

Priprava C-glikozilne α -aminokiseline modifikacijom prirodnih monosaharida

Ratajec, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:149:260724>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-15**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Maja Ratajec

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Maja Ratajec

**PRIPRAVA C-GLIKOZILNE α -AMINOKISELINE
MODIFIKACIJOM PRIRODNIH MONOSAHARIDA**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2022.



Ovaj diplomski rad je izrađen u Laboratoriju za biomimetičku kemiju, Zavoda za organsku kemiju i biokemiju, Instituta Ruđer Bošković pod vodstvom dr.sc. Ivanke Jerić, komentorom diplomskog rada (mentor: prof. dr. sc. Irena Škorić, FKIT), akademske godine 2021/2022.

SAŽETAK

Peptidi i proteini su prirodni spojevi koji imaju ključnu ulogu u nizu imunoloških i neruoloških procesa. Djeluju kao neurotransmiteri, hormoni, antigeni i antibiotici, a poremećaji u njihovoj funkciji mogu dovesti do razvoja kroničnih ili infektivnih oboljenja. Unatoč tome, njihova upotreba kao terapeutika ograničena je lošom stabilnošću i bioraspoloživošću. Napredak u strukturnoj optimizaciji, formulaciji i proizvodnji zaslužan je za sve veći broj peptida koji ulaze u klinička ispitivanja i terapijsku primjenu. Nadalje, potreba za kontrolom funkcije peptida dovela je do razvoja peptidomimetika, spojeva koji oponašaju sekundarne strukture proteina, a time i njihove funkcije. U pripravi takvih spojeva važnu ulogu imaju neprirodne aminokiseline.

Cilj istraživanja u okviru ovog diplomskog rada je sinteza tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom. Za dobivanje C-glikozilne jedinice korištena je diastereoselektivna Passerinijeva reakcija. Kao izvor C-glikozilne jedinice korišteni su izopropilidenima zaštićeni aldehidi dobiveni iz odgovarajućih ugljikohidrata (sorboze i fruktoze). U Passerinijevoj reakciji korišteni su aminokiselinski, odnosno konvertibilni izocijanid koji se vrlo lako ukloni hidrolizom u baznim uvjetima s ciljem dobivanja derivata α -hidroksi C-glikozilnih kiselina. Post-kondenzacijskim modifikacijama α -hidroksi-derivat je preveden u aminokiselinu, koja je ugrađena u dipeptidni i tripeptidni slijed.

Ključne riječi: C-glikozilne aminokiseline, multikomponentne reakcije, peptidi, peptidomimetici, ugljikohidrati.

SUMMARY

Synthesys of *C*-glycosyl α -amino acid by natural monosaccharides modification

Peptides and proteins are natural compounds that play a key role in a number of immune and neurological processes. They act as neurotransmitters, hormones, antigens and antibiotics, and disorders in their function can lead to the development of chronic or infectious diseases. Nevertheless, their use as therapeutics is limited by poor stability and bioavailability. Advances in structural optimization, formulation, and manufacturing are responsible for the growing number of peptides entering clinical trials and therapeutic applications. Furthermore, the need to control peptide function has led to the development of peptidomimetics, compounds that mimic the secondary structures of proteins and thus their functions. Unnatural amino acids play an important role in the synthesis of peptidomimetics.

The objective of the research proposed in this master thesis is the synthesis of tripeptides with incorporated unnatural *C*-glycosyl α -amino acid. Diastereoselective Passerini reactions were used to obtain the *C*-glycosyl unit. Isopropylidene-protected aldehydes derived from the carbohydrates (sorbose and fructose) were used as the source of the *C*-glycosyl unit. In the Passerini reaction, amino acid or convertible isocyanide was used, which is very easily removed by the hydrolysis under basic conditions in order to obtain α -hydroxy *C*-glycosyl acid derivatives. By post-condensation modifications the α -hydroxy derivative was converted to an amino acid, which was incorporated into the dipeptide and tripeptide sequences.

Key words: carbohydrates, *C*-glycosyl amino acids, multicomponent reactions, peptides, peptidomimetics.

Zahvale

Na kraju sam studija i jedno cijelo poglavlje života mirno i sretno zatvaram uz iznimnu pomoć dragih ljudi...

Posebno hvala mentorici prof. dr. sc. Ireni Škorić na vodstvu pri izradi diplomskog ali i završnog rada. Hvala na velikoj pomoći i susretljivosti ali najviše hvala na prenešenom znanju koje je potaknulo moju ljubav prema organskoj kemiji.

Zahvaljujem se mentorici dr. sc. Ivanki Jerić na ukazanom povjerenju, prenesenom znanju i podršci. U motivirajućoj i prijateljskoj atmosferi Laboratorija za biomimetičku kemiju sam naučila jako puno i ovi će mi dani ostati u predivnom sjećanju.

Zahvaljujem se svojoj neposrednoj voditeljici Barbari Bogović, mag. chem. na divnom vodstvu, strpljenju, svim savjetima i razgovorima. Hvala na povjerenju i na prilici za samostalnost, puno si me toga naučila.

Zahvaljujem se dr. sc. Mladeni Glavaš za vodstvo na studentskoj praksi, na strpljenju i pomoći u laboratoriju. Hvala za svo znanje koje si mi prenijela i odgovore na mojih bezbroj pitanja.

Veliko hvala mojoj najvećoj potpori – mojoj obitelji. Hvala mami Orneli na bezbrojnim savjetima i razgovorima, tvoja je pomoć i ljubav neopisiva i nemjerljiva. Hvala mom dečku Branimiru na ljubavi i strpljenju, uvijek vjeruješ u mene i potičeš me da budem najbolja 'ja'. Hvala i Lili na bezuvjetnoj ljubavi, naučila si me puno o odgovornosti i strpljenju.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Peptidi	2
2.2. Peptidomimetici.....	4
2.3. Aminokiseline kao gradivni blokovi peptida.....	7
2.4. C-glikozilne aminokiseline.....	10
2.4.1. Sinteza C-glikozilnih aminokiselina	12
3. REZULTATI I RASPRAVA	21
3.1. Sinteza početnih spojeva	21
3.1.1. Sinteza konvertibilnog izocijanida	21
3.1.2. Sinteza ugljikohidratnih aldehida.....	22
3.2. Sinteza Passerinijevih produkata i post-kondenzacijske modifikacije pripremljenih C-glikozilnih α -hidroksi-kiselina	25
3.2.1. Sorbozni derivat	26
3.2.2. Fruktozni derivat	27
3.3. Sinteza tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom.....	28
4. EKSPERIMENTALNI DIO.....	30
4.1. Materijali i metode.....	30
4.2. Sinteza početnih spojeva	31
4.3. Sinteza Passerinijevih produkata i post-kondenzacijske modifikacije pripremljenih C- glikozilnih α -hidroksi-kiselina	34
4.3.1. Passerinijeva reakcija	34
4.3.2. Hidroliza Passerinijevog produkta	36
4.3.3. Metiliranje C-glikozilne α -hidroksi-kiseline	37
4.3.4. Prevođenje u triflatni derivat	39
4.3.5. Prevođenje u azid.....	40
4.3.6. Redukcija azida do amina.....	42
4.4. Sinteza tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom.....	43
5. ZAKLJUČAK	45
6. LITERATURNI IZVORI.....	46
7. PRILOZI.....	48
8. ŽIVOTOPIS.....	57

1. UVOD

Proteini i ugljikohidrati imaju posebno mjesto među prirodnim spojevima. Imaju vitalnu ulogu u svim živim organizmima i uključeni su u složene biološke procese poput katalize i molekularnog prepoznavanja. Njihove različite funkcije reguliraju strukturne karakteristike višeg reda te je razumijevanje tih sekundarnih struktura glavni cilj u znanosti o proteinima i strukturalnoj biologiji. Nekovalentne interakcije stabiliziraju bioaktivne konformacije peptida i proteina, čineći ih povoljnim kandidatima za konstrukciju prilagodljivih molekularnih arhitektura.

Nadalje, ugljikohidrati su najzastupljenija skupina prirodnih spojeva i bitne komponente života kakvog poznajemo. Sintetski ugljikohidratni spojevi su pronašli široku primjenu u kemijskoj biologiji i medicinskoj kemiji kao dijagnostici, terapeutici i cjepiva, sustavi za isporuku lijekova i molekularni receptori. Dizajn glikomimetika, molekula koje oponašaju bioaktivnu funkciju ugljikohidrata, ali s poboljšanim svojstvima je atraktivan način prevladavanja ograničenja primjene peptida kao lijekova.

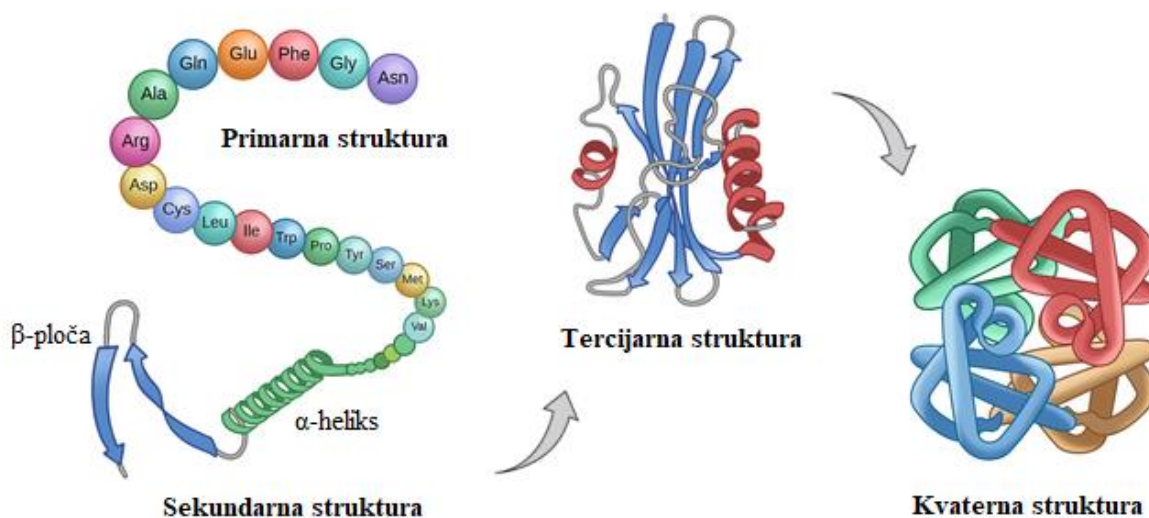
C-glikozilne aminokiseline predstavljaju skupinu *C*-glikozida kod kojih je molekula ugljikohidrata vezana *C-C* vezom na bočni lanac aminokiseline ili direktno na α ugljikov atom aminokiseline. Imaju široku primjenu u biomedicinskim istraživanjima glikopeptida i proteina kao potencijalnih lijekova zbog veće metaboličke stabilnosti u usporedbi s *O*- ili *N*- analogima. Osim toga, *C*-glikozilne aminokiseline i njihovi derivati predstavljaju vrlo zahtjevne gradivne blokove zbog definirane konformacije koju im nameće furanoidni ili piranoidni prsten te podesive hidrofilnosti i drugih svojstava dobivenih uvođenjem supstituenata i različite stereokemije.

Pregled literature usmjeren prema skupini modificiranih neprirodnih aminokiselina s ugljikohidratnom jedinicom pružio je inicijalan uvid u dosadašnja znanstvena postignuća. Uočeno je da postoji vrlo mali broj primjera *C*-glikozilnih α -aminokiselina sa šećernom jedinicom izravno vezanom s aminokiselinskom skupinom.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Peptidi

Peptidi i proteini su spojevi od velike važnosti za čitav niz imunoloških i neruoloških procesa. Djeluju kao neurotransmitori, hormoni, antigeni i antibiotici, a poremećaji u njihovoj funkciji mogu dovesti do razvoja kroničnih ili infektivnih oboljenja.¹ Predstavljaju bogatu klasu spojeva pošto sadrže vrlo različite funkcijske skupine, kao što su alkoholi, tioli, tioeteri, karboksilne kiseline, karboksamidi i razne bazne skupine, od kojih je većina kemijski reaktivna pružajući široki spektar djelovanja. Strukturalna raznolikost peptida i proteina potječe iz njihove primarne strukture – jedinstvenog slijeda aminokiselina. Primarna struktura uzrokuje spontano slaganje u trodimenzionalne strukture – sekundarnu, tercijarnu i kvaternu strukturu (*slika 1*), koje određuju funkciju peptida i proteina.²



Slika 1. Primarna (linearni aminokiselinski slijed), sekundarna (podstrukture kao α -uzvojnica i β -ploča ili list), tercijarna (3D struktura nastala uslijed interakcija između bočnih lanaca) i kvaterna struktura (kompleks više polipeptidnih lanaca).³

Peptidi i proteini utječu na mnoge fiziološke mehanizme i kontroliraju većinu životnih funkcija, uključujući imunološki odgovor, probavu, metabolizam, reprodukciju i osjetljivost na bol. Sve je veći interes za njihovu terapijsku primjenu u raznolikim područjima kao što su neurologija, endokrinologija i hematologija. Međutim, glavna prepreka primjene ovih molekula u terapijske svrhe je postojanje niza nedostataka:

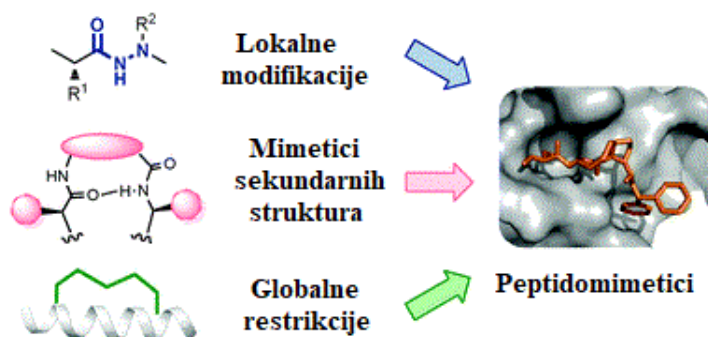
- loša *in vivo* stabilnost zbog hidrolize peptidnih veza uslijed djelovanja enzima
- slaba permeabilnost kroz stanične membrane, koja ovisi o duljini peptida i aminokiselinskom sastavu
- loša apsorpcijska i transportna svojstva uzrokuju brzo izlučivanje iz organizma
- zbog fleksibilnosti N-C α veza i rotacije C α -CO veza, peptidi ostvaruju interakcije s više meta što dovodi do loše selektivnosti i pojave nuspojava
- interakcije s veznim mjestima antitijela su brojne, uzrokujući imunološki odgovor na nepredvidiv način.^{1,4,5,6}

Međutim, zahvaljujući napretku u strukturnoj optimizaciji, formulaciji i proizvodnji, sve veći broj peptida ulazi u klinička ispitivanja te je sve veći broj odobren za terapijsku primjenu. Istraživanje primjene peptida u terapijske svrhe započelo je s proučavanjem humanih hormona, kao što su inzulin, oksitocin, vazopresin te gonadotropin-oslobađajući hormon (GnRH) i njihovih specifičnih fizioloških aktivnosti u tijelu. 1921. je sintetiziran inzulin – prvi peptidni terapeutik te je do danas (prema podacima iz 2022.) odobreno preko 80 peptidnih lijekova, a 170 ih se nalazi u kliničkoj fazi istraživanja. Razvoj peptidnih lijekova se ubrzava uz rekombinantnu biologiju i nove sintetske i analitičke tehnologije, dovodeći do najnovijih sintetskih peptida kao što su sintetski oksitocin, vazopresin i rekombinantni ljudski inzulin.⁶

Napredak peptidnih terapeutika osim visoke cijene razvoja i strogih regulatornih zahtjeva kože i nedostaci svojstveni peptidima te se proteolitička stabilnost i transport kroz membrane danas smatraju ključnim elementima u razvoju peptidnih terapeutika. Put prema rješavanju tih nedostataka ostvaren je razvojem peptidomimetika, spojeva koji oponašaju strukturu i funkciju prirodnih peptida i proteina.

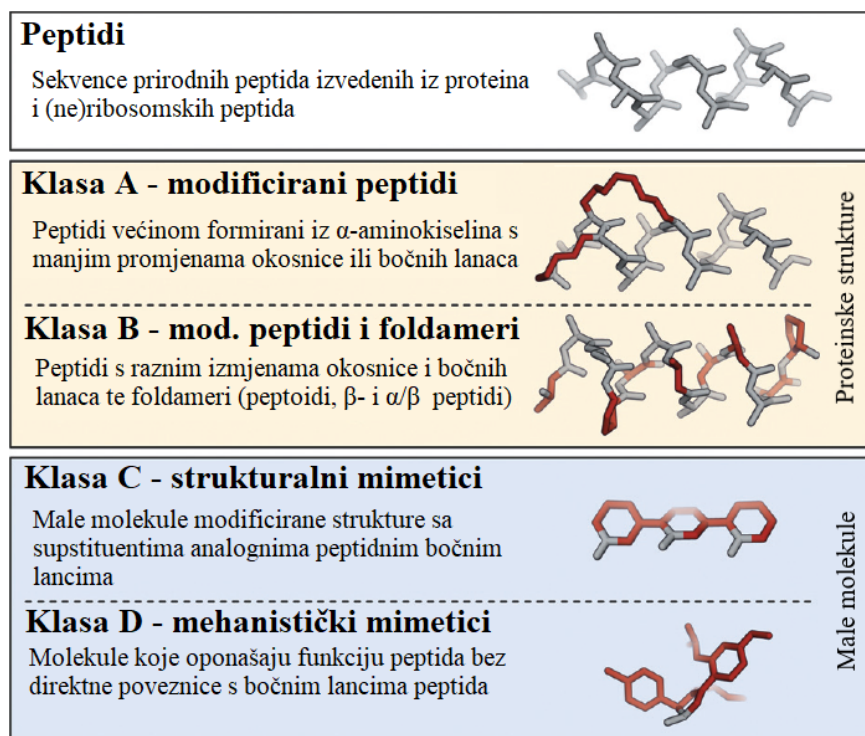
2.2. Peptidomimetici

Kao odgovor na ograničenja prirodnih peptida u terapijskoj primjeni, 1980-ih su se po prvi puta sintetizirali peptidomimetici i to modificiranjem aminokiselinske okosnice prirodnih peptida. Zahvaljujući kontroli bioloških funkcija, peptidomimetici nadilaze restrikcije peptida uz poboljšanu *in vivo* stabilnost, aktivnost, oralnu apsorpciju, distribuciju u tkivu te selektivnost. U pripravi takvih spojeva se kao gradivni blokovi koriste neprirodne, neproteinogene aminokiseline (engl. *unnatural amino acids* – *UAAs*, *non-proteinogenic amino acids*, *NPAAs*). Polje peptidomimetika se od svojeg početka znatno promijenilo: od lokalnih modifikacija bioaktivnih peptida do sinteze putem *ad hoc* racionalnog dizajna s ciljem optimiziranja farmakofora. Promijenile su se i sintetske strategije (slika 2), od jednostavnih zamjena peptidne okosnice do modifikacija cijele strukture.^{1,4}



Slika 2. Prikaz mogućih strategija pripreve peptidomimetika.¹

Uvriježena definicija peptidomimetika glasi: „Peptidomimetik je 'spoj' čiji farmakofor oponaša 3D strukturu prirodnog peptida ili proteina te pritom zadržava sposobnost interakcije s ciljanim biološkim metama dovodeći do istog biološkog učinka“. Pelay-Gimeno i suradnici su razvili klasifikaciju peptidomimetika koja se temelji na sličnosti peptidomimetika s prirodnim prekursorom – peptidom/proteinom. Podjela je prikazana na slici 3 gdje su crvenom bojom označene modifikacije.⁷

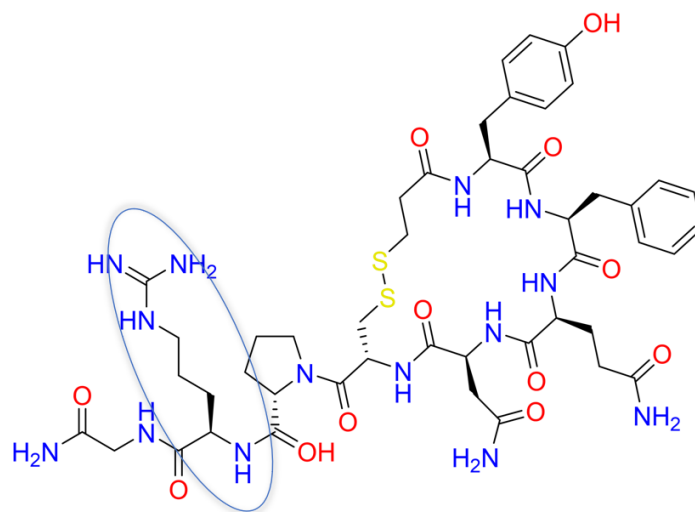


Slika 3. Klasifikacija peptidomimetika, prikazana u oglednom radu Pelay-Gimeno i suradnici.⁷

U peptide i proteine je moguće ugraditi aminokiseline s modificiranim bočnim lancima, koji mijenjaju svojstva peptida, povećavaju broj mogućih modifikacija, obogaćuju strukturalnu raznolikost peptida, potiču formiranje sekundarne strukture te se posljedično javljaju poželjna svojstva.^{1,4,8} Glikoliziranje proteina, uključujući konjugaciju saharida na aminokiselinske ostatke predstavlja jedinstven tip post-translacijskih modifikacija. Dodane ugljikohidratne jedinice mijenjaju svojstva i funkciju proteina u raznim biološkim procesima, kao što su stanična adhezija, prijenos signala i imunski odgovor.

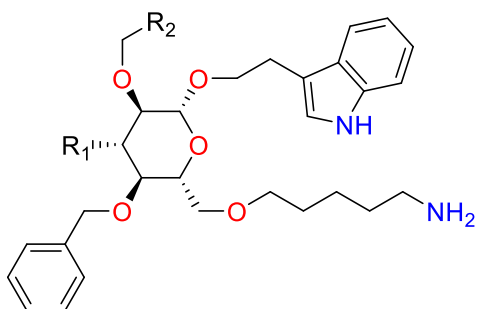
Navedeni su primjeri peptidomimetika nastalih sljedećim modifikacijama: a) zamjena L- s D-aminokiselinom; b) ugradnja β -D-glukoze; c) ugradnja odgovarajuće β -aminokiseline.

a) Sintetska zamjena za vazopresin je dezmpresin (*slika 4*) u čijoj strukturi na 8. mjestu dolazi do zamjene L-arginina s njegovim D-enantiomerom. Zahvaljujući modifikacijama, antidiuretska aktivnost dezmpresina je deseterostruka u usporedbi s vazopresinom, a njegova je sposobnost vazokonstrukcije 1500 puta slabija, zbog čega se sporije metabolizira.⁹



Slika 4. Struktura desmopresina, gdje D-arginin mijenja izvorni L-enantiomer prisutan u vasopresinu.⁹

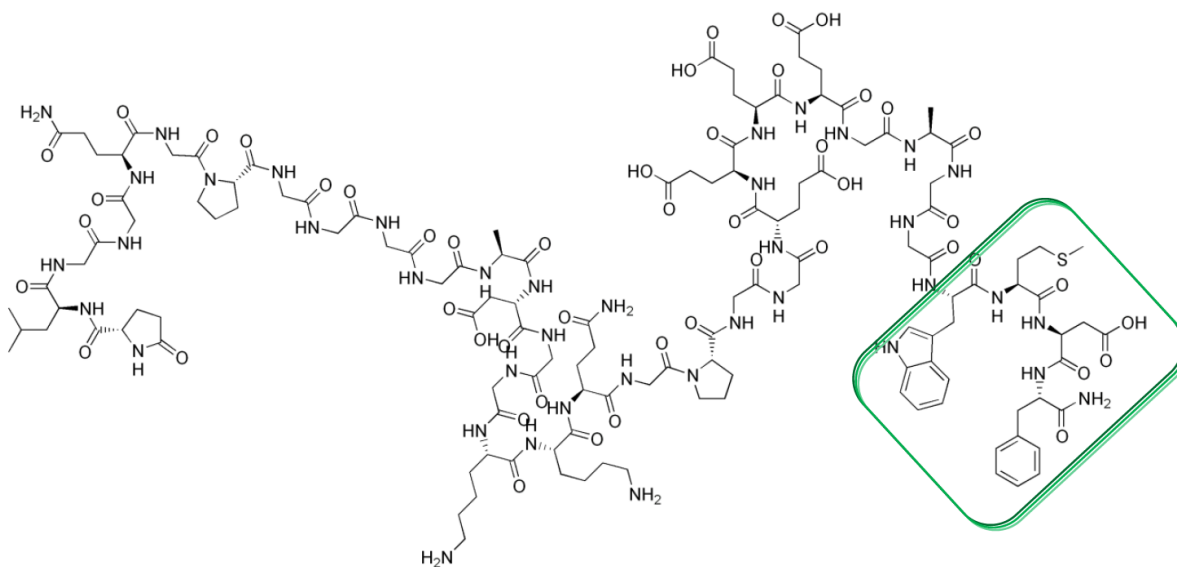
b) Somatostatin je ciklički peptid s 14 aminokiselinskih ostataka koji inhibira oslobađanje fiziološki važnih tvari, kao što su hormon rasta, glukagon, inzulin i želučana kiselina. β -D-glukoza se pokazala pogodnim strukturnim motivom (eng. *scaffold*) za uvođenje bočnih aminokiselinskih ogranaka u regiji β -okreta somatostatina, putem esterifikacijskih reakcija (slika 5).¹



- a) $R_1 = \text{OBn}$, $R_2 = \text{Ph}$
- b) $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Ph}$
- c) $R_1 = \text{H}$, $R_2 = 4\text{-imidazolil}$

Slika 5. Monosaharidni peptidomimetik.¹

c) Proučavanjem gastrina – peptidnog hormona koji potiče lučenje želučane kiseline – otkrilo se da je Boc-Trp-Leu-Asp-Phe-OH njegov agonist. Ugradnjom β -Leu ili β -Asp dobiveni su peptidomimetici s antagonističkim djelovanjem (slika 6), što je važno za dizajn inhibitora gastrina.¹⁰

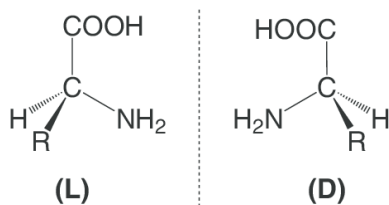


Slika 6. Struktura gastrina.¹⁰

2.3. Aminokiseline kao gradivni blokovi peptida

Svaka se prirodna α -aminokiselina sastoji od središnjeg kiralnog C_{α} -atoma na kojeg su vezane karboksilna i amino skupina, vodikov atom i specifična R skupina. Sve su proteinogene aminokiseline lijevo zakrećuće, L-aminokiseline, te gotovo sve imaju *S* apsolutnu konfiguraciju (slika 7). D-konfiguracija aminokiselina je prisutna u nekim vrstama bakterija, puževa i žaba. S obzirom na to da tek nekoliko ljudskih enzima ima mogućnost hidrolizirati peptidne veze D-aminokiselina, njihova ugradnja u biološki aktivne peptide može poboljšati metaboličku stabilnost.¹¹ Kao kiralni, prirodni produkti aminokiseline se dugi niz godina koriste kao gradivni blokovi u organskoj sintezi. Gotovo su sve proteinogene L-aminokiseline upotrebene u sintezama i to na vrlo različite načine. Broj dostupnih neracemičnih aminokiselina je uvelike povećan strategijama poput enzimskih procesa, asimetričnih sinteza i separacijskih procedura. Osim

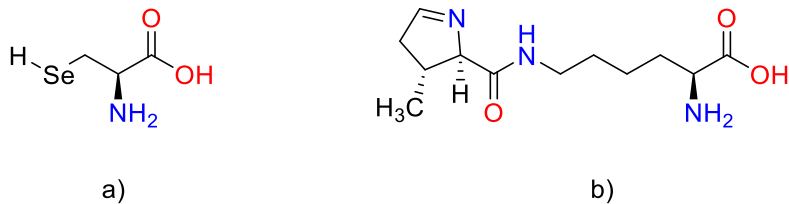
prirodnih, također su dostupne i neprirodne, tj. sintetske L-aminokiseline, kao i njihovi D-enantiomeri.¹²



Slika 7. L- i D- enantiomeri; L-enantiomer je prirodna konfiguracija proteinogenih aminokiselina, dok se D-enantiomer javlja kao rezultat racemizacije.¹³

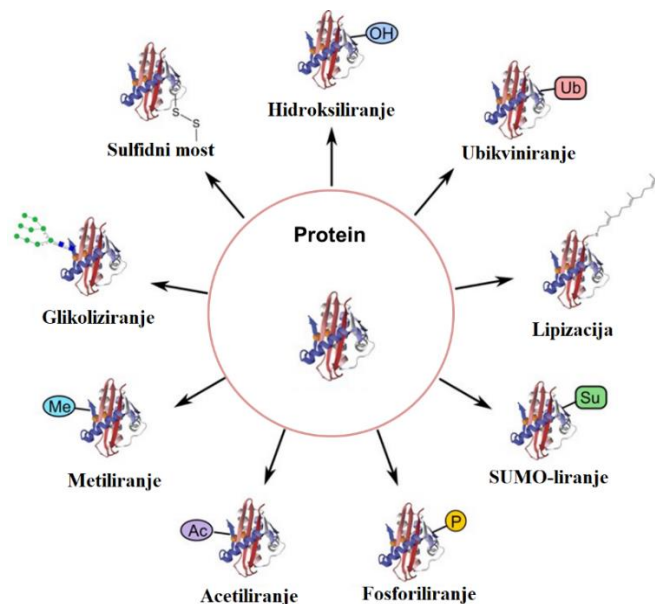
Aminokiseline predstavljaju važne gradivne blokove te svoju istaknutu ulogu u razvoju lijekova zahvaljuju sve većem korištenju peptida i peptidomimetika kao lijekova, komercijalnoj dostupnosti i jednostavnoj sintezi širokog raspona aminokiselina s raznim bočnim lancima. Sve je više neprirodnih aminokiselina komercijalno dostupno što dodatno potiče njihovo korištenje u razvoju lijekova, *hit-to-lead* i *lead* optimizacijama.⁵

Među esencijalne aminokiseline se ubraja 20 α -aminokiselina koje se razlikuju u svojstvima i strukturi bočnih lanaca (veličina, 3D oblik, naboj, sposobnost stvaranja H-veza, polarlost, kemijska reaktivnost), a sve pripadaju L-nizu. Genetski kodirani popis uključuje još dvije aminokiseline: selenocistein i pirolizin (*slika 8*).



Slika 8. Prikaz struktura: a) selenocistein (Sec, U); b) pirolizin (Pyr, O).

Strukturalna raznolikost peptida se proširuje velikim brojem neprirodnih aminokiselina dobivenih post-translacijskim modifikacijama (PTM, *slika 9*), kao što su acetiliranje, fosforiliranje, glikoliziranje, itd.¹⁴



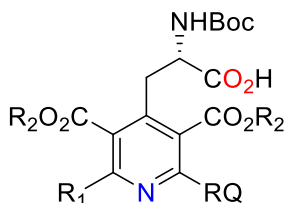
Slika 9. Najčešće posttranslacijske modifikacije.¹⁵

Neprirodne, neproteinogene aminokiseline su one koje se ne nalaze u glavnim proteinskim lancima, bilo zbog nedostatka specifičnog transfera RNA i tripleta kodona ili ne nastaju post translacijskim modifikacijama proteinogenih aminokiselina. Mnoge takve aminokiseline nastaju kao sekundarni metaboliti bakterija, gljivica, biljaka ili morskih organizama. Raznim sintetskim pristupima je pripremljen niz neprirodnih aminokiselina, tj onih koje se ne nalaze u prirodi.⁵ Do danas je opisano preko 800 prirodnih neproteinogenih i tisuće sintetiziranih neproteinogenih (neprirodnih) aminokiselina. Većina sintetskih *NPAA*s dizajnirane su na osnovi prirodnih aminokiselina, kemijskim ili biokatalitičkim procesima, ili njihovom kombinacijom. Njihov razvoj kao gradivnih blokova mora zadovoljiti kriterije poput:

- Brza, jednostavna i jeftina sinteza uz visoko iskorištenje
- Poboľšana enzimatska stabilnost produkta
- Povećanje kiralne različitosti
- Nastala sekundarna struktura mora doprinijeti željenim svojstvima

- Kompatibilnost s modernim tehnikama sinteze na čvrstoj fazi.¹⁶

Takve visoko funkcionalizirane neprirodne aminokiseline služe kao početni materijal u organskoj sintezi kompleksnih i raznolikih molekula, te su sastavne komponente peptidomimetika.^{5,15} Osim neprirodnih ugljikohidratnih aminokiselina, izraziti bioaktivni potencijal pokazuju i neprirodne heterocikličke aminokiseline te je primjer jedne takve strukture prikazan slikom 10.

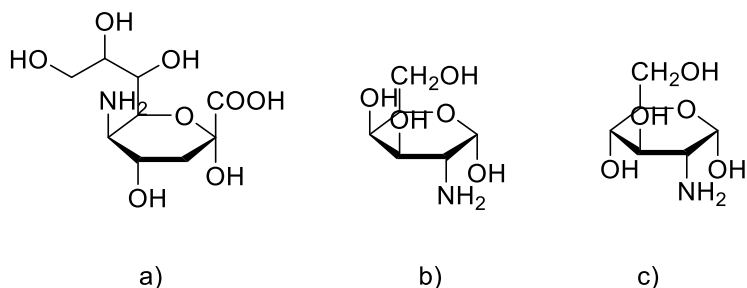


Slika 10. Primjer heterocikličke α -aminokiseline.¹⁷

2.4. C-glikozilne aminokiseline

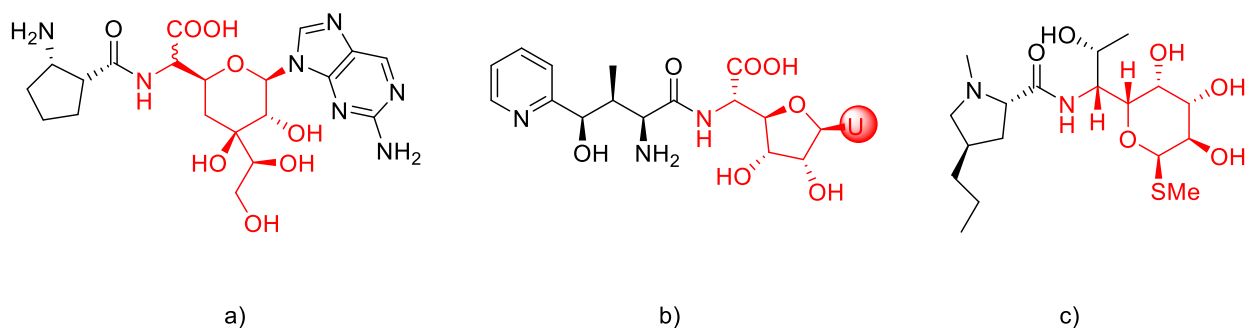
U prirodi se više od 13 monosaharida može kombinirati s 8 aminokiselina, dajući barem 41 jedinstvenu kombinaciju glikoproteina.¹⁵ Za razliku od prirodnih peptida s oligosaharidnom jedinicom vezanom ugljik-kisik ili ugljik-dušik vezom (*O*- i *N*-glikopeptidi), neprirodni *C*-glikopeptidi su otporniji na enzimatsku i kemijsku degradaciju. *O*- i *N*-glikopeptidi imaju središnju ulogu u glikoproteinskim biološkim funkcijama na staničnoj razini kao što su stanično prepoznavanje, adhezija, nastanak infekcije, regulacija proliferacije i metastaziranje. Uvođenjem strukturiranih i metabolički stabilnih *C*-glikopeptida očekuje se prilika za ispitivanje i intervenciju ključnih bioloških procesa. Konačni je cilj uvođenja *C*-glikozilnih peptida razvoj glikopeptidnih lijekova za kontrolu upalnih procesa, bakterijskih i virusnih bolesti te tumorske terapije.¹⁷ Nadalje, motivacija za vezivanje šećerne jedinice na aminokiselinsku okosnicu putem C-C veze je povećanje razmaknice (engl. *spacer*) između glikanske i peptidne/proteinske komponente, što bi moglo utjecati na sveukupnu strukturu, a posljedično i na svojstva spoja. Analozi aminokiselina sa šećernom komponentom se koriste kao biopolimerni gradivni blokovi za sintezu mimetika oligo- i polisaharida putem amidnih veza.¹⁸ *C*-glikozilne aminokiseline predstavljaju jedinstvenu

klasu spojeva prisutnu u prirodi, s raznolikim rasponom bioloških svojstava. Aminokiseline sa šećernom komponentom se koriste kao gradivni blokovi za sintezu i modifikaciju analoga biološki aktivnih peptida i/ili oligosaharida (*slika 11*). Razlika u veličini prstena dozvoljava modifikaciju konformacija peptida i ugljikohidrata.^{15,20}



Slika 11. Neke prirodno javljajuće glikozilne aminokiseline: a) neuraminska kiselina; b) glukozamin; c) galaktozamin.¹⁹

Značajan primjer su peptidil nukleozidni antibiotici – amipurimicin, nikomicin i linkomicin (strukture su prikazane na *slici 12*) – s jakim antimikotičkim djelovanjem prema raznim humanim patogenim gljivicama i bakterijama. Široku primjenu zahvaljuju C-C vezama na anomernim centrima koje doprinose većoj metaboličkoj stabilnosti i lipofilnosti od analoga s O-C vezama. Upravo prisutnost C-C veza u mnogim slučajevima vodi do poboljšane biološke aktivnosti, permeabilnosti kroz membranu i bioraspoloživosti.²⁰



Slika 12. Struktura C-glikozilaminskih derivata prirodnih produkata: a) amipurimicin; b) nikomicin, U = uracil; c) linkomicin.²⁰

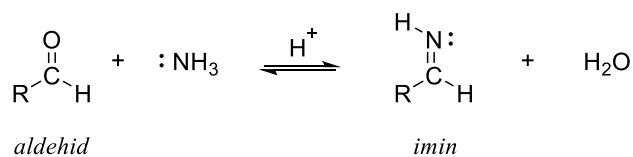
Neki od najznačajnijih načina sinteze aminokiselina su Streckerova sinteza, multikomponentne reakcije (eng. *multicomponent reactions, MCRs*) poput Passerinijeve i Ugiijeve reakcije te naposljetku radikalske reakcije. U nastavku su kratko kopisani ovi važni sintetski putevi.

2.4.1. Sinteza C-glikozilnih aminokiselina

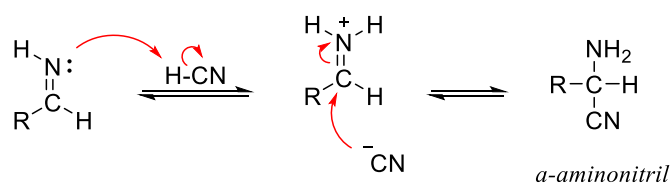
Streckerova sinteza

Streckerovom je sintezom iz odgovarajućih aldehida moguće pripremiti niz aminokiselina prema mehanizmu prikazanom na shemi 1. U prvom reakcijskom koraku najprije se protonira karbonilni kisik aldehida nakon čega slijedi nukleofilni napad amonijaka na karbonilni ugljik pri čemu nastaje odgovarajući imin. U svrhu provođenja Streckerove sinteze aminokiselina, uz odgovarajuće cijanidne soli kao izvor cijanidnog iona, potreban je i izvor amonijaka. Najčešće se koriste amonijeve soli, a ne plinoviti amonijak. Posebno je značajna uporaba amonijevog karbonata, poznatog po svojoj termičkoj nestabilnosti. Adicijom cijanidnog iona na imin nastaje α -aminonitril. Zatim slijedi hidroliza u kiseloj sredini uz nastajanje željene α -aminokiseline.

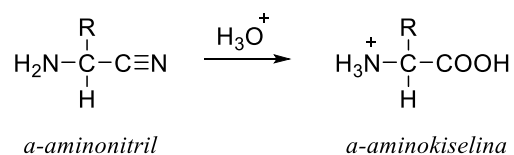
1. stupanj:



2. stupanj:

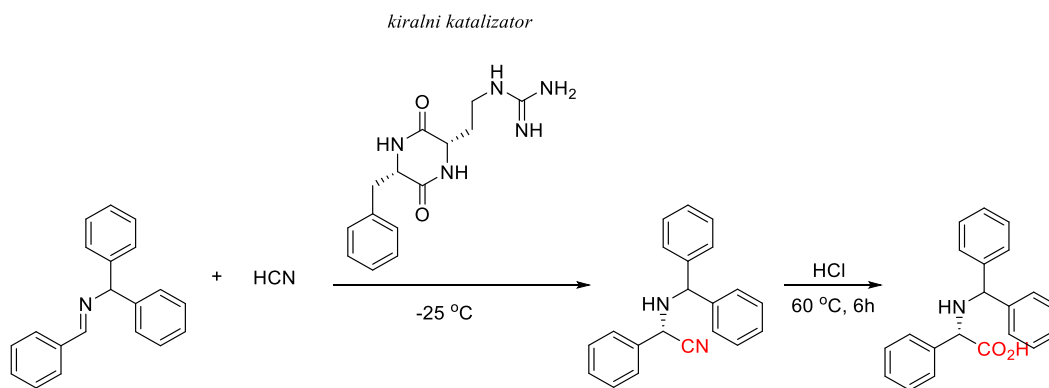


Hidroliza:



Shema 1. Mehanizam Streckerove sinteze u dva stupnja, uz hidrolizu nitrila u kiseljoj sredini.²¹

Streckerova reakcija je najstarija metoda *de novo* sinteze α -aminokiselina. Izvorni način pripreme prikazan shemom 1 generira racemičnu smjesu α -aminokiselina te se od početka 20. stoljeća Streckerova reakcija modificirala na razne načine u svrhu dobivanja kiralnih, stereokemijski definiranih produkata. Tako su 1996. Iyer i suradnici prvi objavili sintetski put za asimetričnu Streckerovu reakciju uz kiralni katalizator, imin i cijanovodičnu kiselinu (*shema 2*).



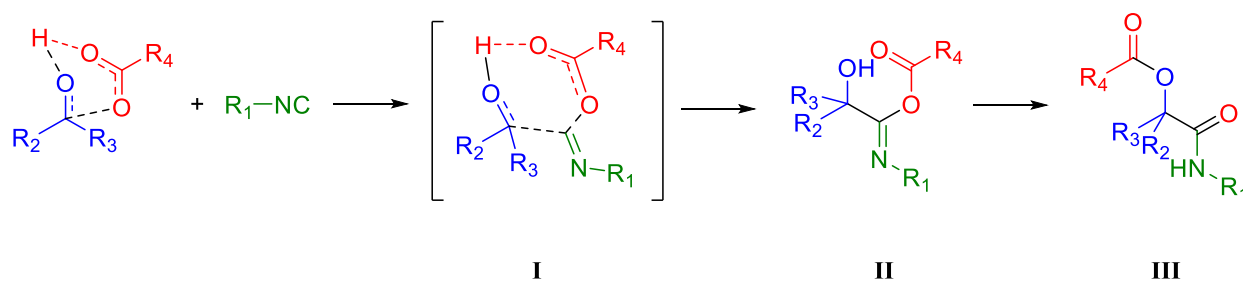
Shema 2. Primjer asimetrične Streckerove sinteze α -aminokiseline.²²

Multikomponentne reakcije

Multikomponentne reakcije su one reakcije u kojima se tri ili četiri komponente dodaju istovremeno, pri istim reakcijskim uvjetima te u jednom koraku nastaje jedan produkt veće ili manje kompleksnosti i strukturalne raznolikosti. Važnost ovih reakcija leži u njihovoj visokoj efikasnosti i varijabilnosti te mogućnosti kombiniranja niza komercijalno dostupnih reagensa čime se postiže veća kompleksnost i raznolikost strukture produkta u samo jednom koraku.

Passerinijeva tro-komponentna i Ugijeva četvero-komponentna reakcija su primjeri MCR koje se oslanjaju na izocijanide. Uvođenje izocijanidne komponente rezultira vrlo stabilnim sekundarnim amidom, što olakšava daljnju sintetsku manipulaciju i post-kondenzacijske modifikacije produkata MCR.

Mehanizam Passerinijeve reakcije prikazan je shemom 3. U ovom usklađenom mehanizmu, karboksilna kiselina i karbonilna skupina se vežu vodikovom vezom te u jednom koraku reagiraju s izocijanidom čime nastaje cikličko prijelazno stanje **I**. Dolazi do α -adicije karbonilne skupine (elektrofila) i karboksilata (nukleofila) na izocijanid dajući intermedijer **II** koji pregradnjom prelazi u konačni Passerinijev produkt **III**. Još je uvijek nerazriješeno koji je korak sinteze limitirajući: α -adicija ili pregradnja.²⁴

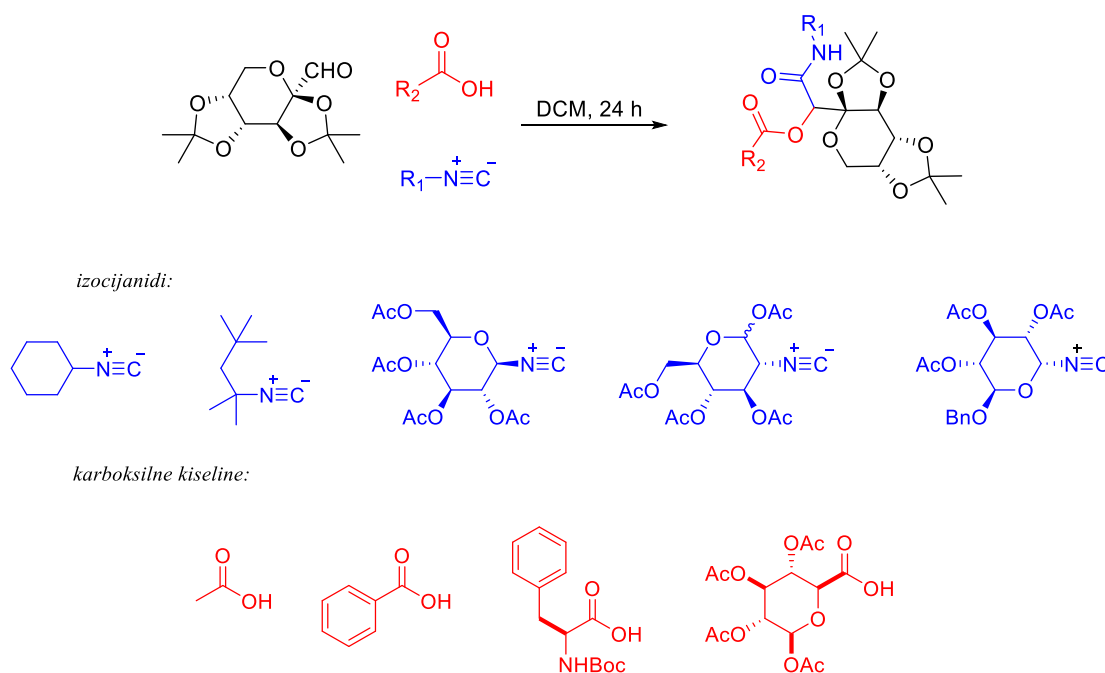


Shema 3. Općeniti mehanizam Passerinijeve reakcije.²³

Svojevremeno raznim MCR, pa tako i Passerinijevoj i Ugijevoj reakciji, je formiranje novog stereogenog centra. Stoga je važna kontrola stereoselektivnosti ovih asimetričnih multikomponentnih reakcija (engl. *AMCRs*) kako bi se dobio strukturno kompleksan i

stereokemijski definiran produkt. Prijašnja istraživanja su pokazala da na diastereoselektivnost MCR znatno utječe struktura aldehida, ali i -OH zaštitne skupine aldehida dobivenog iz ugljikohidrata, položaj karbonilnog C atoma te ostale komponente reakcije.

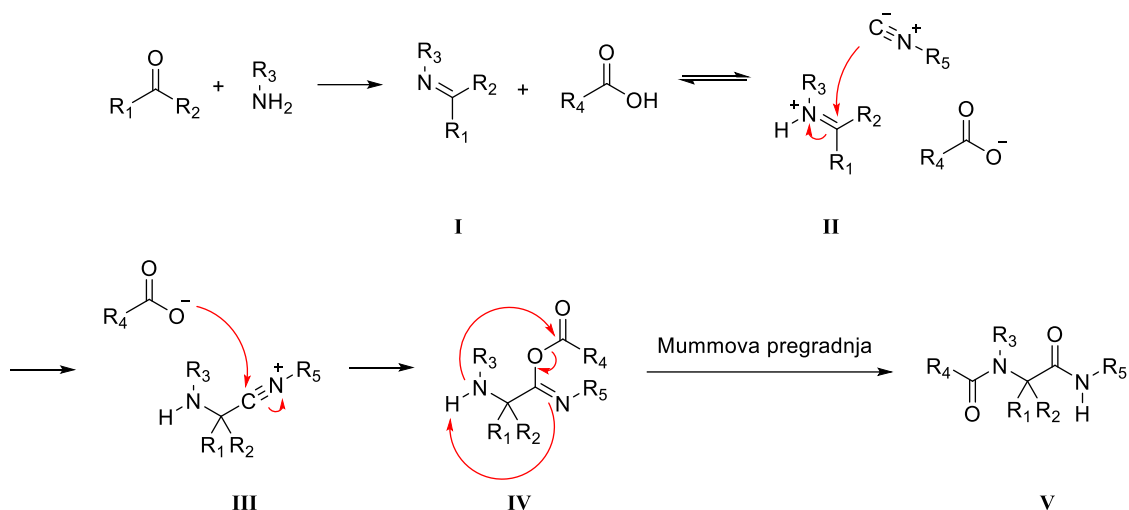
Tako su Vlahoviček-Kahlina i suradnici proveli diastereoselektivne Passerinijeve reakcije s aldehidnim derivatom D-fruktoze, četiri različite karboksilne kiseline te dva komercijalno dostupna izocijanida (cikloheksil-, 1,1,3,3-tetrametilbutil izocijanid) i dva izocijanidna derivata ugljikohidrata (*shema 4*). Kombinacijom početnih reagenasa je dobiveno 20 produkata s dobrim do odličnim iskorištenjima (57 – 80 %) te je gotovo svim produktima određen diastereoselektivni omjer.²⁴



Shema 4. Shema provedene Passerinijeve reakcije; strukture korištenih izocijanida i karboksilnih kiselina.²⁵

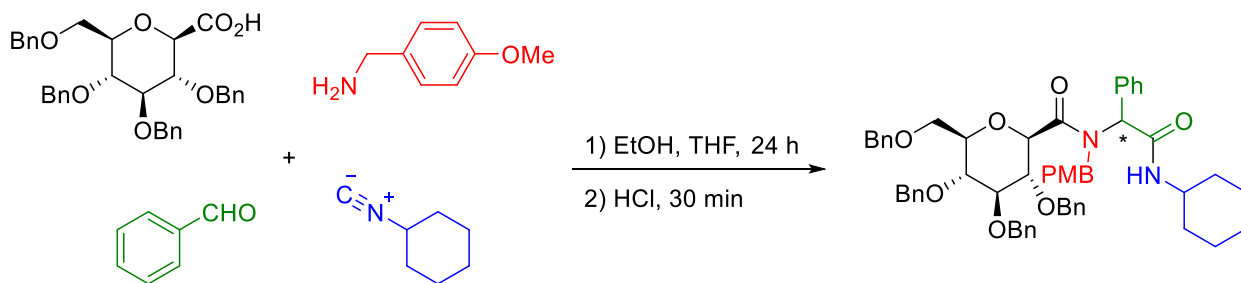
Općeniti mehanizam četverokomponentne Ugijeve reakcije prikazan je shemom 5, u kojoj sudjeluju keton ili aldehyd, amin, izocijanid i karboksilna kiselina, a kao produkt nastaje α -aminoacil-amid. U Ugijevoj reakciji najprije aldehyd ili keton i amin generiraju imin (**I**) koji se protonira vodikom iz karboksilne kiseline, čime se povećava elektrofilnost C=N veze. Izocijanid nukleofilno reagira s aktiviranim ugljikovim atomom imina (**II**), a karboksilatni ion se nukleofilno

adira na ugljikov atom izocijanida (**III**) te nastaje odgovarajući imidat (**IV**). Međutim, konačni Ugijev produkt (**V**) se formira tek nakon Mummove pregradnje.



Shema 5. Mehanizam Ugijeve reakcije.²⁵

Pošto Ugijev produkt ima veću strukturnu raznolikost i složenost, ova se MCR koristi više od Passerinijeve reakcije. Lockhoff je uz razne kombinacije početnih četiri komponenti dobio 22 različita Ugijeva produkta; reakcija je tekla preko noći u etanolu i tetrahydrofuranu (THF), nakon čega je provedena hidroliza u HCl kroz 30 min. Produkt je nakon ekstrakcije s MeOH pročišćen kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela. Primjer jedne takve reakcije je prikazan shemom 6.²⁶

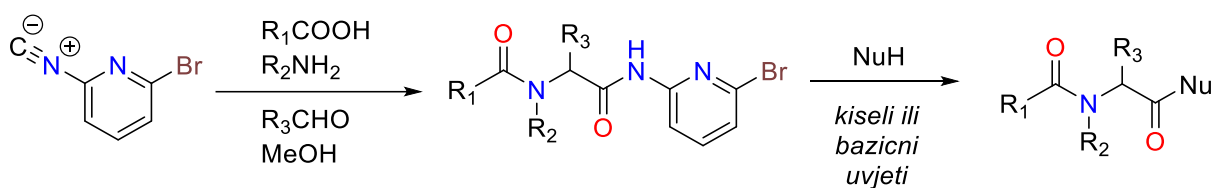


Shema 6. Primjer asimetrične organske sinteze putem Ugijeve reakcije.²⁷

Ograničenje multikomponentnim reakcijama predstavlja slaba komercijalna dostupnost mnogih izocijanida, posebice s biološki aktivnim grupama. 1995. Armstrong uvodi koncept

konvertibilnog izocijanida gdje univerzalni izocijanid ima mogućnost zamjene ostalih izocijanida jer se po završetku MCR može prevesti u drugu funkcijsku skupinu, npr. amid, tioester, ester ili karboksilnu kiselinu. Uvođenjem konvertibilnog izocijanida je znatno proširena molekularna raznolikost produkata.

Potreban je praktični konvertibilni izocijanid koji je dovoljno nukleofilan za reakciju s ostalim reaktantima multikomponentnih reakcija, ali koji će generirati elektrofilni karbonilni ugljik amida nakon same reakcije. Takvi su 2-izocijanopiridini koje su sintetizirali van der Heijden i suradnici, korišteni u Ugijevoj reakciji kao što je prikazano shemom 7.



Shema 7. Primjena novog konvertibilnog izocijanida u Ugijevoj reakciji.²⁷

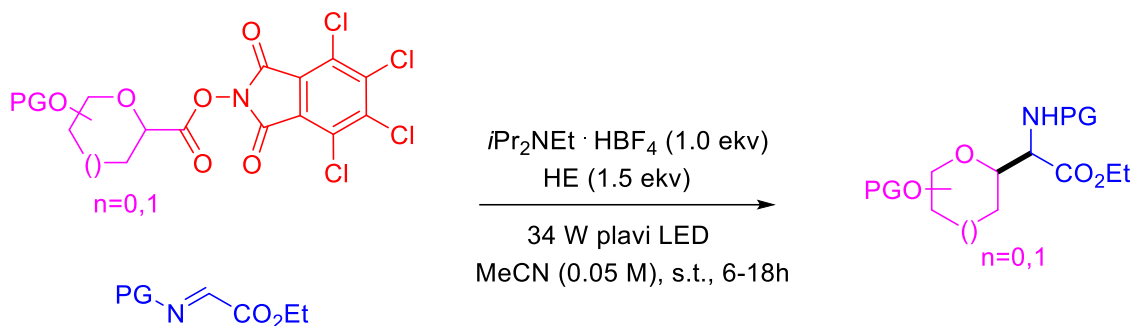
Osim MCRs s izocijanidnom komponentom (Passerinijska i Ugijeva reakcija), razvijene su i MCRs koje se oslanjaju na karbonilne spojeve (Biginelijeva, Mannichova, Gewaldova, Streckerova reakcija, itd.).²⁸

Radikalske reakcije

U posljednjih se 10 godina fotokemijske radikalske reakcije sve više koriste s ciljem brzog pristupa molekularnim bibliotekama novih neprirodnih aminokiselina ili za specifične modifikacije peptida i proteina. U nastavku su kratko opisani fotokemijski sintetski putevi dobivanja C-glikozilnih aminokiselina i njihovih prekursora.

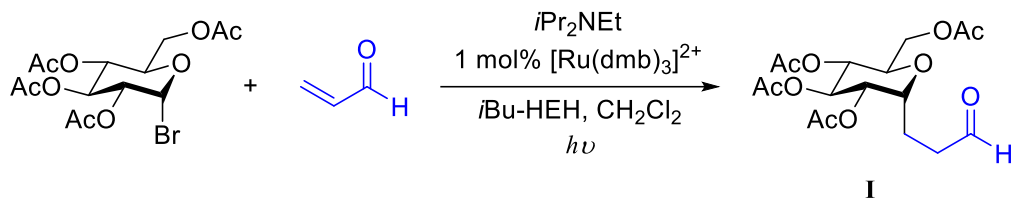
Peng i suradnici su razvili strategiju za fotokemijsku sintezu C-glikozilnih aminokiselina bez korištenja fotosenzibilizatora i metalnih katalizatora (*shema 8*). Opisani sintetski put obuhvaća α -imino estere koji se ponašaju kao elektrofilni u kemoselektivnoj adiciji s nukleofilnim glikozilnim radikalima. Prisutni su blagi reakcijski uvjeti, a C-C veza nastaje polazeći sa zaštićenim i

nezaštićenim šećernim jedinicama.²⁰ Glikozilni radikali se generiraju iz odgovarajućih glikozilnih prekursora te reagiraju s komercijalno dostupnim α -imino-esterima koji predstavljaju elektrofile. Pri tom se umjesto metalnog katalizatora i komercijalnog fotosenzibilizatora koristi Hantzschov ester (HE) koji preuzima ulogu fotosenzibilizatora i donora vodika.

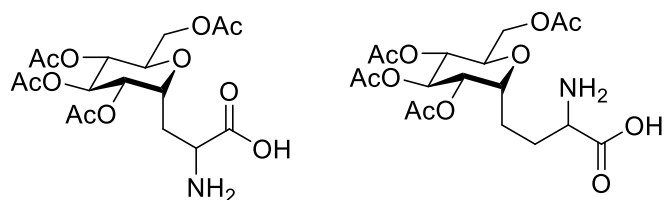


Shema 8. Dobivanje C-glikozilne aminokiseline putem selektivne reakcije elektrofilnog α -imino estera s glikozilnim radikalom.²⁰

Andrews i suradnici su razvili fotoreakcijski sintetski put za dobivanje C-glikozilnog aldehida (shema 9) kojeg su koristili u početnom koraku sinteze C-glikozilne aminokiseline. Primijetili su kako je za dobivanje aldehida **I** u Schlenkovoju tikvici od 25 mL potrebno 24 h radijacije za konverziju od 85 %, dok je u NMR cjevčici promjera 5 mm za konverziju od 73 % potreban samo 1 h radijacije. Efikasnost reakcije su povećali konstrukcijom jednostavnog fotoreakcijskog kontinuiranog protoka. Potom su proveli asimetričnu Streckerovu reakciju za dobivanje derivata amino nitrila te je preko amida, estera i azida dobivena željena C-glikozilna aminokiselina. U fotoreakciji, glikozil-bromid uz katalizator [Ru(dmb)₃]²⁺ (dmb = 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridin) generira radikale koji se putem radikalske adicije adiraju na akrolein, dajući odgovarajući C-glikozilni aldehyd.²⁹

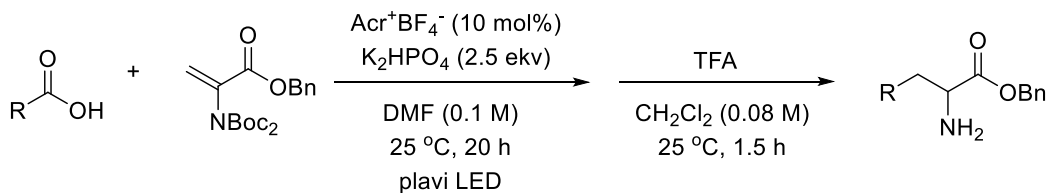


C-glikozilne aminokiseline dobivene iz aldehida **I**

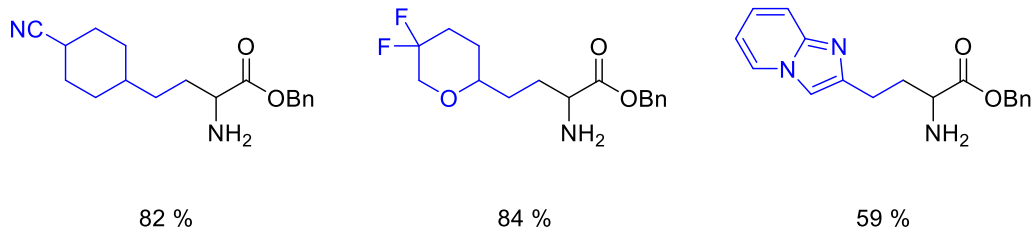


Shema 9. Fotokemijska sinteza glikozilnog aldehida i strukture odgovarajućih glikozilnih aminokiselina.²⁹

Shah je opisao fotokemijsko dobivanje neprirodnih aminokiselina bez metalnog katalizatora u dva koraka (*shema 10*). Sintetski put uključuje komercijalno dostupne karboksilne kiseline kao radikalske prekursore te derivat *N*-Boc₂ dehidroalanina kao radikalskog akceptora.³⁰



Dobivene neprirodne aminokiseline:



Shema 10. Fotokemijska sinteza neprirodnih aminokiselina u dva koraka; primjeri dobivenih produkata.³²

Naš pristup

MCRs odlikuje visoka selektivnost i posebno su prikladne u kombinatornoj kemijskoj sintezi, dajući produkte visokog stupnja čistoće.²¹ Pokazale su se efikasnim sintetskim putem za pripravu kompleksnih, visoko funkcionaliziranih i strukturno različitih glikomimetika – molekula koje oponašaju bioaktivnu funkciju ugljikohidrata ali s poboljšanim farmakološkim svojstvima. Svojstveno im je nastajanje novog stereogenog centra te učinkovitost strategije ovisi o efikasnosti nastajanja strukturno kompleksnih i stereokemijski definiranih produkata. Opažena stereoselektivnost ovisi o položaju aldehidne skupine, OH- zaštitnim skupinama i ostalim reagensima MCR.²⁵ Aldehidni derivati šećera predstavljaju svestran alat u otkrivanju lijekova a prema literaturi su zapostavljeni u MCR s izocijanidima (npr. Passerini, Ugi). U Laboratoriju za biomimetičku kemiju Instituta Ruđer Bošković razvijen je stereoselektivni višekomponentni pristup za sintezu C-glikozilnih aminokiselina, gdje je šećerna jedinica direktno vezana na C α atom. Trokomponentnom Passerinijevom reakcijom se karbonilni spojevi dobiveni iz ugljikohidrata prevode u α -aciloksiamide. Istraženi su različiti ugljikohidrati i ispitana je učinkovitost dobivenih novih aminokiselina u sintezi peptidomimetika.

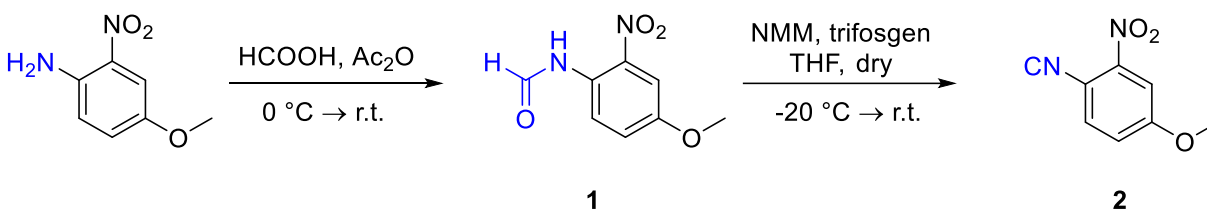
3. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj istraživanja u okviru ovog diplomskog rada je sinteza tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom. Dosadašnjim istraživanjima razvijena je strategija dobivanja neprirodnih C-glikozilnih α -aminokiselina, primjenom dijastereoselektivne Passerinijeve reakcije. Kao izvor C-glikozilne jedinice u Passerinijevoj reakciji koristit će se izopropilidenima zaštićeni aldehidi dobiveni iz odgovarajućih ugljikohidrata (sorboze i fruktoze). U spomenutim reakcijama koristit ćemo tzv. aminokiselinski, odnosno konvertibilni izocijanid koji se vrlo lako ukloni hidrolizom u baznim uvjetima s ciljem dobivanja derivata α -hidroksi-C-glikozilnih kiselina. Post-kondenzacijskim modifikacijama sintetizirat će se neprirodne C-glikozilne α -aminokiseline.

3.1. Sinteza početnih spojeva

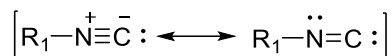
3.1.1. Sinteza konvertibilnog izocijanida

Za sintezu nove neprirodne aminokiseline modifikacijom sorboze korišten je konvertibilni Martensov izocijanid, 1-izocijano-4-metoksi-2-nitrobenzen (**2**), dobiven kroz dva sintetska koraka prikazana na shemi 11. U prvom koraku nastaje formamid **1**, s iskorištenjem od $\eta = 75\%$ te u sljedećem koraku nastaje konvertibilni izocijanid, produkt **2**, također uz iskorištenje od $\eta = 75\%$. Nastajanje željenog produkta **2** utvrđeno je asigniranjem signala ^1H NMR spektra (prilog; a)).



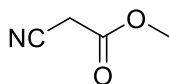
Schema 11. Priprava konvertibilnog izocijanida, 1-izocijano-4-metoksi-2-nitrobenzena (**2**).

Izocijanidi i njihovi derivati se koriste u multikomponentnim reakcijama kao što su Passerinijeva i Ugijeva reakcija, a svoju široku primjenu zahvaljuju svojstvima koja proizlaze iz strukture (slika 14.); na C-atomu reagiraju kao nukleofili, a na N-atomu kao elektrofilni.



Slika 14. Rezonantne strukture izocijanidne skupine.

Dobivanje neprirodne C-glikozilne α -aminokiseline modifikacijom fruktoze uključuje aminokiselinski izocijanid. Pritom je korišten komercijalno dostupan metil izocijanoacetat, čija je struktura prikazana na slici 15.



Slika 15. Aminokiselinski izocijanid korišten za sintetski put B.

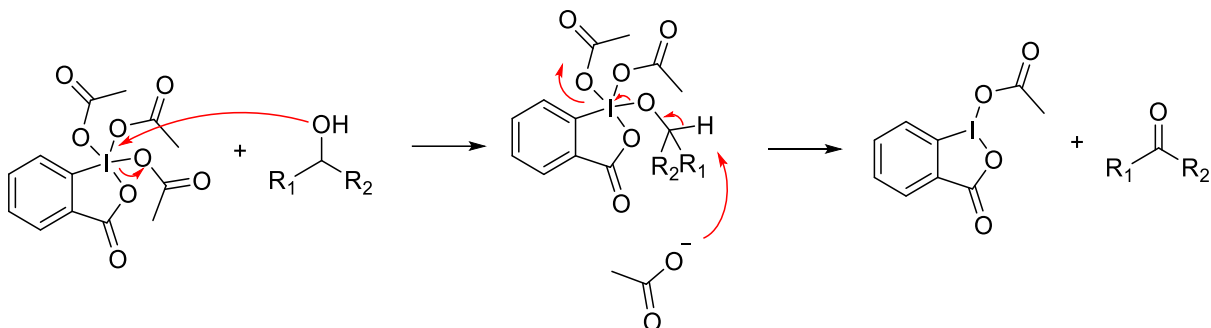
3.1.2. Sinteza ugljikohidratnih aldehida

Sorbozni derivat

Korištena je komercijalno dostupna izopropilidenima zaštićena sorboza te je provedena Dess-Martin oksidacija, kojom se primarna hidroksilna skupina oksidira do aldehidne. Pritom je kao oksidans korišten blagi selektivni reagens Dess-Martin perjodinan (DMP). Reakcija je provedena u DCM pri sobnoj temperaturi te je pročišćeni produkt aldehyd (**3**) dobiven u iskorištenju od $\eta = 58\%$. Asigniranjem ^1H NMR spektra (prilog; b)) potvrđeno je nastanje produkta **3** koji se koristi kao aldehidna komponenta u Passerinijevoj reakciji.

Prednosti ovog hipervalentnog jednog reagensa naspram kromovih i DMSO oksidansa su provođenje oksidacije u blagim uvjetima kao što su sobna temperatura i neutralni pH, viša iskorištenja i kemoselektivnost, kratko vrijeme reakcije i dugi rok trajanja samog oksidansa. Međutim, zbog visoke cijene i potencijalno eksplozivne prirode se ne koristi na velikoj skali, tj u

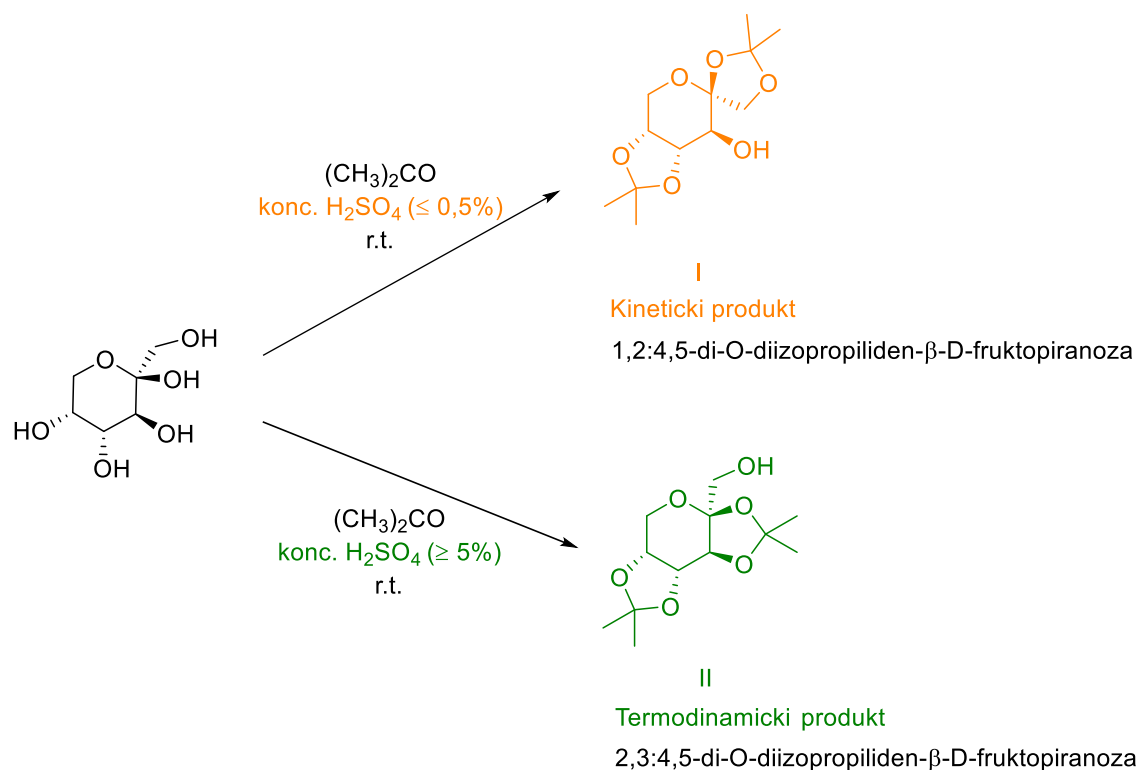
industrijskoj proizvodnji.³¹ Ključan korak mehanizma oksidacije (*shema 12*) je brza zamjena liganda uslijed visokog afiniteta DMP-a prema kompleksiranju hidroksilnih skupina.



Shema 12. Mehanizam oksidacije primarnih ili sekundarnih alkohola uz DMP oksidans.

Fruktozni derivat

Na slobodne -OH skupine fruktoze je potrebno uvesti zaštitne izopropilidenske skupine. Prema ranijim istraživanjima je utvrđeno kako suspenzija kristalne D-fruktoze u acetonu, uz sumpornu kiselinu kao katalizator, dovodi do nastajanja dva acetala: 1,2:4,5-di-O-diizopropiliden- β -D-fruktopiranoza (α -diaceton-D-fruktoza) i 2,3:4,5-di-O-diizopropiliden- β -D-fruktopiranoza (β -diaceton-D-fruktoza). Brzina reakcije ovisi o koncentraciji katalizatora sumporne kiseline ili o prisutnosti drugog katalizatora kao što je $ZnCl_2$. Prilagođavanjem reakcijskih uvjeta moguće je izolirati jedan izomer u zadovoljavajućem iskorištenju (*shema 13*).³²



Shema 13. Uvođenje zaštitnih skupina izopropilidena na D-fruktozu.³²

Tako u reakciji s niskom koncentracijom kiseline ($\text{H}_2\text{SO}_4 \leq 0,5\%$) kao produkt nastaje diacetal **I**. Dobiveni kinetički produkt brzo izomerizira do termodinamičkog produkta, diacetala **II**. Međutim, produkt **I** je moguće izolirati u zadovoljavajućem iskorištenju ukoliko se reakcija zaustavi prije postizanja ravnoteže između izomera. Diacetal **I** je produkt kinetički kontrolirane kondenzacije D-fruktoze s acetonom te nastaje vrlo brzo, vjerojatno kao posljedica veće reaktivnosti primarne -OH skupine na C1 atomu. Uočeno je kako diacetal **II** uvelike prevaldava pri ravnoteži, što ga čini termodinamički stabilnijem od diacetala **I**. Tako u reakciji s visokom koncentracijom kiseline ($\text{H}_2\text{SO}_4 \geq 5\%$) najprije nastaje kinetički produkt **I** koji vrlo brzo izomerizira u termodinamički produkt **II** kojeg je moguće izolirati u zadovoljavajućem iskorištenju. Koncentracije katalizatora koje iznose 0,5 – 5 % daju smjesu izomera diacetala **I** i **II**.²⁹

Uz koncentriranu sumpornu kiselinu kao katalizator dobiven je termodinamički produkt (**11**) u zadovoljavajućem iskorištenju, $\eta = 87\%$. Derivat fruktoze je u sljedećem stupnju podvrgnut

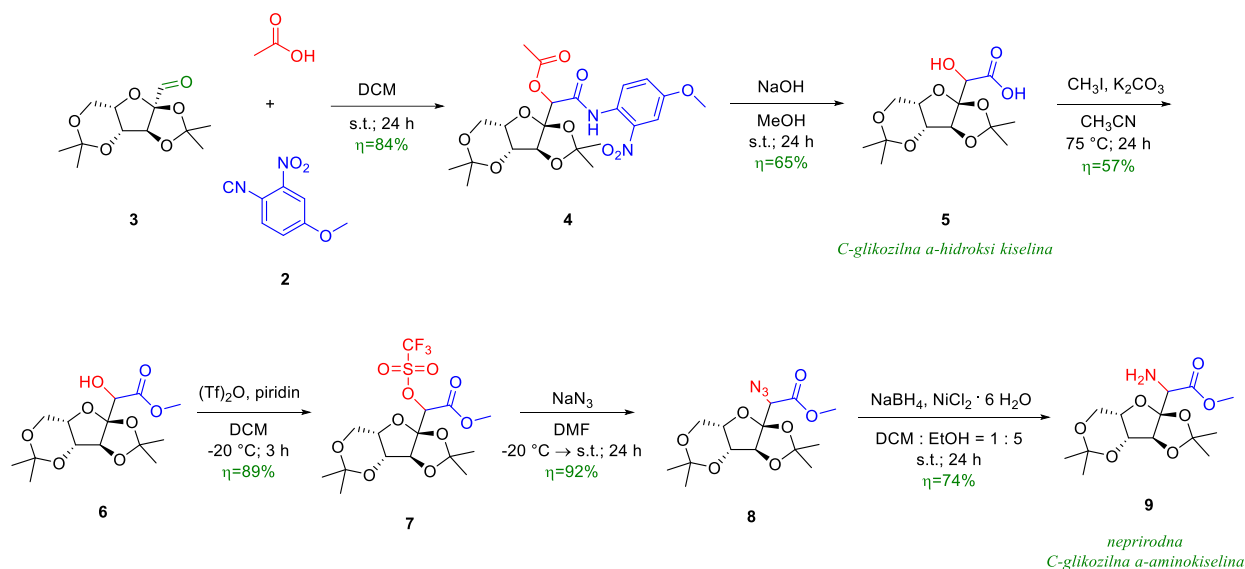
oksidaciji u svrhu dobivanja aldehida. Prisutnost zaštitnih izopropilidenskih skupina na fruktozi i sorbozi potvrđena je karakterističnim signalima ^1H NMR spektara (prilog; b-n)).

U prvom reakcijskom koraku uvedena je izopropilidenska zaštita na odgovarajući ugljikohidrat. Zatim slijedi Dess-Martin oksidacija s ciljem dobivanja željenog šećernog aldehida. Dess-Martin oksidacija je provedena u DCM pri sobnoj temperaturi te je mehanizam reakcije isti kao i za dobivanje aldehidnog derivata sorboze. Pročišćeni produkt je aldehyd (**12**) dobiven u iskorištenju od $\eta = 92\%$ te se koristi kao karbonilna komponenta u Passerinijevoj reakciji.

3.2. Sinteza Passerinijevih produkata i post-kondenzacijske modifikacije pripremljenih C-glikozilnih α -hidroksi-kiselina

Multikomponentne reakcije su vrijedan sintetski alat za efikasno generiranje strukturno i stereokemijski različitih klasa spojeva među identificiranim bioaktivnim metama.²¹ U izradi ovog diplomskog rada korištena je Passerinijeva reakcija, koju je 1921. opisao Mario Passerini u talijanskom znanstvenom časopisu *Gazzetta Chimica Italiana*. Poseban interes za ovom reakcijom su potaknule post-kondenzacijske transformacije koje generiraju peptidomimetike, heterocikle, itd.³³

3.2.1. Sorbozni derivat

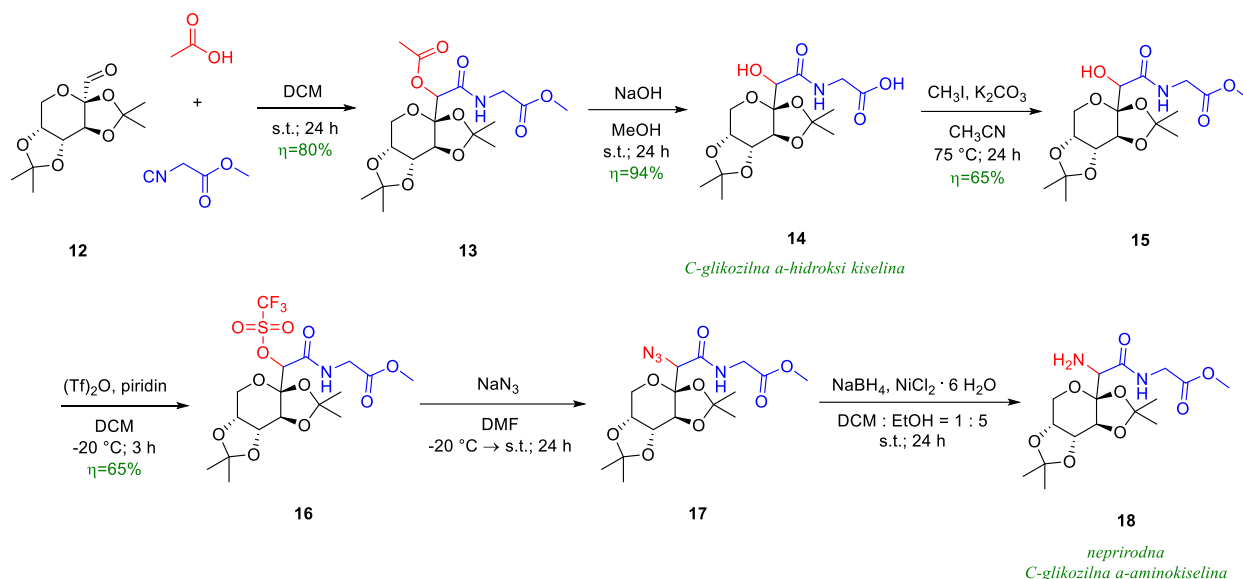


Shema 14. Sintetski put A – reakcije uz sorbozni derivat.

Provedena je dijastereoselektivna Passerinijeva reakcija s ciljem uvođenja C-glikozilne komponente. Pri tom su za početne spojeve ove MCR korišteni aldehid izopropilidenima zaštićene sorboze (3), konvertibilni izocijanid (2) i octena kiselina uz navedene reakcijske uvjete (shema 14). Prema prijašnjim istraživanjima Passerinijevih produkata nastalih kondenzacijom aldehida (3) i različitih karboksilnih i izocijanidnih komponenata, konfiguracija novonastalog glavnog dijastereoizomera je određena kao *S*. Tako je i Passerinijevom produktu (4) pripisana *S* konfiguracija novonastalog kiralnog centra, uz pretpostavljen napad izocijanida s pro-*S* strane aldehida. U narednom sintetskom koraku je hidrolizom u baznim uvjetima dobivena odgovarajuća C-glikozilna α -hidroksi kiselina (5). Kako bi se dobila željena neperidone C-glikozilna α -aminokiselina produkt hidrolize je podvrgnut post-kondenzacijskim modifikacijama. Tako je prvi sljedeći korak bilo metiliranje α -hidroksi kiseline, kako bi se zaštitio -OH dio karboksilne skupine. Generiranje $-\text{NH}_2$ iz -OH skupine provodi se u tri sintetska koraka: prevođenje -OH skupine u dobro izlazeću skupinu triflata, nukleofilna supstitucija uz NaN_3 te naposljetku redukcija $-\text{N}_3$ u $-\text{NH}_2$ skupinu.

Produkti sintetskog puta A (4-9) su dobiveni s dobrim do izvrsnim iskorištenjima (57-92 %) te su sve strukture potvrđene asigniranjem signala ^1H NMR spektra (prilog; c-g).

3.2.2. Fruktozni derivat



Shema 15. Sintetski put B – reakcije uz fruktozni derivat.

Sintetski put B (*shema 15*) opisuje provođenje dijastereoselektivne Passerinijeve reakcije i naredne modifikacije u svrhu dobivanja željene neprirodne C-glikozilne α -aminokiseline. Pri tom je Passerinijeva reakcija provedena uz aldehyd izopropilidenima zaštićene fruktoze (**12**), metil izocijanoacetat i octenu kiselinu pri navedenim sintetskim uvjetima. Dobiveni Passerinijev produkt je podvrgnut hidrolizi u bazičnim uvjetima zbog kiselog karaktera zaštitnih izopropilidenskih skupina. Kako bi se omogućilo selektivno uvođenje dobro odlazeće triflatne skupine, najprije je provedeno metiliranje karboksilne skupine novonastale α -hidroksi kiseline (**14**). Slobodna α -hidroksilna skupina produkta metiliranja (**15**) se aktivira u reakciji s anhidridom trifluormetansulfonske kiseline ((Tf)₂O), pri čemu nastaje odgovarajući triflatni derivat (**16**). U sljedećem sintetskom koraku dolazi do nukleofilne S_N2 supstitucije – **16** u reakciji s natrijevim azidom (NaN₃) što dovodi do nastajanja odgovarajućeg azida (**17**). Azid N₃⁻ je iznimno dobar nukleofil te sudjeluje u S_N2 reakcijama s alkil halidima i sulfonatima. Pritom dolazi do inverzije konfiguracije: nukleofilni N₃⁻ napada C _{α} -atom sa suprotne strane u odnosu na položaj odlazeće skupine – triflata. Korištenje azida predstavlja odličan sintetski put za dobivanje primarnih amina, pošto se azid vrlo lako reducira do -NH₂ skupine. Tako je dobivanje C-glikozilne α -aminokiseline

(18) planirano redukcijom 17 s natrij borhidridom (NaBH_4) uz prisutnost katalitičke količine niklovog (II) klorida heksahidrata ($\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$).

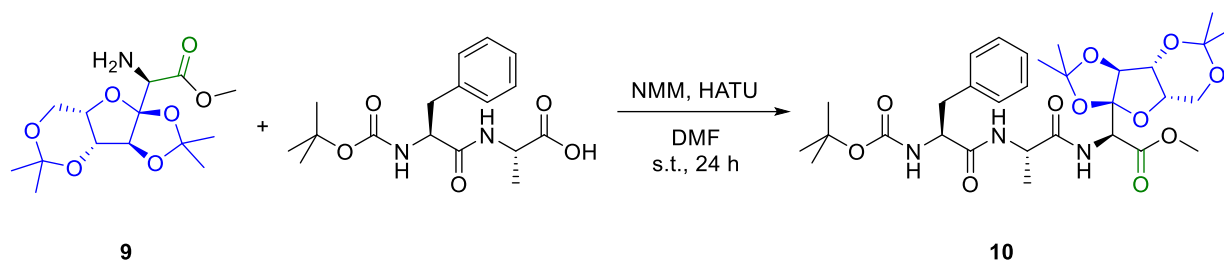
Prema sintetskom putu B, produkti 13-16 nastaju uz dobra do izvrsna iskorištenja (65 – 94 %) te je njihovo nastajanje potvrđeno asigniranjem signala snimljenih ^1H NMR spektara (prilog; j-m)). Međutim, nismo uspjeli pripraviti azid (17) te u reakcijskoj smjesi zaostaje polazni spoj 16, triflatni derivat, što je potvrđeno asigniranjem ^1H NMR spektara (prilog; m, n). Također, nastajanje C-glikozilne aminokiseline (18) prema ^1H NMR spektru nije dokazano te pretpostavljamo da je uzrok nepovoljna geometrija spoja.

3.3. Sinteza tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom

Peptidna ili amidna veza povezuje dvije aminokiseline i to α -karboksilnu skupinu jedne aminokiseline s α -amino skupinom druge, pri čemu dolazi do gubitka molekule vode. Planarna peptidna veza može imati obje konfiguracije te gotove sve peptidne veze u proteinima pokazuju *trans*-konfiguraciju koja je povoljnija zbog steričkih smetnji u *cis*-konfiguraciji. Nadalje, oko peptidne veze je sprječena rotacija zbog izraženog karaktera dvostruke veze.

Za nastajanje željenog peptida potrebno je osigurati visoku razinu kemoselektivnosti korištenjem zaštitnih skupina i reagensa za aktivaciju. Naime, ukoliko su u obje aminokiseline koje sudjeluju u reakciji slobodne i karboksilna i amino skupina moguće je nastajanje peptidne veze između neželjenih *N*- i *C*- krajeva, dajući nusprodukte. Za sintezu tripeptida (10) je provedena kondenzacija novonastale neprirodne C-glikozilne α -aminokiseline (9) i komercijalno dostupnog prirodnog dipeptida (Boc-Phe-Ala-OH). Dipeptid na *N*-kraju ima vezanu Boc-zaštitnu skupinu (*tert*-butiloksikarbonilnu skupinu) koja se lako uklanja u kiselim uvjetima, dok je *C*-kraj slobodan. Upravo će karboksilna skupina dipeptida reagirati sa slobodnom amino-skupinom neprirodne aminokiseline (9). U kondenzacijskoj reakciji je kao baza korišten *N*-metilmorfolin, dok je kao

aktivacijski reagens odabran HATU (1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinijev 3-oksidi heksafluorofosfat) (*shema 16*).



Shema 16. Sintetski put za dobivanje željenog tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Materijali i metode

Kemikalije korištene u sintezi bile su analitičke čistoće dok su otapala pročišćena prema standardnim literaturnim postupcima.³⁴ U pojedinim sintetskim koracima korišteni su sljedeći reagensi i otapala: D-fruktoza, 2,3;4,5-di-O-izopropiliden- α -L-sorbofuranoza, Dess-martin perjodinan (DMP), metil jodid, anhidrid trifluormetansulfonkse kiseline, natrijev borhidrid, niklov (II) klorid heksahidrat, (O-(7- azabenzotriazol-1-il))-1,1,3,3-tetrametilamonijev heksafluorofosfat (HATU), piridin, *N*-metilmorfolin, koncentrirana sumporna kiselina, octena kiselina, aceton, diklormetan, petroleter, etilacetat, acetonitril, etanol, metanol, dimetilformamid, natrijev hidroksid, zasićena vodena otopina natrijevog hidrogenkarbonata, zasićena vodena otopina natrijevog klorida, 10% vodena otopina kalijevog hidrogensulfata, vodena otopina natrijevog tiosulfata pentahidrata, bezvodni natrijev sulfat.

Tijek reakcije, kontrola čistoće i preliminarna identifikacija produkata je određivana tankoslojnom kromatografijom (TLC) provedenom na pločicama silikagela (Silica Gel 60 F254, Merck; Darmstadt, Germany). Spojevi koji apsorbiraju u UV području, detektirani su pod UV svjetlom ($\lambda = 254 \text{ nm}$) ili korištenjem *p*-anisaldehida i ninhidrina uz zagrijavanje, pripremljenima prema literaturnim propisima. Za pročišćavanje i izolaciju pripremljenih spojeva korištena je kromatografija na stupcu uz kruti adsorbens silikagel (Silica Gel 60 F254, Merck; Darmstadt, Germany).

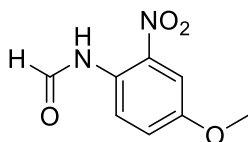
Spojevi su identificirani s ^1H i ^{13}C tehnikama nuklearne magnetske rezonancije. NMR spektri su snimljeni na instrumentu Bruker Avance 600 MHz (600,13 MHz, ^1H ; 150,91 MHz, ^{13}C) u detueriranom kloroformu (CDCl_3), deuteriranom acetonitrilu (CD_3CN) i deuteriranom dimetilsulfoksidu (DMSO) pri 298 K. Kemijski pomaci su izraženi relativno na unutarnji standard, tetrametilsilan ($(\text{CH}_3)_4\text{Si}$, TMS), u ppm vrijednostima.

4.2. Sinteza početnih spojeva

Sinteza konvertibilnog izocijanida

Sinteza *N*-(4-metoksi-2-nitrofenil)formamida (**1**)

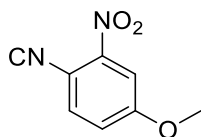
Acetanhidrid (Ac_2O ; 1,25 ekv; 22,30 mmol; 2,1 mL) je pažljivo dokapan ohlađenoj ($0\text{ }^\circ\text{C}$) mravljoj kiselini (HCOOH ; 31,20 ekv; 556,65 mmol; 21 mL). Ohlađenoj otopini ($0\text{ }^\circ\text{C}$) je dodan 4-metoksi-2-nitroanilin ($\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$; 17,84 mmol; 3 g). Miješanje je nastavljeno 3 h na sobnoj temperaturi. Reakcija je zaustavljena dodatkom hladne destilirane vode pri čemu nastaje gusta žuta suspenzija koja je profiltrirana uz vakuum preko sinter lijevka. Zaostali talog je prekrizaliziran iz etanola (60 mL). Dobiven je konačni produkt u obliku žutog praha (2,64 g; $\eta=75\%$), koji je korišten u narednom sintetskom koraku.



$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$; $\text{Mr} = 196,16$; $\eta = 75\%$ (2,64 g).

Sinteza 1-izocijano-4-metoksi-2-nitrobenzena (**2**)

Pripravljeni formamid **1** ($\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4$; 5,10 mmol; 1,0 g) je otopljen u suhom tetrahidrofuranu (THF; 51 mL). U ohlađenu otopinu ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) je dokapan *N*-metil-morfolin (NMM; 4 ekv; 20,39 mmol; 2,2 mL), a potom je dodan trifosgen ($\text{C}_3\text{Cl}_6\text{O}_3$; 0,5 ekv; 2,55 mmol; 756,4 mg). Miješanje je nastavljeno preko noći na sobnoj temperaturi. Reakcija je zaustavljena dodatkom zasićene vodene otopine natrijeva hidrogenkarbonata (NaHCO_3 ; 50 mL) te je provedena ekstrakcija sustavom DCM/ NaHCO_3 (zas.). Organski sloj je uparen. Ostatak zaostao uparavanjem je pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela ($h = 10\text{ cm}$) gdje je kao eluens korišten sustav otapala PE:EA = 1:1. Izoliran je produkt u obliku crvenog praha (683,2 mg; $\eta=75\%$).



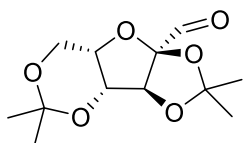
$C_8H_6N_2O_3$; $M_r = 178,15$; $\eta = 75\%$ (683,2 mg); 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm 7.57 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.9, 2.8$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H).

Sinteza ugljikohidratnog aldehida

Sorbozni derivat

Sinteza (3a*S*, 3b*R*, 7a*S*, 8a*R*)-2,2,5,5,-tetrametiltetrahidro-8a*H*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8a-karbaldehida (**3**)

2,3:4,5-di-O-izopropiliden- α -L-sorbofuranosa ($C_{12}H_{20}O_6$; 1,90 mmol; 495,1 mg) je otopljena u suhom diklormetanu (DCM; 10 mL) te je dodan Dess-Martin perjodinan (DMP; 1,1 ekv; 2,09 mmol; 887,4 mg) u nekoliko manjih obroka.. Miješanje je nastavljeno preko noći pri sobnoj temperaturi u struji argona/u internoj atmosferi argona. Reakcija je zaustavljena dodatkom vodene otopine $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$ (3 g; 20 mL) i zasićene vodene otopine $NaHCO_3$ (20 mL). Provedena je ekstrakcija sustavom DCM/NaCl (zas.) te je organski sloj osušen iznad bezvodnog natrijevog sulfata (Na_2SO_4) nakon čega je profiltriran, a otapalo je upareno. Zaostali produkt je pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela ($h = 5$ cm) pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE/EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku bijelog ulja (574,7 mg; $\eta=58\%$).

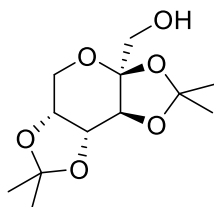


$C_{12}H_{18}O_6$; $M_r = 258,27$; $\eta = 58\%$; (574,7 mg); 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 9.68 (s, 1H), 4.58 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 4.55 (s, 1H), 4.33 (dd, $J = 5.8, 2.6$ Hz, 1H), 4.31 – 4.28 (m, 1H), 4.24 (dd, $J = 3.9, 1.9$ Hz, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.38 (s, 3H).

Fruktozni derivat

Sinteza ((3a*S*, 5a*R*, 8a*R*, 8b*S*)-2,2,7,7,-tetrametiltetrahidro-3a*H*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3a-il)metanola (**11**))

D-fruktoza (55,5 mmol; 10 g) je otopljena u acetonu (C₃H₆O; 208,3 mL) i ohlađena na 0 °C. Zatim je polagano dokapana konc. sumporna kiselina (H₂SO₄; 10,5 mL) uz miješanje, sve dok se fruktoza u potpunosti ne otopi. Miješanje je nastavljeno pri sobnoj temperaturi 90 min. Potom je reakcijska smjesa ohlađena na 0 °C te je polako dokapana ohlađena vodena otopina NaOH (30 g u 150 mL vode). Otapalo je upareno te je zaostala vodena suspenzija ekstrahirana s DCM/NaCl (zas.). Organski sloj je ispran vodom i osušen iznad bezvodnog Na₂SO₄, profiltriran, a otapalo je upareno. Sirovi produkt je rekristaliziran iz vrijućeg etera (5 mL/g) s dodatkom hladnog pentana. Produkt je dobiven u obliku žute krutine (9,72 g; η=90%).

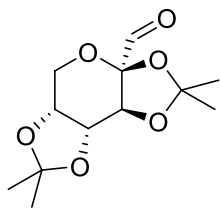


C₁₂H₂₀O₆; Mr = 260, 29; η = 90 % (9,72 g).

Sinteza (3a*R*, 5a*R*, 8a*R*, 8b*S*)-2,2,7,7,-tetrametiltetrahidro-3a*H*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3a-karbaldehida (**12**))

Izopropilidenima zaštićena D-fruktoza (**11**) je otopljena u suhom DCM (10 mL) te je dodan Dess-Martin perjodinan (DMP; 1,1 ekv; 2,21 mmol; 939,2 mg) u nekoliko manjih obroka. Miješanje je nastavljeno preko noći pri sobnoj temperaturi u struji argona. Reakcija je zaustavljena dodatkom vodene otopine Na₂S₂O₃ · 5 H₂O (3 g; 20 mL) i zasićene vodene otopine NaHCO₃ (20 mL). Provedena je ekstrakcija sustavom DCM/NaCl (zas.). Organski sloj je osušen iznad bezvodnog Na₂SO₄, nakon čega je profiltriran, a otapalo je upareno. Zaostali produkt je pročišćen

brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 10 cm) pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE/EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku žutog ulja (493,7 mg; η =92%).



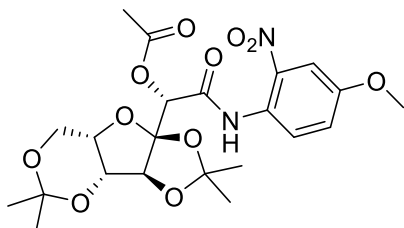
$C_{12}H_{18}O_6$; Mr = 258,27; η = 92 % (493,7 mg).

4.3. Sinteza Passerinijevih produkata i post-kondenzacijske modifikacije pripremljenih C- glikozilnih α -hidroksi kiselina

4.3.1. Passerinijeva reakcija

Sinteza (S)-2-((2-amino-4-metoksifenil)amino-2-okso-1-((3a*S*, 3b*R*, 7a*S*, 8a*R*)-2,2,5,5-tetrametiltetrahydro-8a*H*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8a-il)etil acetata (**4**)

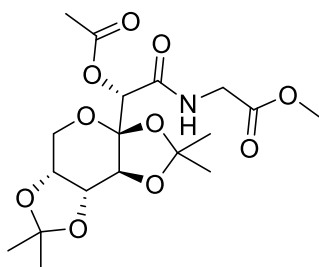
Aldehid izopropilidenima zaštićene-sorboze (**3**; 2,19 mmol; 564,7 mg) je otopljen u suhom DCM (4,45 mL) te su dodani konvertibilni izocijanid (**2**; 1 ekv; 2,19 mmol; 390,1 mg) i octena kiselina (CH₃COOH; 1 ekv; 2,19 mmol; 0,13 mL). Miješanje je nastavljeno 24 h pri sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno po završetku reakcije. Ostatak zaostao uparavanjem je očišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 20 cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE:EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku crveno-narančastog ulja (929,5 mg; η =84%).



C₂₂H₃₀N₂O₉; Mr = 466,49; η = 84 % (929,5 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 10.99 (s, 1H), 8.75 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.19 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 4.52 (s, 1H), 4.37 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.27 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 4.09 (dd, *J* = 13.7, 2.3 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

Sinteza metil ((*S*)-2-acetoksi-2-((3*aR*, 5*aR*, 8*aR*, 8*bS*)-2,2,7,7,-tetrametiltetrahidro-3*aH*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3*a*-il)acetil)glicinata (**13**)

Aldehid izopropilidenima zaštićene fruktoze (**12**; 1,21 mmol; 311,8 mg) je otopljen u suhom DCM (2,41 mL), dodan je glicinski izocijanid (C₄H₅NO₂; 1 ekv; 1,21 mmol; 0,11 mL) i octena kiselina (CH₃COOH; 1 ekv; 1,21 mmol; 0,07 mL). Miješanje je nastavljeno 24 h pri sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno po završetku reakcije. Ostatak zaostao uparavanjem je očišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 10 cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE:EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku bistrog bezbojnog ulja (404,8 mg; η=80%).

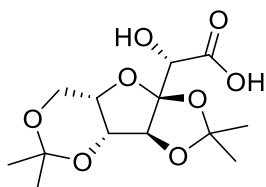


C₁₈H₂₇NO₁₀; Mr = 417; 41; η = 80 % (404,8 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.00 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.62 (dd, *J* = 7.9, 2.8 Hz, 1H), 4.39 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 4.26 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 4.11 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.06 (dd, *J* = 18.5, 4.9 Hz, 1H), 3.95 (dd, *J* = 13.0, 1.9 Hz, 1H), 3.86 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

4.3.2. Hidroliza Passerinijevog produkta

Sinteza (*S*)-2-hidroksi-2-((3*aS*, 3*bR*, 7*aS*, 8*aS*)-2,2,5,5,-tetrametiltetrahidro-8*aH*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8*a*-il)octena kiseline (**5**)

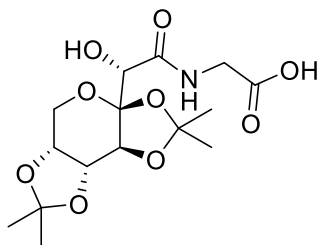
Passerinijev produkt (**4**; 1,85 mmol; 919,5 mg) je otopljen u metanolu (MeOH; 18,73 mL) te je dodan natrijev hidroksid (NaOH; 5 ekv; 9,26 mmol; 370,5 mg). Miješanje je nastavljeno preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno po završetku reakcije. Ostatak zaostao uparavanjem je očišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 20 cm), pri čemu je kao eluens najprije korišten sustav otapala: PE:EA = 1:1, a zatim: EA:EtOH:AcOH:H₂O = 70:10:2:2. Izoliran je produkt u obliku žuto-smeđe krutine (372 mg; η=65%).



C₁₃H₂₀O₈; Mr = 304, 40; η = 65% (372 mg).

Sinteza ((*S*)-2-hidroksi-2-((3*aS*, 5*aR*, 8*aR*, 8*bS*)-2,2,7,7,-tetrametiltetrahidro-3*aH*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3*a*-il)acetil)glicina (**14**)

Passerinijev produkt (**13**; 0,95 mmol; 394,8 mg) je otopljen u metanolu (10 mL) te je dodan NaOH (5 ekv; 4,73 mmol; 193,9 mg). Miješanje je nastavljeno preko noći na sobnoj temperaturi. Otapalo je upareno po završetku reakcije. Ostatak zaostao uparivanjem je očišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 10 cm), pri čemu je kao eluens najprije korišten sustav otapala: DCM:MeOH = 10:1, a zatim: DCM:MeOH = 2:1. Izoliran je produkt u obliku bijele krutine (320,1 mg; η=94%).

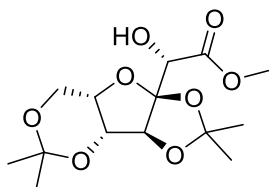


$C_{15}H_{23}NO_9$; Mr = 361,35; $\eta = 94\%$ (320,1 mg); 1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 4.60 (dd, $J = 7.9, 2.6$ Hz, 1H), 4.47 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 4.24 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.73 (dd, $J = 13.0, 1.8$ Hz, 1H), 3.67 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 3.61 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.29 (s, 3H).

4.3.3. Metiliranje C-glikozilne α -hidroksi kiseline

Sinteza metil-(*S*)-2-hidroksi-2-((3*aS*, 3*bR*, 7*aS*, 8*aS*)-2,2,5,5,-tetramiltetrahidro-8*aH*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8*a*-il)acetata (**6**)

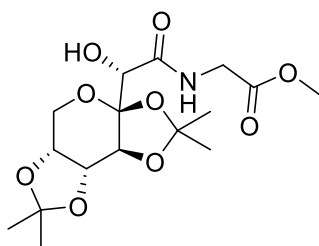
Produkt prethodnog reakcijskog koraka **5** (1,22 mmol; 372 mg) je otopljen u acetonitrilu (CH_3CN ; 12,22 mL) te je dodan kruti kalijev karbonat (K_2CO_3 ; 1,5 ekv; 1,83 mmol; 253,3 mg), dok je metil-jodid (CH_3I ; 3 ekv; 3,66 mmol; 0,23 mL) polako dokapavan. Miješanje je nastavljeno preko noći uz refluks pri temperaturi uljne kupelji od 75 °C. Reakcijska smjesa je uparena po završetku reakcije te je provedena ekstrakcije sustavom EA/ $NaHCO_3$ (zas.). Organski je sloj osušen iznad bezvodnog Na_2SO_4 , potom je profiltriran a otapalo je upareno. Sirovi je produkt pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela ($h = 17$ cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE:EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku žuto-smeđe krutine (221 mg; $\eta=57\%$).



C₁₄H₂₂O₈; Mr = 318,22; η = 57% (221 mg); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.73 (s, 1H), 4.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.35 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 4.18 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 1.5 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.51 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.37 (s, 3H).

Sinteza metil-((*S*)-2-hidroksi-2-((3*aS*, 5*aR*, 8*aR*, 8*bS*)-2,2,7,7-tetrametiltetrahydro-3*aH*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3*a*-il)acetil)glicinata (**15**)

Produkt prethodnog reakcijskog koraka **14** (0,83 mmol; 300,1 mg) je otopljen u DMF (1,66 mL) te je dodan kruti K₂CO₃ (1,5 ekv; 1,24 mmol; 172,2 mg), dok je CH₃I (3 ekv; 2,49 mmol; 0,15 mL) polako dokapavan. Miješanje je nastavljeno preko noći uz refluks pri temperaturi uljne kupelji od 75 °C. Reakcijska smjesa je uparena po završetku reakcije te je provedena ekstrakcija sustavom EA/NaHCO₃ (zas.). Organski sloj je osušen iznad bezvodnog Na₂SO₄, potom je profiltriran a otapalo je upareno. Sirovi je produkt pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 15 cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala DCM:MeOH = 10:1. Produkt je izoliran u obliku žutog ulja (247,2 mg; η=79%).

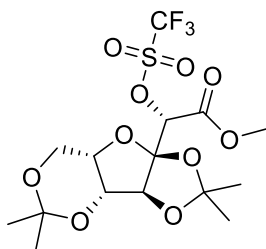


C₁₆H₂₅NO₉; Mr = 375,37; η = 79 % (247,2 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 5.30 (s, 1H), 4.71 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 4.65 (dd, *J* = 7.9, 2.8 Hz, 1H), 4.26 – 4.21 (m, 2H), 4.16 – 4.13 (m, 2H), 4.04 (dd, *J* = 18.3, 4.6 Hz, 1H), 3.96 (dd, *J* = 12.9, 1.8 Hz, 1H), 3.84 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.36 (s, 3H).

4.3.4. Prevođenje u triflatni derivat

Sinteza metil-(*S*)-2-((3*aS*, 3*bR*, 7*aS*, 8*aR*)-2,2,5,5,-tetramiltetrahidro-8*aH*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8*a*-il)-2-(((trifluorometil)sulfonil)oksi)acetata (**7**)

Metilni ester dobiven u prethodnom koraku (**6**; 0,66 mmol, 211 mg) je otopljen u suhom DCM (16,57 mL). Ohlađenoj otopini (-20 °C) je dodan piridin (C₅H₅N; 10 ekv; 6,63 mmol; 0,47 mL), a potom je pažljivo dodan anhidrid trifluorometansulfonske kiseline (Tf₂O; 3 ekv; 1,99 mmol; 0,33 mL). Miješanje je nastavljeno 5 h u atmosferi argona. Reakcijska je smjesa ekstrahirana vodom, 10% vodenom otopinom KHSO₄, zasićenom vodenom otopinom NaHCO₃ i zasićenom vodenom otopinom NaCl. Organski sloj je osušen iznad bezvodnog Na₂SO₄ te profiltriran, a otapalo je upareno. Produkt je izoliran u obliku žute krutine (265 mg; η=89%).

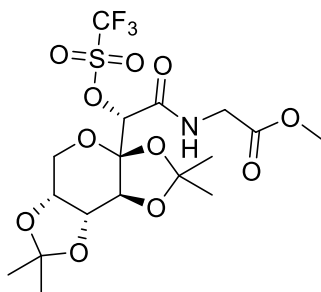


C₁₅H₂₁F₃O₁₀S; Mr = 450,38; η = 89 % (265 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 5.33 (s, 1H), 4.62 (s, 1H), 4.36 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 4.22 (dd, *J* = 4.3, 2.2 Hz, 1H), 4.06 – 4.05 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.38 (s, 3H).

Sinteza metil-((*S*)-2-((metilsulfonil)oksi-2-((3*aR*, 5*aR*, 8*aR*, 8*bS*)-2,2,7,7,-tetramiltetrahidro-3*aH*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3*a*-il)acetil)glicinata (**16**)

Metilni ester dobiven u prethodnom reakcijskom koraku (**15**; 0,62 mmol; 233,2 mg) je otopljen u suhom DCM (15,5 mL). Ohlađenoj otopini (-20 °C) je dodan piridin (C₅H₅N; 10 ekv; 6,21 mmol; 0,44 mL), a potom je pažljivo dodan anhidrid trifluorometansulfonske kiseline (Tf₂O; 5 ekv; 3,11 mmol; 0,52 mL). Miješanje je nastavljeno 5 h u atmosferi argona. Reakcijska smjesa je ekstrahirana vodom, 10% vodenom otopinom KHSO₄, zasićenom vodenom otopinom NaHCO₃

i zasićenom vodenom otopinom NaCl. Organski sloj je osušen iznad bezvodnog Na₂SO₄ te profiltriran, a otapalo je upareno. Produkt je izoliran u obliku žute krutine (206,8 mg; η=65%).

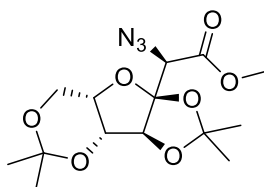


C₁₇H₂₄F₃NO₁₁S; Mr = 453,46; η = 65 % (206,8 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.15 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.67 (dd, *J* = 7.9, 2.8 Hz, 1H), 4.45 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 7.9, 1.2 Hz, 1H), 4.13 (dd, *J* = 9.9, 5.0 Hz, 2H), 3.97 (dd, *J* = 12.9, 1.8 Hz, 1H), 3.89 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.36 (s, 3H).

4.3.5. Prevođenje u azid

Sinteza metil-(*R*)-2-azido-2-((3*aS*, 3*bR*, 7*aS*, 8*aS*)-2,2,5,5,-tetramiltetrahidro-8*aH*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8*a*-il)acetata (**8**)

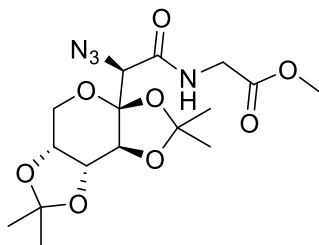
Produkt dobiven u prethodnom koraku (**7**; 0,35 mmol; 157,7 mg) je otopljen u DMF (2,33 mL). Ohlađenoj otopini (-20 °C) je kroz 20 min dodavan natrijev azid (NaN₃; 35 ekv; 12,25 mmol; 796,6 mg). Miješanje je nastavljeno 24 h na sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije, DMF je uparen. Sirovi produkt je pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 20 cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE:EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku žute krutine (182 mg; η=92%).



C₁₄H₂₁N₃O₇; Mr = 343,34; η = 92 % (182 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 4.77 (s, 1H), 4.35 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.19 (dd, *J* = 4.4, 2.3 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.32 (s, 3H).

Sinteza metil-((*R*)-2-azido-2-((3*aS*, 5*aR*, 8*aR*, 8*bS*)-2,2,7,7-tetrametiltetrahydro-3*aH*-bis([1,3]dioksolo[4,5-*b*:4',5'-*d*]piran-3*a*-il)acetil)glicinata (**17**)

Produkt dobiven u prethodnom reakcijskom koraku (**16**; 0,20 mmol; 100 mg) je otopljen u DMF (1,3 mL). Ohlađenoj otopini (-20 °C) je kroz 20 min dodavan NaN₃ (35 ekv; 6,90 mmol; 448,5 mg). Miješanje je nastavljeno 24 h na sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije, DMF je uparen te je sirovi produkt pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 15 cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala PE:EA = 1:1. Produkt je izoliran u obliku bijele krutine (63,5 mg; η=80%).

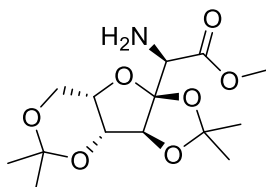


C₁₆H₂₄N₄O₈; Mr = 400,39; η = 80 % (63,5 mg); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.17 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.67 (dd, *J* = 7.8, 2.6 Hz, 1H), 4.44 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.14 (dd, *J* = 4.6, 2.8 Hz, 2H), 3.98 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.89 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.36 (s, 3H).

4.3.6. Redukcija azida do amina

Sinteza metil-(*R*)-2-amino-2((3*aS*, 3*bR*, 7*aS*, 8*aS*)-2,2,5,5,-tetrametiltetrahydro-8*aH*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8*a*-il)acetata (**9**)

Dobiveni azid (**8**; 0,49 mmol; 169,9 mg) je otopljen u smjesi otapala DCM:EtOH = 1:5 (16,4 mL) te je dodan natrijev borhidrid (NaBH₄; 1,5 ekv; 0,74 mmol; 27,55 mg) i niklov klorid heksahidrat (NiCl₂ · 6 H₂O; 0,01 ekv; 4,9 · 10⁻³ mmol; 1,2 mg). Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je profiltrirana uz vakuum preko sinter lijevka, a matičnica uparena. Ostatak zaostao uparavanjem je otopljen u DCM i ekstrahiran zasićenom vodenom otopinom NaHCO₃. Organski sloj je osušen iznad bezvodnog Na₂SO₄, profiltriran, a otapalo upareno. Sirovi je produkt pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela (h = 15 cm), pri čemu je kao eluens korišten sustav otapala DCM:MeOH = 10:1. Produkt je izoliran u obliku žute krutine (115,3 mg; η=74%).

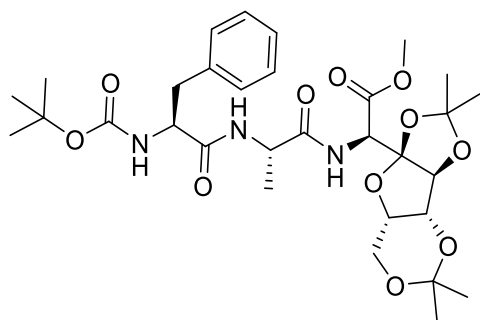


C₁₄H₂₃NO₇; Mr = 317,34; η = 74 % (115,3 mg); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 4.68 (s, 1H), 4.32 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 4.14 – 4.09 (m, 1H), 4.08 – 4.04 (m, 2H), 4.02 (s, 1H), 3.77 (br s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.29 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 170.45, 113.66, 112.73, 97.61, 85.96, 73.05, 72.75, 60.23, 59.14, 52.43, 28.80, 27.44, 26.41, 18.67.

4.4. Sinteza tripeptida s ugrađenom neprirodnom C-glikozilnom α -aminokiselinom

Sinteza metil-(6*S*, 9*S*, 12*R*)-6-benzil-2,2,9-trimetil-4,7,10-triokso-12-((3*aS*, 3*bR*, 7*aS*, 8*aS*)-2,2,5,5,-tetrametiltetrahidro-8*aH*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-8*a*-il)-3-oksa-5,8,11-triazatridekan-13-oata (**10**)

Dipeptid fenilalanil-alanina s uvedenom N-terminalnom Boc zaštitnom skupinom fenilalanina (Boc-Phe-Ala-OH; 1 ekv; 0,34 mmol; 112,9 mg) je otopljen u suhom DMF (7 mL). Zatim je dodan *N*-metilmorfolin (NMM, 2,2 ekv; 0,75 mmol; 0,08 mL) i (O-(7-azabenzotriazol-1-il))-1,1,3,3-tetrametilamonijev heksafluorofosfat (HATU, 1,1 ekv; 0,374 mmol; 142,2 mg). Miješanje je nastavljeno tijekom 20 min, nakon čega je u reakcijsku smjesu dodana neprirodna C-glikozilna α -aminokiselina (**9**; 0,34 mmol; 106,5 mg) prethodno otopljena u DMF (3 mL). Miješanje je nastavljeno preko noći pri sobnoj temperaturi. Otapalo je otpareno po završetku reakcije. Produkt zaostao uparavanjem je pročišćen brzom tekućinskom kromatografijom na stupcu silikagela ($h = 15$ cm) pri čemu je kao eluens najprije korišten sustav otapala: PE:EA = 1:1, a zatim: PE:EA:AcOH = 1:1:0,1. Produkt je izoliran u obliku bezbojnog ulja (145,7 mg; $\eta = 67\%$)



$C_{31}H_{45}N_3O_{11}$; $M_r = 635, 71$; $\eta = 67\%$ (145,7 mg); 1H NMR (600 MHz, CD_3CN) δ 7.20 (dd, $J = 7.3, 3.3$ Hz, 4H), 7.14 (dd, $J = 6.6, 2.3$ Hz, 7H), 6.95 (t, $J = 17.2$ Hz, 2H), 5.49 (dd, $J = 27.5, 7.7$ Hz, 2H), 4.72 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.69 (dd, $J = 7.7, 3.2$ Hz, 1H), 4.48 (d, $J = 26.0$ Hz, 2H), 4.25 (dd, $J = 6.1, 2.2$ Hz, 2H), 4.01 (dt, $J = 13.5, 2.0$ Hz, 2H), 3.99 – 3.97 (m, 2H), 3.81 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H), 3.61 (d, $J = 2.6$ Hz, 4H), 1.36 (s, 6H), 1.35 (s, 5H), 1.31 (s, 3H), 1.25 (s, 8H), 1.24 (s,

15H); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3CN) δ 172.72, 171.97, 171.69, 169.11, 138.24, 129.90, 128.88, 127.09, 113.13, 98.37, 86.90, 86.74, 79.61, 60.45, 60.27, 58.14, 52.60, 52.39, 49.09, 48.62, 38.21, 28.93, 27.00, 26.18, 18.85, 18.09.

5. ZAKLJUČAK

S ciljem pripreme *C*-glikozilnog derivata α -aminokiseline provedena je Passerinijeva trokomponentna reakcija uz octenu kiselinu, konvertibilni, odnosno aminokiselinski izocijanid te odgovarajući zaštićeni ugljikohidratni aldehid (sorboza (**4**), $\eta = 58\%$; fruktoza (**13**), $\eta = 92\%$). Passerinijev se produkt hidrolizom u baznim uvjetima vrlo lako prevodi u odgovarajuću α -hidroksi-kiselinu, koja je podvrgnuta post-kondenzacijskim modifikacijama. Utvrđeno je nastajanje *C*-glikozilne α -aminokiseline derivata sorboze (**9**) u iskorištenju od $\eta = 74\%$.

Opisanom metodologijom je uz aktivacijski reagens (HATU) pripremljen tripeptid (**10**) kondenzacijom prirodnog dipeptida (Boc-Phe-Ala-OH) s pripremljenom neprirodnom *C*-glikozilnom α -aminokiselinom (**9**), uz iskorištenje od $\eta = 67\%$.

Sintetizirani spojevi su okarakterizirani ^1H NMR spektroskopijom te je nastajanje tripeptida utvrđeno i ^{13}C NMR spektroskopijom.

6. LITERATURNI IZVORI

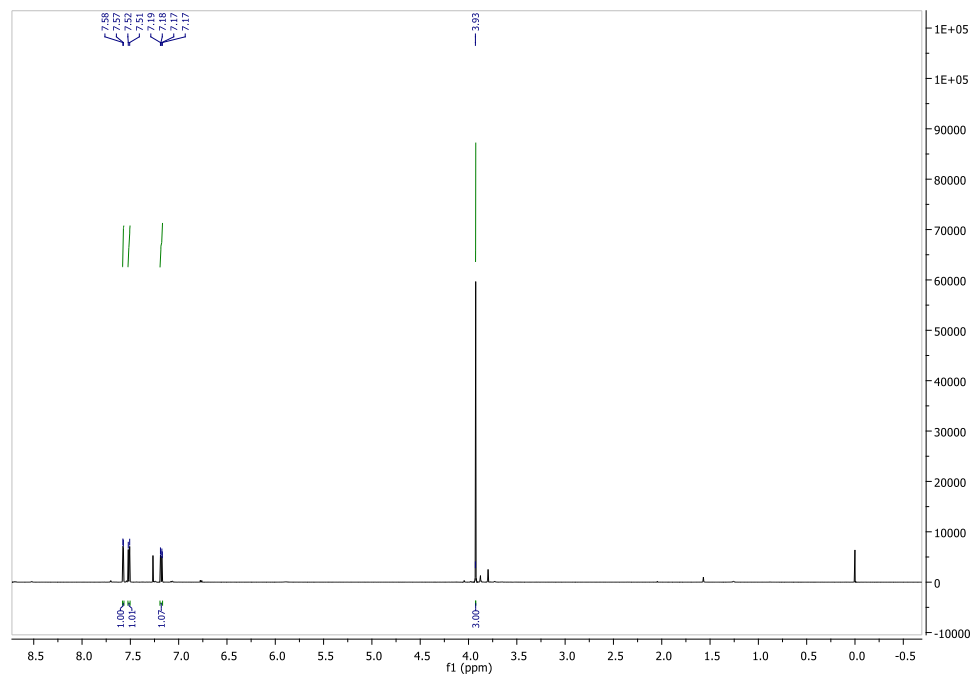
- ¹ E. Lenci, A. Trabocchi, Peptidomimetic toolbox for drug discovery, *Chem. Soc. Rev.*, 2020, **49**, 3262-3277
- ² F. Vaghi, R. Bucci, F. Clerici, A. Contini, M. L. Gelmi, Non-natural 3-Arylmorpholino- β -amino Acid as a PPII Helix Inducer, *Org. Lett.*, 2020., **22**, **15**, 6197-6202.
- ³ <https://theory.labster.com/protein-structure/> (pristup: 08.04.2022.)
- ⁴ I. Avan, C. D. Hall, A. R. Katritzky, Peptidomimetics *via* modifications of amino acids and peptide bonds, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 3575.
- ⁵ M. A. T. Blaskovich, Unusual Amino Acids in Medicinal Chemistry, *J. Med. Chem.*, 2016, **59**, 10807-10836
- ⁶ L. Wang, N. Wang, W. Zhang, *et al.* Therapeutic peptides: current applications and future directions, *Sig. Transduct. Target Ther.*, 2022, **7**, 48.
- ⁷ M. Pelay-Gimeno, A. Glas, O. Koch, T. N. Grossmann, Structure-Based Design of Inhibitors of Protein-Protein Interactions: Mimicking Peptide Binding Epitopes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**, 8896-8927.
- ⁸ A. Stevenazzi, M. Marchini, G. Sandrone, B. Vergani, M. Lattanzio, Amino acidic scaffolds bearing unnatural side chains: An old idea generates new and versatile tools for life sciences, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*, 2014, **24**, 5349-5356.
- ⁹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5759319/#R14> (pristup: 27.04.2022.)
- ¹⁰ L. Moroder, J. Lutz, Potential Bioactive Conformations of Hormones of the Gastrin Family, *Studies in Natural Products Chemistry*, 1996, **18**, 819-873.
- ¹¹ A. A. Kaspar, J. M. Reichert, Future directions for peptide therapeutics development, *Drug Discov Today*, 2013, **18**, 807-817.
- ¹² M. T. Reetz, New Approaches to the Use of Amino Acids as Chiral Building Blocks in Organic Synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1991, **31**, 1531-1546.
- ¹³ A. D. Aubrey *et al.*, The Urey Experiment: An Advanced *In Situ* Organic and Oxidant Detector for Mars Exploration, *Astrobiology*, 2008, **8**, 583-595.
- ¹⁴ Y.-H. Liu *et al.*, Facile access to C-Glycosyl amino acids and peptides via Ni-catalyzed reductive hydroglycosylation of alkynes, *Nature Communication*, 2021, **12**, 4924.
- ¹⁵ <https://www.creative-proteomics.com/blog/index.php/strategies-for-post-translational-modifications-ptms/> (pristup 19.04.2022.)
- ¹⁶ S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, Carbohydrate-Based Mimetics in Drug Design Sugar Amino Acids and Carbohydrate Scaffolds, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 491-514.

- ¹⁷ A. Dondoni, A. Massi, S. Sabbatini, Multiple Component Approaches to C-Glycosyl β -Amino Acids by Complementary One-Pot Mannich-Type and Reformatsky-Type Reactions, *Chem. Eur. J.*, 2005, **11**, 7110-7125.
- ¹⁸ B. Ramakrishna, C. Sudharani, P. R. Sridhar, Synthesis of β -C-Glycosyl Amino Acids by Ring Opening of Donor-Acceptor Spiro-Cyclopropanecarboxylated Sugars, *Isr. J. Chem.*, 2016, **56**, 6-7.
- ¹⁹ <https://www.creative-proteomics.com/services/amino-sugars-analysis-service.htm> (pristup: 15.04.2022.)
- ²⁰ Peng J. et al., Visible-Light-Mediated, Chemo- and Stereoselective Radical Process for the Synthesis of C-Glycoamino Acids, *Org. Lett.*, 2019, **21**, 3086-3092.
- ²¹ L. G. Wade, ml. *Organska kemija*, 7. izd., Zagreb: Školska knjiga, 2017.
- ²² M. S. Iyer, K. M. Gigstad, N. D. Namdev, M. Lipton, Asymmetric Catalysis of the Strecker Amino Acid Synthesis by a Cyclic Dipeptide, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 4910-4911.
- ²³ L. Banfi, et al., The 100 facets of the Passerini reaction, *Chem. Sci.*, 2021, **12**, 15445.
- ²⁴ K. Vlahoviček-Kahlina, M. Vazdar, A. Jakas, V. Smrečki, I. Jerić, Synthesis of Glycomimetics by Diastereoselective Passerini Reaction, *J. Org. Chem.*, 2018, **83**, 13146-13156.
- ²⁵ B. Yang, et al., Ugi Reaction in Polymer Chemistry: Syntheses, Applications and Prospectives, *Polym. Chem.*, 2015, **6**, 8233-8239.
- ²⁶ O. Lockhoff, An Access to Glycoconjugate Libraries through Multicomponent Reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1998, **37**, 3436-3439.
- ²⁷ A. D. Campbell, D. E. Paterson, T. M. Raynham, R. J. K. Taylor, *exo*-Glycal approaches to C-linked glycosyl amino acids synthesis, *Chem. Commun.*, 1999, 1599-1600.
- ²⁸ <https://www.organic-chemistry.org/topics/multicomponent-reactions.shtm> (pristup: 27.05.2022.)
- ²⁹ R. S. Andrews, J. J. Becker, M. R. Gagné, A Photoflow Reactor for the Continuous Photoredox-Mediated Synthesis of C-Glycoamino Acids and C-Glycolipids, *Angew. Chem.*, 2012, **124**, 4216-4219.
- ³⁰ F. J. Aguilar Trojano, et al., Radical-Based Synthesis and Modification of Amino Acids, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, **60**, 1098-1115.
- ³¹ J. B. Plumb, D. J. Harper, Chemical safety: 2-Iodoxybenzoic acid, *Chem. Eng. News.*, 1990, **68**, 3.
- ³² R. F. Brady, Cyclic acetals of ketoses: Part III. Re-investigation of the synthesis of the isomeric DI-O-diisopropylidene- β -fructopyranoses, *Carbohydrate Research*, 1970, **15**, 35-40.
- ³³ L. Banfi, et al., The 100 facets of the Passerini reaction, *Chem. Sci.*, 2021, **12**, 15445.
- ³⁴ B. S. Furniss, A. J. Hannaford, P. W. G. Smith, A. R. Tatchell, *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, Longman Scientific & Technical, Harlow, 1989.

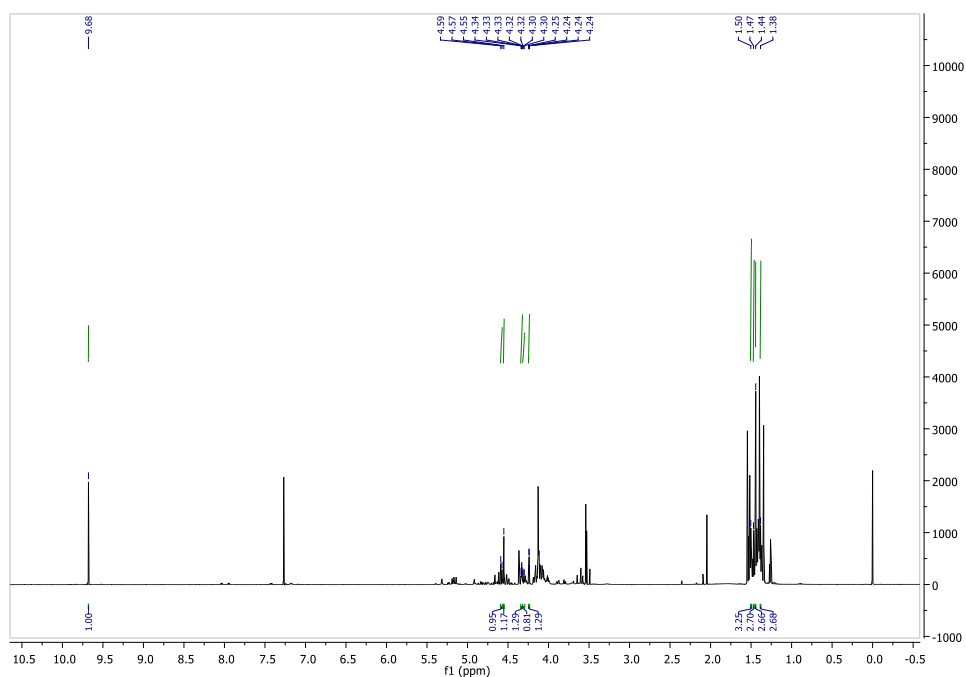
7. PRILOZI

¹H- i ¹³C-NMR spektri

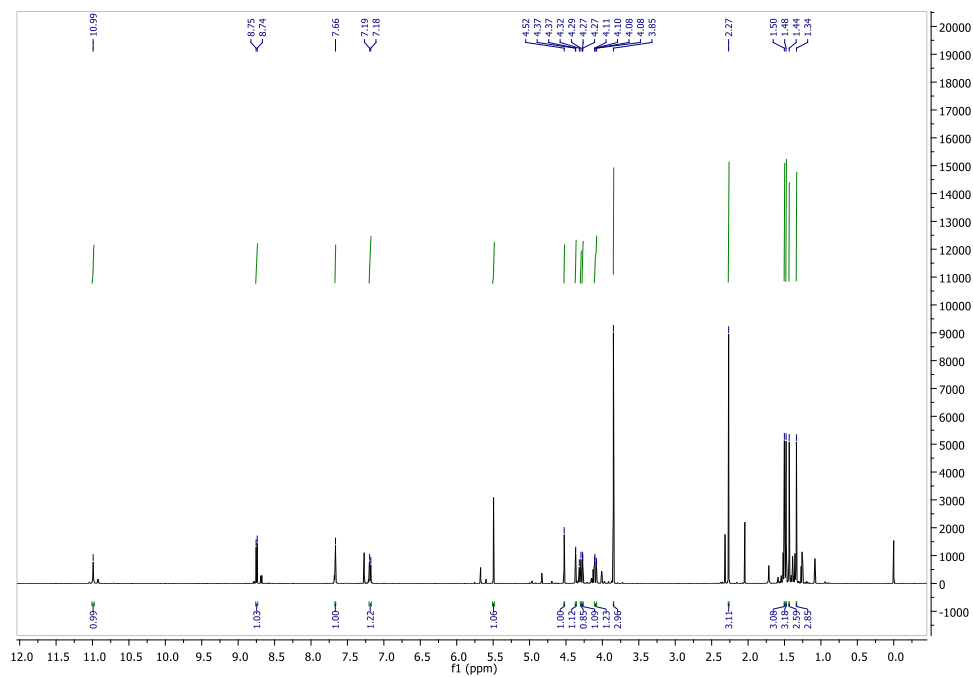
a) Konvertibilni izocijanid (2)



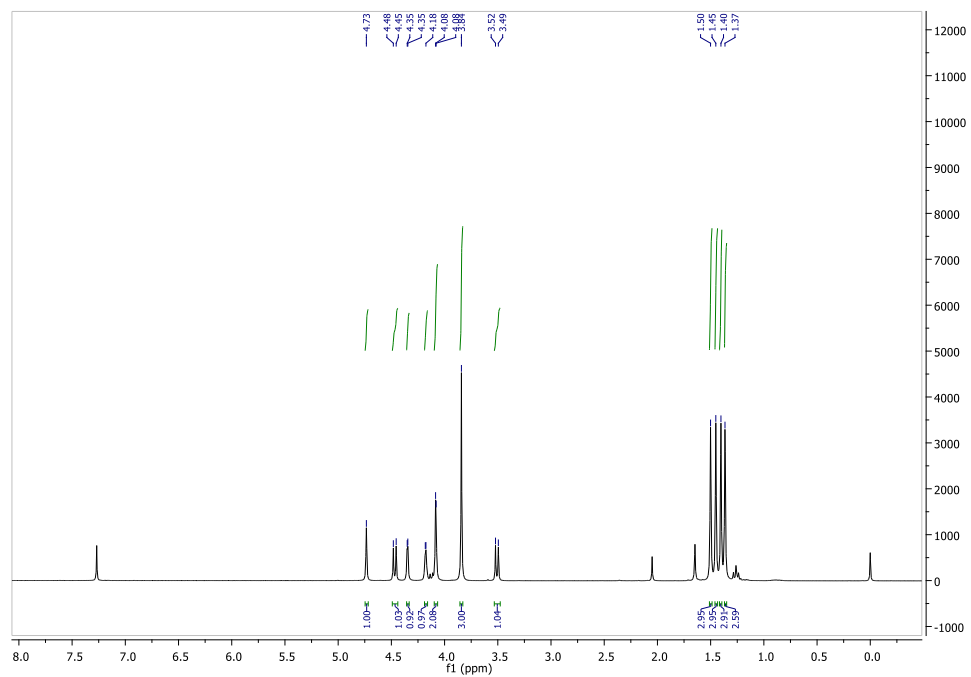
b) Aldehyd izopropilidenima zaščićene sorboze (3)



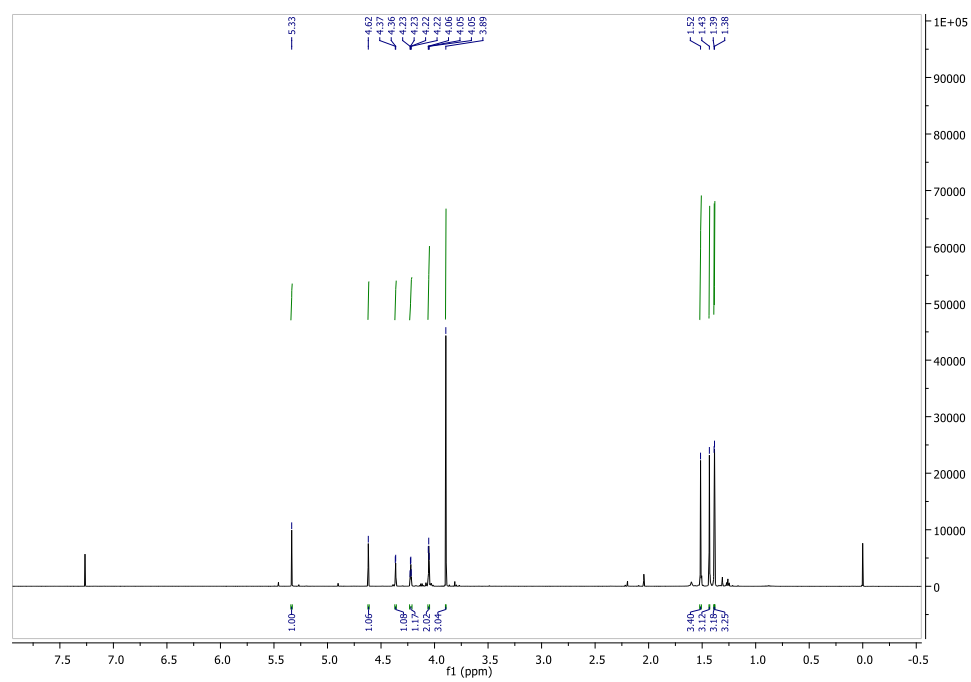
c) Passerinijev produkt (4)



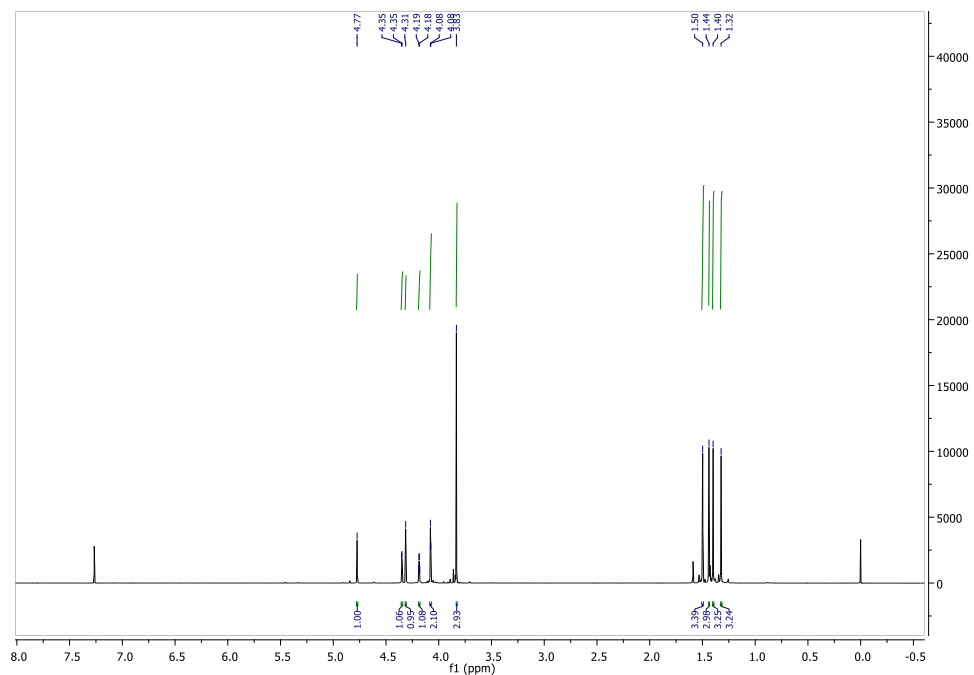
d) Produkt metiliranja C-glikozilne α -hidroksi kiseline (**6**)



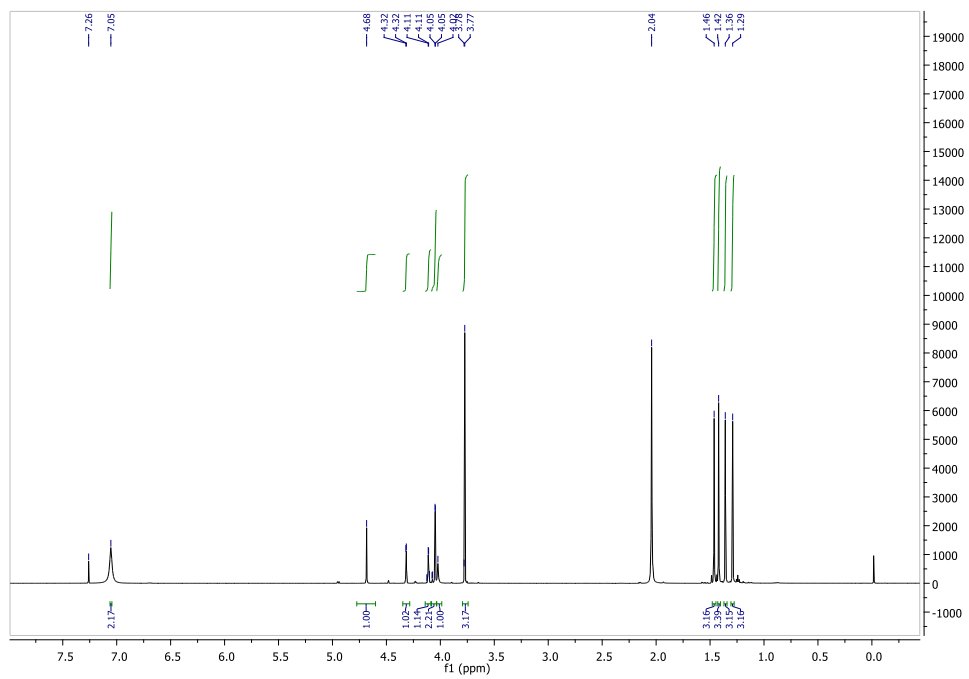
e) Triflatni derivat sorboze (**7**)

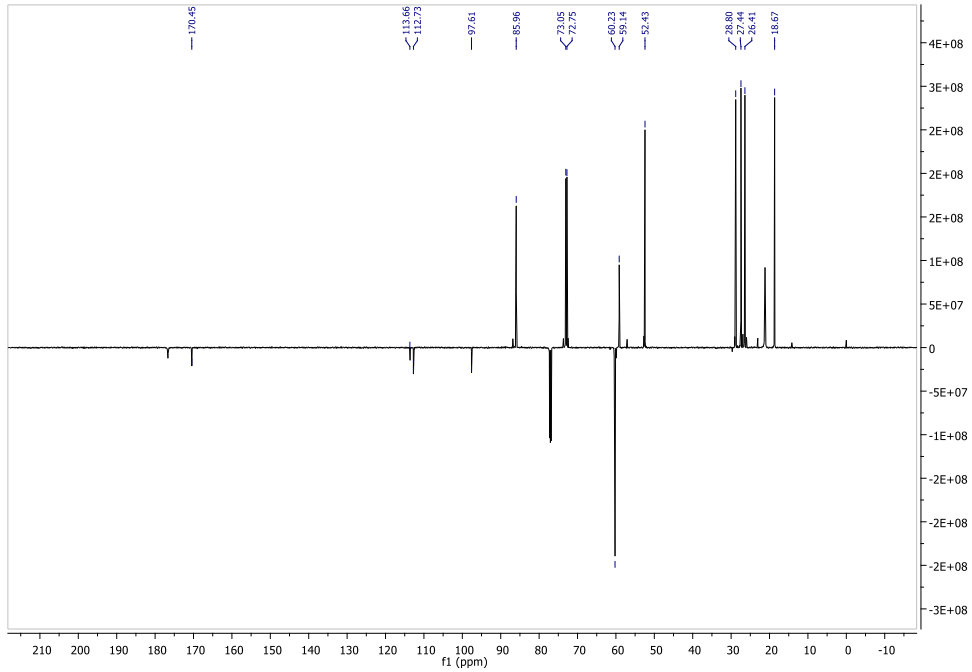


f) Azid (8)

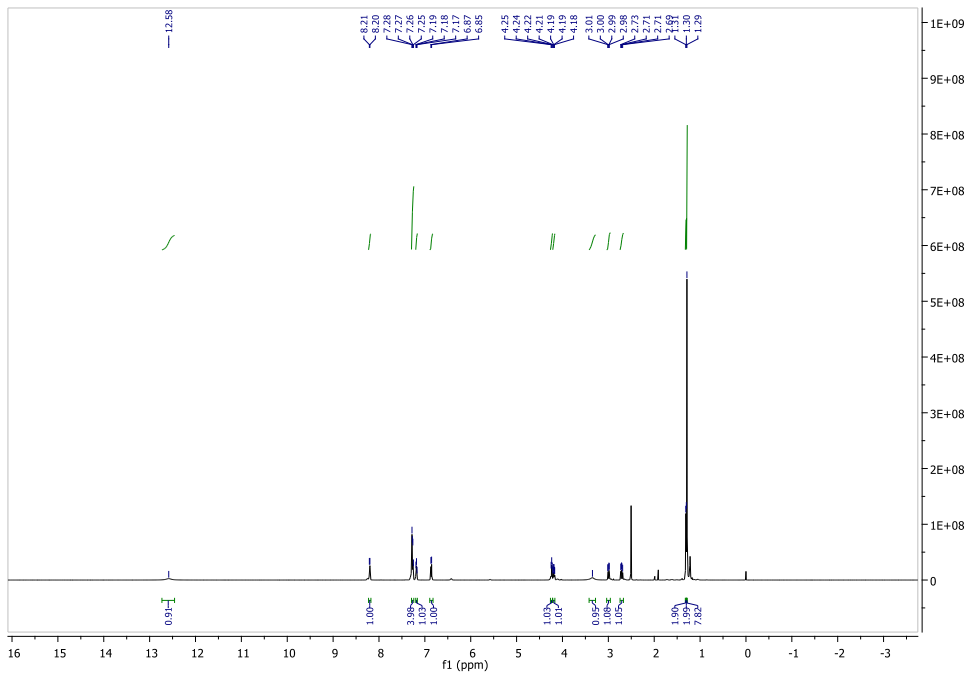


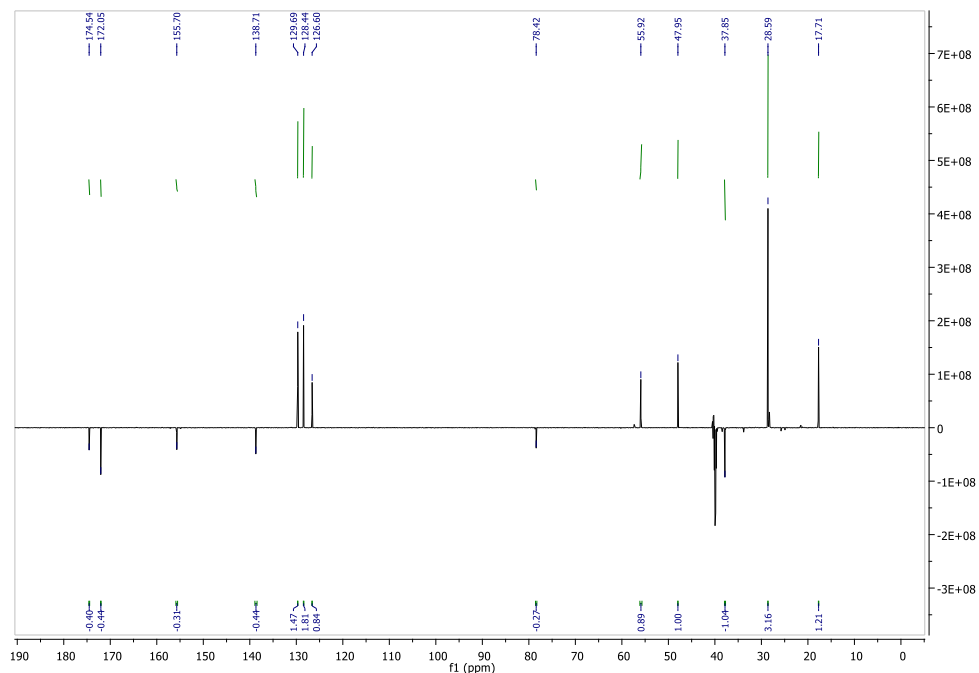
g) Amin (9)



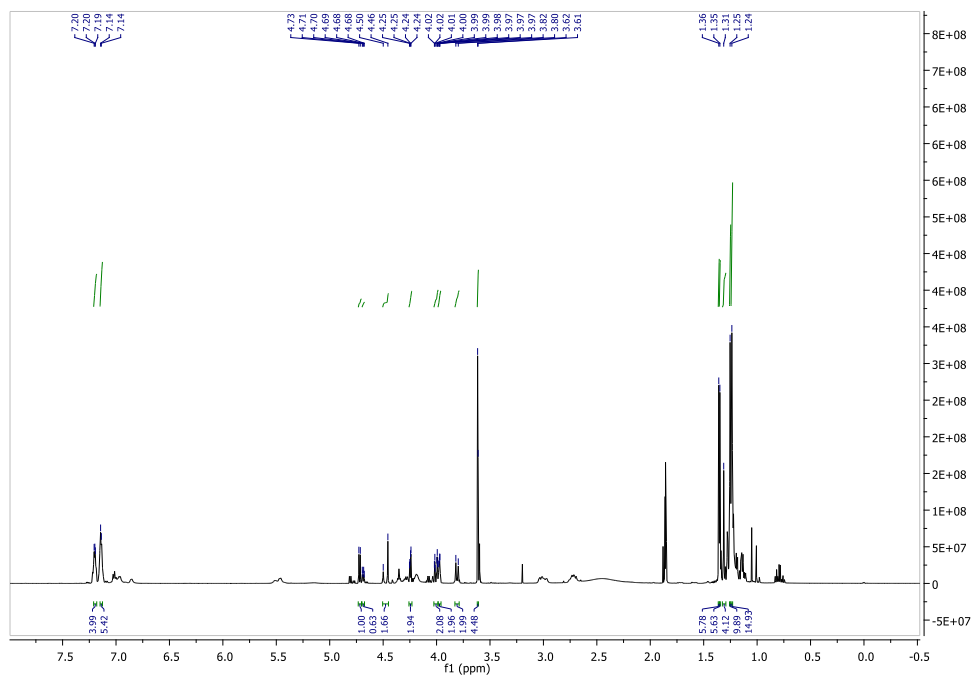


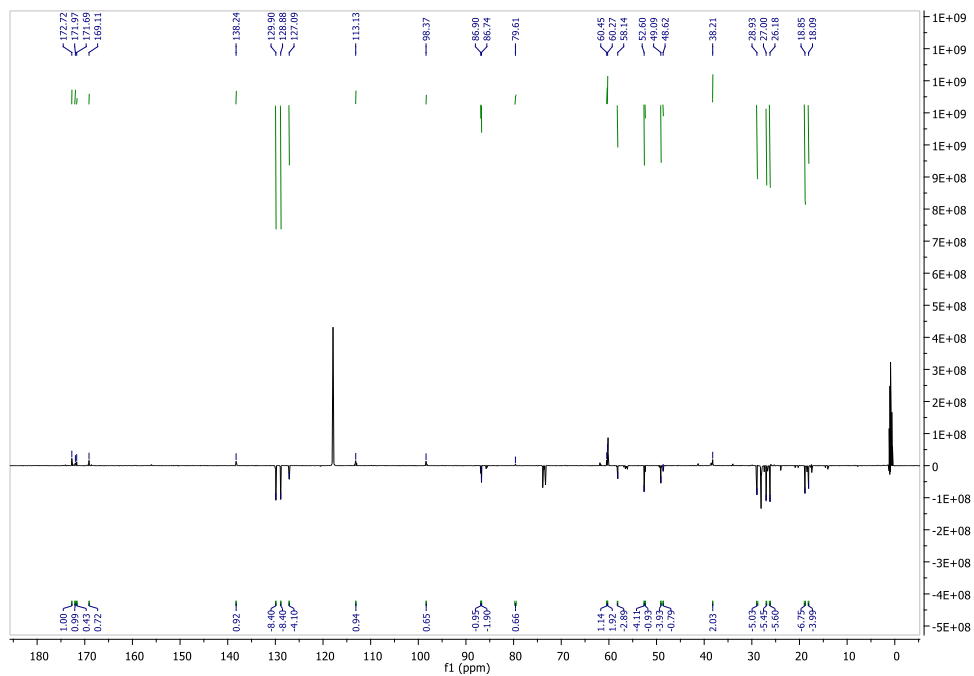
h) Dipeptid



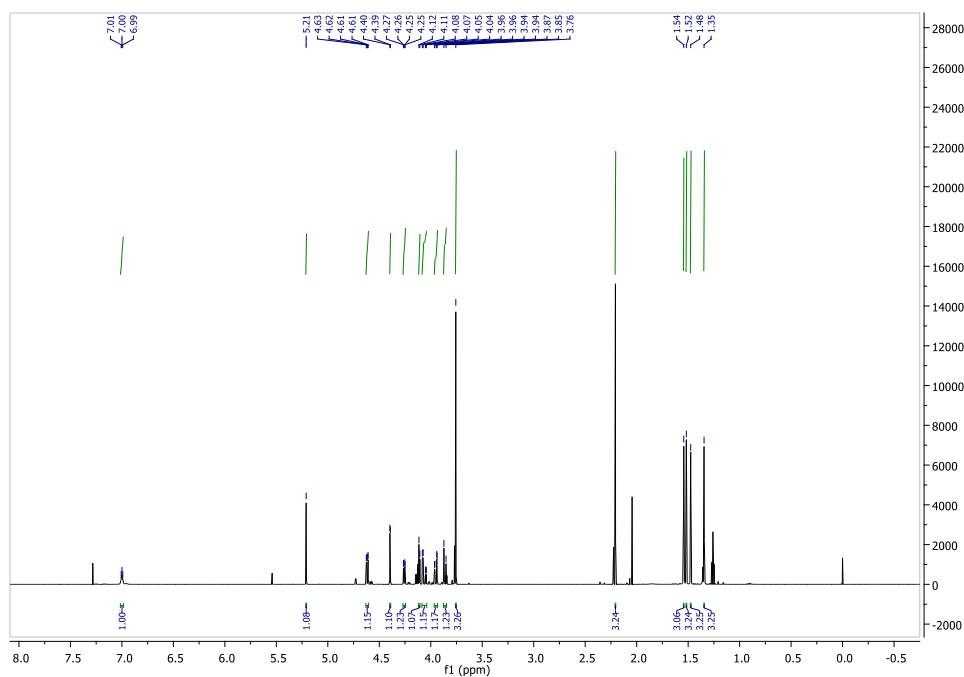


i) Tripeptid (10)

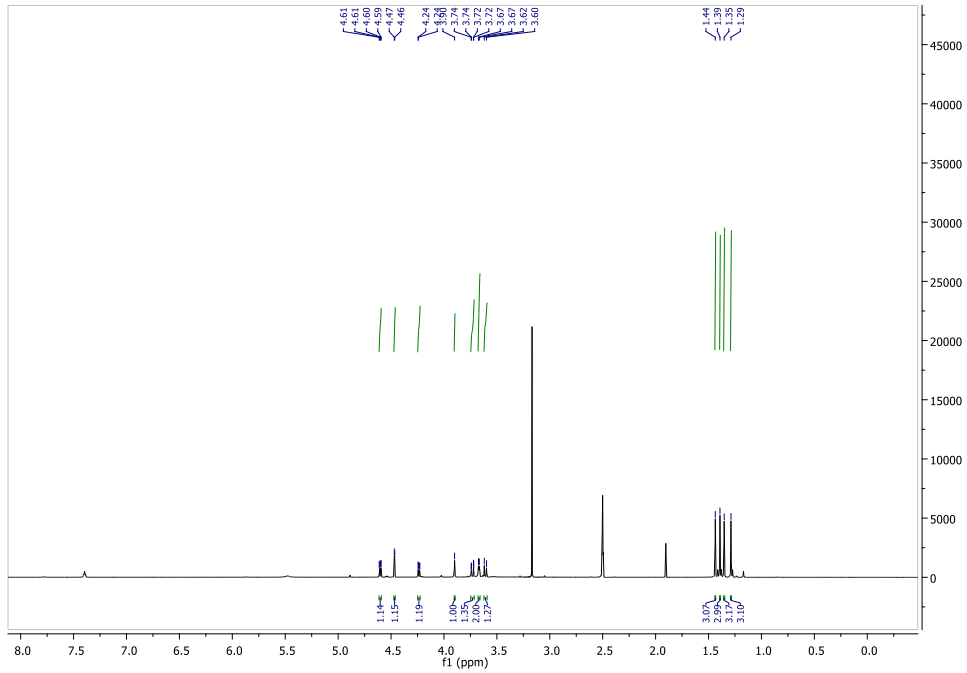




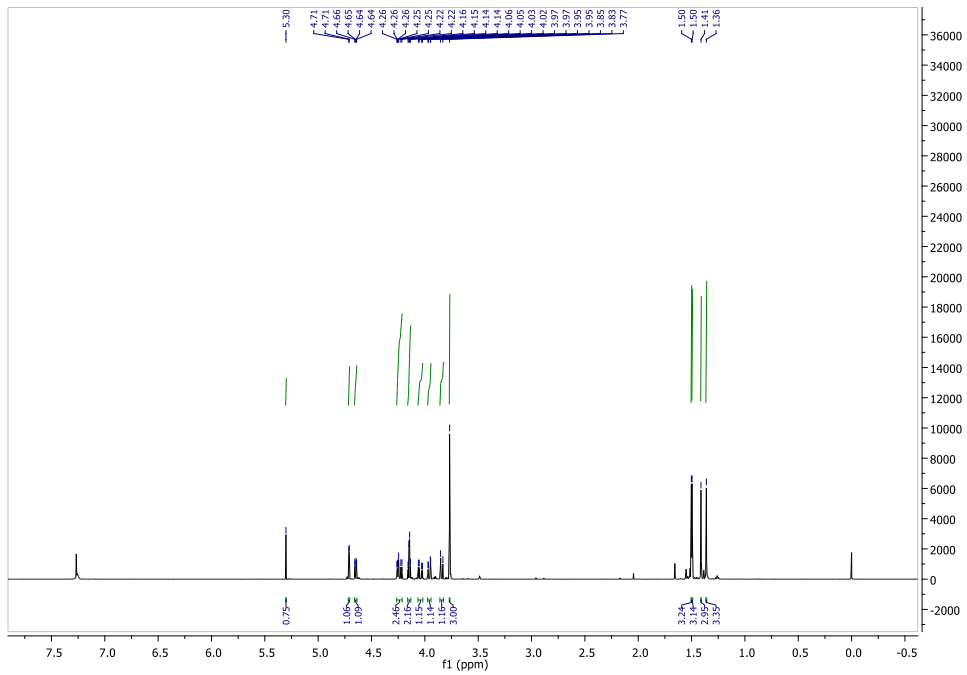
j) Passerinijev produkt (13)



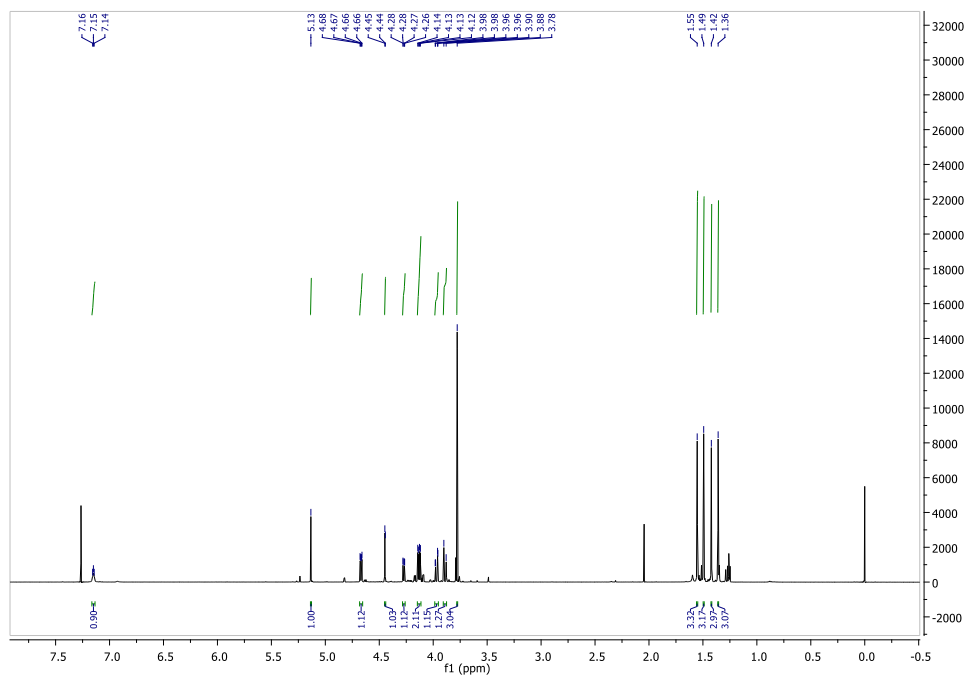
k) α -hidroski kiselina (**14**)



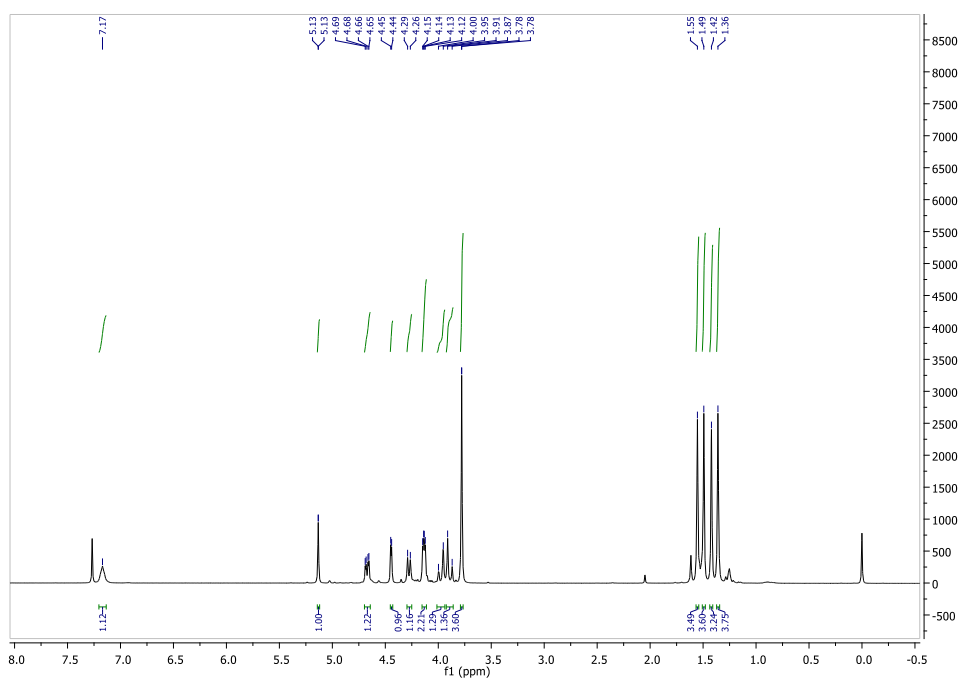
l) Produkt metiliranja α -hidroksi derivata fruktoze (**15**)



m) Triflatni derivat (**16**)



n) Azid (**17**)



8. ŽIVOTOPIS

Maja Ratajec [REDACTED] Osnovnu je školu završila u Zaprešiću 2011. i iste godine upisuje Srednju školu Ban Josip Jelačić u Zaprešiću, opći smjer gimnazije. Kao kadetkinja 2014. osvaja titulu državne prvakinja u streličarstvu, disciplina olimpijski luk. Maturirala je 2015. i iste godine upisala preddiplomski studij Agroekologija na Agronomskom Fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Uspješno završava verificirani program osposobljavanja za poslove trenerice u streličarstvu 2016. u organizaciji Učilišta Magistra. Kao prelaznik s Agronomskog Fakulteta 2016. upisuje preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Od 2016. je aktivna članica Studentske sekcije Hrvatskog društva kemijskih inženjera i tehnologa (HDKI) te kroz projekt Boje inženjerstva 2020. osvaja Rektorovu nagradu za društveno koristan rad u akademskoj zajednici. Za vrijeme preddiplomskog studija, odradila je stručnu praksu u Laboratoriju za biomimetičku kemiju na Institutu Ruđer Bošković. U srpnju 2020. brani završni rad pod nazivom „Sinteza i karakterizacija novih benzilnih derivata heterostilbena“ i stječe akademski naziv sveučilišna prvostupnica primijenjene kemije. U listopadu 2020. upisuje diplomski studij na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Primijenjena kemija, modul Primijenjena organska kemija.