrolidi su također poznati po svojem antibakterijskom djelovanju, no pokazalo se kako fuzioniranje 1,3-oksazolidina na desozamin ili makrolidni prsten smanjuje njihovu antibakterijsku, a naglašava protuupalnu aktivnost.^{3, 4, 5}

2. OPĆI DIO

2.1. ELEKTROKEMIJSKA ORGANSKA SINTEZA

Elektrokemijska sinteza obećavajući je alternativni pristup organskoj sintezi. Ova tehnika zahtijeva uporabu električne struje za pokretanje kemijskih reakcija, koje se odvijaju preko elektrolizom induciranih reaktivnih intermedijera (radikal, ionski radikal, anion ili kation) nastalih prijenosom elektrona između supstrata i elektroda. Reakcije se odvijaju u nepodijeljenim ili podijeljenim elektrokemijskim ćelijama čiji su shematski prikazi vidljivi na Slici 1.^{1, 6}



Slika 1. Shematski prikaz nepodijeljene (lijevo) i podijeljene (desno) elektrokemijske ćelije⁷

Tipična elektrokemijska ćelija sastoji se od izvora energije vodičima spojenog na dvije ili tri elektrode – anodu, katodu i opcionalno referentnu elektrodu - koje su smještene unutar otopine elektrolita i supstrata. Izvor energije potiče tok elektrona s anode prema katodi, što rezultira razlikom potencijala između anode (+) i katode (-). Posljedično tome, dolazi do kretanja nabijenih čestica u otopini prema elektrodi suprotnoga naboja. Ovaj proces, zajedno s tokom elektrona, objašnjava koncept električne struje. Ovako negativno nabijena katoda teži otpuštanju elektrona, dok pozitivno nabijena anoda teži primanju elektrona. Elektroni se ne mogu samostalno kretati kroz reakcijski medij, već dolazi do prijenosa elektrona s katode na supstrat njegovom redukcijom i zatvaranja strujnog kruga prijenosom elektrona na anodu oksidacijom supstrata. Budući da se prijenos elektrona odvija na površini elektroda, izbor materijala može imati značajan utjecaj na ishod reakcije.⁷

Iz navedenog je jasno vidljivo da je u elektrokemijskoj ćeliji nužno odvijanje i oksidacijskog i redukcijskog procesa, no često je od interesa samo jedna od navedenih reakcija. Elektroda na kojoj se odvija reakcija od interesa, naziva se radna elektroda. Drugoj elektrodi dodjeljuje se naziv protuelektroda. U najjednostavnijem slučaju, kao protureakcija, na protuelektrodi ostvaruje se elektroliza protičnog otapala pri čemu nastaje plinoviti vodik. Reakcija na protuelektrodi također može rezultirati korisnim produktom pa u tom slučaju obje reakcije postaju reakcije od interesa (eng. *paired electrolysis*). Kako se produkti dobiveni oksidacijom i redukcijom ne bi miješali i naknadno izoliravali, često se u tom slučaju koriste podijeljene elektrokemijske ćelije u kojima su anodni i katodni prostor odvojeni propusnom membranom ili fritom. U ovim ćelijama javljaju se veći otpori, pa su iz tog razloga, ali i zbog jednostavnije izvedbe, češće korištene nepodijeljene ćelije.^{7, 8}

2.1.1. Načini provedbe elektrokemijske sinteze

Elektrokemijska sinteza može se provoditi pri konstantnoj struji (galvanostatski uvjeti) ili konstantnom potencijalu (potenciostatski uvjeti). Reakcije koje se odvijaju pri konstantnoj struji rezultiraju visokim iskorištenjima, no nedostatak im je manjak selektivnosti i stvaranje nusprodukata. Naime, kako s vremenom dolazi do nastanka produkta, koncentracija supstrata se smanjuje. U određenom trenutku prijenos mase supstrata miješanjem i difuzijom kroz elektrokemijski dvosloj, koji se formira uz površinu elektrode, postaje nedovoljan. Budući da izvor energije (galvanostat) struju mora održavati konstantnom, kako bi nadvladao ovaj problem, postupno povećava primijenjeni napon. To potiče elektrotransformaciju materijala sa sljedećim najnižim redoks potencijalom. Ukoliko željeni produkt ima najniži redoks potencijal, pri većim konverzijama doći će do prekomjerne elektrolize produkta. Međutim, ako je redoks potencijal željenog produkta viši od redoks potencijala neželjenih procesa, u reakcijskoj smjesi nalazit će se nusprodukti koji se moraju naknadno odvojiti tijekom obrade. U takvom slučaju poželjniji bi bio rad pri uvjetima konstantnog potencijala pa je vrlo korisno poznavanje tipičnih elektrodnih potencijala potrebnih za redoks reakcije koje uključuju standardne funkcionalne skupine (npr. oksidacija amina, redukcija ketona). Pri tim potenciostatskim uvjetima, kada prijenos mase na elektrodu postane ograničavajući faktor, izvor energije (potenciostat) smanjuje iznos struje, a elektroliza staje u trenutku kada je trenutna struja manja od 5% početne struje. Iz tog razloga, ovom metodom često se ne postiže potpuna konverzija. Još jedan

nedostatak ove metode je što zahtijeva uporabu referentne elektrode za precizniju kontrolu potencijala.^{7, 8}

Ukoliko se otkrije da se željena transformacija odvija izvan raspona potencijala kojeg pokriva otapalo (eng. *solvent potential window*), upotrebljavaju se tzv. medijatori koji se mogu oksidirati ili reducirati unutar raspona potencijala kojeg željeno otapalo dozvoljava pa se tako elektroliza može izvesti na redoks potencijalima puno nižim od onih potrebnih za izravnu transformaciju početnog materijala. Kada je riječ o katodnoj reakciji, proces se provodi na način da elektroni prvo prelaze s katode na medijator, koji potom stupa u interakciju sa supstratom i njega reducira vraćajući se u svoj polazni oksidirani oblik. Anodni medijatori djeluju na način da prvobitno stupaju u reakciju sa supstratom i oksidiraju ga, pri čemu se oni prevode u reducirani oblik. Nakon toga dolaze u kontakt s anodom kojoj predaju preuzeti elektron i vraćaju se u izvorni oblik. Kao medijatori mogu se koristiti triarilamini (Ar_3N), kinoni, arilimidazoli, ioni prijelaznih metala (npr. FeII/III , CoII/III) i mnogi drugi.⁷

Ova indirektna elektroliza koristi se i u slučaju kada organske vrste adsorbiraju na površini elektrode i smanjuju vodljivost, pri čemu čak može doći i do nastanka izolacijskog filma. U tom slučaju, pri galvanostatskim uvjetima, terminalni napon u konačnici doseže granicu galvanostata pa dolazi do prestanka struje, a pri potenciostatskom načinu rada, struja koja teče kroz elektrokemijsku ćeliju pada na niske vrijednosti u kratkom vremenskom razdoblju i dolazi do brzog prestanka elektrolize. Osim medijatora, kako bi se spriječilo taloženje materijala po elektrodama, često se primjenjuje i izmjenična struja kako bi se maknule naslage s elektroda koje otežavaju elektrolizu.^{7, 8}

2.1.2. Održivost elektrokemijske sinteze

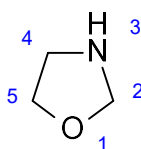
Jedna od velikih prednosti elektrokemije njezina je održivost i usklađenost s načelima zelene kemije. Zelena kemija svoj naglasak stavlja na osiguravanje smanjenja količine otpada, uporabu netoksičnih reagensa i otapala, visoke sigurnosne standarde i učinkovito korištenje resursa i energije.⁶

Za razliku od konvencionalnih metoda, gdje višak reagensa može dovesti do stvaranja neželjenih nusprodukata, elektrokemijske reakcije mogu se optimizirati da selektivno daju isključivo željene produkte, što smanjuje potrebu za dodatnom obradom i koracima pročišćavanja. Upravo se prilikom obrade reakcije troše najveće količine otapala, od kojih ne

samo da potječe većina otpada, već su i njihove pare štetne za zdravlje. Toksičnost samog procesa smanjena je i uporabom električne struje za provedbu reakcija koje pri klasičnim uvjetima zahtijevaju uporabu često toksičnih oksidansa/reducensa. Također, elektrokemijska sinteza pokazuje impresivnu energetske učinkovitost u usporedbi s konvencionalnim metodama. Sposobnost preciznog usmjeravanja elektrona na ciljne molekule smanjuje energetske gubitke i rezultira većim iskorištenjima reakcije. Sinkronizacijom proizvodnje električne energije iz obnovljivih izvora s elektrokemijskim procesima može se postići sinergijski pristup koji smanjuje ugljični otisak i promiče kružno gospodarstvo. Energijskoj učinkovitosti dodatno pridonosi i činjenica da se ove reakcije većinom izvode pri atmosferskom tlaku i sobnoj temperaturi te se u pravilu izvode u kraćem vremenskom periodu. Reakcija se vrlo lako može kontrolirati praćenjem električnog signala (potencijal, gustoća struje, potrošnja struje), što je također jedan od važnih aspekata zelene kemije.^{1,6}

2.2. OKSAZOLIDINI

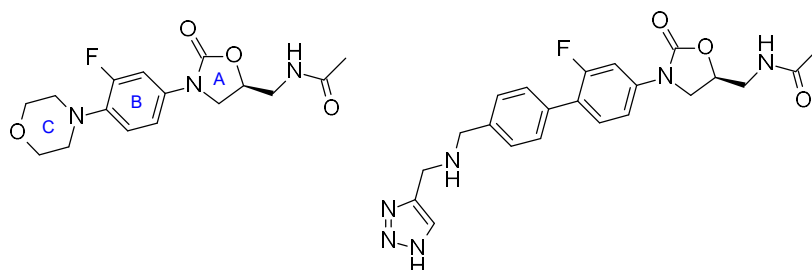
Oksazolidini su heterociklički spojevi sastavljeni od peteročlanog prstena koji na položaju 1 ima atom kisika, a na položaju 3 atom dušika. Pokazuju široki spektar farmakološkog djelovanja, uključujući antimikrobno, antikonvulzivno, protuupalno i antikancerogeno djelovanje.²



Slika 2. Struktura oksazolidina

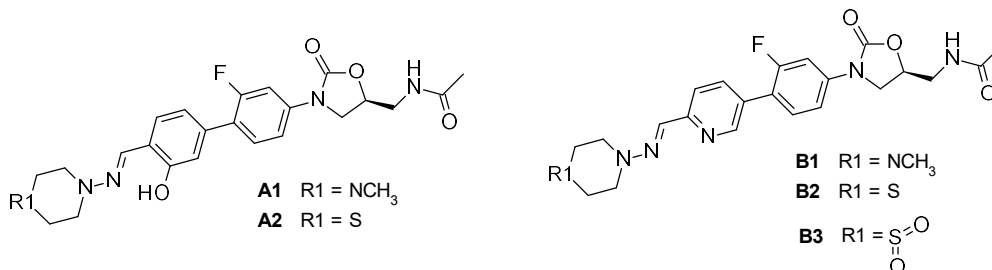
Antimikrobna aktivnost oksazolidina najstarija je i najpoznatija njihova klinička primjena. U 1990-ima, istraživači Farmaceutskog instituta i farmaceutske tvrtke Upjohn razvili su novi oksazolidinski spoj linezolid prikazan na Slici 3. On je postao prvi derivat oksazolidina s antimikrobnim djelovanjem kojeg je FDA (eng. *Food and Drug Administration*) odobrila za kliničku uporabu 2000. godine. Namijenjen je za liječenje Gram-pozitivnih bakterija, a nedavno je predložen i kao alternativni tretman za tuberkulozu. Njegova aktivnost posljedica je vezanja na 50S podjedinicu bakterijskog ribosoma i sprječavanja nastanka inicijacijskog kompleksa ribosoma, što znači da u samom početku inicijacije prekida sintezu bakterijskih

proteina. Međutim, nakon opsežnijih kliničkih ispitivanja, uočeno je da produljena primjena linezolida može rezultirati reverzibilnom mijelosupresijom, oštećenjem optičkog živca, ireverzibilnom perifernom neuropatijom i laktacidozom, a uočena je i pojava rezistencije zbog prekomjerne uporabe. Posljedično, mnogi znanstvenici započeli su potragu za alternativnim derivatima šireg antibakterijskog spektra, po mogućnosti učinkovitim i protiv Gram negativnih bakterija.²



Slika 3. Strukturni prikaz antibiotika linezolida (lijevo) i radezolida (desno)

Na temelju kristalnih struktura linezolida vezanog na ribosomsku RNA, razvijen je radezolid (Slika 3.), koji sa svojim aromatskim C-prstenom i dodatnim D-prstenom u strukturi pokazuje snažnije djelovanje protiv Gram-pozitivnih bakterija otpornih na antibiotike u usporedbi s linezolidom. Sukladno tome, Y. Wu i suradnici⁹ sintetizirali su veliku zbirku novih biariloksazolidinonskih analoga s dodatnim D-prstenom u strukturi. Njihovo djelovanje ispitano je *in vitro* na sljedećim Gram-pozitivnim bakterijskim sojevima: standardni *Staphylococcus aureus* (ATCC29213), *Staphylococcus aureus* otporan na meticilin (MRSA), *Staphylococcus aureus* osjetljiv na meticilin (MSSA), *Enterococcus faecalis* otporan na linezolid (LREF) i *Enterococcus faecium* otporan na vankomicin (VRE) uz linezolid i radezolid kao pozitivnu kontrolu. Najdjelotvornijim spojevima, čije su strukture prikazane na Slici 4., ispitano je i *in vitro* djelovanje na kliničkim izolatima: MRSA (4 izolata), MSSA (4 izolata), LREF (4 izolata) i VRE (4 izolata).



Slika 4. Novi priređeni biariloksazolidini s antibakterijskom aktivnosti

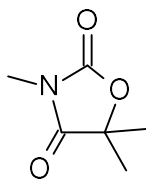
Sintetizirani spojevi **A1** i **A2**, s elektron-odvlačećom hidroksilnom skupinom na C-prstenu u *orto*-položaju s obzirom na hidrazonsku poveznicu, protiv svih pet testiranih bakterija pokazali su snažnije antibakterijsko djelovanje od linezolida i radezolida. Minimalna inhibicijska koncentracija (MIC) za spoj **A1** iznosila je 0.125 µg/mL protiv *S. aureus*, MRSA i MSSA, te 0.25 µg/mL protiv LREF i VRE. Spoj **A2**, s terminalnom tiomorfolinskom skupinom, s MIC vrijednosti od 0.125 µg/mL protiv svih pet testiranih Gram-pozitivnih bakterija, pokazao se najboljim iz ove serije spojeva. Iako su dobiveni rezultati bolji od onih linezolida i radezolida, čije se MIC vrijednosti kreću 1 - 2 µg/mL za linezolid (> 16 µg/mL za LREF) i 0.5 µg/mL za radezolid, usporedbom rezultata s nekim od ranije sintetiziranih derivata bez hidroksilne skupine u *orto*-položaju, pokazalo se kako je uvođenje tog supstituenta zapravo nepovoljno za antibakterijsku aktivnost.

Budući da je biarilna struktura s hidrazonskom poveznicom ključna za antibakterijsko djelovanje, ispitan je i utjecaj zamjene C-prstena heterocikličkim prstenom koji sadrži dušik s ciljem poboljšanja stabilnosti hidrazonske poveznice uslijed elektron-odvlačećeg utjecaja dušika. Spojevi **B1** – **B3** s piridin-3-il skupinom pokazali su najbolje rezultate s MIC vrijednostima 0.125 – 0.25 µg/mL.

Svih pet spojeva pokazalo je obećavajuće rezultate pri ispitivanjima na kliničkim izolatima u usporedbi s linezolidom, no kao optimalan izbor pokazao se spoj **B3**, ne samo zbog dobrih MIC vrijednosti (0.125 – 0.5 µg/mL), već i njegove stabilnosti u mikrosomu ljudske jetre, netoksičnog djelovanja protiv jetrenih stanica i niže inhibitorne aktivnosti protiv ljudskog enzima MAO-A u usporedbi s linezolidom. Snažno antibakterijsko djelovanje, ova poboljšana svojstva i sigurnosni profil sugeriraju da bi spoj **B3** mogao biti obećavajući kandidat za daljnja istraživanja.

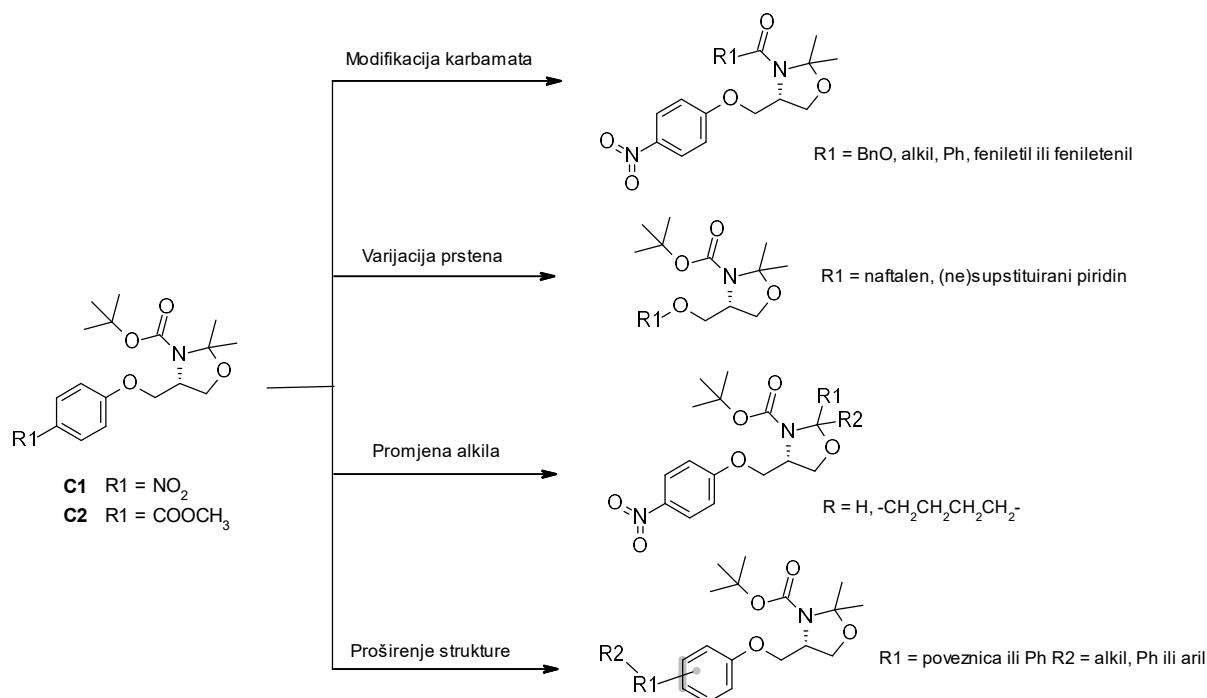
Potruga za učinkovitijim antiepilepticima s manje teških nuspojava, također je jedan od interesa znanstvenika. Mnogi derivati oksazolidina, posebice oksazolidindioni, odavno su opisani u literaturi kao molekule s velikim antikonvulzivnim potencijalom zbog strukturnih sličnosti (heteroatom dušika i karbonilne skupine) s raznim lijekovima na tržištu (npr. fenitoin, fenobarbital i etosuksimid). Trimetadion (Slika 5.) prvi je derivat oksazolidina kojeg je 1946. godine FDA odobrila za tržište s namjenom kontroliranja napadaja odsutnosti tj. petit mal epileptičnih napada. Ovaj lijek može izazvati ozbiljne nuspojave poput fetalnog trimetadion sindroma (zastoj u rastu i malformacija fetusa), što je uzrokovalo njegovo povlačenje s tržišta

u nekim zemljama. Danas ima ograničenu upotrebu zbog pojave učinkovitijih i sigurnijih alternativa, no i dalje se koristi kod pacijenata koji ne reagiraju dobro na ostale tretmane.²



Slika 5. Prikaz strukture antikonvulziva trimetadiona

Usljed konstantnog porasta tumorskih oboljenja, sve veća pažnja pridaje se i potrazi za novim, selektivnijim i manje toksičnim kemoterapeutskim agensima. Polazeći od prethodno sintetiziranih derivata oksazolidina **C1** i **C2**, koji su pokazali dobro citotoksično djelovanje, S. Andrade i suradnici¹⁰ sintetizirali su zbirku od 30 novih derivata oksazolidina modifikacijom karbamatnog dijela molekule, zamjenom vezanog prstena, varijacijom alkilnih supstituenata na samom oksazolidinu ili proširenjem strukture molekule (Shema 1.).



Shema 1. Prikaz primijenjenih strategija za sintezu novih derivata oksazolidina s potencijalnim citostatskim djelovanjem

Antiproliferativna aktivnost pripremljenih spojeva procijenjena je na pet staničnih linija raka: HL60 promijelocitna leukemija, JURKAT T-stanična leukemija, MDA-MB-231 i MCF-7 karcinomi dojke te HCT-116 karcinom debelog crijeva. Citotoksični učinci na zdrave stanice procijenjeni su pomoću VERO stanica bubrega afričkog zelenog majmuna. Na temelju dobivenih rezultata provedena je analiza odnosa strukture i aktivnosti (SAR) te je odabran najbolji kandidat za daljnja testiranja.

SAR analiza pokazala je kako su oksazolidinski prsten i na njega vezana karbamatna skupina od iznimne važnosti za aktivnost. Zamjena karbamata amidom rezultirala je znatnim smanjenjem aktivnosti. Uklanjanje *N,O*-aminalnih metilnih skupina na oksazolidinu smanjilo je aktivnost spoja, no uvođenje spiro prstena u ovome položaju ukazalo je na to da velike skupine u ovom području imaju dobar utjecaj na aktivnost. Promjena benzenskog prstena u piridin pokazala je da uvođenje dušika loše utječe na aktivnost. Naftalenski prsten također nije imao pozitivan utjecaj, no zanimljivo je da je vezanje dodatnog fenilnog prstena u *meta*- ili *para*- položaj benzenskog prstena pojačalo citotoksično djelovanje spoja. Ispitana su i ovakva produljenja strukture preko raznih poveznica, što je pokazalo jako dobre rezultate. Među svim priređenim spojevima, najboljim se pokazao spoj **D**, koji preko amidne poveznice ima vezanu *para*- supstituiranu benzensku jezgru. Njegova struktura, zajedno s istaknutim strukturnim elementima ključnim za aktivnost, prikazana je na Slici 6. Na slici su također vidljive i vrijednosti koncentracija koje inhibiraju rast tumorskih stanica za 50 % (IC_{50}) za polazni spoj **C2** te za spoj **D**. Važno je napomenuti i da je spoj **D** pokazao slabo antiproliferativno djelovanje protiv VERO stanica, što ukazuje na nisku toksičnost za normalne stanice i čini ga potencijalnim sredstvom za liječenje raka.



Slika 6. Rezultati SAR analize provedene na novosintetiziranim derivatima oksazolidina i usporedba IC_{50} vrijednosti prethodno sintetiziranog spoja **C2** i novog kandidata **D**¹⁰

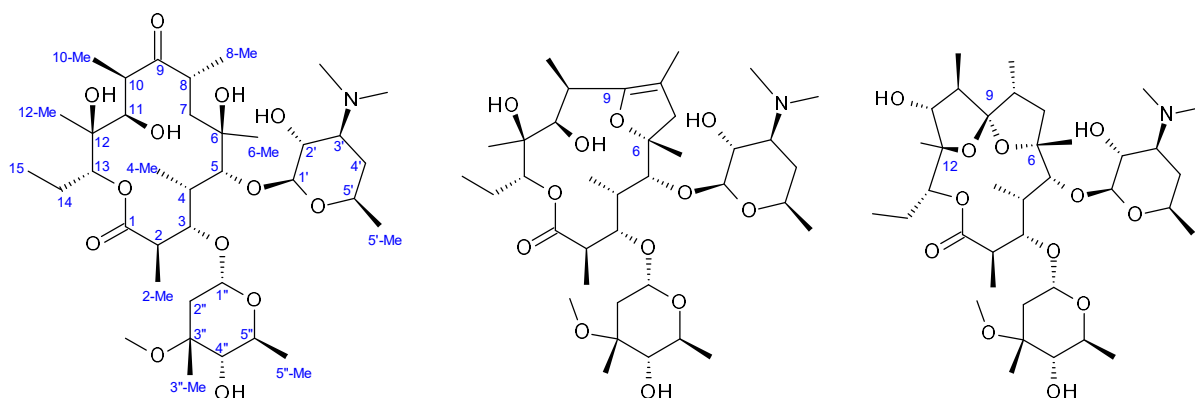
2.3. MAKROLIDI

Pojam „makrolidi“ prvi puta se spominje 1957. godine kada ga je R. B. Woodward predložio kao naziv za antibiotike prirodnog porijekla sastavljene od makrolaktonskog prstena.¹¹ Danas se taj naziv dodjeljuje klasi spojeva čija se struktura sastoji od 12-eročlanog, 14-eročlanog ili 16-eročlanog visokosupstituiranog makrolaktonskog prstena (aglikona) za kojeg je *O*-glikozidnom vezom vezana jedna ili više monosaharidnih jedinica, najčešće desozamin i kladinoza. Posebnu skupinu čine 15-eročlani polusintetski makrolidni antibiotici, čiju strukturu karakterizira dušikov atom kao sastavni dio laktonskog prstena (azalidi).¹²

Većina makrolida izolirana je iz sojeva bakterije *Streptomyces*, a za nekolicinu 14- ili 16-eročlanih makrolida otkriveno je da ih proizvode bakterije iz roda *Micromonospora*. Najpoznatiji su po svojem širokom bakteriostatskom djelovanju, a primarno su djelotvorni u liječenju infekcija uzrokovanim Gram-pozitivnim bakterijama poput *Staphylococcus*, *Streptococcus* i *Diplococcus*. Njihovo je djelovanje protiv Gram-negativnih bakterija ograničeno, no ipak efektivno liječe infekcije uzrokovane bakterijama *Neisseria gonorrhoea*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* i *Neisseria meningitis*.¹³ Osim što su poznati kao antibiotici, makrolidi su se pokazali i kao dobra protuupalna sredstva, a neki od njih posjeduju i imunomodulatorno, tuberkulostatsko, antimalarično, antivirusno i antitumorsko djelovanje.¹⁴

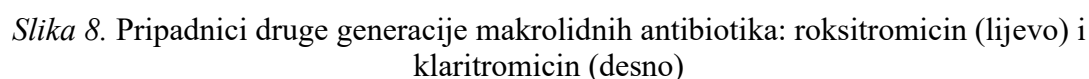
2.3.1. Četiri generacije makrolida

Eritromicin A (Slika 7.) prvi je makrolidni antibiotik odobren za kliničku upotrebu još 1952. godine. Izoliran je kao sekundarni metabolit mikroorganizma *Saccharopolyspora erythraea* (izvorno *Streptomyces erythreus*), a uz njega su nađeni u manjim količinama i ostali srodni spojevi: eritromicini B, C i D. Glavni nedostatak eritromicina A njegova je brza dekompozicija u kiselom mediju želuca. Odvija se intramolekularna ciklizacija, pri čemu C-9 keto skupina reagira sa 6-OH i 12-OH skupinama (Slika 7). Također, moguće je i odcjepljenje šećera kladinoze, a nastali spojevi nemaju antibakterijsku aktivnost.^{12, 14}



Slika 7. Prikaz strukture eritromicina A (lijevo) i njegovih razgradnih produkata u kiselom mediju želuca (desno)

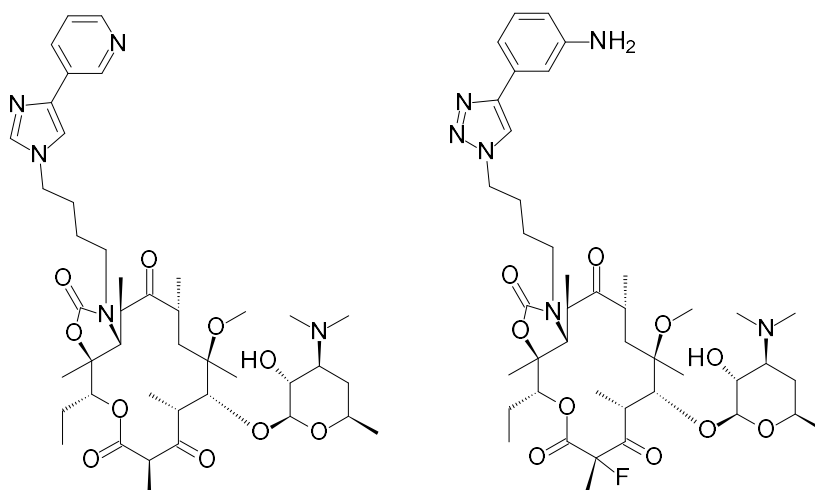
Iako su uz eritromicin A otkriveni i izolirani i drugi prirodno prisutni makrolidi poput oleandomicina, josamicina i spiramicina, koji se također nalaze u kliničkoj uporabi, upravo se skelet eritromicina A koristio u istraživanjima u svrhu pronalaska boljih makrolidnih antibiotika. Opsežne kemijske modifikacije eritromicina A dovele su do razvoja brojnih polusintetskih stabilnijih derivata sa širim spektrom antimikrobnog djelovanja i povoljnijim farmakokinetičkim svojstvima. Ovi nosintetizirani derivati raspodijeljeni su u četiri generacije. Prva generacija, uz eritromicin A, uključuje jednostavnije spojeve poput 2'-estera, i raznih lipofilnih soli, dok je za pripremu derivata druge generacije primijenjena strategija blokiranja intramolekularne ciklizacije eritromicina A s naglaskom na modifikaciju funkcionalnih skupina koje u toj reakciji sudjeluju. Općenito, derivati ove generacije komercijalno i klinički vrlo su uspješni. Jedan od pripadnika ove generacije, roksitromicin (Rulid), pripravljen je oksimiranjem i *O*-alkiliranjem ketona na položaju C-9. Roksitromicin u kiselom mediju pokazuje umjerenu stabilnost, znato bolju od one eritromicina A. Budući da položaj C-9 nije slobodan za ciklizaciju, njegova razgradnja odvija se isključivo gubitkom kladinoze. Alternativno rješenje problema kiselinske degradacije bila je modifikacija C-6 hidroksilne skupine uvođenjem metilne skupine, pri čemu je sintetiziran antibiotik klaritromicin (Clarith, Biaxin). Klaritromicin pri kiselim uvjetima primarno reagira gubitkom kladinoze, no primijećeni su i kratkoživući razgradni produkti nastali intramolekularnom ciklizacijom položaja C-9 i 12-OH.¹²



Najuspješniji član druge generacije makrolidnih antibiotika uvjerljivo je azitromicin (Sumamed, Zithromax). Glavni je predstavnik azalida, skupine 15-eročlanih makrolidnih antibiotika nastalih ugradnjom dušikova atoma u makrolaktonski prsten (Slika 9). Unatoč prisutnoj degradaciji gubitkom kladinoze, azitromicin se smatra stabilnim u kiselom mediju želuca.¹² Karakterizira ga široki spektar djelovanja i brzo prodiranje u tkiva, što je rezultiralo raznim modifikacijama azalidnog skeleta u svrhu dobivanja novih spojeva s povoljnom farmakokinetikom. Ove strukturne modifikacije koriste se ne samo za sintezu novih antibakterijskih sredstava, već i u druge svrhe poput pripreme protuupalnih agensa.¹⁴



Usljed pojave rezistencije bakterija na postojeće makrolide, javila se potreba za novim, djelotvornijim antibioticima. Tako su razvijene treća i četvrta generacija makrolidnih antibiotika koje uključuju razne ketolide i fluoroketolide. Spojevi iz klase ketolida 14-eročlani su makrolidni derivati koji na položaju C-3 umjesto šećera kladinoze imaju keto skupinu. Takvi spojevi već su izolirani iz prirodnih izvora, čak i prije eritromicina, ali njihovo antibakterijsko djelovanje nije bilo zadovoljavajuće. Međutim, činjenica da oni, za razliku od eritromicina, ne induciraju rezistenciju, potakla je istraživanje polusintetskih 3-keto derivata eritromicina A. Još jedna učestala karakteristika ketolida prisutnost je 11,12-cikličkog karbamata i heteroaromatski prsten vezan na položajima 11-*N* ili 6-*O*. Navedene karakteristike mogu se pronaći u strukturi telitromicina (Ketek), glavnog predstavnika treće generacije makrolidnih antibiotika. Ovaj lijek, zbog uzrokovanja niza nuspojava poput poremećaja vida i velike toksičnosti za jetru, povučen je s tržišta. Glavni predstavnik četvrte generacije makrolida, a ujedno i najpoznatiji fluoroketolid je solitromicin. Strukturno je vrlo sličan telitromicinu, pa zbog sumnje da bi mogao izazvati slične nuspojave, nije odobren za kliničku upotrebu. Kao pripadnika klase fluoroketolida, karakterizira ga atom fluora na položaju C-2 koji sprječava enolizaciju keto skupine, a od telitromicina ga još razlikuje i drugačiji supstituent na 11-*N* položaju (Slika 10).^{12, 15}



Slika 10. Predstavници treće i četvrte generacije makrolidnih antibiotika: telitromicin (lijevo) i solitromicin (desno)

2.4. DJELOVANJE MAKROLIDNIH ANTIBIOTIKA

Općenito, antibiotici na bakterije mogu djelovati bakteriostatski, baktericidno ili bakteriolitički.¹⁶ Makrolidi su poznati po svojem širokom bakteriostatskom djelovanju, što znači da djeluju na način da inhibiraju rast bakterija. Meta njihovog djelovanja proces je translacije (sinteze proteina) koji se odvija na bakterijskom ribosomu.¹⁷

2.4.1. Sinteza proteina

Prokariotski ribosom (70S) dimerna je čestica koju izgrađuju proteini i ribosomska RNA (rRNA). Sastoji se od male (30S) podjedinice, koja sadrži 16S rRNA, i velike (50S) podjedinice, koja sadrži 23S i 5S rRNA. Mala podjedinica veže glasničku RNA (mRNA) i dekodira genetsku informaciju koja je u njoj zapisana, dok se na velikoj podjedinici odvija sama sinteza proteina. U velikoj podjedinici nalaze se tri vezna mjesta za transfer RNA (tRNA) – aminoacilno mjesto (A) gdje se veže nadolazeća aminoacil-tRNA, peptidilno mjesto (P) u kojem je smještena tRNA s rastućim peptidnim lancem, te izlazno mjesto (E) s kojeg se odcjepljuje slobodna, deacilirana molekula tRNA.^{17, 18}

Sinteza proteina započinje procesom inicijacije. Molekula mRNA veže se na 30S podjedinicu, a formilmetionil-tRNA zatim se pričvršćuje u P mjesto na AUG inicijacijski kodon mRNA. Kompleksu se pridružuje 50S podjedinica, a na A mjesto ulazi odgovarajuća aktivirana aminokiselina u obliku aminoacil-tRNA. Između dviju aminokiselina, smještenih u A i P mjestu, stvara se peptidna veza. Ovaj proces katalizira peptidil-transferazni centar (PTC), smješten unutar tunela ribosoma kroz koji novonastali polipeptidi izlaze u citoplazmu.^{17, 18}

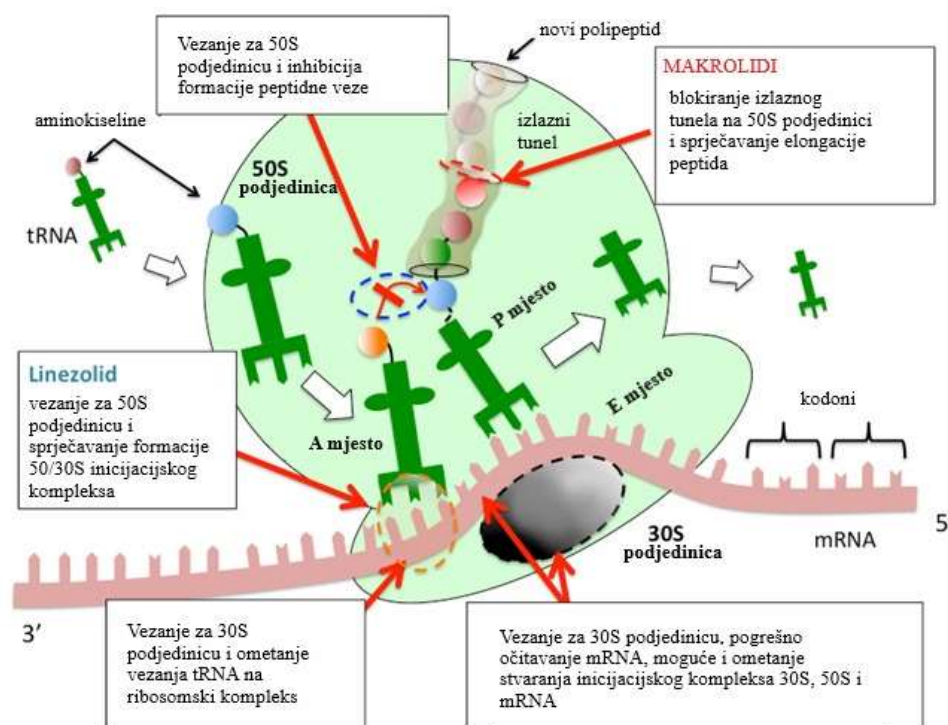
U fazi rasta proteina (elongacija), ribosom se pomiče uzduž mRNA, a na svaki idući kodon veže se odgovarajuća aminoacil-tRNA. Nova peptidna veza stvara se između nadolazeće aminoacil-tRNA u A-mjestu i rastućeg peptidnog lanca u obliku peptidil-tRNA smještenog u P mjestu. Nastali peptidni lanac produžen za jednu aminokiselinu premješta se s mjesta A na mjesto P, slobodna tRNA s mjesta P prelazi na mjesto E i odcjepljuje se, dok na mjesto A stiže nova aminoacil-tRNA. Elongacija lanca prekida se kada se na mRNA pojavi stop kodon. Peptidni lanac tada se odvaja od tRNA, smještene u P mjestu, i kroz tunel se otpušta u citoplazmu. Na kraju procesa, 70S podjedinica ponovo disocira na dvije podjedinice, 30S i 50S.¹⁸

2.4.2. Vezanje makrolida

Makrolidni antibiotici vežu se na 50S ribosomsku podjedinicu u domeni V 23S rRNA u blizini peptidil-transferaznog centra, smještenog unutar izlaznog tunela ribosoma. Vezujući se pri ulazu u taj tunel, makrolidi smanjuju veličinu njegovog promjera s 18 Å na približno 10 Å, što sterički ometa elongaciju peptida. Dakle, makrolidi ne inhibiraju u potpunosti stvaranje peptidne veze, već samo zaustavljaju rast peptidnog lanca u onom trenutku kad on dosegne makrolid vezan u izlaznom tunelu. Uglavnom je do tog trena moguće formirati 5-11 peptidnih veza, nakon čega dolazi do disocijacije peptidil-tRNA s ribosoma i naglog prekida procesa elongacije.^{12, 19}

Vezanje makrolida odvija se preko makrolaktonskog prstena i desozamina, dok kladinoza ne sudjeluje u interakcijama s 23S rRNA i nije ključna za antibakterijsku aktivnost. Varijabilnost u strukturama makrolida utječe na način vezanja i proces inhibicije, no ono što je svima zajedničko je ostvarivanje triju vodikovih veza preko 2'-OH skupine desozamina.¹² Sprječavanje ovih interakcija modifikacijama strukture makrolida može znatno utjecati na njihovo antibakterijsko djelovanje, no o tome više u nadolazećem poglavlju.

Osim o samoj kemijskoj strukturi, dokazano je da način vezanja makrolida ovisi i o vrsti bakterije za čiji se ribosom on veže. Difrakcija rendgenskog zračenja na kristalnim strukturama kompleksa ribosom-makrolid, pokazala je različite strukturne modele za različite Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije. Oni uglavnom uključuju jednu molekulu makrolida i 50S ribosomsku podjedinicu, no zanimljiva situacija otkrivena je kod vezanja azitromicina za ribosom bakterije *D. radiodurans*. Naime, u ovom slučaju opaženo je vezanje dviju molekula azitromicina, pri čemu se jedna molekula azitromicina veže u domenama IV i V 23S rRNA, dok druga molekula azitromicina stupa u interakciju s dva ribosomska proteina L4 i L22 i domenom II 23S rRNA. Dvije molekule azitromicina međusobno su povezane vodikovom vezom preko desozamina jedne i 1-O položaja druge molekule. Može se primijetiti kako molekula azitromicina posjeduje dodatna vezna mjesta u odnosu na ostale makrolidne antibiotike. Ovaj fenomen pripisuje se atomu dušika u makrolaktonskom prstenu. Iako on ne doprinosi izravno vezanju azitromicina na ribosom, ova modifikacija mijenja konformaciju laktonskog prstena u dovoljnoj mjeri da inducira nove interakcije.^{12, 19}



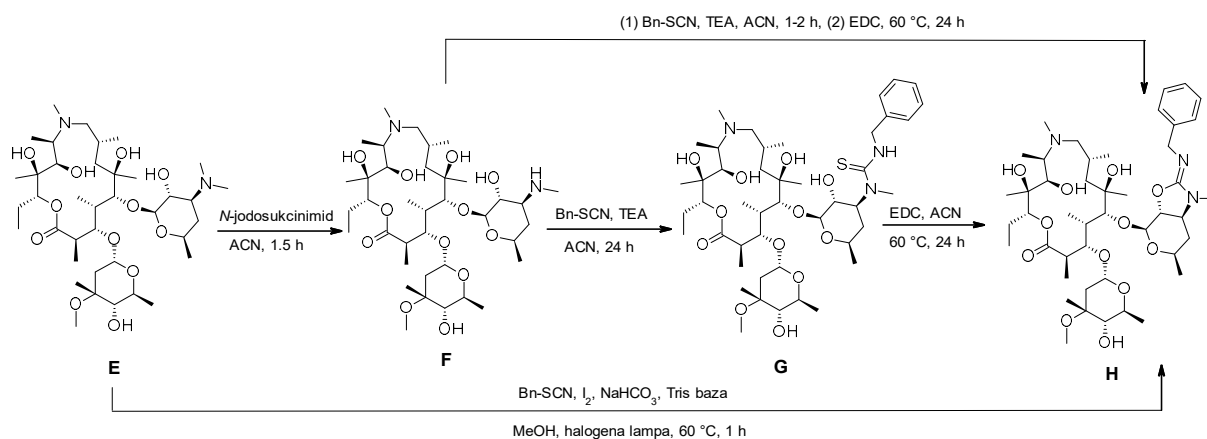
Slika 11. Načini djelovanja antibiotika čija je meta proces translacije. Naznačeno je mjesto vezanja makrolida, ali i prethodno spominjanog oksazolidinskog antibiotika linezolida.²⁰

2.5. SUZBIJANJE ANTIBAKTERIJSKOG DJELOVANJA MAKROLIDA

U posljednjih nekoliko godina, otkriven je vrlo obećavajući potencijal makrolida za liječenje raznih bolesti nevezanih uz bakterijsko djelovanje. Međutim, za ove nove biološke primjene, antibakterijsko djelovanje makrolida nepoželjno je svojstvo zbog mogućnosti izazivanja rezistencije bakterija. Već je ranije napomenuto kako je desozamin, točnije njegova 2'-OH skupina, jedna od ključnih strukturnih karakteristika makrolida za ostvarivanje antibakterijskog djelovanja. Modifikacijom ove skupine, moguće je suzbiti antibakterijsko djelovanje makrolida i tako omogućiti njegovu uporabu u druge svrhe. Pokazalo se kako takvo smanjenje antibakterijskog djelovanja putem kemijske modifikacije ne umanjuje nužno njihova preostala djelovanja. Stoga je cilj potisnuti antibakterijsko djelovanje makrolida putem što manjih modifikacija u strukturi kako se ne bi značajno utjecalo na fizikalno-kemijska svojstva ovih lijekova. Spomenuto je i kako osim desozamina, i makrolaktonski prsten sudjeluje u interakcijama s veznim mjestom u ribosomu. Iz tog razloga, antibakterijsko djelovanje može se potisnuti i modifikacijama na samom prstenu.⁴ U nastavku su prikazane modifikacije provedene na prstenu i desozaminu molekule azitromicina.

2.5.1. Modifikacija azitromicina ciklizacijom do oksazolidina

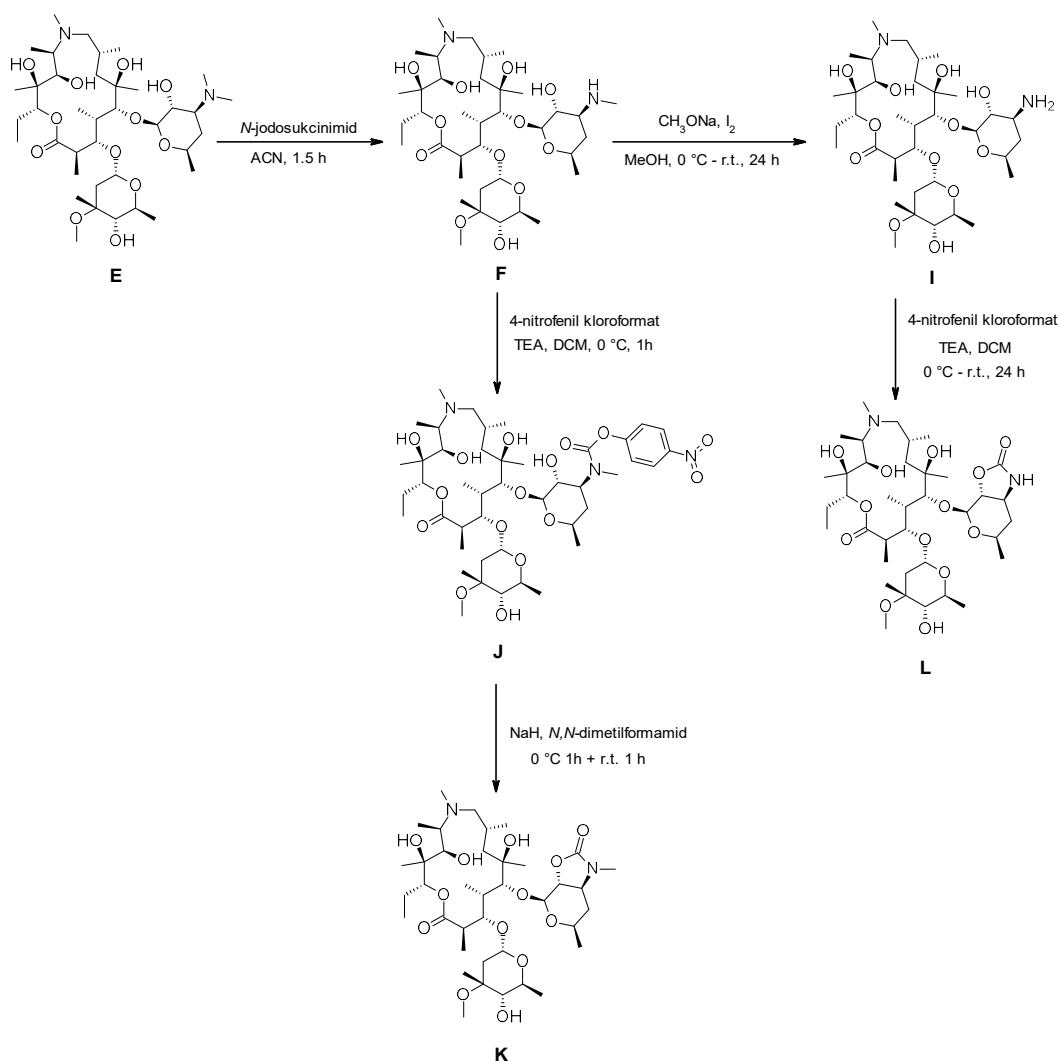
S ciljem smanjenja antibakterijske aktivnosti i otvaranja mogućnosti uporabe ovog lijeka u druge svrhe, I. Vujasinović i suradnici,³ za vicinalni aminoalkoholni dio desozamina na azitromicinu, fuzionirali su *N'*-supstituirani 2-imino-1,3-oksazolidin. Polazeći od azitromicina **E**, proveli su proces demetilacije na 3'-*N* položaju do spoja **F**. Na demetilirani skelet na položaj 3'-*N* uveli su benzil-tioureu reakcijom spoja **F** s benzil-izotiocijanatom. Ciklizacija *N'*-benzil-tiourea derivata **G** do oksazolidinskog derivata **H** provedena je s EDC-om u reakciji preko noći. Spoj **H** priređen je i *one-pot* sintezom iz spoja **F** prema već navedenim uvjetima, no uspješno je provedena i *one-pot* sinteza polazeći iz azitromicina **E**, kao što je prikazano na Shemi 2. U tom slučaju korišteni su jod, natrijev hidrogenkarbonat kao baza, tris(hidroksimetil)aminometan (tris baza) za „gašenje“ (eng. *quenching*) nastalog formaldehida te metanol kao otapalo. Potreban je nešto veći suvišak joda (6 ekv.) i benzil-izotiocijanata (5 ekv.), no reakcija je gotova za samo 1 h osvjetljavanjem reakcijske smjese halogenom lampom. Iskorištenje ove *one-pot* reakcije (35 %) usporedivo je s ukupnim iskorištenjem stupnjevite i EDC-*one-pot* procedure s polaskom od azitromicina (49 % za stupnjevit i 40 % za EDC-*one-pot* sintezu). Ovi sintetski putevi selektivni su za sintezu *Z*-izomera iminske dvostruke veze. Smatra se da zbog steričkog utjecaja 3'-*N*-metilne skupine oksazolidina, formacija *E*-izomera nije bila moguća.



Shema 2. Sinteza 2-imino-1,3-oksazolidinskog derivata azitromicina

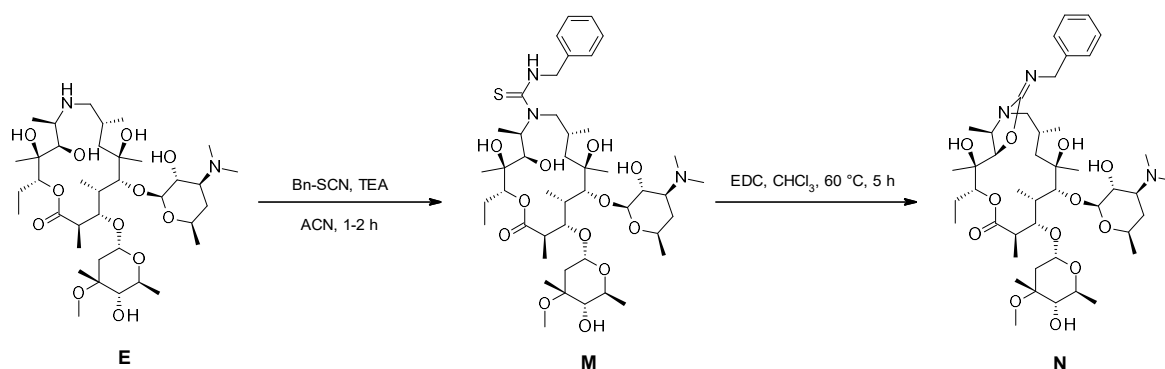
I. Palej Jakopović i suradnici⁴ na istu, 2' i 3' poziciju desozamina fuzionirali su 1,3-oksazolidin-2-on. Proces su započeli uklanjanjem prvog metila iz 3'-*N,N*-dimetilamino skupine desozamina na azitromicinu **E**. Kao najučinkovitiji demetilacijski reagens za sintezu spoja **F** pokazao se *N*-jodosukcinimid. Budući da je demetilacija sekundarnih amina teže

izvediva, u idućem koraku, za dobivanje spoja **I**, korištena je jača baza, natrijev metoksid. Na spojevima **F** i **I** provedena je ciklizacija do oksazolidina preko vicinalnih hidroksi i amino skupina desozanima navedenih spojeva. U slučaju spoja **I**, u baznim uvjetima, ciklizacija se nakon vezanja reagensa odvija spontano do spoja **L**, dok je u slučaju spoja **F** najprije sintetiziran intermedijer **J** pa je u sljedećem koraku dobiven željeni ciklizirani produkt **K**. Najbolja iskorištenja kod sinteze ovih spojeva dobivena su kada se kao reagens koristio 4-nitrofenil-kloroformat (41 % za spoj **K** i 54 % za spoj **L** polazeći od demetiliranih derivata). Antibakterijsko djelovanje ciljanih produkata **K** i **L** testirano je na pet uobičajenih respiratornih patogena: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *M. catarrhalis* i *H. influenzae*. Pokazalo se da je ova modifikacija uspješno uklonila antibakterijsku aktivnost. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) pri tom je iznosila više od 64 µg/mL za svih 5 patogena.



Shema 3. Sinteza 1,3-oksazolidin-2-onskih derivata azitromicina bez antibakterijskog djelovanja

Da se i 9a,11-premoštavanjem azalidnih antibiotika mogu potisnuti njihova antibakterijska svojstva pokazali su Z. Marušić Ištuk i suradnici⁵ fuzioniranjem *N*'-supstituiranog 2-imino-1,3-oksazolidina na spomenuti dio makrolaktonskog prstena azitromicina. Polazeći od azitromicina **E** priredili su 9a-tiokarbamoilni derivat **M** u reakciji s benzil-izotiocijanatom, nakon čega je uslijedila njegova EDC ciklizacija. Ciklizirani produkt **N** dobiven je u obliku *Z*-izomera u iskorištenju od 37 %. Ispitana je njegova antibakterijska aktivnost za pet sojeva bakterija: *S. aureus* (MIC = 2 µg/mL), *S. pneumoniae* (MIC < 0.125 µg/mL), *S. pyogenes* (MIC < 0.125 µg/mL), *M. catarrhalis* (MIC = 2 µg/mL) i *H. influenzae* (MIC = 16 µg/mL). Iz navedenog je vidljivo kako modifikacije na makrolaktonskom prstenu azitromicina imaju znatno manji utjecaj na antibakterijsko djelovanje antibiotika u usporedbi s modifikacijama provedenim na desozaminu.

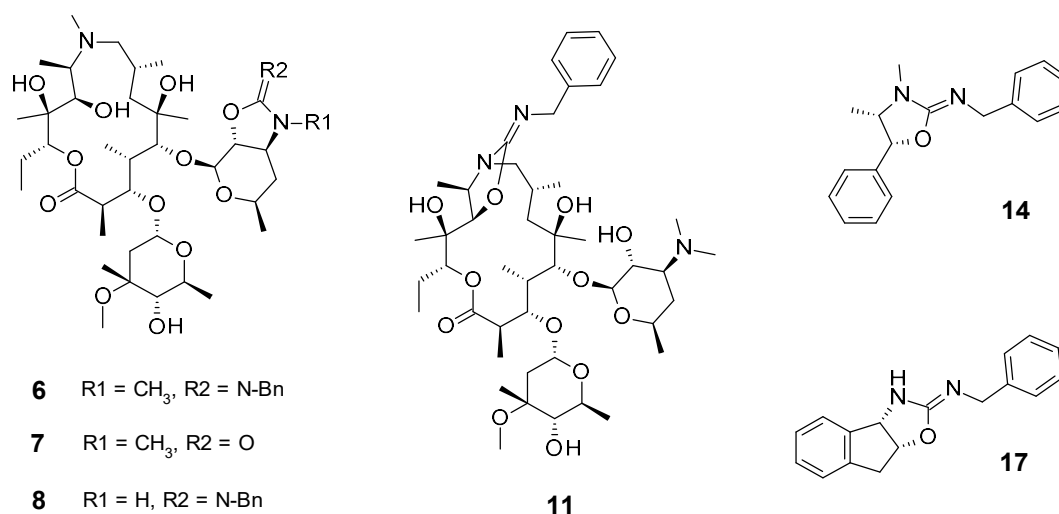


Shema 4. Sinteza 2-imino-1,3-oksazolidinskog derivata azitromicina sa smanjenom antibakterijskom aktivnosti

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. CILJ RADA

Zadatak ovog rada bila je optimizacija elektrokemijske sinteze oksazolidinskih derivata azitromicina ranije sintetiziranih klasičnim pristupom. Ove molekule izvrsni su kandidati za protuupalnu primjenu, a ova nova alternativna metoda efikasniji je i „zeleniji“ pristup njihovoj sintezi. Također, primjena ove elektrokemijske metode testirana je i na malim molekulama kao potencijalno biološki aktivnim spojevima. Ciljana zbirka derivata s fuzioniranim supstituiranim 1,3-oksazolidinskim skeletom prikazana je na Slici 1.

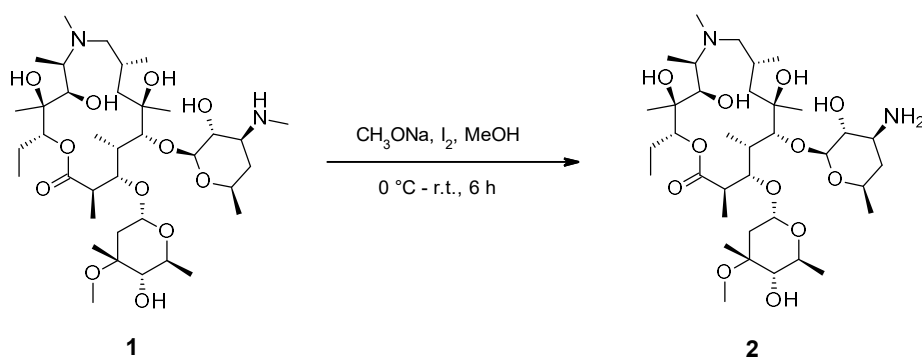


Slika 1. Prikaz struktura ciljanih derivata oksazolidina

3.2. MAKROLIDI

3.2.1. Sinteza intermedijera

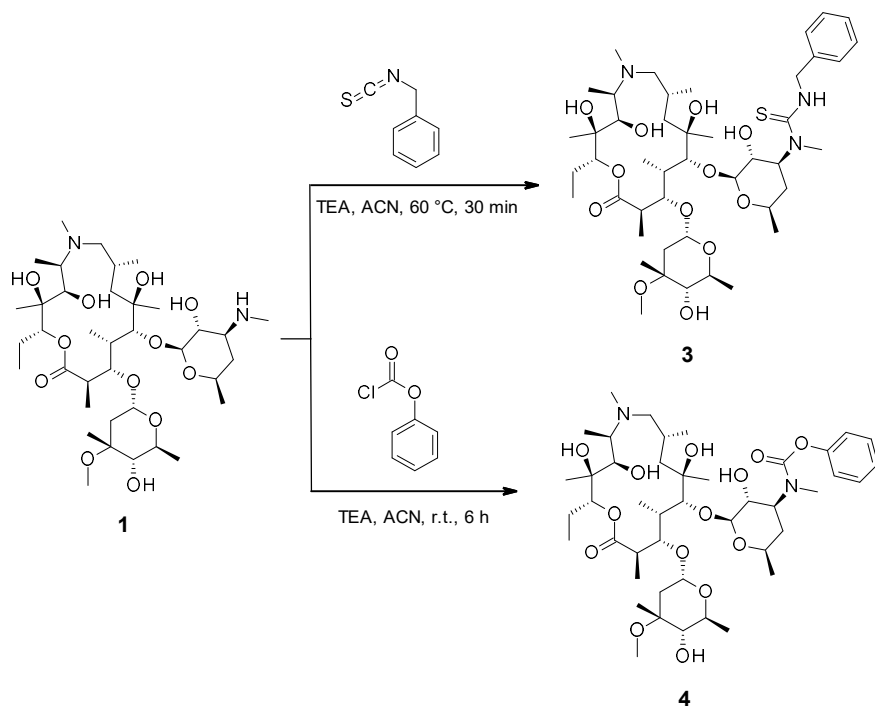
Pripravi ciljanih spojeva, cikliziranih derivata azitromicina, prethodila je sinteza odgovarajućih intermedijera. Najprije je iz 3'-*N*-demetiliranog derivata azitromicina **1** (3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A) sintetiziran 3'-*N,N*-didemetilirani derivat azitromicina **2** (3'-*N,N*-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A). Ovaj postupak demetilacije proveden je u metanolu uz pomoć natrijevog metoksida i joda, a sama reakcijska smjesa miješana je 4.5 h na 0 °C, a zatim 1.5 h na sobnoj temperaturi (Shema 1.). Ostvareno iskorištenje iznosilo je 21.25 %. Ovi demetilirani derivati **1** i **2** korišteni su u daljnjoj sintezi odgovarajućih intermedijera za ciklizaciju.



Shema 1. Sinteza 3'-*N,N*-didemetiliranog derivata azitromicina **2**

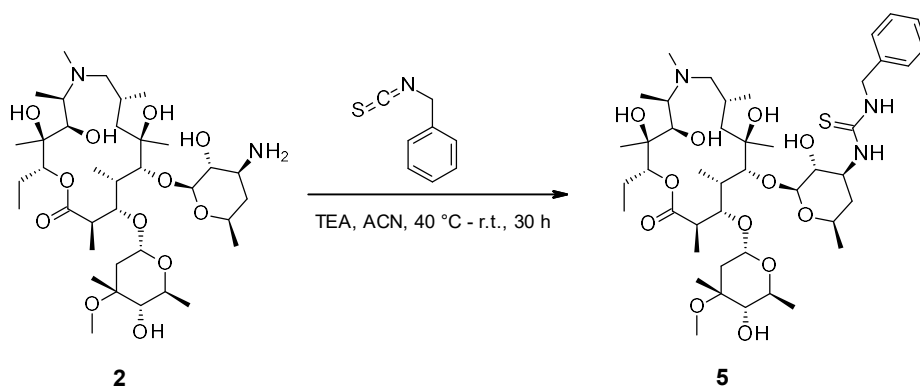
U idućem stupnju, reakcijom 3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **1** s benzil-izotiocijanatom uz trietilamin u acetonitrilu, priređen je 3'-*N*-(benziltiokarbamoil)-3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A **3** za 30 min na 60 °C (Shema 2.). Reakcija je pri navedenim uvjetima provedena dva puta uz iskorištenja od 66.11 % i 72.97 %.

Isti početni spoj, 3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A **1**, korišten je u reakciji s fenil-kloroformatom uz trietilamin u acetonitrilu, kako bi se priredio 3'-*N*-(feniloksikarbonil)-3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A **4**. Reakcija je provedena 6 h na sobnoj temperaturi (Shema 2.), a postupak je ponovljen dva puta pri čemu su ostvarena iskorištenja od 72.01 % i 75.85 %.



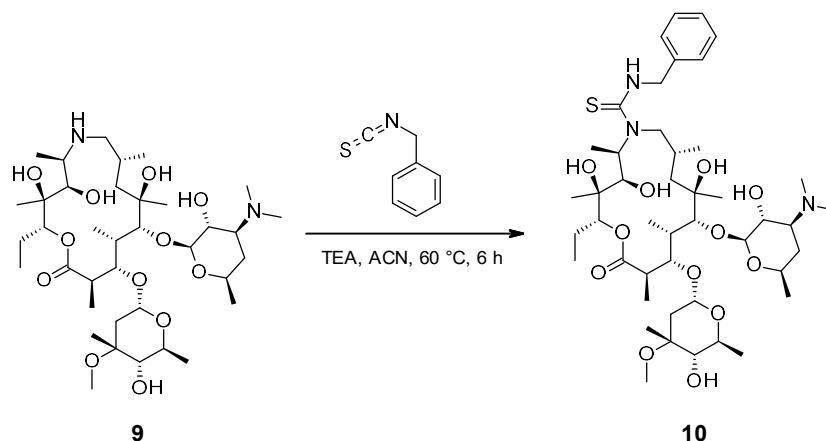
Shema 2. Sinteza 3'-*N*-(benziltiokarbamoil) **3** i 3'-*N*-(feniloksikarbonil) derivata **4** 3'-*N*-demetiliranog azitromicina

Iz 3'-*N,N*-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **2**, priređen je 3'-*N*-(benziltiokarbamoil)-3'-*N,N*-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin **5** u reakciji s benzil-izotiocijanatom uz trietilamin u acetonitrilu. Reakcija je provedena 13 h na 40 °C i 17 h na sobnoj temperaturi (Shema 3.). Dobiveno iskorištenje reakcije iznosilo je 48.12 %.



Shema 3. Sinteza 3'-*N*-(benziltiokarbamoil) derivata 3'-*N,N*-didemetiliranog azitromicina **5**

Jedan od intermedijera, 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicin A **10**, priređen je iz derivata azitromicina demetiliranog na položaju 9a. Željeni intermedijer sintetiziran je reakcijom 9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicina A **9** s benzil-izotiocijanatom uz trietilamin u acetonitrilu kroz 6 h na temperaturi od 60 °C (Shema 4.). Ostvareno je iskorištenje od 57.82 %.



Shema 4. Sinteza 9a-(*N*-benziltiokarbamoil) derivata 9a-*N*-demetiliranog azitromicina **10**

3.2.2. Elektrokemijska sinteza cikliziranih derivata – optimizacija uvjeta

Ciljani oksazolidin-fuzionirani makrolidni spojevi priređeni su elektrokemijski, reakcijom intramolekularne ciklizacije u nepodijeljenoj ćeliji pri konstantnoj struji s promjenom polariteta svakih 15 min. Korištene su grafitne elektrode površine 1.68 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Reakcije su se odvijale u acetonitrilu kao otapalu uz LiBr ili NaI kao elektrolite u koncentraciji od 0.1 mM. Samoj sintezi prethodila je optimizacija uvjeta elektrokemijske ciklizacije. Ispitane su reakcije pri različitim iznosima konstantne struje i konstantnog napona, a provjeren je i utjecaj različitih soli. Testne reakcije provedene su na skali od 50 mg, a prema najpovoljnijim uvjetima, željeni produkti priređeni su na većoj skali od 125 mg početnog spoja po jednoj elektrokemijskoj ćeliji. Važno je napomenuti da površine elektroda na manjoj ($A = 1.6 \text{ cm} \times 0.8 \text{ cm} = 1.28 \text{ cm}^2$) i većoj skali ($A = 2.1 \text{ cm} \times 0.8 \text{ cm} = 1.68 \text{ cm}^2$) nisu bile u potpunosti jednake.

Sinteza 2'-O,3'-N-(benzilkarbonimidoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (6)

Najprije je isprobana i optimizirana elektrokemijska ciklizacija 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **3** (Tablica 1.). Kao polazni elektrolit, pri kojem su ispitani različiti iznosi struje (30, 15, 5 i 3 mA), korišten je tetrabutilamonijev jodid (Bu₄NI). Konstantne struje u iznosima od 30 mA i 15 mA rezultirale su visokim udjelima nusprodukata (NP), dok niska struja od samo 3 mA, iako nije rezultirala nastankom nusprodukata, ni nakon 15 h nije ostvarila potpunu konverziju. Optimalnom se pokazala konstantna struja od 5 mA pa je u daljnjem koraku, pri ovom odabranom iznosu struje, ispitan utjecaj još dvije organske (Me₄NBr, Et₄NBF₄) i dvije anorganske soli (LiBr, NaI) na reakciju. Nakon dva sata provođenja elektrolize, u reakcijama s tetraetilamonijevim tetrafluoroboratom (Et₄NBF₄) i natrijevim jodidom (NaI) početni materijal i dalje nije u potpunosti izreagirao, a zabilježeno je i više različitih nusprodukata. S druge strane, u reakcijama s tetrametilamonijevim bromidom (Me₄NBr) i litijevim bromidom (LiBr) došlo je do završetka reakcije unutar 1 h bez nastanka nusprodukata. Budući da je anorgansku sol jednostavnije odvojiti ekstrakcijom, LiBr se pokazao kao najpovoljniji elektrolit za ovu reakciju. Stvarni potencijal koji je u ovoj reakciji s LiBr zabilježio instrument iznosio je 2.5 V pa je u idućem koraku, na svih pet korištenih soli, ispitan još i utjecaj tog konstantnog potencijala. U ovim uvjetima, i dalje LiBr pokazuje najbolje rezultate, no reakcija je ovoga puta provedena 3 h do potpune konverzije, što je tri puta dulje od reakcije s LiBr pri konstantnoj struji od 5 mA. Zadnje je u reakciji s LiBr isproban i nešto veći potencijal od 3.0 V, no kako se vrijeme reakcije nije smanjilo, a zabilježen je i mali udio nusprodukta, u konačnici je reakcija s LiBr pri konstantnoj struji od 5 mA odabrana za pripravu cikliziranog produkta na većoj skali.

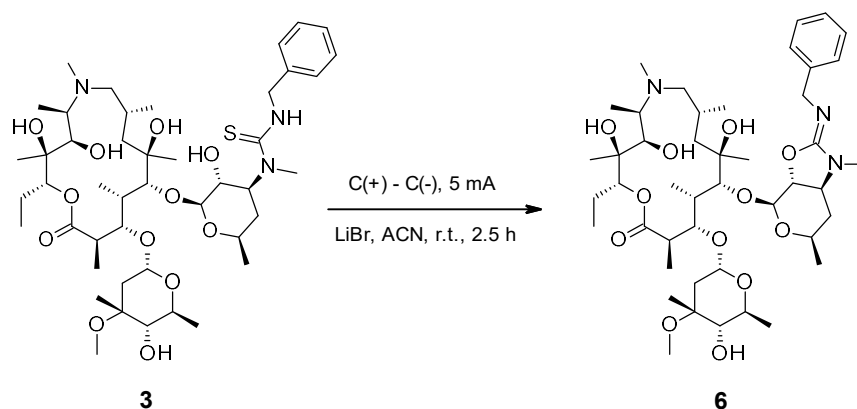
Tablica 1. Optimizacija uvjeta elektrokemijske ciklizacije 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **3**

Br.	A(+)-K(-)	sol	I/U	m (3) / V(ACN)	temp	t / h	UPLC / %		
							3 884 [M+H] ⁺	6 850 [M+H] ⁺	NP ([M+H] ⁺)
1	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	30 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	0.5	7	43	30 (809) 20 (898)
2	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	15 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	41	22 (809) 37 (898)
3	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	4	9	73	18 (898)
4	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	3 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	15	14	86	/
5	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Me ₄ NBr	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	100	/
6	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Et ₄ NBF ₄	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	2	28	48	10 (836) 9 (834) 5 (848)
7	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	100	/
8	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	NaI	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	2	14	58	7 (868) 6 (939) 7 (848) 8 (898)
9	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	2	0	79	21 (898)
10	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Me ₄ NBr	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	3	7	85	8 (848)
11	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Et ₄ NBF ₄	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	2	13	70	5 (836) 7 (834) 5 (898)

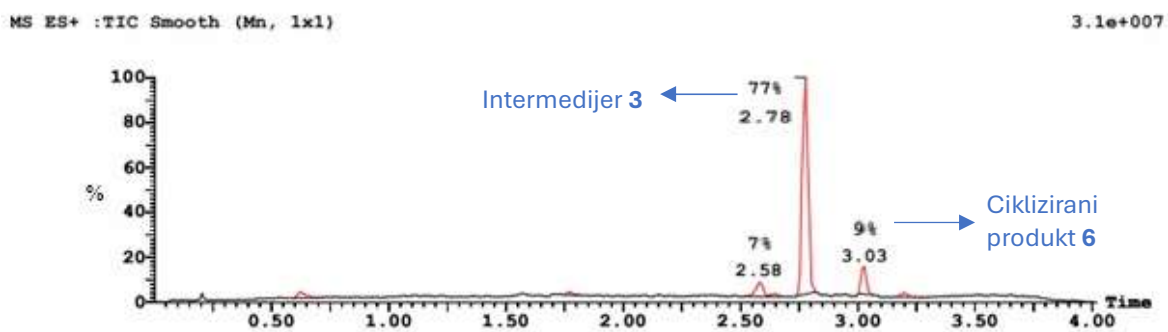
Tablica 1.- nastavak. Optimizacija uvjeta elektrokemijske ciklizacije 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A 3

Br.	A(+)-K(-)	sol	I/U	m (3) / V(ACN)	temp	t / h	UPLC / %		
							3 884 [M+H] ⁺	6 850 [M+H] ⁺	NP ([M+H] ⁺)
12	C(+) – C(-) 1.28 cm ²	LiBr	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	3	0	100	/
13	C(+) – C(-) 1.28 cm ²	LiBr	3 V	50 mg / 3 mL	r.t.	3	0	92	8 (848)
14	C(+) – C(-) 1.28 cm ²	NaI	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	3	9	64	9 (868) 3 (939) 9 (848) 6 (898)

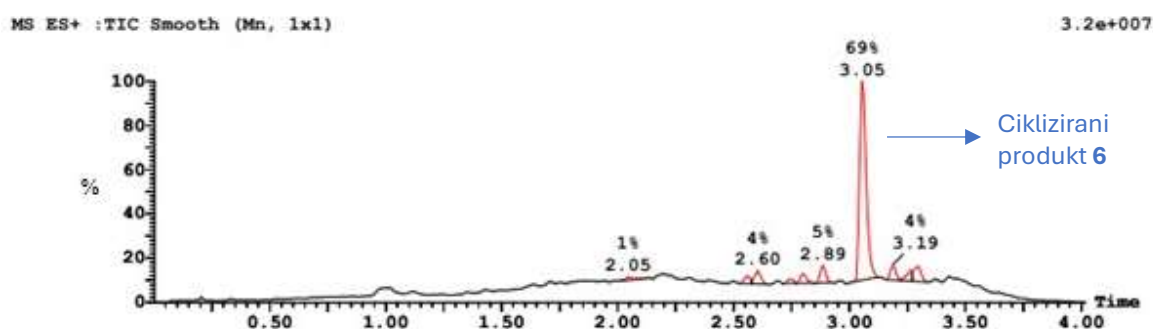
Sukladno provedenoj optimizaciji, 2'-O,3'-N-(benzilkarbonimidoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicin A 6 priređen je iz 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A 3 u acetonitrilu uz LiBr kao elektrolit pri konstantnoj struji od 5 mA s promjenom polariteta svakih 15 min. Reakcijska smjesa na većoj skali elektrolizirana je 2.5 h na sobnoj temperaturi. Željeni spoj, ovom metodom, dobiven je u iskorištenju od 71.49 %.



Shema 5. Elektrokemijska sinteza 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A 3



Slika 2. UPLC-MS kromatogram reakcijske smjese *one-pot* sinteze spoja **6** snimljen nakon 30 min provođenja elektrolize



Slika 3. UPLC-MS kromatogram reakcijske smjese *one-pot* sinteze spoja **6** snimljen nakon 11 h provođenja elektrolize

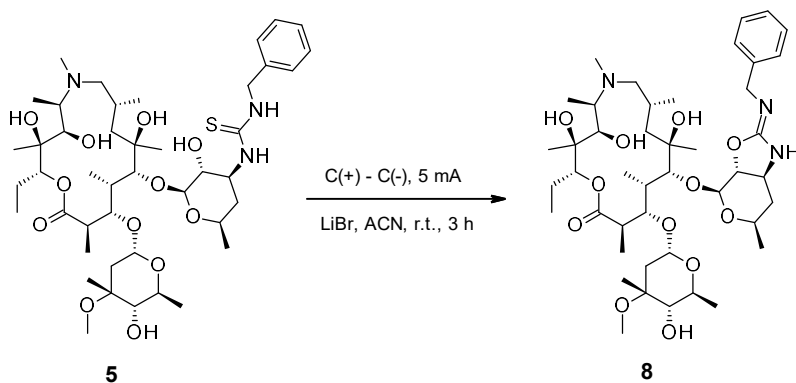
Sinteza 2'-O,3'-N-karbonil-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (**7**)

Optimizacija reakcije ciklizacije 3'-N-(feniloksikarbonil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **4** (Tablica 2.) također je započeta reakcijama s Bu₄NI kao elektrolitom pri konstantnoj struji. Primjenom struje od 30 mA, do potpune konverzije došlo je nakon 1 h pri čemu je postotak željenog cikliziranog produkta bio 81 %. Iz tog razloga, isprobana je niža struja od 15 mA. Reakcija je pri tim uvjetima provedena 5 h, no prema UPLC-MS-u bilo je jasno vidljivo kako je reakcija prestala napredovati već nakon prvog sata (nije bilo razlika u kromatogramima nakon prvog i petog sata provođenja reakcije). Budući da se LiBr pokazao kao najbolja opcija kod ciklizacije spoja **3**, i ovdje je testirana reakcija s LiBr pri struji od 15 mA. UPLC-MS pokazao je da pri ovim uvjetima ne nastaje željeni ciklizirani produkt **7**, pa je optimizacija usmjerena na ispitivanje utjecaja drugih soli uz struju od 30 mA. Uz Me₄NBr, Et₄NBF₄ i NaI koji su korišteni u prethodnom procesu optimizacije, ovdje je testiran i tetraetilamonijev bromid (Et₄NBr), koji je pri odabranim uvjetima pokazao najbolje

rezultate. Međutim, jako dobre rezultate pokazao je i NaI (92 % željenog produkta). S ciljem smanjenja udjela nečistoće, isprobana je reakcija s NaI na struji od 10 mA u kojoj je unutar jednog sata došlo do potpune konverzije i nastanka isključivo željenog produkta bez nečistoća. Ova reakcija odabrana je za pripravu cikliziranog produkta **7** na većoj skali.

Tablica 2. Optimizacija uvjeta elektrokemijske ciklizacije 3'-N-(feniloksikarbonil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **A 4**

Br.	A(+)-K(-)	sol	I/U	m (4) / V(ACN)	temp	t / h	UPLC / %		
							4 855 [M+H] ⁺	7 761 [M+H] ⁺	NP ([M+H] ⁺)
1	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	30 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	81	19 (675)
2	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Bu ₄ NI	15 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	5	70	30	0
3	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	15 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	0.5	52	0	22 (839) 8 (851) 18 (853)
4	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Me ₄ NBr	30 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1.5	0	16	32 (745) 27 (ostalo)
5	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Et ₄ NBr	30 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	100	0
6	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Et ₄ NBF ₄	30 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	31	35	34 (885)
7	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	NaI	30 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	92	8 (759)
8	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	NaI	10 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	0	100	0



Shema 8. Elektrokemijska sinteza 2'-O,3'-N-(benzilkarbonimidoil)-3'-N,N-dimetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **8**

Sinteza 9a,11-O-(N-benzilkarbonimidoil)-9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicina **A (11)**

Za elektrokemijsku ciklizaciju 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **A 3** najboljim elektrolitom pokazao se LiBr, a budući da 9-deokso-9a-(N-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicin **A 10**, čija se ciklizacija trenutno ispituje (Tablica 3.), također ima vezanu benzil-tioureu, proces optimizacije ovoga puta započet je s LiBr kao elektrolitom. Ciklizacija je isprobana na 3, 5 i 10 mA. U sva tri slučaja došlo je do nastanka nusprodukata, stoga je, s obzirom na vrijeme brzine reakcije te omjer željenog produkta i nusprodukata, struja od 5 mA odabrana za daljnja testiranja na preostalim elektrolitima (Me₄NBr, Et₄NBF₄ i NaI). Ostvareni rezultati nisu bili idealni, pa je ispitan još i utjecaj konstantnog potencijala od 2.5 V na reakcije s anorganskim solima LiBr i NaI. Reakcija s LiBr jako je sporo napredovala pa je nakon 1 h reakcije potencijal povišen na 3.5 V te reakcija nastavljena još 4 h. Od spomenutih 9 provedenih reakcija, najveći udio željenog produkta pokazale su reakcije **6** (NaI na 5 mA, 64 %) i **8** (LiBr na 3.5 V, 65 %). Budući da su udjeli u obje reakcije podjednaki, u obzir je uzeto vrijeme reakcije i raspon nečistoća. Reakcija **6** trajala je sat vremena kraće i imala je dva glavna nusprodukta u nešto većim udjelima, dok je reakcija **8** imala puno različitih nečistoća u manjim udjelima. Iz tog razloga, reakcija **6** s NaI na 5 mA izabrana je za daljnju optimizaciju. U idućem koraku, ispitano je na koji način hlađenje i grijanje reakcijske smjese utječu na izabranu reakciju. Iz Tablice 3. jasno je vidljivo kako se hlađenjem reakcije na 0 °C (reakcija **10**) povećao udio nusprodukta $m/z = 882$ [M+H]⁺ na visokih 57 %, što ga je učinilo glavnim produktom ove reakcije. Suprotno tome, grijanje reakcije na 60 °C povećalo je udio željenog cikliziranog produkta na 72 %, a do potpune konverzije došlo je unutar 1 h. Ova reakcija provedena je i na većoj skali za što je bilo potrebno provoditi elektrolizu 3 h. Kako bi se smanjilo vrijeme reakcije, isprobana je i

konstantna struja od 6.5 mA. Ovom reakcijom ostvareni su gotovo jednaki udjeli željenog produkta i nečistoća, stoga je ona odabrana za sintezu spoja **11**.

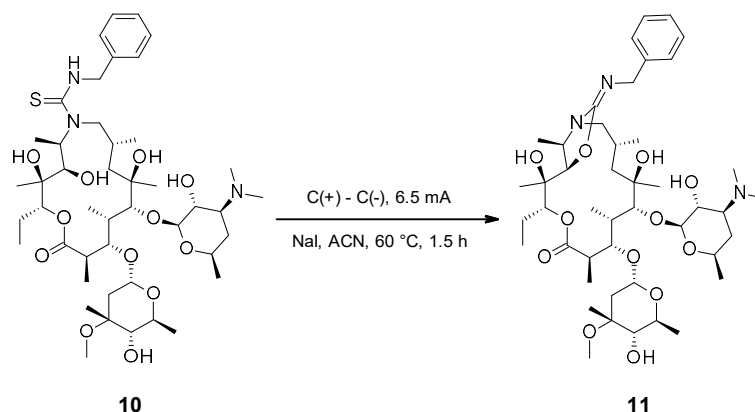
Tablica 3. Optimizacija uvjeta elektrokemijske ciklizacije 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicina **A 10**

Br.	A(+)-K(-)	sol	I/U	m (10) / V(ACN)	temp	t / h	UPLC / %		
							10 884 [M+H] ⁺	11 850 [M+H] ⁺	NP ([M+H] ⁺)
1	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	3 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	3	0	68	15 (836) 11 (882) 6 (ostalo)
2	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	2	0	58	12 (836) 7 (882) 23 (ostalo)
3	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	10 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	6	40	7 (836) 25 (882) 22(ostalo)
4	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Me4NBr	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	2	6	52	14 (836) 15 (882) 13 (ostalo)
5	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	Et4NBF4	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	1	34	17	14 (836) 35 (ostalo)
6	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	NaI	5 mA	50 mg / 3 mL	r.t.	3	0	64	7 (836) 21 (882) 8 (ostalo)
7	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	1	79	13	8 (836)
8	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	LiBr	3.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	4	0	65	9 (836) 7 (882) 19 (ostalo)
9	C(+)-C(-) 1.28 cm ²	NaI	2.5 V	50 mg / 3 mL	r.t.	4	13	57	17 (882) 13 (ostalo)

Tablica 3. – nastavak. Optimizacija uvjeta elektrokemijske ciklizacije 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicina A **10**

Br.	A(+)-K(-)	sol	I/U	m (10) / V(ACN)	temp	t / h	UPLC / %		
							10 884 [M+H] ⁺	11 850 [M+H] ⁺	NP ([M+H] ⁺)
10	C(+) – C(-) 1.28 cm ²	NaI	5 mA	50 mg / 3 mL	0 °C	2	0	32	57 (882) 11 (ostalo)
11	C(+) – C(-) 1.28 cm ²	NaI	5 mA	50 mg / 3 mL	60 °C	1	0	72	15 (836) 13 (882)
12	C(+) – C(-) 1.68 cm ²	NaI	5 mA	125 mg / 7.5 mL	60 °C	3	0	71	17 (836) 12 (882)
13	C(+) – C(-) 1.68 cm ²	NaI	6.5 mA	125 mg / 7.5 mL	60 °C	1.5	5	71	12 (836) 12 (882)

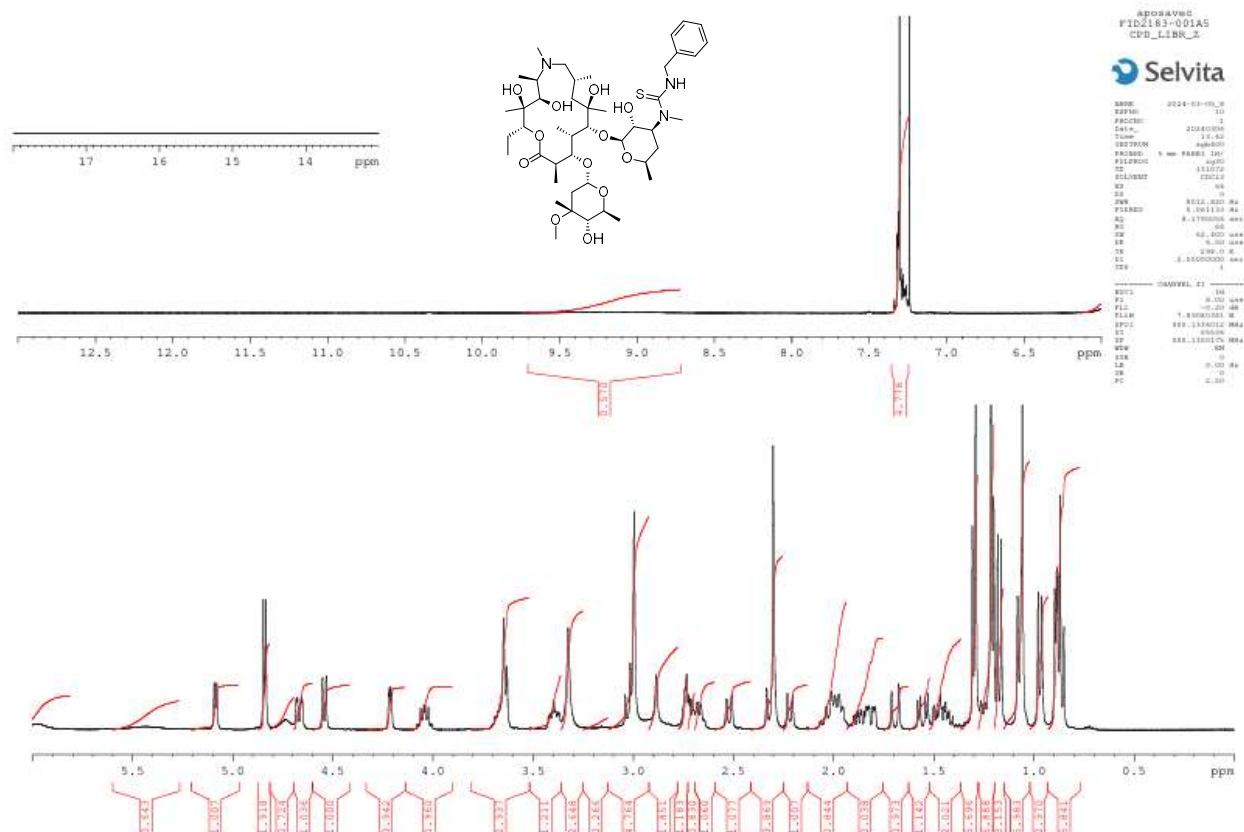
Prema rezultatima optimizacije, 9a,11-*O*-(*N*-benzilkarbonimidoil)-9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicin A **11** priređen je ciklizacijom 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicina A **10** u acetonitrilu uz NaI na temperaturi od 60 °C i konstantnoj struji od 6.5 mA s promjenom polariteta svakih 15 min. Reakcijska smjesa elektrolizirana je 1.5 h, a željeni spoj izoliran je u iskorištenju od 49.58 %.



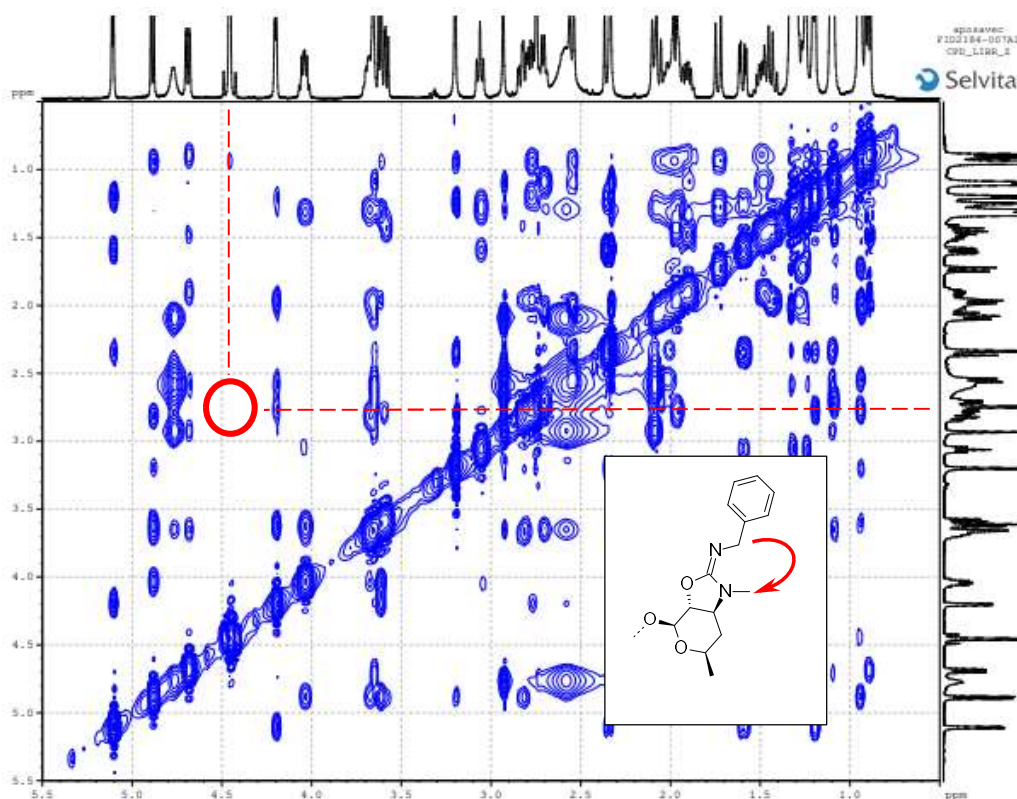
Shema 9. Elektrokemijska sinteza 9a,11-*O*-(*N*-benzilkarbonimidoil)-9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicina A **11**

3.2.3. Strukturna karakterizacija

Strukture priređenih intermedijera i cikliziranih spojeva potvrđene su NMR spektroskopijom. Na Slici 4. prikazan je ^1H NMR spektar intermedijera **3**, a na Slici 5. ^1H NMR spektar njegovog cikliziranog analoga **6**. Priloženi spektri, kao i odgovarajući ^{13}C NMR spektri, podudaraju se sa spektrima iz radova³ u kojima su ovi spojevi prethodno sintetizirani klasičnim pristupom. Time je potvrđeno odvijanje istovjetnog procesa ciklizacije intermedijera **3** preko benziltiokarbamoilnog suspstituenta i stvaranje iminske strukture.



Slika 4. ^1H NMR spektar intermedijera **3**



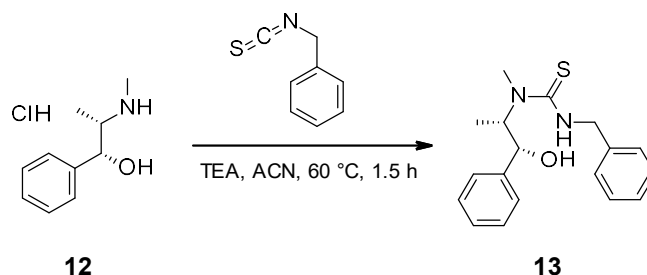
Slika 6. NOESY spektar cikliziranog spoja **6**

3.3. MALE MOLEKULE

3.3.1. Sinteza intermedijera

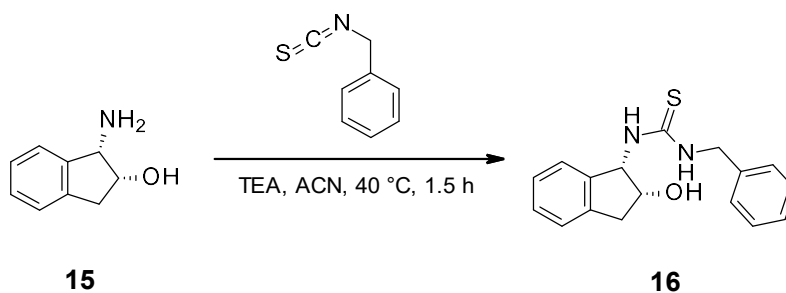
Kao što je već ranije napomenuto, elektrokemijska metoda ciklizacije oksazolidina provedena na derivatima azitromicina, testirana je i na malim molekulama. U tu svrhu korišteni su efedrin-hidroklorid **12** i (1S,2R)-1-amino-2-indanol **15** iz kojih su najprije priređeni odgovarajući intermedijeri.

Reakcijom efedrin-hidroklorida **12** s benzil-izotiocijanatom uz trietilamin u acetonitrilu tijekom 1.5 h na 60 °C priređena je 3-benzil-1-[(1S,2R)-2-hidroksi-1-metil-2-fenil-etil]-1-metil-tiourea **13**. Željeni intermedijer dobiven je u iskorištenju od 73.75 %.



Shema 10. Sinteza 3-benzil-1-[(1S,2R)-2-hidroksi-1-metil-2-fenil-etil]-1-metil-tiouree **13**

Sukladno prethodnome spoju, 1-benzil-3-[(1S,2R)-2-hidroksiindan-1-il]tiourea **16**, priređena je reakcijom (1S,2R)-1-amino-2-indanola **15** s benzil-izotiocijanatom uz trietilamin u acetonitrilu tijekom 1.5 h. Budući da je ovdje riječ o primarnom aminu, reakcija je provedena pri nižoj temperaturi od 40 °C. Ostvareno iskorištenje iznosilo je 86.00 %.

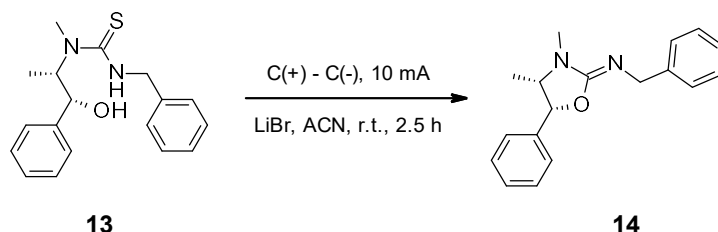


Shema 11. Sinteza 1-benzil-3-[(1S,2R)-2-hidroksiindan-1-il]tiouree **16**

3.3.2. Elektrokemijska sinteza cikliziranih derivata

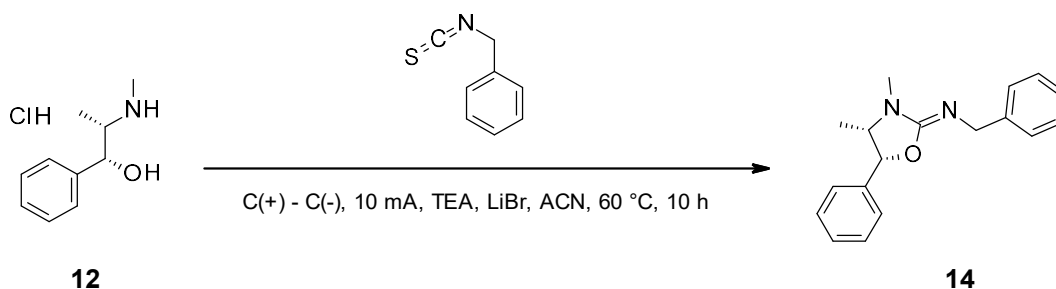
Za razliku od cikliziranih makrolidnih derivata, kod malih molekula postupak elektrokemijske ciklizacije do oksazolidina nije optimiziran. Odabrani su uvjeti elektrokemijske sinteze pri kojima je testirana priprava oba derivata **14** i **17**.

Intramolekularnom ciklizacijom 3-benzil-1-[(1S,2R)-2-hidroksi-1-metil-2-fenil-etil]-1-metil-tiouree **13** uz LiBr u acetonitrilu priređen je (4S,5R)-N-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imin **14**. Reakcijska smjesa elektrolizirana je u nepodijeljenoj ćeliji pri konstantnoj struji od 10 mA s promjenom polariteta svakih 15 min. Korištene su grafitne elektrode površine 1.28 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Reakcija je provedena 2.5 h na sobnoj temperaturi, a dobiveno iskorištenje iznosilo je 52.25 %.



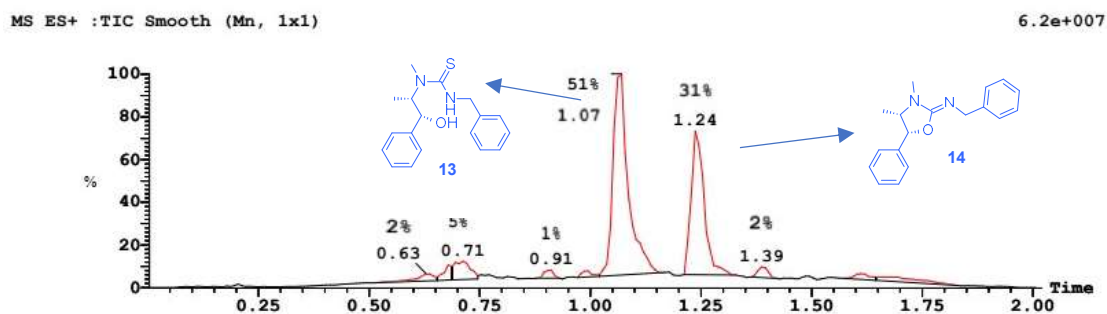
Shema 12. Elektrokemijska sinteza (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imina **14**

Za sintezu ovog produkta ispitana je i *one-pot* sinteza. Kao početni spoj uzet je efedrin-hidroklorid **12** koji pri konstantnoj struji od 10 mA, s promjenom polariteta svakih 15 min, uz benzil-izotiocijanat, trietilamin i LiBr u acetonitrilu ciklizira do (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imina **14**. Korištene su grafitne elektrode površine 1.28 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Reakcija je provođena 10 h na 60 °C. UPLC-UV/MS pokazao je masu željenog spoja, no produkt nije dalje pročišćavan.



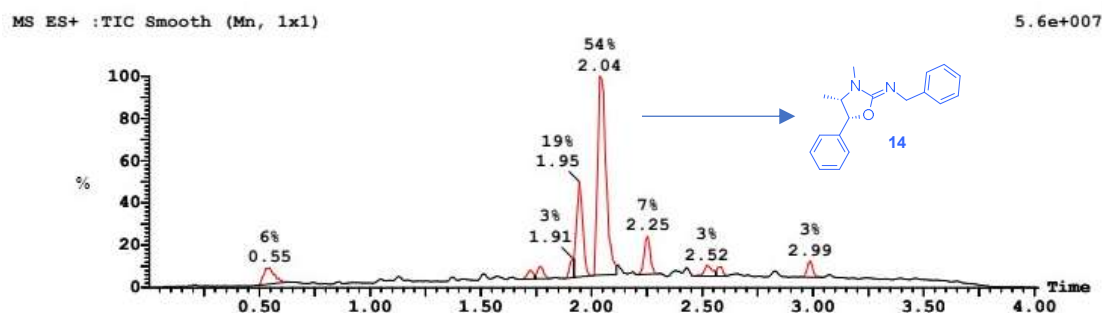
Shema 13. *One-pot* elektrokemijska sinteza (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imina **14**

Na Slici 7. prikazan je UPLC-MS kromatogram reakcijske smjese ove *one-pot* sinteze snimljen nakon 1 h elektrolize. Vidljivo je da je sav efedrin-hidroklorid **12** izreagirao do intermedijera **13** (1.07 min, $m/z = 315$ [M+H]⁺) te da je iz njega već nastala znatna količina cikliziranog produkta **14**, čije retencijsko vrijeme na ovoj dvominutnoj metodi iznosi 1.24 min, $m/z = 281$ [M+H]⁺.



Slika 7. UPLC-MS kromatogram reakcijske smjese *one-pot* sinteze spoja **14** snimljen nakon 1 h provođenja elektrolize

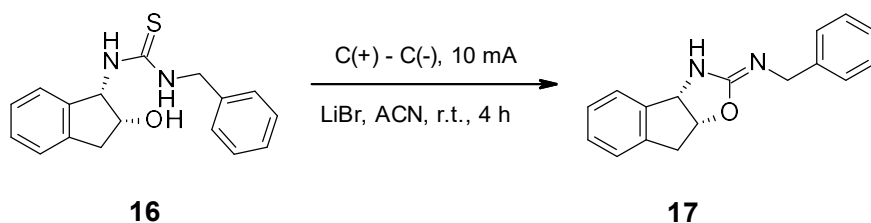
Zbog većeg broja nusprodukata i lošijeg razdvajanja na dvominutnoj metodi, UPLC-MS kromatogram završene *one-pot* reakcije, prikazan na Slici 8., snimljen je na četiri-minutnoj metodi. Vidljivo je da intermedijer **13** više nije prisutan u reakcijskoj smjesi, u potpunosti je izreagirao do spoja **14** ($R_t = 2.04$ min na četiri-minutnoj metodi). Drugi izraženiji pik retencije 1.95 min nusprodukt je mase $m/z = 296$ $[M+H]^+$.



Slika 8. UPLC-MS kromatogram reakcijske smjese *one-pot* sinteze spoja **14** snimljen nakon 10 h provođenja elektrolize

Jednako kao što je bio slučaj kod *one-pot* sinteze makrolida **6**, i u ovoj reakciji nastanak intermedijera **13** brzi je korak sinteze, stoga se produženo vrijeme reakcije pripisuje usporenoj kinetici elektrokemijske ciklizacije na povišenoj temperaturi. U ovom slučaju produljenje je manje od onog primijećenog kod *one-pot* sinteze makrolida **6**.

Reakcijom intramolekularne ciklizacije 1-benzil-3-[(1S,2R)-2-hidroksiindan-1-il]tiouree **16** uz LiBr u acetonitrilu priređen je *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imin **17**. Kao i kod prethodnog spoja, reakcijska smjesa elektrolizirana je u nepodijeljenoj ćeliji pri konstantnoj struji od 10 mA s promjenom polariteta svakih 15 min, a korištene su i jednake grafitne elektrode površine 1.28 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Reakcija je u ovom slučaju provedena 4 h na sobnoj temperaturi, a dobiveno iskorištenje iznosilo je 59.32 %.

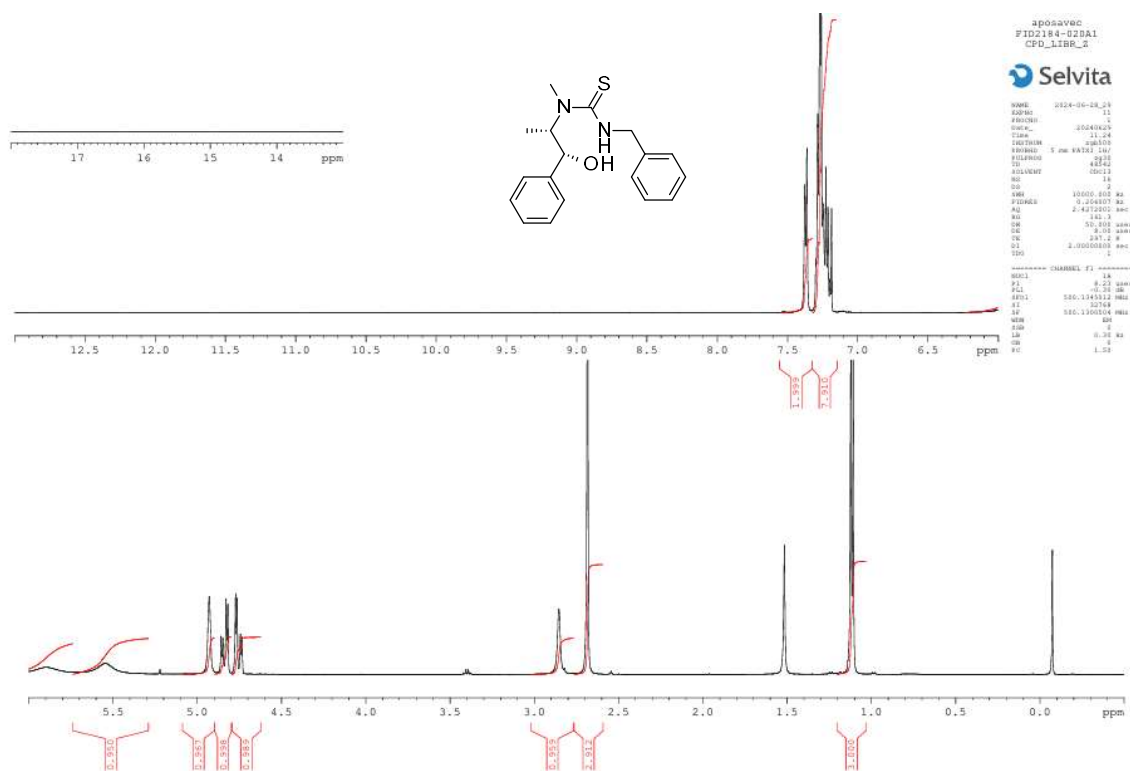


Shema 14. Elektrokemijska sinteza *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imina **17**

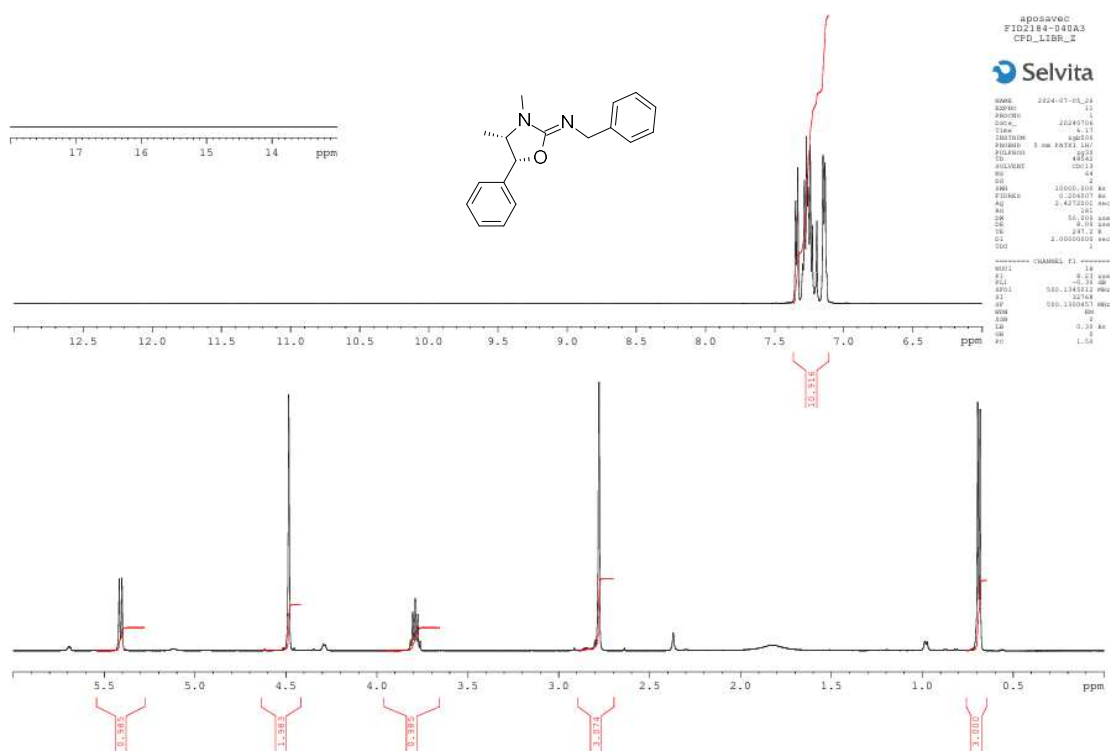
3.3.3. Strukturna karakterizacija

Strukture priređenih spojeva potvrđene su NMR spektroskopijom. U ¹H NMR spektru intermedijera **13**, prikazanom na Slici 9., prisutan je odgovarajući broj aromatskih protona u području od 7.40 ppm do 7.18 ppm. Dva dubleta-dubleta intenziteta 1H na 4.84 ppm i 4.75 ppm signali su metilenskih benzilnih protona, dok široki singleti na 5.89 ppm i 2.85 ppm pripadaju kiselim protonima. Signali dviju metilnih skupina smjestili su se na 2.68 ppm (*N*-CH₃) i 1.11 ppm (C-CH₃), a preostala dva signala odgovaraju protonima smještenim na ugljicima uz dušik (5.55 ppm) i kisik (4.93 ppm).

Na Slici 10. prikazan je ¹H NMR spektar spoja **14**. U aromatskom dijelu priloženog spektra vidljiv je odgovarajući broj signala aromatskih protona dvaju benzenskih prstena u području od 7.15 ppm do 7.35 ppm. Na 4.48 ppm vidljiv je singlet intenziteta 2H koji odgovara benzilnim protonima. Dva signala oksazolidinskog prstena nalaze se na 5.41 ppm (dublet) i 3.79 ppm (kvintet). Singlet intenziteta 3H na 2.78 ppm odgovara *N*-CH₃ protonima, dok se signal metilne skupine vezane za oksazolidinski prsten (dublet integrala 3H) nalazi na 0.69 ppm.

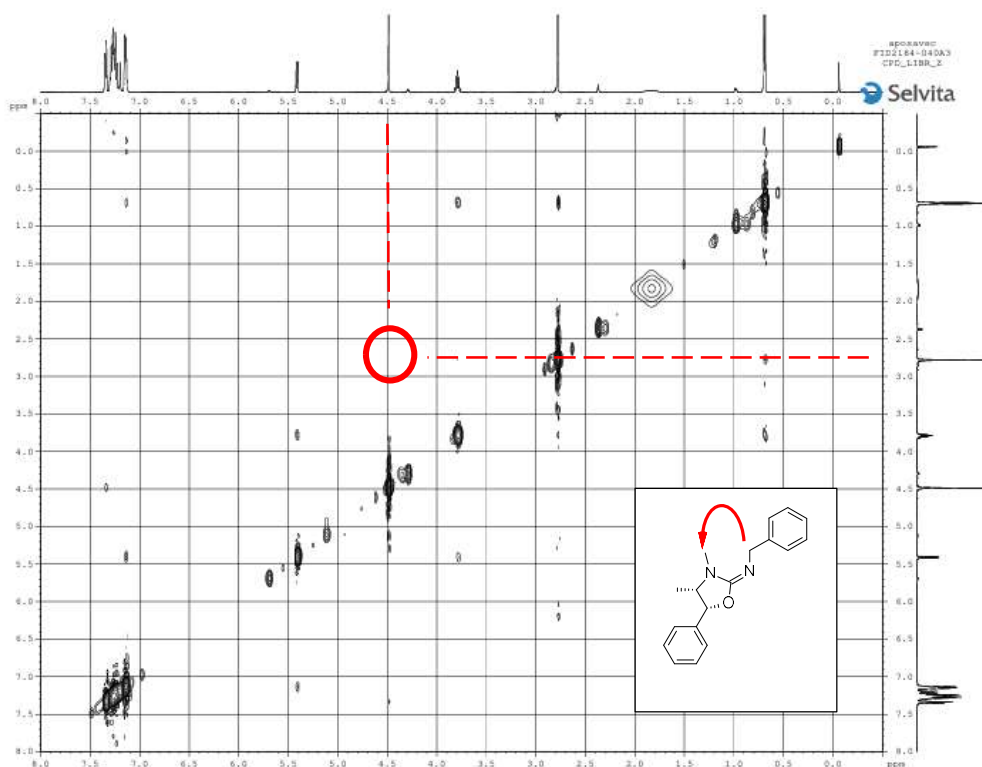


Slika 9. ¹H NMR spektar intermedijera 13



Slika 10. ¹H NMR spektar cikliziranog spoja 14

Za određivanje konfiguracije iminske dvostruke veze spoja **14**, snimljen je njegov NOESY spektar (Slika 11.). Budući da u spektru nije vidljiva interakcija metilenskih protona benzilne skupine (4.48 ppm) s *N*-CH₃ protonima (2.78 ppm), može se zaključiti kako iminska veza spoja **14** poprima *Z*-konfiguraciju, jednako kao što je poprimio makrolidni produkt **6**.

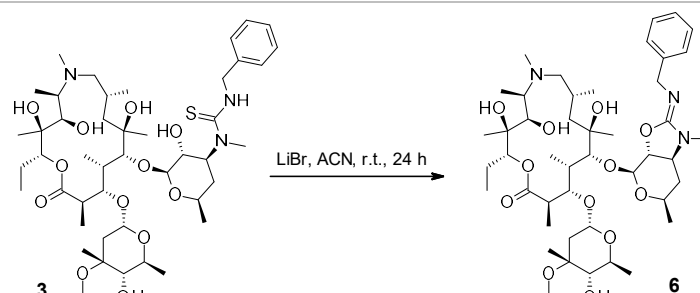
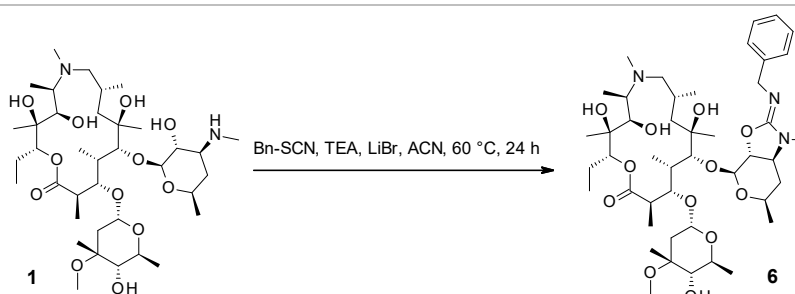
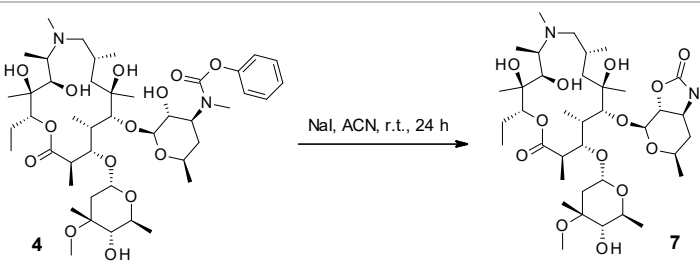
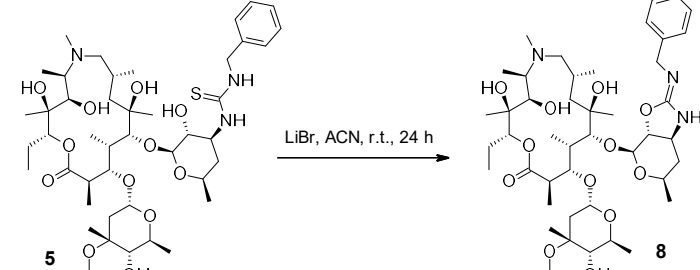
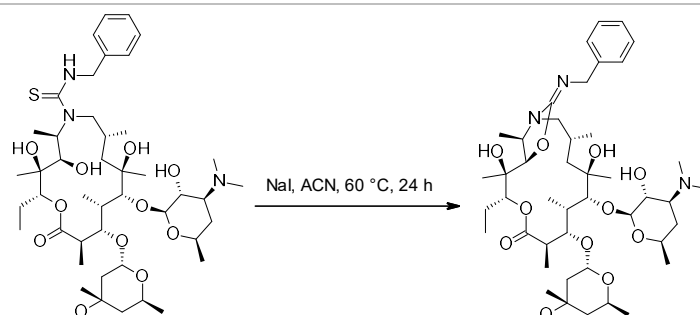


Slika 11. NOESY spektar cikliziranog spoja **14**

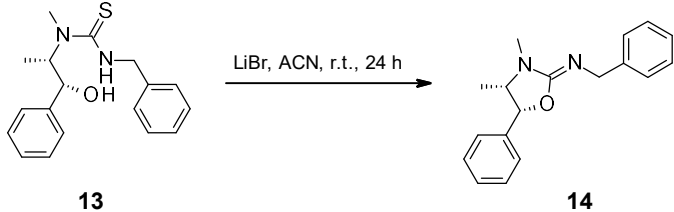
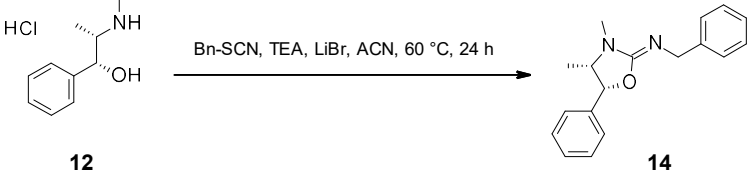
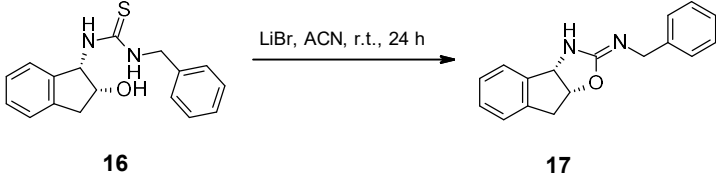
3.4. REAKCIJE BEZ STRUJE

Da je struja ključan faktor u ovim reakcijama ciklizacije, provjereno je provedbom reakcija pri istim uvjetima u kojima su izvedeni sa strujom, ali ovoga puta bez struje. U Tablici 4. prikazani su dobiveni rezultati. Vidljivo je da nakon 24 h miješanja, ni u jednoj reakciji nije došlo do stvaranja cikliziranog produkta. Reakcije su testirane na skali od 50 mg.

Tablica 4. Rezultati provedbe reakcija ciklizacije bez primjene struje

Reakcija	Rezultat
 3 $\xrightarrow{\text{LiBr, ACN, r.t., 24 h}}$ 6	nema reakcije
 1 $\xrightarrow{\text{Bn-SCN, TEA, LiBr, ACN, 60 }^{\circ}\text{C, 24 h}}$ 6	spoj 1 izreagirao u potpunosti do intermedijera 3, nije došlo do njegove ciklizacije, prisutno puno nečistoća
 4 $\xrightarrow{\text{NaI, ACN, r.t., 24 h}}$ 7	nema reakcije
 5 $\xrightarrow{\text{LiBr, ACN, r.t., 24 h}}$ 8	nema reakcije
 10 $\xrightarrow{\text{NaI, ACN, 60 }^{\circ}\text{C, 24 h}}$ 11	početni spoj 10 ($m/z = 884.41$ $[\text{M}+\text{H}]^+$) i produkt mase $m/z = 735.45$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ prisutni u omjeru 2:1, nema reakcije ciklizacije

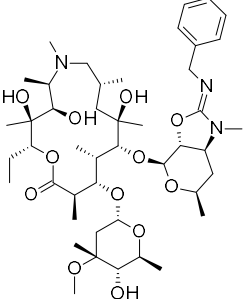
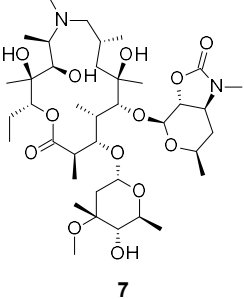
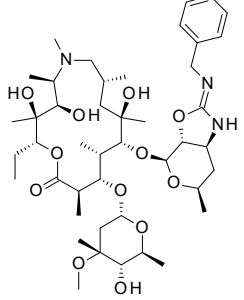
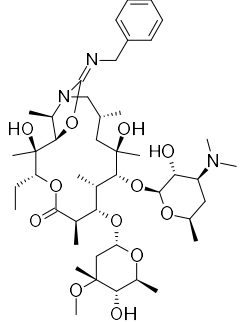
Tablica 4. – nastavak. Rezultati provedbe reakcija ciklizacije bez primjene struje

Reakcija	Rezultat
 13 $\xrightarrow{\text{LiBr, ACN, r.t., 24 h}}$ 14	nema reakcije
 12 $\xrightarrow{\text{Bn-SCN, TEA, LiBr, ACN, 60 °C, 24 h}}$ 14	spoj 12 izreagirao u potpunosti do intermedijera 13 , nije došlo do njegove ciklizacije
 16 $\xrightarrow{\text{LiBr, ACN, r.t., 24 h}}$ 17	nema reakcije

3.5. USPOREDBA S LITERATURNIM PODACIMA O KLASIČNOJ METODI PRIPRAVE

U teorijskom dijelu ovog rada (poglavlje 2. Opći dio) prikazane su prethodno opisane klasične metode sinteze većine makrolida koji su u ovom diplomskom radu priređeni elektrokemijskim putem. U Tablici 5. dan je pregled iskorištenja preuzetih iz spomenutih radova^{3, 4, 5} u usporedbi s iskorištenjima dobivenim u eksperimentalnom dijelu ovog rada. Prikazana su ukupna iskorištenja reakcija polazeći od demetiliranih derivata azitromicina **1**, **2** i **9** (u tablici označeno kao „ukupno“), ali i iskorištenja samog stupnja ciklizacije (u tablici označeno kao „ciklizacija“). Za sintezu spoja **6** prikazana su i iskorištenja *one-pot* metoda s polaskom od demetiliranog derivata **1**. Male molekule priređene u ovom radu novosintetizirani su spojevi te za njih nisu dostupna usporedna iskorištenja.

Tablica 5. Usporedba literaturnih i eksperimentalno dobivenih iskorištenja sinteze željenih cikliziranih makrolida

Spoj	Literaturno iskorištenje (klasična metoda)	Eksperimentalno iskorištenje (elektrokemija)
 6	56 % (ukupno) 66 % (ciklizacija) 46 % (<i>one-pot</i>)	52.17 % (ukupno) 71.49 % (ciklizacija) 40.28 % (<i>one-pot</i>)
 7	41 % (ukupno) /	58.20 % (ukupno) 76.73 % (ciklizacija)
 8	/ /	7.42 % (ukupno) 15.42 % (ciklizacija)
 11	34 % (ukupno) 37 % (ciklizacija)	28.67 % (ukupno) 49.58 % (ciklizacija)

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. OPĆE NAPOMENE

Tijek kemijskih reakcija i čistoća sintetiziranih spojeva praćeni su tekućinskom kromatografijom ultravisoke djelotvornosti spregnutom sa spektrometrom masa i UV detektorom (UPLC-MS/UV) na Waters Acquity instrumentu. Uzorci za UPLC-MS/UV priređeni su razrjeđivanjem alikvota reakcijske smjese ili otapanjem uzorka sintetiziranog spoja u sustavu otapala acetonitril / MilliQ voda u omjeru 1:1.

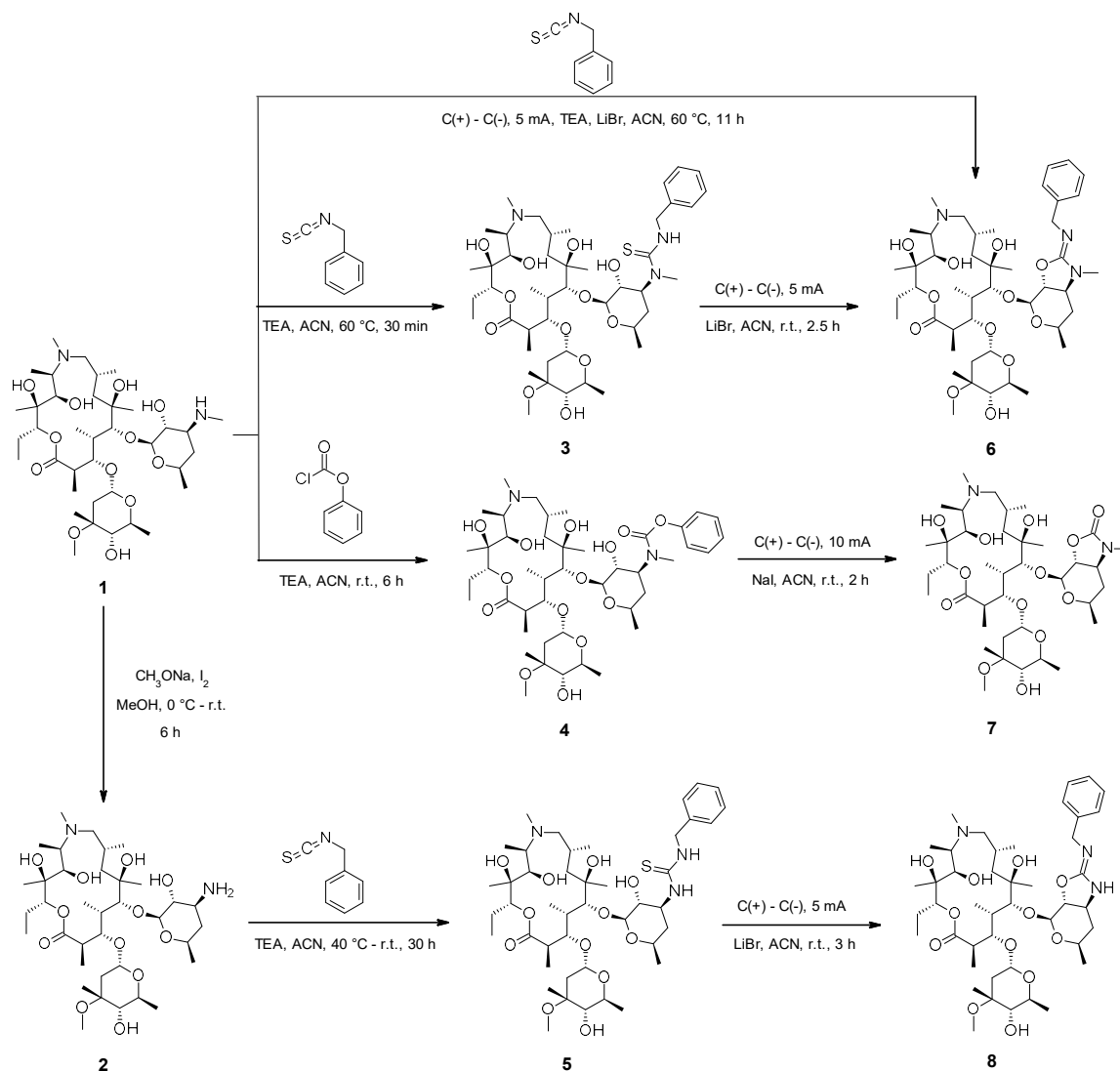
Elektrociklizacijske reakcije provedene su u nepodijeljenoj ćeliji IKA ElectraSyn 2.0 elektrokemijskog uređaja uz grafitni [C(+)-C(-)] sustav elektroda i acetonitril kao otapalo. Koncentracija elektrolita u acetonitrilu bila je 0.1 mM

Kromatografska odjeljivanja provedena su na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju ili Interchim PuriFlash 520+ purifikacijskom instrumentu primjenom Interchim puriFlash Si-HC kolona punjenih 15 µm silikagelom uz odgovarajuću smjesu eluensa.

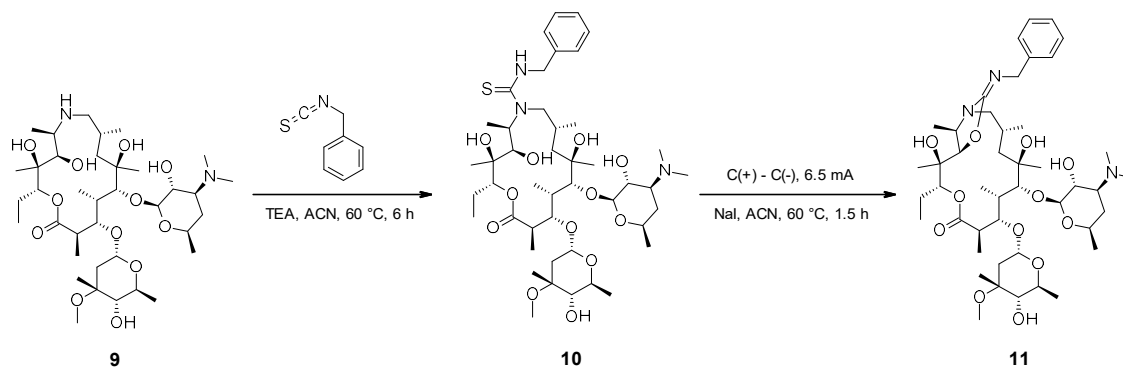
Za identifikaciju sintetiziranih spojeva korištena je spektroskopija nuklearne magnetske rezonance (NMR). ^1H i ^{13}C jednodimenzijски спектри те ^1H – ^1H (COSY, NOESY) i ^1H – ^{13}C (HSQC, HMBC) dvodimenzijски спектри snimljeni su na Bruker Avance III 400 MHz, Bruker Avance III 500 MHz ili Bruker Avance III 600 MHz spektrometru. Spektри su snimani pri sobnoj temperaturi (298 K) u deuteriranom kloroformu (CDCl_3) kao otapalu. Iznimka je intermedijer **4** koji je, zbog pojave signala rotamera, sniman u dimetilsulfoksidu (DMSO) na povišenoj temperaturi od 353 K. Kemijski pomaci u ppm (δ) izraženi su prema tetrametilsilanu (TMS) kao standardu. U prilogu rada (sedmo poglavlje) dani su ^1H NMR спектри sintetiziranih spojeva.

U ^1H i ^{13}C NMR спектрима неких макролида нису видљиви сви сигнали. Појединим протонима и угљјцима, чији сигнали изостaju у 1D спектрима, пронађене су интеракције у 2D спектрима те су из њих iščitani одговарајући помаци. За спектре у којима нити овим приступом нису пронађени сви сигнали, уз њихов је испис напоменуто како се не ради о комплетном спектру макролида.

4.2. MAKROLIDI



Shema 1. Shematski prikaz sintetskog puta priprave cikliziranih derivata azitromicina **6** – **8**



Shema 2. Shematski prikaz sinteze cikliziranog derivata azitromicina **11**

4.2.1. Sinteza 3'-*N,N*-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (2)

U ohlađenu otopinu (0 °C) 3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **1** (5.0 g, 6.803 mmol) u metanolu (350 mL), polako se nadodaju natrijev metoksid (20.0 g, 370.2 mmol) i jod (9.0 g, 35.46 mmol). Reakcijska smjesa miješa se 4.5 h na 0 °C, a zatim 1.5 h na sobnoj temperaturi. U smjesu se potom ulije 70 mL 7 N otopine amonijaka u metanolu i sve zajedno miješa 15 min na sobnoj temperaturi. Nakon toga, smjesi se pridoda otopina 14 g Na₂S₂O₃ u 280 mL vode. Smjesa se ekstrahira s 350 mL kloroforma. Organski sloj suši se nad natrijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni sirovi produkt (5.05 g) otopi se u 50 mL acetonitrila i ostavi u hladnjaku preko noći. Nastali talog se profiltrira. Dobiven je bijeli praškasti produkt (1.042 g, 21.25 %). ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ = 9.35 (1H, br s), 5.14 (1H, d, J = 4.6 Hz), 4.71 (1H, dd, J = 10.0 Hz, J = 2.5 Hz), 4.40 (1H, d, J = 7.7 Hz), 4.26 (1H, dd, J = 4.2 Hz, J = 1.8 Hz), 4.06 - 4.12 (1H, m), 3.67 (1H, s), 3.64 (1H, d, J = 7.0 Hz), 3.56 - 3.63 (1H, m), 3.34 (3H, s), 3.03 - 3.08 (2H, m), 2.73 - 2.81 (2H, m), 2.68 - 2.73 (1H, m), 2.57 (1H, br d, J = 10.3 Hz), 2.36 (1H, br d, J = 15.2 Hz), 2.34 (3H, s), 2.23 (1H, br s), 1.99 - 2.09 (3H, m), 1.89 - 1.95 (1H, m), 1.85 (1H, ddd, J = 13.0 Hz, J = 4.5 Hz, J = 1.7 Hz), 1.75 (1H, d, J = 14.7 Hz), 1.60 (1H, dd, J = 15.2 Hz, J = 4.9 Hz), 1.44 - 1.52 (1H, m), 1.34 (3H, d, J = 5.1 Hz), 1.33 (3H, s), 1.26 (3H, s), 1.23 - 1.28 (2H, m), 1.22 (3H, d, J = 6.2 Hz), 1.21 (3H, d, J = 8.1 Hz), 1.11 (3H, s), 1.12 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.00 (3H, d, J = 7.5 Hz), 0.93 (3H, d, J = 6.2 Hz), 0.90 (3H, t, J = 7.4 Hz), (nisu prisutni svi signali). ¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz) δ = 178.7, 102.3, 94.7, 83.9, 78.1, 77.9, 77.8, 77.5, 74.1, 73.6, 73.5, 72.9, 70.0, 68.5, 65.5, 62.5, 52.6, 49.4, 45.3, 42.3, 41.9, 41.2, 36.2, 34.6, 27.5, 26.7, 22.0, 21.6, 21.2, 21.0, 18.2, 16.2, 14.8, 11.2, 9.5, 7.3.

4.2.2. Opći postupak sinteze intermedijera

Otopina odgovarajućeg demetiliranog derivata azitromicina **1**, **2** ili **9** u acetonitrilu (25 - 80 mL) pomiješa se s 2 - 3 ekv. trietilamina i 1 - 2.2 ekv. reagensa (benzil-izotiocijanat ili fenil-kloroformat). Reakcijska smjesa miješa se 30 min - 30 h na sobnoj ili povišenoj temperaturi. Nakon završetka reakcije, smjesa se razrijedi s diklormetanom i ekstrahira s natrijevim hidrogenkarbonatom. Organski sloj suši se nad natrijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju s Interchim puriFlash Si-HC koloni s 15 μ m

silika gelom uz gradijent otapala A→B 0→50 % B pri čemu je A = DCM, B = DCM:MeOH:NH₄OH=90:5:0.5 ili 50 %-tni DCM:MeOH:NH₄OH=90:9:1.5 u DCM-u.

Sinteza 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (3)

Spoj **3** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom 3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **A 1** (2.0 g, 2.721 mmol) s 1.5 ekv. benzil-izotiocijanata (609 mg, 4.082 mmol) uz 2 ekv. trietilamina (551 mg, 5.442 mmol) u 50 mL acetonitrila. Reakcija je provedena 30 min na 60 °C. Za pročišćavanje je korištena 40 g kolona i sustav otapala DCM - DCM:MeOH:NH₄OH=90:5:0.5 s protokom od 25 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (1.750 g, 72.97 %). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ = 9.11 (1H, br s), 7.24 - 7.34 (5H, m), 5.97 (1H, br s), 5.43 (1H, br s), 5.09 (1H, d, *J* = 4.5 Hz), 4.84 (2H, d, *J* = 4.9 Hz), 4.73 (1H, br s), 4.67 (1H, dd, *J* = 9.8 Hz, *J* = 2.3 Hz), 4.54 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 4.21 (1H, dd, *J* = 4.6 Hz, *J* = 1.9 Hz), 4.04 (1H, dq, *J* = 9.2 Hz, *J* = 6.2 Hz), 3.65 - 3.71 (1H, m), 3.65 (1H, s), 3.64 (1H, d, *J* = 6.8 Hz), 3.37 - 3.42 (1H, m), 3.33 (3H, br s), 3.03 (1H, d, *J* = 9.8 Hz), 3.00 (3H, s), 2.89 (1H, br s), 2.64 - 2.76 (3H, m), 2.52 (1H, d, *J* = 9.8 Hz), 2.33 (1H, d, *J* = 15.2 Hz), 2.30 (3H, s), 2.22 (1H, d, *J* = 10.0 Hz), 1.93 - 2.08 (3H, m), 1.78 - 1.93 (2H, m), 1.69 (1H, d, *J* = 14.5 Hz), 1.56 (1H, dd, *J* = 15.2 Hz, *J* = 4.9 Hz), 1.37 - 1.51 (2H, m), 1.30 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.29 (3H, s), 1.25 (1H, dd, *J* = 14.5 Hz, *J* = 8.1 Hz), 1.22 (3H, s), 1.21 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), 1.17 (3H, d, *J* = 7.5 Hz), 1.07 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 1.06 (3H, s), 0.97 (3H, d, *J* = 7.6 Hz), 0.89 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.87 (3H, t, *J* = 7.3 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ = 184.62, 178.94, 138.24, 129.05 (2C), 128.25 (2C), 127.95, 103.23, 95.02, 84.43, 78.31, 78.12, 77.74, 74.52, 74.14, 73.77, 73.23, 73.10, 70.34, 68.38, 66.01, 62.73, 60.75, 50.66, 49.80, 45.45, 42.57, 42.08, 36.72, 36.63, 35.04, 31.80, 27.69, 27.01, 22.25, 21.95, 21.51, 21.29, 18.50, 16.45, 15.06, 11.53, 9.83, 7.74.

Sinteza 3'-N-(feniloksikarbonil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (4)

Spoj **4** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom 3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **A 1** (2.0 g, 2.721 mmol) s 2.2 ekv. fenil-kloroformata (937 mg, 5.987 mmol) uz 3 ekv. trietilamina (826 mg, 8.164 mmol) u 50 mL acetonitrila. Reakcija

je provedena 6 h na sobnoj temperaturi. Za pročišćavanje je korištena 40 g kolona i sustav otapala DCM - DCM:MeOH:NH₄OH=90:5:0.5 s protokom od 25 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (1.765 g, 75.85 %). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, 353K) δ = 7.35 (2H, t, J = 7.9 Hz), 7.17 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.09 (2H, br d, J = 7.9 Hz), 4.86 (1H, d, J = 4.8 Hz), 4.78 (1H, dd, J = 9.4 Hz, J = 3.2 Hz), 4.51 (1H, br d, J = 6.5 Hz), 4.18 (1H, br d, J = 2.1 Hz), 4.08 - 4.15 (1H, m), 4.07 (1H, s), 4.05 (1H, d, J = 7.6 Hz), 3.81 (1H, br d, J = 7.2 Hz), 3.81 (1H, m), 3.59 (1H, d, J = 6.7 Hz), 3.50 (1H, d, J = 7.3 Hz), 3.27 - 3.34 (1H, m), 3.23 (3H, s), 2.93 (1H, t, J = 8.6 Hz), 2.66 - 2.75 (2H, m), 2.37 (1H, dd, J = 12.2 Hz, J = 2.3 Hz), 2.28 (1H, d, J = 15.5 Hz), 2.23 (3H, s), 2.13 (1H, t, J = 11.6 Hz), 1.88 - 2.01 (2H, m), 1.74 - 1.86 (1H, m), 1.46 - 1.61 (3H, m), 1.38 - 1.45 (1H, m), 1.30 - 1.37 (1H, m), 1.22 (3H, s), 1.18 (3H, d, J = 6.2 Hz), 1.09 - 1.15 (9H, m), 1.04 (3H, s), 1.00 (3H, d, J = 7.5 Hz), 0.97 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.88 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.83 (3H, t, J = 7.5 Hz), (nisu prisutni svi signali). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 101 MHz, 353K) δ = 176.51, 151.0, 128.58 (2C), 124.29, 121.14 (2C), 101.86, 94.32, 82.82, 77.3, 77.20, 76.30, 74.78, 73.52, 72.48, 72.42, 69.64, 68.30, 66.37, 64.53, 61.02, 57.43, 48.10, 44.26, 41.67, 41.03, 35.43, 34.5, 26.89, 25.87, 21.18, 20.78, 20.45, 19.67, 17.52, 17.42, 14.18, 10.00, 9.13, 6.27, (nisu prisutni svi signali).

Sinteza 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N,N-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (5)

Spoj **5** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom 3'-N,N-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **2** (550 mg, 0.7629 mmol) s 1 ekv. benzil-izotiocijanata (114 mg, 0.7629 mmol) uz 2 ekv. trietilamina (154 mg, 1.526 mmol) u 25 mL acetonitrila. Reakcija je provedena 13 h na 40 °C i 17 h na sobnoj temperaturi. Za pročišćavanje je korištena 25 g kolona i sustav otapala DCM – 50 %-tni DCM:MeOH:NH₄OH=90:5:0.5 u DCM-u s protokom od 20 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (320 mg, 48.12 %). ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ = 8.91 (1H, br s), 7.52 (1H, br s), 7.32 - 7.36 (4H, m), 7.29 - 7.31 (1H, m), 5.96 (1H, br s), 5.05 (1H, br d, J = 4.2 Hz), 4.76 (2H, br s), 4.71 (1H, dd, J = 10.2 Hz, J = 1.7 Hz), 4.46 (1H, d, J = 7.5 Hz), 4.44 (1H, br s), 4.22 (1H, dd, J = 5.0 Hz, J = 1.0 Hz), 3.99 - 4.05 (1H, m), 3.67 (1H, br d, J = 4.4 Hz), 3.64 (1H, d, J = 6.4 Hz), 3.58 - 3.63 (1H, m), 3.27 (1H, br t, J = 8.5 Hz), 3.19 (3H, br s), 3.04 (1H, t, J = 9.7 Hz), 3.01 (1H, br s), 2.85 (1H, s), 2.74 - 2.79 (1H, m), 2.68 - 2.74 (1H, m), 2.56 (1H, br d, J = 10.6 Hz), 2.34 (3H, s), 2.29 (1H, br d, J = 15.2 Hz), 2.15 (1H, br d, J = 9.5 Hz), 1.98 - 2.09 (4H, m), 1.91 (1H, dqd, J = 14.4 Hz,

$J = 7.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz), 1.69 (1H, br d, $J = 14.3$ Hz), 1.58 (1H, dd, $J = 15.6$ Hz, $J = 10.3$ Hz), 1.44 - 1.54 (1H, m), 1.32 - 1.36 (1H, m), 1.31 (3H, d, $J = 6.1$ Hz), 1.31 (3H, s), 1.24 - 1.28 (1H, m), 1.24 (3H, d, $J = 6.1$ Hz), 1.23 (3H, s), 1.21 (3H, d, $J = 7.5$ Hz), 1.12 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.09 (3H, s), 0.95 (3H, br d, $J = 7.5$ Hz), 0.93 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 0.90 (3H, m), (nije vidljiv signal jednog kiselog protona). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 151 MHz) $\delta = 178.57$, 136.57, 128.85 (2C), 127.69 (3C), 102.38, 95.21, 85.08, 78.64, 77.93, 77.78, 76.68, 74.42, 74.32, 73.58, 73.25, 70.21, 68.19, 66.08, 62.50, 55.65, 49.44, 49.41, 45.31, 42.55, 41.40, 39.00, 36.63, 34.93, 27.48, 26.89, 22.12, 21.73, 21.33, 20.98, 18.36, 16.35, 15.26, 11.39, 9.94, 7.73, (nije vidljiv C=S signal).

Sinteza 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicina A (10)

Spoj **10** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom 9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicina A **9** (5.0 g, 6.803 mmol) s 1.5 ekv. benzil-izotiocijanata (1.52 g, 10.21 mmol) uz 2 ekv. trietilamina (1.38 g, 13.61 mmol) u 80 mL acetonitrila. Reakcija je provedena 6 h na 60 °C. Za pročišćavanje je korištena 220 g kolona i sustav otapala DCM - 50 %-tni DCM:MeOH:NH₄OH=90:5:0.5 u DCM-u s protokom od 90 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (3.478 g, 57.82 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) $\delta = 7.40$ (2H, br d, $J = 7.0$ Hz), 7.34 (2H, br t, $J = 7.3$ Hz), 7.26 - 7.31 (1H, m), 4.88 (1H, br d, $J = 4.3$ Hz), 4.83-4.89 (1H, m), 4.70 - 4.79 (2H, m), 4.40 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 4.03 - 4.14 (2H, m), 3.84 (1H, d, $J = 5.0$ Hz), 3.47 - 3.54 (2H, m), 3.31 (3H, s), 3.28 (1H, br dd, $J = 9.9$ Hz, $J = 7.5$ Hz), 3.03 (1H, br t, $J = 9.9$ Hz), 2.80 - 2.88 (1H, m), 2.46 - 2.53 (1H, m), 2.35 (1H, br d, $J = 15.3$ Hz), 2.29 (3H, s), 1.83 - 1.95 (2H, m), 1.68 (1H, br d, $J = 12.5$ Hz), 1.57 (1H, br dd, $J = 15.3$ Hz, $J = 4.9$ Hz), 1.50 (1H, br d, $J = 14.6$ Hz), 1.39 (3H, br s), 1.31 (9H, br d, $J = 6.1$ Hz), 1.25 (1H, m) 1.24 (3H, s), 1.23 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.21 (3H, br d, $J = 6.1$ Hz), 1.10 (3H, br d, $J = 7.6$ Hz), 0.96 (3H, br d, $J = 6.4$ Hz), 0.90 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), (nisu prisutni svi signali). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) $\delta = 177.94$, 137.99, 128.62 (2C), 128.47 (2C), 127.47, 104.2, 96.5, 85.82, 79.70, 77.83, 77.7, 75.9, 73.77, 72.58, 70.96, 68.98, 65.71, 65.06, 50.7, 49.41, 45.7, 40.64, 40.40, 34.89, 29.33, 27.8, 21.86, 21.46, 21.30, 21.13, 18.34, 15.80, 13.21, 11.34, 9.69, (nisu prisutni svi signali).

4.2.3. Opći postupak sinteze cikliziranih produkata

Otopini odgovarajućeg intermedijera (**3**, **4**, **5** ili **10**) u acetonitrilu (7.5 mL) pridoda se anorganska sol (LiBr ili NaI) tako da njezina koncentracija u acetonitrilu bude 0.1 mM. Reakcijska smjesa elektrolizira se u nepodijeljenoj ćeliji uređaja IKA ElectraSyn 2.0. pri konstantnoj struji s promjenom polariteta svakih 15 min. Kao katoda i anoda koriste se grafitne elektrode površine 1.68 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Reakcija se provodi 1.5 – 3 h na sobnoj temperaturi ili na 60 °C uz brzinu miješanja od 800 okretaja u minuti. Nakon završetka reakcije, smjesa se razrijedi s etil-acetatom i ekstrahira s natrijevim hidrogenkarbonatom. Organski sloj suši se nad natrijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju s Interchim puriFlash Si-HC koloni s 15 µm silika gelom uz gradijent otapala A→B 0→100 % B pri čemu je A = DCM, B = DCM:MeOH:NH₄OH=90:4.5:0.25 ili 50 %-tni DCM:MeOH:NH₄OH=90:9:1.5 u DCM-u.

Sinteza 2'-O,3'-N-(benzilkarbonimidoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (**6**)

Metoda A: Spoj **6** priređen je prema navedenom općem postupku intramolekularnom ciklizacijom 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **3** (125 mg, 0.1415 mmol) uz LiBr (65.2 mg, 0.7507 mmol). Reakcijska smjesa elektrolizirana je 2.5 h na sobnoj temperaturi pri konstantnoj struji od 5 mA. Postupak je proveden dva puta, a dobivene dvije reakcijske smjese spojene su prije ekstrakcije. Za pročišćavanje je korištena 12 g kolona i sustav otapala DCM - DCM:MeOH:NH₄OH=90:4.5:0.25 s protokom od 15 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (172 mg, 71.49 %).

Metoda B: Otopini 3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **1** (125 mg, 0.1701 mmol) u acetonitrilu (7.5 mL) pridoda se 2 ekv. trietilamina (34.4 mg, 0.3402 mmol), 1.5 ekv. benzil-izotiocijanata (38.1 mg, 0.2551 mmol) i LiBr (65.2 mg, 0.7514 mmol, 0.1 mM). Reakcijska smjesa elektrolizira se u nepodijeljenoj ćeliji 11 h na 60 °C pri konstantnoj struji od 5 mA s promjenom polariteta svakih 15 min (brzina miješanja: 800 okretaja u minuti). Kao katoda i anoda koriste se grafitne elektrode površine 1.68 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Nakon završetka reakcije, smjesa se razrijedi s etil-acetatom i ekstrahira s natrijevim hidrogenkarbonatom. Organski sloj suši se nad natrijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim

upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju s Interchim puriFlash Si-HC koloni s 15 μ m silika gelom (12 g) uz gradijent otapala A $\rightarrow$ B 0 $\rightarrow$ 100 % B pri čemu je A = DCM, B = DCM:MeOH:NH₄OH=90:4.5:0.25. Korišten je protok od 15 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (58 mg, 40.28 %). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 9.14 (1H, br s), 7.33 (2H, d, J = 6.7 Hz), 7.26 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.18 (1H, t, J = 7.3 Hz), 5.11 (1H, d, J = 4.6 Hz), 4.89 (1H, d, J = 7.9 Hz), 4.78 (1H, br s), 4.69 (1H, dd, J = 9.9 Hz, J = 2.0 Hz), 4.47 (1H, d, J = 14.3 Hz), 4.45 (1H, d, J = 14.3 Hz), 4.20 (1H, br d, J = 3.4 Hz), 4.01 - 4.07 (1H, m), 3.64 - 3.72 (2H, m), 3.62 (1H, d, J = 7.3 Hz), 3.56 - 3.62 (1H, dd, J = 7.5 Hz, J = 11.5 Hz), 3.20 (3H, s), 3.06 (1H, br t, J = 9.3 Hz), 2.93 (1H, s), 2.86 - 2.69 (3H, m), 2.75 (3H, s), 2.55 (1H, br d, J = 10.4 Hz), 2.37 (1H, d, J = 15.1 Hz), 2.34 (3H, s), 2.09 (1H, br d, J = 11.9 Hz), 1.96 - 2.06 (4H, m), 1.91 (1H, m), 1.73 (1H, d, J = 14.6 Hz), 1.60 (1H, dd, J = 15.1 Hz, J = 5.0 Hz), 1.40 - 1.53 (2H, m), 1.33 (3H, s), 1.31 (3H, d, J = 6.4 Hz), 1.30 (3H, d, J = 6.1 Hz), 1.26 - 1.29 (1H, m), 1.25 (3H, s), 1.20 (3H, d, J = 7.3 Hz), 1.10 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.09 (3H, s), 0.93 - 0.96 (6H, m), 0.90 (3H, t, J = 7.5 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ = 179.03, 156.85, 142.37, 128.24 (2C), 127.69 (2C), 126.27, 100.15, 95.33, 84.91, 80.45, 78.88, 78.23, 77.80, 74.41, 74.27, 73.57, 73.32, 70.38, 70.33, 65.97, 63.21, 62.63, 50.35, 49.65, 45.37, 42.21, 41.56, 36.69, 36.55, 34.98, 32.36, 27.56, 26.99, 22.18, 21.82, 21.39, 21.05, 18.28, 16.39, 15.23, 11.44, 8.84, 7.53.

Sinteza 2'-O,3'-N-karbonil-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (7)

Spoj **7** priređen je prema navedenom općem postupku intramolekularnom ciklizacijom 3'-N-(feniloksikarbonil)-3'-N-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina **A 4** (125 mg, 0.1462 mmol) uz NaI (112 mg, 0.7514 mmol). Reakcijska smjesa elektrolizirana je 2 h na sobnoj temperaturi pri konstantnoj struji od 10 mA. Postupak je proveden dva puta, a dobivene dvije reakcijske smjese spojene su prije ekstrakcije. Za pročišćavanje je korištena 12 g kolona i sustav otapala DCM - DCM:MeOH:NH₄OH=90:4.5:0.25 s protokom od 25 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (171 mg, 76.73 %). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 9.37 (1H, br s), 5.13 (1H, br d, J = 4.6 Hz), 4.92 (1H, m), 4.92 (1H, br d, J = 7.6 Hz), 4.69 (1H, br d, J = 8.2 Hz), 4.18 - 4.21 (1H, m), 4.02 - 4.08 (1H, m), 3.61 - 3.75 (4H, m), 3.31 (3H, s), 3.18 (1H, td, J = 11.5 Hz, J = 3.5 Hz), 3.07 (1H, br t, J = 8.7 Hz), 2.98 (1H, br s), 2.81 (3H, s), 2.67 - 2.80 (2H, m), 2.55 (1H, br d, J = 11.3 Hz), 2.37 (1H, br d, J = 15.3 Hz),

2.33 (3H, s), 2.11 (1H, br d, $J = 9.8$ Hz), 2.06 (1H, br d, $J = 11.6$ Hz), 1.87 - 2.02 (4H, m), 1.69 (1H, d, $J = 14.6$ Hz), 1.60 (1H, br dd, $J = 15.3$ Hz, $J = 5.2$ Hz), 1.43 - 1.53 (2H, m), 1.29 - 1.34 (9H, m), 1.26 (3H, s), 1.21 - 1.24 (1H, m), 1.19 (3H, br d, $J = 7.3$ Hz), 1.10 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 1.09 (3H, s), 0.96 (3H, br d, $J = 7.3$ Hz), 0.92 (3H, br d, $J = 6.7$ Hz), 0.89 (3H, t, $J = 7.3$ Hz). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) $\delta = 179.1, 160.1, 99.4, 95.2, 84.4, 80.0, 78.7, 78.2, 77.8, 74.4, 74.0, 73.6, 73.4, 70.3, 70.2, 65.9, 62.7, 61.6, 49.9, 45.4, 42.1, 41.7, 36.5, 36.5, 34.9, 30.2, 27.6, 26.9, 22.2, 21.8, 21.4, 21.1, 18.3, 16.4, 15.1, 11.4, 8.8, 7.5$.

Sinteza 2'-O,3'-N-(benzilkarbonimidoil)-3'-N,N-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A (8)

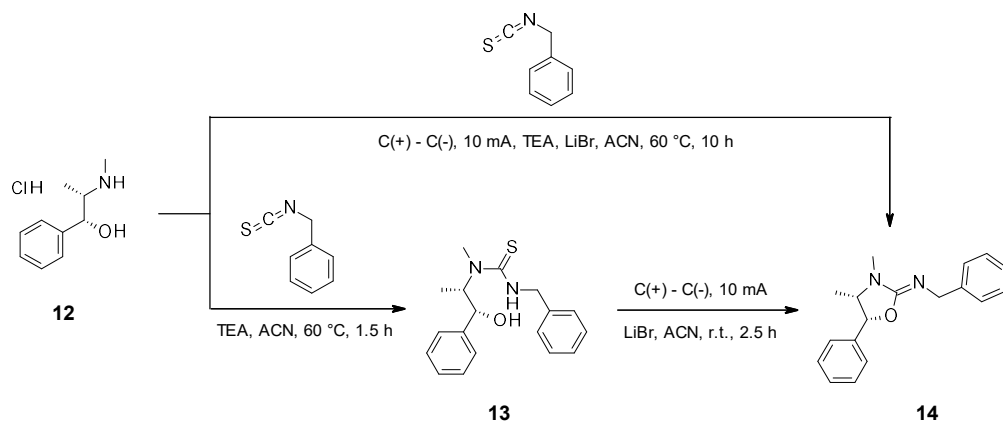
Spoj **8** priređen je prema navedenom općem postupku intramolekularnom ciklizacijom 3'-N-(benziltiokarbamoil)-3'-N,N-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **5** (125 mg, 0.1437 mmol) uz LiBr (65.2 mg, 0.7507 mmol). Reakcijska smjesa elektrolizirana je 3 h na sobnoj temperaturi pri konstantnoj struji od 5 mA. Za pročišćavanje je korištena 25 g kolona i sustav otapala DCM - 50 %-tni DCM:MeOH:NH₄OH=90:9:1.5 u DCM-u s protokom od 25 mL/min. Željeni spoj nije izoliran u zadovoljavajućoj čistoći. Najčišće frakcije spojene su i uparene do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni ostatak pročišćen je kolonskom kromatografijom na reverznoj fazi na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju na Xbridge prep C18 5 μm OBD 19x100 mm koloni uz gradijent otapala A→B 3→100 % B pri čemu je A = 10 mM NH₄COOH u vodi podešen na pH ~ 9 pomoću aq. NH₃, B = acetonitril. Acetonitril je uparen pod sniženim tlakom, a preostala otopina liofilizirana je preko noći. Dobiven je bijeli praškasti produkt (18.5 mg, 15.42 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) $\delta = 9.32$ (1H, br s), 7.29 - 7.30 (5H, m), 5.15 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), 4.98 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 4.71 (1H, dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 2.5$ Hz), 4.46 (1H, d, $J = 15.1$ Hz), 4.45 (1H, d, $J = 14.6$ Hz), 4.25 (1H, dd, $J = 4.6$ Hz, $J = 1.8$ Hz), 4.10 (1H, dq, $J = 9.4$ Hz, $J = 6.2$ Hz), 3.66 - 3.71 (2H, m), 3.66 (1H, d, $J = 7.3$ Hz), 3.57 - 3.61 (1H, m), 3.49 (1H, td, $J = 12.2$ Hz, $J = 3.6$ Hz), 3.31 (3H, s), 3.07 (1H, d, $J = 6.4$ Hz), 3.01 (1H, br s), 2.75 - 2.81 (1H, m), 2.71 (1H, td, $J = 7.3$ Hz, $J = 6.1$ Hz), 2.56 (1H, br d, $J = 9.9$ Hz), 2.38 (1H, d, $J = 15.0$ Hz), 2.34 (3H, s), 2.15 - 2.20 (1H, m), 2.01 - 2.10 (2H, m), 1.88 - 2.01 (2H, m), 1.74 (1H, d, $J = 14.5$ Hz), 1.62 (1H, dd, $J = 15.2$ Hz, $J = 5.0$ Hz), 1.45 - 1.55 (2H, m), 1.35 (3H, s), 1.34 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.30 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.27 (3H, s), 1.27 (1H, m), 1.22 (3H, d, $J = 7.5$ Hz), 1.11 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.10 (3H, s), 0.96 (3H, d, $J = 7.5$ Hz), 0.94 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.91 (3H, t, $J = 7.4$ Hz), (nisu prisutni signali tri kisela protona). ^{13}C

NMR (CDCl₃, 151 MHz) δ = 178.6, 167.87, 137.7, 128.62 (2C), 127.55 (3C), 100.37, 95.46, 85.51, 84.34, 78.33, 77.99, 77.51, 74.15, 73.82, 73.36, 72.90, 70.93, 70.07, 65.74, 62.42, 49.44, 47.08, 45.22, 42.01, 41.52, 38.96, 36.24, 34.73, 27.38, 26.72, 21.95, 21.58, 21.19, 20.79, 18.03, 16.18, 14.87, 11.20, 8.72, 7.25, (nedostaje signal 3' ugljika).

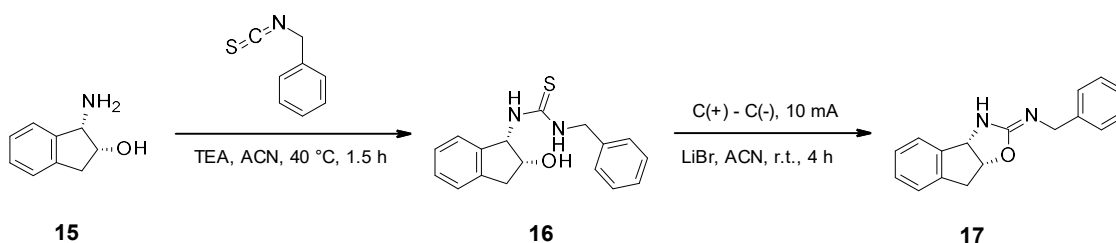
Sinteza 9a,11-*O*-(*N*-benzilkarbonimidoil)-9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicina A (11)

Spoj **11** priređen je prema navedenom općem postupku intramolekularnom ciklizacijom 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicina A **10** (125 mg, 0.1414 mmol) uz NaI (112 mg, 0.7514 mmol). Reakcijska smjesa elektrolizirana je 1.5 h na 60 °C pri konstantnoj struji od 6.5 mA. Postupak je proveden dva puta, a dobivene dvije reakcijske smjese spojene su prije ekstrakcije. Za pročišćavanje je korištena 25 g kolona i sustav otapala DCM - 50 %-tni DCM:MeOH:NH₄OH=90:9:1.5 u DCM-u s protokom od 25 mL/min. Dobiven je bijeli praškasti produkt (119 mg, 49.58 %). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.36 (2H, br d, *J* = 7.3 Hz), 7.27 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.15 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 5.02 - 5.06 (1H, dd, *J* = 10.5 Hz, *J* = 1.5 Hz), 4.91 (1H, br d, *J* = 4.6 Hz), 4.45 (2H, s), 4.39 (1H, d, *J* = 7.0 Hz), 4.11 - 4.16 (2H, m), 3.99 - 4.06 (1H, m), 3.60 (1H, d, *J* = 7.0 Hz), 3.43 - 3.51 (3H, m), 3.33 (1H, br s), 3.28 (3H, s), 3.20 (1H, dd, *J* = 10.1 Hz, *J* = 7.3 Hz), 3.01 (1H, br t, *J* = 9.5 Hz), 2.85 - 2.92 (1H, m), 2.28 - 2.44 (4H, m), 2.26 (6H, s), 2.00 (1H, m), 1.81 - 1.90 (1H, m), 1.61 - 1.65 (1H, m), 1.58 (1H, br dd, *J* = 15.0 Hz, *J* = 4.9 Hz), 1.42 - 1.53 (2H, m), 1.34 (1H, m), 1.33 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 1.25 - 1.30 (10H, m), 1.23 (3H, d, *J* = 6.1 Hz), 1.19 (3H, d, *J* = 6.1 Hz), 1.16 (3H, s), 1.09 (3H, d, *J* = 7.3 Hz), 0.97 (3H, br d, *J* = 6.4 Hz), 0.91 (3H, t, *J* = 7.5 Hz), (nisu prisutni svi signali). ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ = 174.4, 152.2, 142.8, 128.1 (2C), 127.8 (2C), 126.0, 103.2, 96.7, 84.0, 80.6, 79.3, 78.0, 76.1, 75.4, 72.8, 72.0, 71.1, 68.8, 65.7, 65.5, 58.7, 50.4, 50.3, 49.4, 44.9, 40.4, 39.2, 37.0, 35.3, 28.8, 27.0, 24.5, 21.5, 21.5, 21.4, 21.1, 20.6, 18.7, 16.8, 15.2, 14.0, 10.6, 9.4.

4.3. MALE MOLEKULE



Shema 3. Shematski prikaz sinteze oksazolidinskog derivata **14**



Shema 4. Shematski prikaz sinteze oksazolidinskog derivata **17**

4.3.1. Opći postupak sinteze intermedijera

Otopina efedrin-hidroklorida **12** ili (1S,2R)-1-amino-2-indanola **15** u acetonitrilu (50 mL) pomiješa se s 3.5 ili 2 ekv. trietilamina i 1.5 ili 1 ekv. benzil-izotiocijanata. Reakcijska smjesa miješa se 1.5 h na 60 ili 40 °C. Nakon završetka reakcije, smjesa se razrijedi s diklormetanom i ekstrahira s natrijevim hidrogenkarbonatom. Organski sloj suši se nad natrijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na Interchim puriFlash uređaju s Interchim puriFlash Si-HC koloni s 15 µm silika gelom uz gradijent otapala A→B 0→100 % B pri čemu je A = Cyhex, B = Cyhex:EtOAc=5:1 ili Cyhex:EtOAc=3:1. Primjenjuje se protok od 20 mL/min.

Sinteza 3-benzil-1-[(1S,2R)-2-hidroksi-1-metil-2-fenil-etil]-1-metil-tiouree (13)

Spoj **13** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom efedrin-hidroklorida **12** (2.0 g, 9.916 mmol) s 1.5 ekv. benzil-izotiocijanata (2.22 g, 14.87 mmol) uz 3.5 ekv. trietilamina (3.51 g, 34.71 mmol). Reakcija je provođena na temperaturi od 60 °C. Za pročišćavanje je korištena 25 g kolona i sustav otapala Cyhex - Cyhex:EtOAc=5:1. Dobiven je prozirni uljni produkt (2.810 g, 73.75 %). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.37 (2H, br d, J = 7.3 Hz), 7.18 - 7.30 (8H, m), 5.89 (1H, br s), 5.55 (1H, m), 4.93 (1H, br s), 4.84 (1H, dd, J = 14.5 Hz, J = 5.0 Hz), 4.75 (1H, dd, J = 14.5 Hz, J = 4.4 Hz), 2.85 (1H, br s), 2.68 (3H, s), 1.11 (3H, d, J = 7.3 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ = 182.98, 141.30, 138.25, 129.00 (2C), 128.56 (2C), 128.24 (2C), 128.03, 127.89, 126.50 (2C), 77.66, 60.78, 50.63, 33.20, 13.17.

Sinteza 1-benzil-3-[(1S,2R)-2-hidroksiindan-1-il]tiouree (16)

Spoj **16** priređen je prema navedenom općem postupku reakcijom (1S,2R)-1-amino-2-indanola **15** (1.0 g, 6.703 mmol) s 1 ekv. benzil-izotiocijanata (1.00 g, 6.703 mmol) uz 2 ekv. trietilamina (1.36 g, 13.41 mmol). Reakcija je provođena na temperaturi od 40 °C. Za pročišćavanje je korištena 12 g kolona i sustav otapala Cyhex - Cyhex:EtOAc=3:1. Dobiven je prozirni uljni produkt (1.720 g, 86.00 %). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.09 - 7.33 (9H, m), 6.63 (1H, br s), 6.30 (1H, br s), 5.70 (1H, br s), 4.52 (3H, br s), 3.06 (1H, dd, J = 16.6 Hz, J = 5.3 Hz), 2.78 (1H, br dd, J = 16.8 Hz, J = 1.2 Hz), 2.57 (1H, br s). ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ = 140.16, 129.21 (2C), 128.71, 128.28, 127.90, 127.42 (2C), 125.56, 124.84, 73.78, 63.05, 49.67, 39.54 (signali dva kvaterna ugljika indanola i kvatarni ugljik tiouree nisu vidljivi u spektru).

4.3.2. Opći postupak sinteze cikliziranih produkata

Otopini odgovarajućeg intermedijera (**13** ili **16**) u acetonitrilu (3 mL) pridoda se LiBr tako da mu koncentracija u acetonitrilu bude 0.1 mM. Reakcijska smjesa elektrolizira se u nepodijeljenoj ćeliji uređaja IKA ElectraSyn 2.0. pri konstantnoj struji od 10 mA s promjenom polariteta svakih 15 min. Kao katoda i anoda koriste se grafitne elektrode površine 1.28 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Reakcija se provodi 2.5 ili 4 h na sobnoj temperaturi uz brzinu miješanja od 800 okretaja u minuti. Nakon završetka reakcije, smjesa se razrijedi s etil-acetatom i ekstrahira s natrijevim hidrogenkarbonatom. Organski sloj suši se nad natrijevim

sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveni ostatak pročisti se kolonskom kromatografijom na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju s Interchim puriFlash Si-HC koloni s 15 µm silika gelom (4 g) uz gradijent otapala A→B 0→100 % B pri čemu je A = DCM, B = 5 %-tni MeOH u DCM-u. Primjenjuje se protok od 10 mL/min.

Sinteza (4S,5R)-N-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imina (14)

Metoda A: Spoj **14** priređen je prema navedenom općem postupku intramolekularnom ciklizacijom 3-benzil-1-[(1S,2R)-2-hidroksi-1-metil-2-fenil-etil]-1-metil-tiouree **13** (50.0 mg, 0.1590 mmol) uz LiBr (26.1 mg, 0.3005 mmol) tijekom 2.5 h. Postupak je proveden četiri puta, a dobivene reakcijske smjese spojene su prije ekstrakcije. Dobiveno smeđe ulje nakon prvog pročišćavanja (110 mg), dodatno je pročišćeno na Büchi Pure C-850 FlashPrep system uređaju s Interchim puriFlash Si-HC koloni s 15 µm silika gelom (4 g) uz gradijent otapala Cyhex - EtOAc 0→100 % EtOAc uz protok od 10 mL/min. Dobiven je prozirni uljni produkt (93 mg, 52.25 %).

Metoda B: Otopini efedrin-hidroklorida **12** (50.0 mg, 0.2479 mmol) u acetonitrilu (3 mL) pridoda se 3 ekv. trietilamina (75.3 mg, 0.7437 mmol), 1.5 ekv. benzil-izotiocijanata (55.5 mg, 0.3719 mmol) i LiBr (26.1 mg, 0.3003 mmol, 0.1 mM). Reakcijska smjesa elektrolizira se u nepodijeljenoj ćeliji 10 h na 60 °C pri konstantnoj struji od 10 mA s promjenom polariteta svakih 15 min (brzina miješanja: 800 okretaja u minuti). Kao katoda i anoda koriste se grafitne elektrode površine 1.28 cm² i međusobne udaljenosti 0.6 cm. Nakon završetka reakcije, smjesa se razrijedi s etil-acetatom i ekstrahira s natrijevim hidrogenkarbonatom. Organski sloj suši se nad natrijevim sulfatom i filtrira, a filtrat se zatim upari do suha pod sniženim tlakom. Dobiveno je 50 mg sirovog produkta (smeđe ulje). Produkt nije pročišćavan. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.34 (2H, br d, *J* = 7.3 Hz), 7.31 - 7.21 (5H, m), 7.14 (3H, br d, *J* = 7.3 Hz), 5.41 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 4.48 (2H, s), 3.79 (1H, quin, *J* = 6.7 Hz), 2.78 (3H, s), 0.69 (3H, d, *J* = 6.4 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ = 155.21, 142.54, 136.13, 128.31 (2C), 128.23, 128.07 (2C), 127.49 (2C), 126.36 (2C), 126.00, 80.38, 58.33, 50.20, 30.28, 13.75.

Sinteza *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imina (17)

Spoj **17** priređen je prema navedenom općem postupku intramolekularnom ciklizacijom 1-benzil-3-[(1*S*,2*R*)-2-hidroksiindan-1-il]tiouree **16** (50.0 mg, 0.1676 mmol) uz LiBr (26.1 mg, 0.3005 mmol) tijekom 4 h. Postupak je proveden četiri puta, a dobivene reakcijske smjese spojene su prije ekstrakcije. Dobiven je bijeli praškasti produkt (105 mg, 59.32 %). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.47 - 7.53 (1H, m), 7.25 - 7.35 (8H, m), 5.49 (1H, br d, J = 7.3 Hz), 5.34 (1H, br t, J = 6.9 Hz), 4.40 (1H, d, J = 14.3 Hz), 4.35 (1H, d, J = 14.3 Hz), 3.84 (1H, br s), 3.39 (1H, br dd, J = 17.9 Hz, J = 6.6 Hz), 3.26 (1H, br d, J = 18.0 Hz). ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ = 161.07, 143.73, 139.64, 138.63, 128.81 (s, 2C), 128.35, 127.74 (s, 2C), 127.65 (s, 2C), 125.68, 125.33, 83.79, 74.83, 47.36, 39.35.

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog diplomskog rada bio je dizajn i razvoj nove, ekonomične i brze elektrokemijske sinteze supstituiranih 1,3-oksazolidina, kao ekološki prihvatljive alternative klasičnim kemijskim metodama. Nakon provedene optimizacije uvjeta sinteze, uspješno su priređeni i izolirani oksazolidinski derivati fuzionirani na desozamin (**6** - **8**) ili aglikon (**11**) azitromicina. Ovom metodom priređeni su i (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imin **14** te *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imin **17**. Intermedijeri potrebni za provedbu elektrociklizacija do željenih derivata oksazolidina, sintetizirani su postupcima klasične organske sinteze prethodno opisanima u literaturi.

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- Sve elektrociklizijske reakcije provedene su u nepodijeljenoj ćeliji uređaja IKA ElectraSyn 2.0 uz C(+) – C(-) sustav elektroda i acetonitril kao otapalo te koncentraciju elektrolita od 0.1 mM. U svim reakcijama, neovisno o odabranim uvjetima, primijenjena je promjena polariteta svakih 15 min.
- Desozamin-fuzionirani *N*-benzil-oksazolidin-2-iminski derivati azitromicina (**6** i **8**) priređeni su elektrociklizacijom pri konstantnoj struji od 5 mA na sobnoj temperaturi i uz LiBr kao elektrolit. Reakcija je provedena 2.5 h, odnosno 3 h.
- Desozamin-fuzionirani oksazolidin-2-onski derivat azitromicina **7** priređen je elektrociklizacijom pri konstantnoj struji od 10 mA na sobnoj temperaturi i uz NaI kao elektrolit. Reakcija je provedena 2 h.
- *N*-benzil-oksazolidin-2-imin fuzioniran na aglikon azitromicina **11** priređen je elektrociklizacijom pri konstantnoj struji od 6.5 mA na 60 °C uz NaI kao elektrolit. Reakcija je provedena 1.5 h.
- (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imin **14** i *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imin **17** priređeni su elektrociklizacijom pri konstantnoj struji od 10 mA na sobnoj temperaturi i uz LiBr kao elektrolit. Reakcija je provedena 2.5 h, odnosno 4 h.
- Za elektrokemijsku sintezu desozamin-fuzioniranog *N*-benzil-oksazolidin-2-iminskog derivata azitromicina **6** i (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imina **14** isproban je i *one-pot* pristup polazeći od odgovarajućeg vicinalnog amino-alkohola (**1** ili **12**). Spoj **6** priređen je iz 3'-*N*-demetiliranog derivata azitromicina **1** uz benzil-izotiocijanat i trietilamin kao sredstva za pripremu intermedijera te LiBr kao elektrolit.

Reakcija je provođena 11 h na 60 °C pri konstantnoj struji od 5 mA. Spoj **14** priređen je iz efedrin-hidroklorida **12** uz benzil-izotiocijanat, trietilamin i LiBr primjenom konstantne struje od 10 mA. Reakcija je provođena 10 h na 60 °C. Sintaza intermedijera za obje reakcije bila je brzi dio procesa (praćeno UPLC-MS/UV-om), stoga se znatno produženo vrijeme reakcija pripisuje sporijoj kinetici elektrokemijskog procesa na povišenoj temperaturi.

- Nužnost primjene struje za provedbu ovih reakcija ciklizacije, provjerena je izvedbom tih reakcija pri istim uvjetima, ali bez primjene struje. Nakon 24 h, niti u jednoj reakciji nije uočen oksazolidinski produkt, što dokazuje da je struja ključan faktor u ovim reakcijama.
- Strukture svih priređenih spojeva potvrđene su 1D i 2D NMR tehnikama. Snimljenim NOESY spektrima utvrđeno je da iminska dvostruka veza spojeva **6** i **14** poprima Z-konfiguraciju. Preostalim iminskim derivatima (**8**, **11** i **17**) nije utvrđena konfiguracija.
- Dobivena iskorištenja elektrokemijske sinteze makrolidnih derivata oksazolidina **6**, **7** i **11** uspoređena su s literaturnim podacima o iskorištenjima dobivenim pri klasičnoj sintezi istih derivata. Osim što je elektrokemijska sinteza „zeleniji“ i znatno brži proces, dobivena iskorištenja samog procesa ciklizacije u sva tri slučaja većih su vrijednosti od iskorištenja klasičnih metoda ciklizacije. *One-pot* pristup sinteze derivata **6** rezultirao je nešto manjim, no svejedno usporedivim iskorištenjem (40 %) od iskorištenja klasičnog *one-pot* pristupa (46 %).

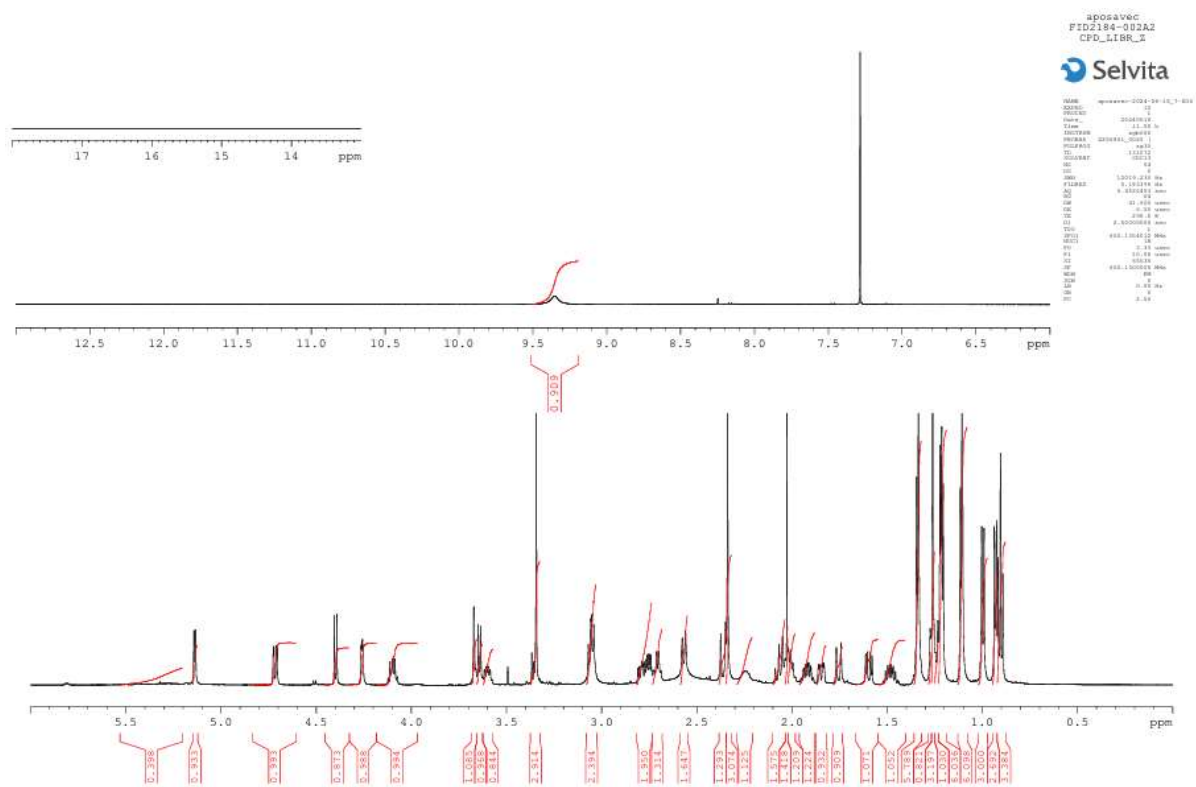
6. LITERATURA

1. Chen, K. T., Electrochemical Synthesis: Empowering Green Chemistry and Sustainable Future, *Insights Anal. Electrochem.*, **9** (2023) 017.
2. Branco-Júnior, J. F., Teixeira, D. R. C., Pereira, M. C., Pitta, I. R., Galdino-Pitta, M. R., The Role of Oxazolidine Derivatives in the Treatment of Infectious and Chronic Diseases. *Curr. Bioact. Compd.*, **13** (2016) 1-1.
3. Vujasinović, I., Marušić Ištuk, Z., Kapić, S., Bukvić Krajačić, M., Hutinec, A., Đilović, I., Matković-Čalogović, D., Kragol, G., Novel Tandem Reaction for the Synthesis of *N'*-Substituted 2-Imino-1,3-oxazolidines from Vicinal (*sec*- or *tert*-) Amino Alcohol of Desosamine, *Eur. J. Org. Chem.*, **14** (2011) 2507-2518.
4. Palej Jakopović, I., Bukvić Krajačić, M., Matanović Škugor, M., Štimac, V., Pešić, D., Vujasinović, I., Alihodžić, S., Čipčić Paljetak, H., Kragol, G., Novel desosamine-modified 14- and 15-membered macrolides without antibacterial activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22** (2012) 3527-3530.
5. Marušić Ištuk, Z., Čikoš, A., Gembarovski, D., Lazarevski, G., Đilović, I., Matković-Čalogović, D., Kragol, G., Novel 9a,11-bridged azalides: One-pot synthesis of *N'*-substituted 2-imino-1,3-oxazolidines condensed to an azalide aglycone, *Bioorg. Med. Chem.*, **19** (2011) 556-566.
6. Schäfer, H. J., Contributions of organic electrosynthesis to green chemistry. *C. R. Chim.*, **14** (2011) 745-765.
7. Kingston, C., Palkowitz, M. D., Takahira, Y., Vantourout, J. C., Peters, B. K., Kawamata, Y., Baran, P. S., A Survival Guide for the "Electro-curious", *Acc. Chem. Res.*, **53** (2019) 72-83.
8. Hilt, G., Basic Strategies and Types of Applications in Organic Electrochemistry, *ChemElectroChem.*, **6** (2019) 1-12.
9. Wu, Y., Ding, X., Yang, Y., Li, Y., Qi, Y., Hu, F., Qin, M., Liu, Y., Sun, L., Zhao, Y., Optimization of biaryloxazolidinone as promising antibacterial agents against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant gram-positive bacteria, *Eur. J. Med. Chem.*, **185** (2020). 111781.
10. Andrade, S. F., Oliveira, B. G., Pereira, L. C., Ramos, J. P., Joaquim, A. R., Steppe, M., Souza-Fagundes, E. M., Alves, R. J., Design, synthesis and structure-activity relationship studies of a novel focused library of 2,3,4-substituted oxazolidines with

- antiproliferative activity against cancer cell lines, *Eur. J. Med. Chem.*, **138** (2017) 13–25.
11. Woodward, R. B., Struktur und Biogenese der Makrolide, *Angew. Chem.*, **69** (1957) 50–58.
 12. Arsić, B., Novak, P., Barber, J., Rimoli, M. G., Kragol, G., Sodano, F., Macrolides: Properties, Synthesis and Applications, *De Gruyter*, Berlin, 2018.
 13. Dinos, G. P., The macrolide antibiotic renaissance, *Br. J. Pharmacol.*, **174** (2017) 2967–2983.
 14. Mutak, S., Azalides from Azithromycin to New Azalide Derivatives, *J. Antibiot.*, **60** (2007) 85–122.
 15. Fernandes, P., Pereira, D., Watkins, P. B., Bertrand, D., Differentiating the Pharmacodynamics and Toxicology of Macrolide and Ketolide Antibiotics, *J. Med. Chem.*, **63** (2020) 6462–6473.
 16. <https://nordicbiosite.com/news/how-do-antibiotics-work> (pristup: 25.06.2024.)
 17. Perichon, B., Courvalin, P., Antibiotic Resistance, u: Schaechter, M., The Desk Encyclopedia of Microbiology, Drugo Izdanje, *Academic Press (Elsevier)*, San Diego, 2009., str. 53–55.
 18. Karlson, P., Biokemija, Školska knjiga, Zagreb, 1989.
 19. Jelić, D., Antolović, R., From Erythromycin to Azithromycin and New Potential Ribosome-Binding Antimicrobials, *Antibiotics*, **5** (2016) 29.
 20. https://tmedweb.tulane.edu/pharmwiki/doku.php/ribosomal_antibiotics (pristup: 30.06.2024.)

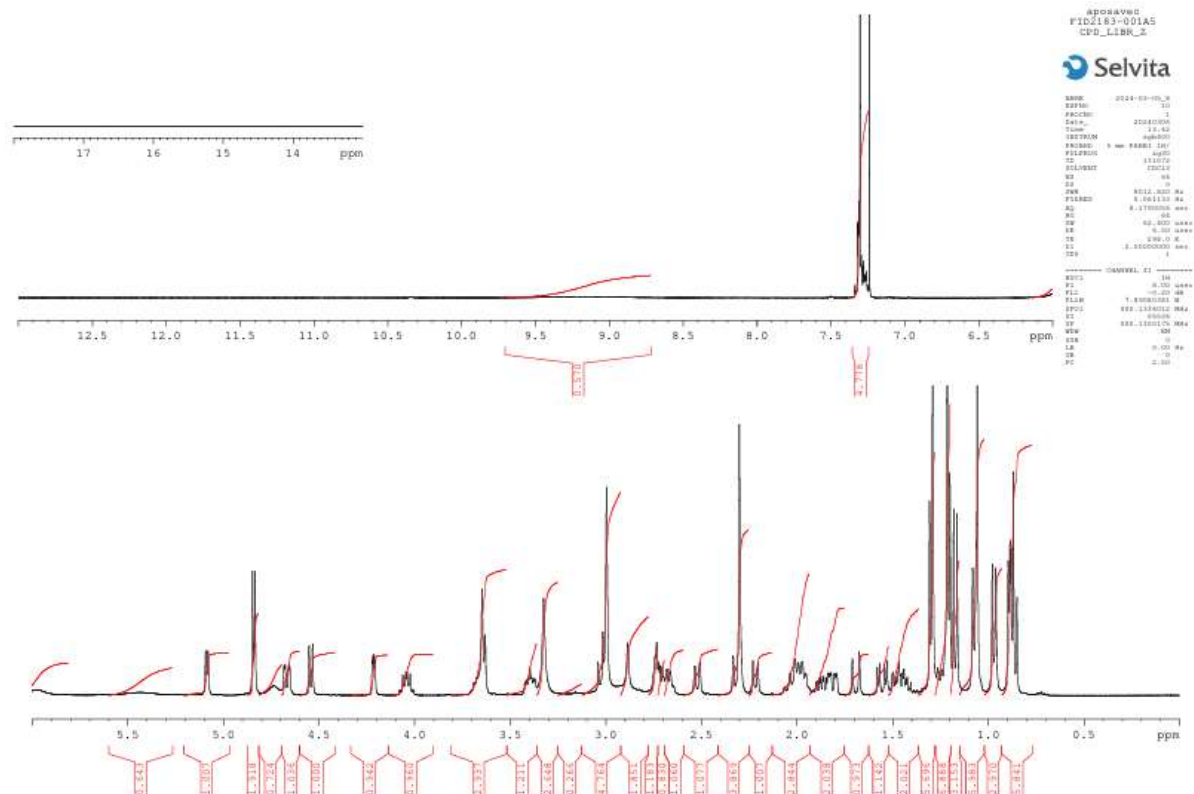
7. PRILOZI

Prilog 1.

¹H NMR spektr 3'-*N,N*-didimetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **2**

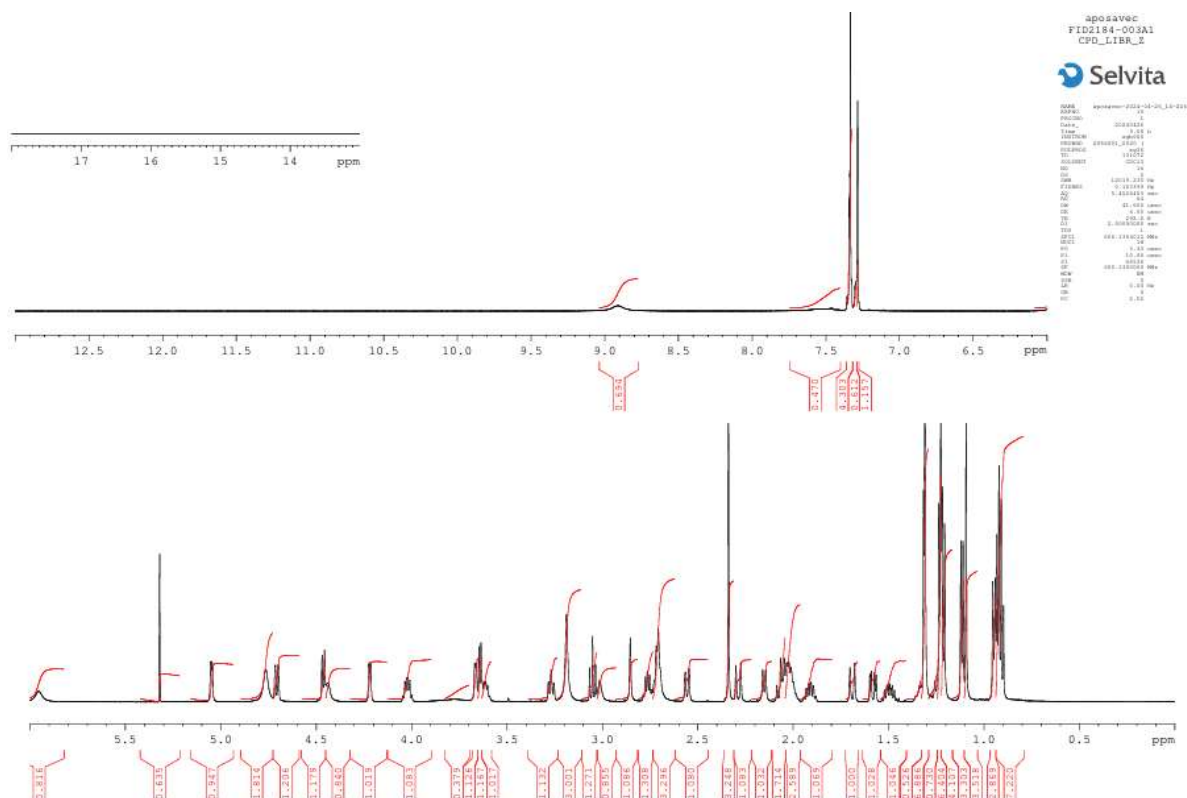
Prilog 2.

^1H NMR spektar 3'-*N*-(benziltiokarbamoil)-3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **3**



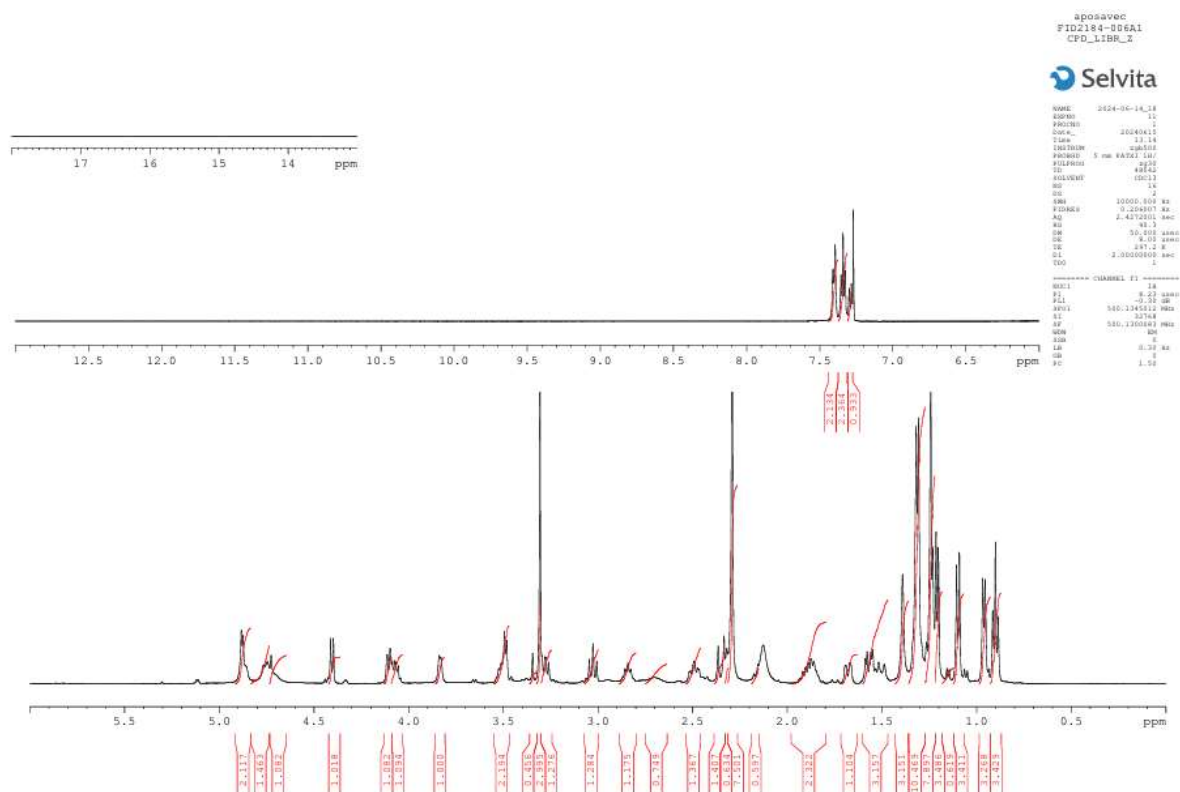
¹H NMR spektar 3'-*N*-(feniloksikarbonil)-3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **4**

¹H NMR spektar 3'-*N*-(benziltiokarbamoil)-3'-*N,N*-didemetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **5**



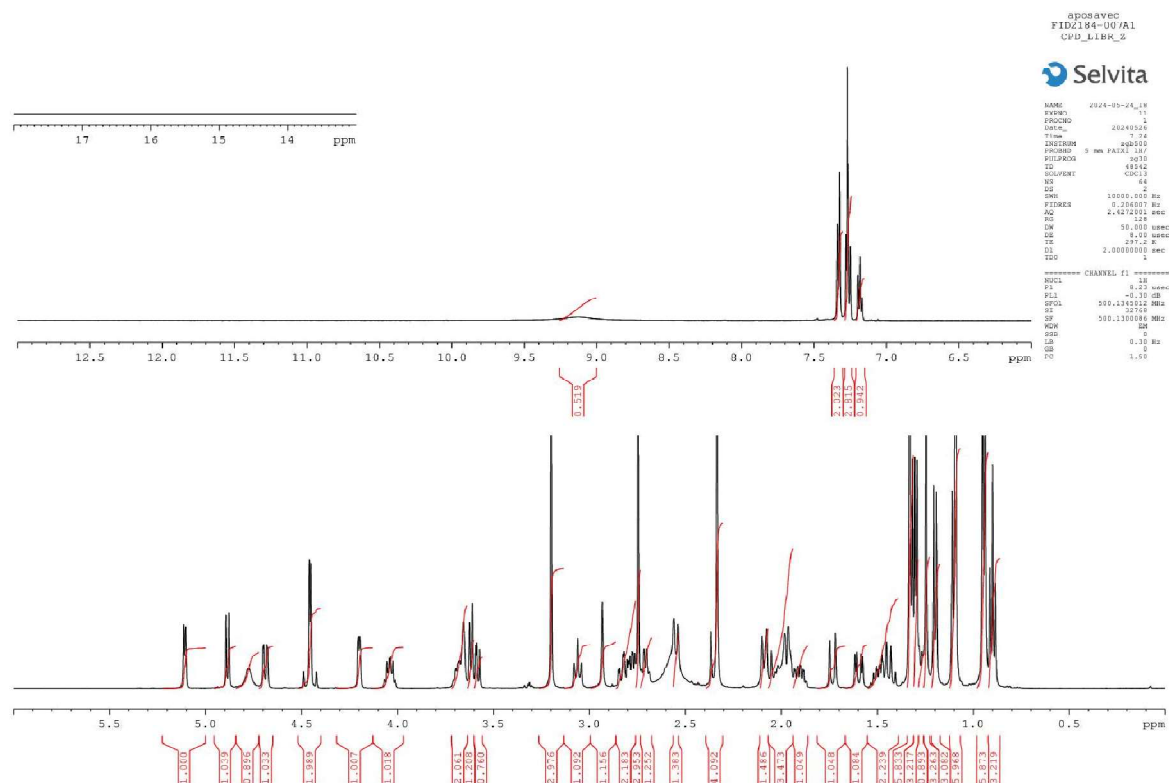
Prilog 5.

^1H NMR spektar 9-deokso-9a-(*N*-benziltiokarbamoil)-9a-aza-9a-homoeritromicina A **10**



Prilog 6.

^1H NMR spektar 2'-*O*,3'-*N*-(benzilkarbonimidoil)-3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **6**

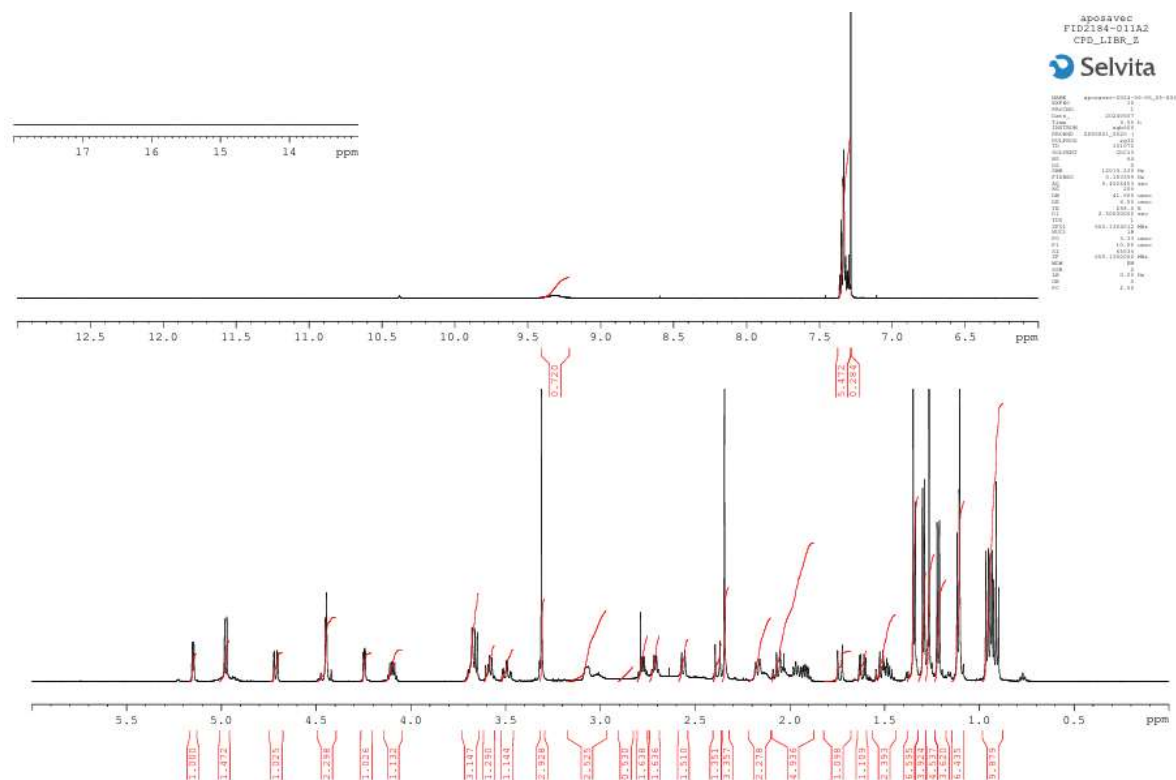


¹H NMR spektar 2'-*O*,3'-*N*-karbonil-3'-*N*-demetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **7**



Prilog 8.

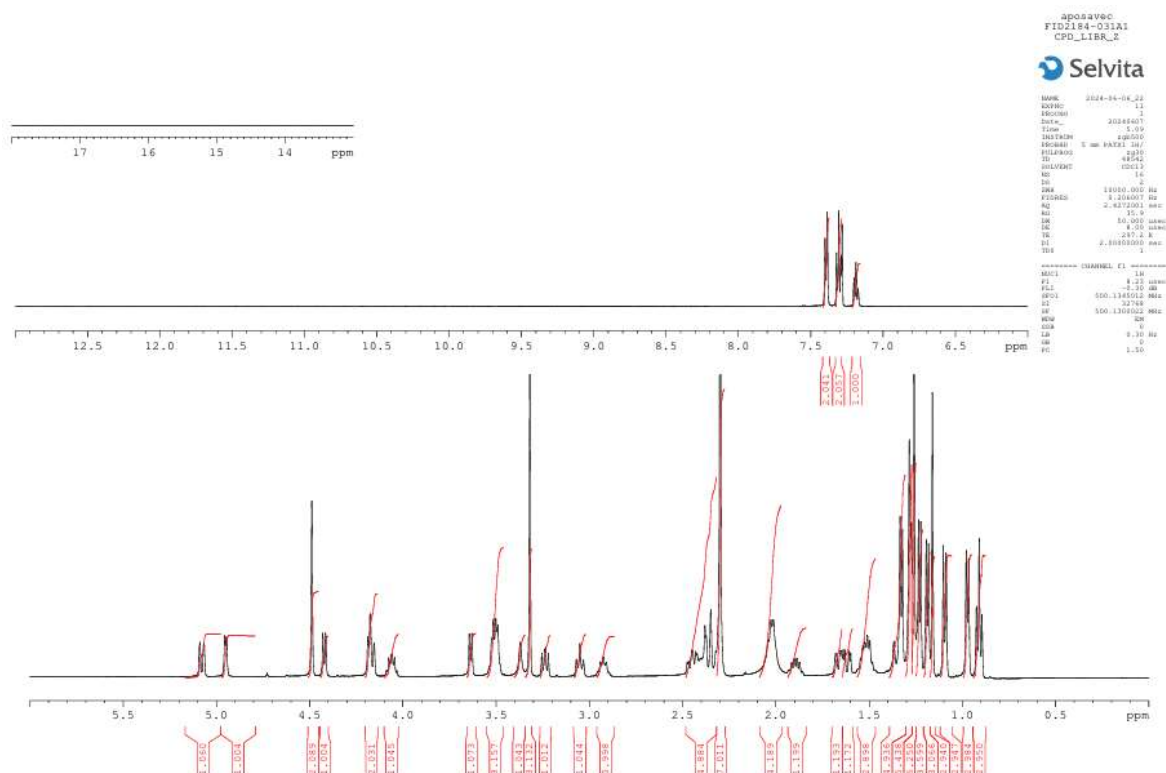
^1H NMR spektar 2'-*O*,3'-*N*-(benzilkarbonimidoil)-3'-*N,N*-didimetil-9-deokso-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A **8**



Prilog 9.

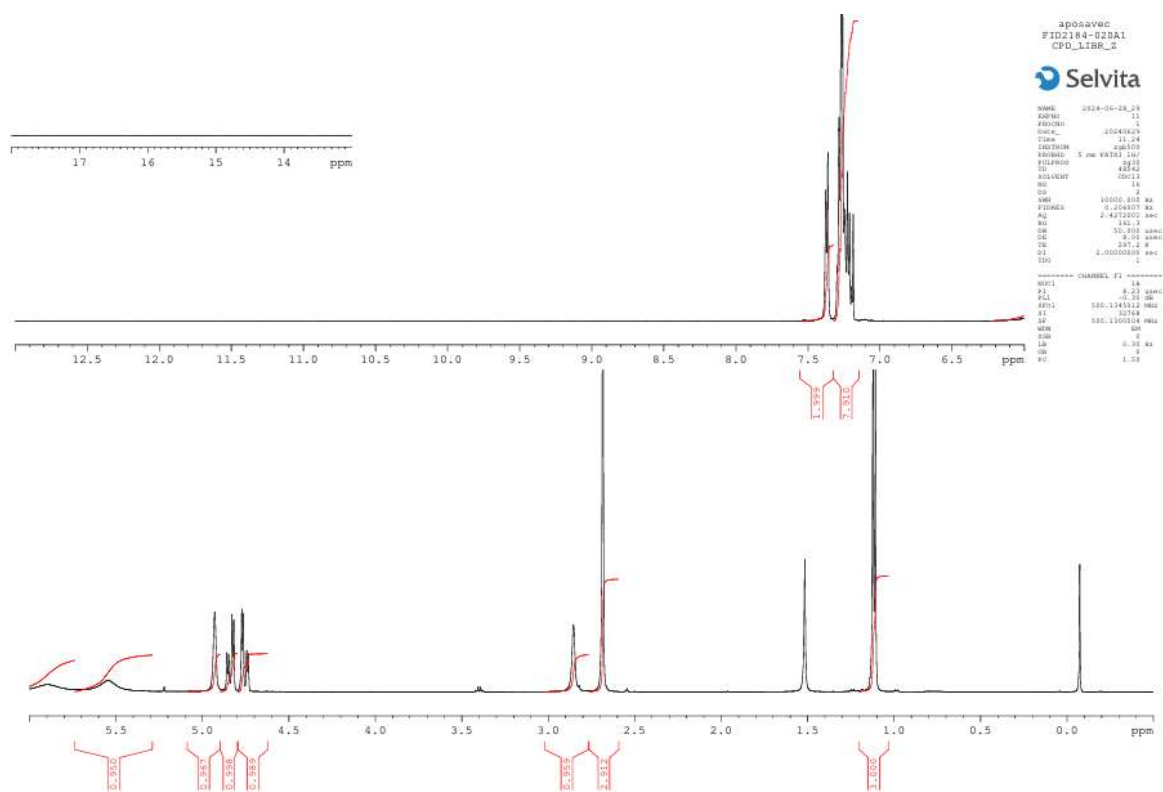
^1H NMR spektar 9a,11-*O*-(*N*-benzilkarbonimidoil)-9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicina A

11



Prilog 10.

^1H NMR spektar 3-benzil-1-[(1S,2R)-2-hidroksi-1-metil-2-fenil-etil]-1-metil-tiouree **13**

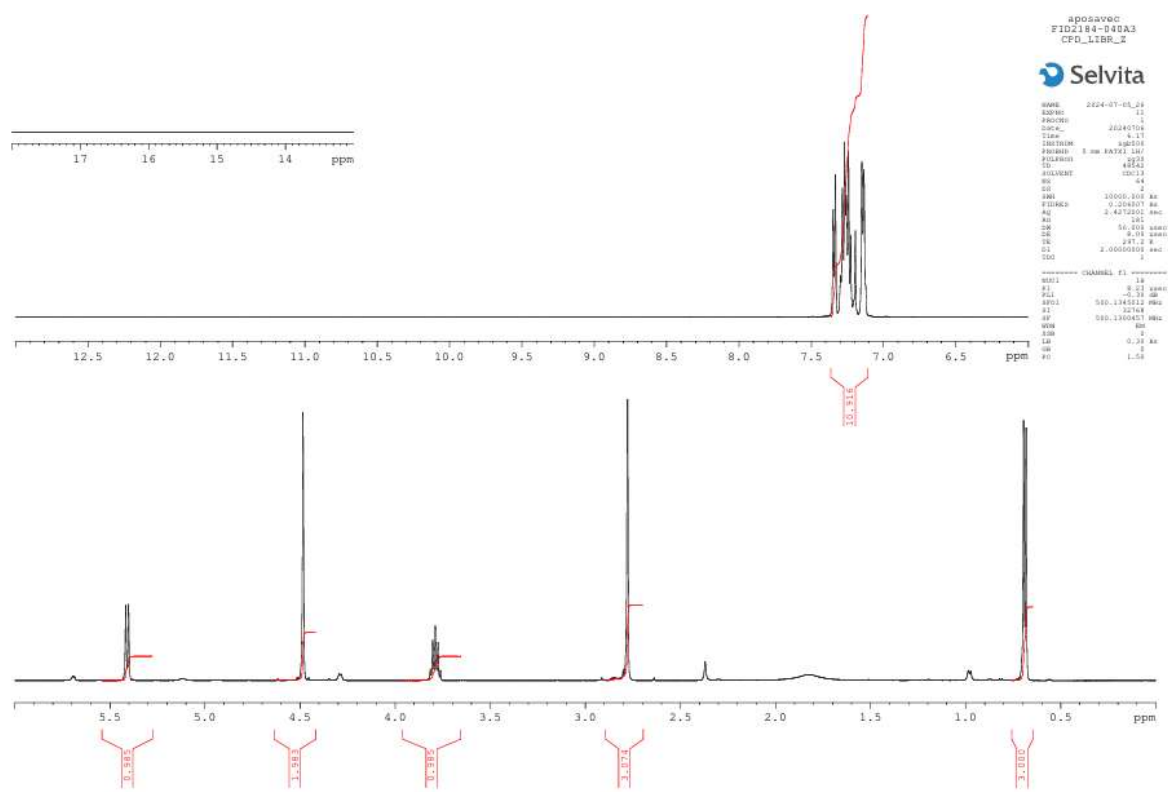


¹H NMR spektr 1-benzil-3-[(1S,2R)-2-hidroksiindan-1-il]tiouree **16**



Prilog 12.

^1H NMR spektar (4S,5R)-*N*-benzil-3,4-dimetil-5-fenil-oksazolidin-2-imina **14**



¹H NMR spektar *N*-benzil-1,3a,4,8b-tetrahidroindeno[1,2-*d*]oksazol-2-imina **17**

Životopis

Antea Posavec [REDACTED] Godine 2015. završila je Osnovnu školu Većeslava Holjevca u Zagrebu i upisala opći smjer Prve gimnazije u Zagrebu. Srednjoškolsko obrazovanje završila je 2019. godine i upisala preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. U svibnju 2021. godine, polaže C2 Proficiency (CPE) ispit i ostvaruje pravo na Cambridge-ov certifikat o poznavanju engleskog jezika na C2 razini. Na trećoj godini studija, u veljači 2022. godine, odradila je stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković u Laboratoriju za stereoselektivnu sintezu i biokatalizu Zavoda za organsku kemiju i biokemiju. U veljači 2022. godine sudjeluje i na Susretu mladih kemijskih inženjera (SMLKI) s posterskim priopćenjem: Petanjko, M.; Posavec, A.; Raić-Malić, S.; Rep, V.; *Synthesis of novel nitro and cyano substituted benzothiazoles using green chemistry methods*. Preddiplomski studij završila je u srpnju 2022. godine, s velikom pohvalom (*Magna cum laude*), obranom završnog rada pod nazivom *Sinteza 2,6-disupstituiranih derivata benzotiazola primjenom mehanokemije*. Te godine na istom fakultetu upisuje diplomski studij Primijenjena kemija, modul Primijenjena organska kemija. Tijekom diplomskog studija prima stipendiju Sveučilišta u Zagrebu za izvrsnost. Diplomski rad izradila je u Selviti d.o.o. na temu *Elektrokemijska sinteza supstituiranih 1,3-oksazolidina iz vicinalnih amino-alkohola*. U rujnu 2024. godine, rezultati diplomskog rada predstavljeni su na Ljetnoj konferenciji Hrvatskog kemijskog društva Rijeka – Pula 2024. u obliku posterskog priopćenja: Rimac, A.; Posavec, A.; Kragol, G.; *Electrochemical synthesis of 2-imino-1,3-oxazolidines and cyclic carbamates fused onto azithromycin*.