



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



Miljana R. Đorđević

**SINTEZA, IDENTIFIKACIJA I
SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA
ODABRANIH JODOVANIH DERIVATA
PRIRODNIH PROIZVODA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2019.



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



Miljana R. Đorđević

**SINTEZA, IDENTIFIKACIJA I
SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA
ODABRANIH JODOVANIH DERIVATA
PRIRODNIH PROIZVODA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Tekst ove doktorske disertacije stavlja se na uvid javnosti, u skladu sa članom 30., stav 8. Zakona o visokom obrazovanju ("Sl. glasnik RS", br. 76/2005, 100/2007 – autentično tumačenje, 97/2008, 44/2010, 93/2012, 89/2013 i 99/2014)

NAPOMENA O AUTORSKIM PRAVIMA:

Ovaj tekst smatra se rukopisom i samo se saopštava javnosti (član 7. Zakona o autorskim i srodnim pravima, "Sl. glasnik RS", br. 104/2009, 99/2011 i 119/2012).

Nijedan deo ove doktorske disertacije ne sme se koristiti ni u kakve svrhe, osim za upoznavanje sa njenim sadržajem pre odbrane disertacije

Niš, 2019.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF SCIENCES AND MATHEMATICS



Miljana R. Đorđević

**SYNTHESIS, IDENTIFICATION AND
SPECTRAL CHARACTERIZATION OF
SELECTED DERIVATIVES OF NATURAL
PRODUCTS CONTAINING IODINE**

PhD thesis

Niš, 2019

MENTOR:

Dr Niko Radulović, redovni profesor
Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr Gordana Stojanović, redovni profesor
Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu

Dr Dušan Sladić, redovni profesor
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Pavle Randelović, docent
Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број, РБР:	
Идентификациони број, ИБР:	
Тип документације, ТД:	монографска
Тип записа, ТЗ:	текстуални / графички
Врста рада, ВР:	докторска дисертација
Аутор, АУ:	Миљана Р. Ђорђевић
Ментор, МН:	Нико С. Радловић
Наслов рада, НР:	Синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата природних производа
Језик публикације, ЈП:	српски
Језик извода, ЈИ:	енглески
Земља публикација, ЗП:	Србија
Уже географско подручје, УГП:	Србија
Година, ГО:	2019.
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33.
Физички опис рада, ФО:	10 поглавља, 252 страна, 357 цитата, 18 табела, 20 слика, 95 шема, 24 прилога
Научна област, НО:	хемија
Научна дисциплина, НД:	органска и медицинска хемија, органска синтеза, биохемија
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	Органска синтеза, спектрална карактеризација, јодовање, аристок, атропизомерија, „зелена синтеза“
УДК	547-302: (54.057/.058 + 543.429.23)
Чува се, ЧУ:	библиотека
Важна напомена, ВН:	Експериментални део је рађен у Лабораторији за органску анализу и синтезу, Депарتمان за хемију, Природно-математички факултет, Универзитет у Нишу, у оквиру истраживања на пројекту ев. бр. 172061 надлежног Министарства.
Извод, ИЗ:	У овом раду је извршена синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата ароматичних једињења, који су или природног порекла или су настали јодовањем природних производа. Синтетисан је аристок, јодовањем тимолa под алкалним условима. Одређене су структуре састојака аристолa, које су додатно потврђене хемијским трансформацијама и квантномеханичким прорачунима. Постављен је QSPR модел квантитативне везе структуре и особина који је омогућио идентификацију састојака аристолa помоћу гасне хроматографије купловане са масеном детекцијом, без претходног препаративног хроматографског раздвајања. Предложен је механизам настајања састојака аристолa. Извршена је синтеза јодованих и бромованих деривата карвакрола и потврђено је постојање атропизомерије око sp^2-sp^3 везе код дијодованих и дибромованих деривата карвакрола. Синтетисани су ести, етри дијод- и дибромкарвакрола, као и мешовити (бромјод) деривати карвакрола и детаљно спектрално окарактерисани, при чему је код свих производа уочено присуство два дијастереомерна атропизомера. Остварена је нова синтеза природног производа <i>N</i>-[2-(3,5-дијод-4-метоксифенил)етил]бензамида, претходно изолованог из асцидије <i>Didemnum rubeum</i>, и његових аналога (формамида, бензамида и ацетамида). У циљу да се оствари еколошки прихватљива синтеза <i>N</i>-ацилтирамина, са бољим приносом и уз блаже реакционе услове, развијена је метода синтезе амида без растварача (<i>solvent-free</i>) у складу са принципима „зелене“ хемије, и извршена је „зелена“ синтеза природног производа изолованог из асцидије <i>D. rubeum</i>. Одабраним <i>N</i>-ацилтирамина је одређено токсиколошко/фармаколошко дејство, уочено је да испољавају различит ниво токсичности на рачиће (<i>Artemia salina</i>), док нису значајно токсична за макрофаге пацова, већ утичу на њихову функцију (активност мијелопероксидазе).
Датум прихватања теме, ДП:	07.11.2016.
Датум одбране, ДО:	
Чланови комисије, КО:	Председник: др Гордана Стојановић, редовни професор Члан: др Душан Сладић, редовни професор Члан: др Павле Ранђеловић, доцент Члан, ментор: др Нико Радловић, редовни професор



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

НИШ

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, ANO :									
Identification number, INO :									
Document type, DT :	monograph								
Type of record, TR :	textual / graphic								
Contents code, CC :	doctoral dissertation								
Author, AU :	Miljana R. Đorđević								
Mentor, MN :	Niko S. Radulović								
Title, TI :	Synthesis, identification and spectral characterization of selected derivatives of natural products containing iodine								
Language of text, LT :	Serbian								
Language of abstract, LA :	English								
Country of publication, CP :	Serbia								
Locality of publication, LP :	Serbia								
Publication year, PY :	2019								
Publisher, PB :	author's reprint								
Publication place, PP :	Niš, Višegradaska 33.								
Physical description, PD :	10 chapters, 252 pages, 357 references, 18 tables, 20 figures, 95 schemes, 24 appendices								
Scientific field, SF :	Chemistry								
Scientific discipline, SD :	Organic and medicinal chemistry, organic synthesis and biochemistry								
Subject/Key words, S/KW :	Organic synthesis, spectral characterization, iodination, aristol, atropisomerism, green synthesis								
UC	547-302: (54.057/.058 + 543.429.23)								
Holding data, HD :	library								
Note, N :	The experimental part of this thesis was done in the Laboratory of organic analysis and synthesis, Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Niš, in the framework of the Project No. 172061.								
Abstract, AB :	The aims of this Ph.D. thesis were the synthesis, identification and spectral characterization of selected iodinated aromatic compounds which are either of natural origin or prepared by iodination of natural compounds. The structure of aristol, prepared by iodination of thymol under alkaline condition, was elucidated using modern chromatographic and extensive spectral techniques (NMR/FTIR/MS/UV), combined with chemical transformations and quantum mechanical calculations. A number of additional aristol constituents were identified by the use of a QSPR model (readily available structure-derived descriptors used to predict gas chromatographic retention data), in combination with mass spectrometry, directly from the aristol matrix without preparative chromatography. Formation mechanisms of aristol constituents were proposed. Several iodinated and brominated carvacrol derivatives were synthesized and their NMR analysis revealed that some of them exist as atropisomers - this is the result of a hindered rotation around a sp^2-sp^3 bond. Esters and ethers of diiodo- and dibromocarvacrols, as well as mixed bromiodo derivatives were prepared and spectrally characterized and the presence of diastereomeric atropisomerism was observed for all compounds. A new synthesis of a natural product <i>N</i> -[2-(3,5-diiodo-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamide, isolated from the ascidian <i>Didemnum rubeum</i> , and its analogs (formamide, benzamide, and acetamide) was accomplished. In order to perform an eco-friendly synthesis of <i>N</i> -acyl tyramines, with better yields and under milder reaction conditions, and in accordance with the principles of green chemistry, a solvent-free synthesis of <i>D. rubeum</i> natural product and other amides was developed. Some of the tyramides were tested for their toxicological/pharmacological activities, and these compounds showed different levels of toxicity towards <i>Artemia salina</i> . The tested compounds were rather non-toxic towards rat macrophages, but they affected their function (the activity of myeloperoxidase).								
Accepted by the Scientific Board on, ASB :	07.11.2016.								
Defended on, DE :									
Defended Board, DB :	<table> <tr> <td>President:</td><td>Dr Gordana Stojanović, Full Professor</td></tr> <tr> <td>Member:</td><td>Dr Dušan Sladić, Full Professor</td></tr> <tr> <td>Member:</td><td>Dr Pavle Randelović, Associate Professor</td></tr> <tr> <td>Member, Mentor:</td><td>Dr Niko Radulović, Full Professor</td></tr> </table>	President:	Dr Gordana Stojanović, Full Professor	Member:	Dr Dušan Sladić, Full Professor	Member:	Dr Pavle Randelović, Associate Professor	Member, Mentor:	Dr Niko Radulović, Full Professor
President:	Dr Gordana Stojanović, Full Professor								
Member:	Dr Dušan Sladić, Full Professor								
Member:	Dr Pavle Randelović, Associate Professor								
Member, Mentor:	Dr Niko Radulović, Full Professor								

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:	др Нико С. Радуловић, редовни професор Природно-математичког факултета, Департман за хемију, Универзитет у Нишу
Наслов:	Синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата природних производа
Резиме:	У овом раду је извршена синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата ароматичних једињења, који су или природног порекла или су настали јодовањем природних производа. Синтетисан је аристоксил, јодовањем тимола под алкалним условима. Одређене су структуре састојака аристола, које су додатно потврђене хемијским трансформацијама и квантномеханичким прорачунима. Постављен је QSPR модел квантитативне везе структуре и особина који је омогућио идентификацију састојака аристола помоћу гасне хроматографије купловане са масеном детекцијом, без претходног препаративног хроматографског раздвајања. Предложен је механизам настајања састојака аристола. Извршена је синтеза јодованих и бромованих деривата карвакрола и потврђено је постојање атропизомерије око sp^2-sp^3 везе код дијодованих и дибромованих деривата карвакрола. Синтетисани су ести, етри дијод- и дибромкарвакрола, као и мешовити (бромјод) деривати карвакрола и детаљно спектрално окарактерисани, при чему је код свих производа уочено присуство два дијастереомерна атропизомера. Остварена је нова синтеза природног производа <i>N</i>-[2-(3,5-дијод-4-метоксифенил)етил]бензамида, претходно изолованог из асцидије <i>Didemnum rubeum</i>, и његових аналога (формамида, бензамида и ацетамида). У циљу да се оствари еколошки прихватљива синтеза <i>N</i>-ацилтирамина, са бољим приносом и уз блаже реакционе услове, развијена је метода синтезе амида без растварача (<i>solvent-free</i>) у складу са принципима „зелене“ хемије, и извршена је „зелена“ синтеза природног производа изолованог из асцидије <i>D. rubeum</i>. Одабраним <i>N</i>-ацилтирамина је одређено токсиколошко/фармаколошко дејство, уочено је да испољавају различит ниво токсичности на рачиће (<i>Artemia salina</i>), док нису значајно токсична за макрофаге пацова, већ утичу на њихову функцију (активност мијелопероксидазе).
Научна област:	хемија
Научна дисциплина:	органска и медицинска хемија, органска синтеза, биохемија
Кључне речи:	Органска синтеза, спектрална карактеризација, јодовање, аристоксил, атропизомерија, „зелена синтеза“
УДК:	547-302 : (54.057/.058 + 543.429.23)
CERIF класификација:	P 390, Органска хемија; P 004, Биохемија, метаболизам
Тип лиценце Креативне заједнице:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	Dr Niko Radulović, Full Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Niš
Title:	Synthesis, identification and spectral characterization of selected derivatives of natural products containing iodine
Abstract:	The aims of this Ph.D. thesis were the synthesis, identification and spectral characterization of selected iodinated aromatic compounds which are either of natural origin or prepared by iodination of natural compounds. The structure of aristol, prepared by iodination of thymol under alkaline condition, was elucidated using modern chromatographic and extensive spectral techniques (NMR/FTIR/MS/UV), combined with chemical transformations and quantum mechanical calculations. A number of additional aristol constituents were identified by the use of a QSPR model (readily available structure-derived descriptors used to predict gas chromatographic retention data), in combination with mass spectrometry, directly from the aristol matrix without preparative chromatography. Formation mechanisms of aristol constituents were proposed. Several iodinated and brominated carvacrol derivatives were synthesized and their NMR analysis revealed that some of them exist as atropisomers - this is the result of a hindered rotation around a sp^2-sp^3 bond. Esters and ethers of diiodo- and dibromocarvacrols, as well as mixed bromiodo derivatives were prepared and spectrally characterized and the presence of diastereomeric atropisomerism was observed for all compounds. A new synthesis of a natural product <i>N</i>-[2-(3,5-diiodo-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamide, isolated from the ascidian <i>Didemnum rubeum</i>, and its analogs (formamide, benzamide, and acetamide) was accomplished. In order to perform an eco-friendly synthesis of <i>N</i>-acyl tyramines, with better yields and under milder reaction conditions, and in accordance with the principles of green chemistry, a solvent-free synthesis of <i>D. rubeum</i> natural product and other amides was developed. Some of the tyramides were tested for their toxicological/pharmacological activities, and these compounds showed different levels of toxicity towards <i>Artemia salina</i>. The tested compounds were rather non-toxic towards rat macrophages, but they affected their function (the activity of myeloperoxidase).
Scientific Field:	Chemistry
Scientific Discipline:	Organic and medicinal chemistry, organic synthesis and biochemistry
Key Words:	Organic synthesis, spectral characterization, iodination, aristol, atropisomerism, green synthesis
UDC:	547-302 : (54.057/.058 + 543.429.23)
CERIF Classification:	P 390, Organic chemistry; P 004, Biochemistry, metabolism
Creative Commons License Type:	CC BY-NC-ND

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije je rađen u Laboratoriji za organsku analizu i sintezu, Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, Departmana za hemiju, Univerziteta u Nišu, u okviru istraživačkog projekta ON 172061 „Kombinatorne biblioteke heterogenih katalizatora, prirodnih proizvoda, modifikovanih prirodnih proizvoda i njihovih analoga: put ka novim biološkim agensima“ Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Najiskrenije se zahvaljujem svom mentoru, profesoru dr Niku Raduloviću, na ukazanom poverenju, stručnim savetima i nesebičnom zalaganju, pomoći i podršci, kako tokom izrade ove disertacije, tako i tokom doktorskih studija.

Najsrdanije se zahvaljujem i članovima komisije, prof. dr Dušanu Sladiću, prof. dr Gordani Stojanović i doc. dr Pavlu Randeloviću, na korisnim sugestijama i savetima, koji su značajno doprineli kvalitetu disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem profesoru dr Nikolaju Vasilevu i dr Polini Blagojević na pomoći pri kvantnomehaničkim izračunavanjima, kao i Nikoli Stojanović na saradnji prilikom ispitivanja farmakoloških/toksikoloških aktivnosti. Zahvaljujem se i kolegama iz laboratorije na predusretljivosti i razumevanju.

Naposletku, želim da izrazim i veliku zahvalnost mojoj porodici i momku Draganu, na podršci, razumevanju, strpljenju i ljubavi.

OZNAKE I SKRAĆENICE

Reagensi i rastvarači

AIBN	Azobisisobutyronitrile, Azobisizobutironitril
9-BBN	9-Borabiciklo[3.3.1]nonan
Boc ₂ O	Di- <i>terc</i> -butil-dikarbonat
BOMCl	Benzil-hlormetil-etar
BOP	Benzotriazol-1-iloksitris(dimetilamino)fosfonijum- -heksafluorfosfat
BSA	Bis(trimetilsilil)acetamid
BzCl	Benzoil-hlorid
CSA	Kamforsulfonska kiselina
CTAB	Heksadeciltrimetilamonijum-bromid
DCC	<i>N,N'</i> -Dicikloheksilkarbodiimid
DDQ	2,3-Dihlor-5,6-dicijano- <i>p</i> -benzohinon
DIBAL	Diizobutilaluminijum-hidrid
DIC	<i>N,N'</i> -Diizopropilkarbodiimid
DIEA	<i>N,N</i> -Diizopropiletilamin
DMAE	<i>N,N</i> -Dimetiletanolamin
DMANE	1-(Dimetilamino)-2-nitroetilen
DMAP	4-(Dimetilamino)piridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamid
DMFDMA	Dimetilformamid-dimetilacetal

DMPMCl	3,4-Dimetoksibenzil-hlorid
DMSO	Dimetil-sulfoksid
DTBMP	2,6-Di- <i>terc</i> -butil-4-metilpiridin
EDC	<i>N'</i> -Etil- <i>N</i> -(3-(dimetilamino)propil)karbodiimid
HMPA	Heksametilfosforamid
LHMDS	Litijum-bis(trimetilsilil)amid
MeOTf	Metil-trifluormetansulfonat
MPMCl	<i>p</i> -Metoksibenzil-hlorid
MsCl	Metansulfonil-hlorid (mezil-hlorid)
NBS	<i>N</i> -Bromsukcinimid
NCS	<i>N</i> -Hlorsukcinimid
NIS	<i>N</i> -Jodsukcinimid
PB	Fosfatni puffer (Phosphate Buffer)
PdCl ₂ (dppf)	(1,1'-Bis(difenilfosfino)ferocen)dihloridpaladijum(II)
PPL type II	Lipaza iz svinjskog pankreasa tip II (Porcine Pancreas Lipase)
PPTS	Piridinijum- <i>p</i> -toluensulfonat
PyBOP	Benzotriazol-1-il-oksitripirolidinofosfonijum-heksafluorofosfat
TBAF	Tetrabutilamonijum-fluorid
TBAI	Tetrabutilamonijum-jodid
TBDPSCl	<i>terc</i> -Butil(hlor)difenilsilan
TBSCl	<i>terc</i> -Butil(hlor)dimetilsilan
TEA	Trietilamin
TFA	Trifluorsirćetna kiselina

THF	Tetrahidrofuran
TMSCl	Hlortrimetilsilan
TMS-N ₃	Trimetilsilil-azid
TMSOTf	Trimetilsilil-trifluormetansulfonat
TrCl	Trifenilmetil-hlorid (tritol-hlorid)
TsCl	4-Toluensulfonil-hlorid (tozil-hlorid)

Nomenklatura:

Ac – acetyl

Ar – aril

Me – metil

Et – etil

Ph – fenil

Bn – benzil

Bz – benzoil

n – normalni niz

E – *entgegen* (stereodeskriptor)

Z – *zusammen* (stereodeskriptor)

o – *orto*

m – *meta*

p – *para*

R – alkil

Nuklearna magnetna rezonantna spektroskopija. Infracrvena spektroskopija. Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija.

1D – jednodimenzionalna

2D – dvodimenzionalna

¹H NMR – protonska nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija

¹³C NMR – nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija ugljenika-13

DEPT – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.*

HMBC – Heteronuklearne korelacije spektroskopije preko više veza (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*)

HSQC – Heteronuklearne jednokratne korelacije spektroskopije (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*)

NOESY – Spektroskopije nuklearnog Overhauserovog efekta (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*)

ROESY – *Rotating-frame nuclear Overhauser effect correlation spectroscopy*

ATR – Oslabljenje totalne refleksije (*Attenuated Total Reflectance*)

$\Delta\delta$ – razlika hemijskih pomerenja

δ – hemijsko pomerenje

$\Delta\nu$ – razlika u hemijskim pomeranjima (Hz)

J – konsanta kuplovanja

m – multiplet

s – singlet

dd – dublet dubleta

ddd – dublet dublet dubleta

dt – dublet tripleta

ddt – dublet dubleta tripleta

dqd – dublet kvarteta dubleta

d ps q – dublet pseudo kvarteta

t – triplet

td – triplet dubleta

t ps quintet – triplet pseudo kvinteta

tm – triplet multiplleta

ps t – pseudo triplet

q – kvartet

sept. – septuplet

br s – široki singlet

br t – široki triplet

br d – široki dublet

br dd – široki dudlet dubleta

br tm – široki triplet multipleta

br d ps t – široki dublet pseudo tripleta

IR – infracrvena spektroskopija

UV – ultraljubičasta spektroskopija

UV-Vis – ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija

Hromatografija i masena spektrometrija

HRMS – **H**igh **R**esolution **M**ass Spectrometry (masena spektrometrija visokog razlaganja)

GC (FID)

RI – retencioni indeks

MS – masena spektrometrija

HPLC – tečna hromatografija visokih performansi

Ostalo

k_c – konstanta brzine

T_c – temperatura koalescencije

TS – prelazno stanje

QSPR – *Quantitative structure–property modelling*

MTI – molekulski topološki indeks

Bp – Boiling point (tačka ključanja)

CAS – *Chemical Abstracts Service*

LD₅₀ – smrtonosna doza

SDS – natrijum-dodecil-sulfat

MPO – mijeloperoksidaza

MTT – 3-(4,5-dimetiltijazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid

SD – standardna devijacija

SADRŽAJ

1. UVOD I CILJEVI RADA	1
2. OPŠTI DEO	6
2.1. HALOGENOVANI SEKUNDARNI METABOLITI ASCIDIJA PORODICE DIDEMNIDAE	7
2.1.1. STRUKTURNA RAZNOLIKOST HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA ASCIDIJA KOJE PRIPADAJU RODU <i>DIDEMNUM</i>	8
2.1.2. STRUKTURE HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA ASCIDIJA KOJE PRIPADAJU OSTALIM RODOVIMA PORODICE DIDEMNIDAE	14
2.1.3. BIOLOŠKA AKTIVNOST HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA	23
2.1.4. TOTALNE SINTEZE HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA ASCIDIJA	26
2.2. JODOVANJE AROMATIČNIH JEDINJENJA	40
2.3. ARISTOL	44
2.4. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE FENOLA	47
2.4.1. MEHANIZMI OKSIDATIVNOG KUPLOVANJA FENOLA	47
2.4.1.1. KUPLOVANJE ARILOKSI RADIKALA	48
2.4.1.2. SUPSTITUCIJA RADIKALA	48
2.4.1.3. ELEKTROFILNA AROMATIČNA SUPSTITUCIJA	49
2.4.1.4. KONCERTOVANO KUPLOVANJE I TRANSFER ELEKTRONA	49
2.4.1.5. POSTOKSIDATIVNO KUPLOVANJE	50
2.4.1.6. RADIKAL-KATJONSKE REAKCIJE	50
2.4.2. REGIOSELEKTIVNOST OKSIDATIVNOG KUPLOVANJA FENOLA	51
2.4.2.1. C-C KUPLOVANJE FENOLA	51
2.4.2.2. KUPLOVANJA PREKO BENZILNIH UGLJENIKA	53
2.4.3. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE FENOLA POMOĆU JODA	53
2.4.4. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE U PRIRODI	58
2.5. ATROPIZOMERIJA	59
2.5.1. ATROPIZOMERIJA KAO POSLEDICA OTEŽANE ROTACIJE OKO SP^2 - SP^2 VEZA	59
2.5.2. ATROPIZOMERIJA KAO POSLEDICA OTEŽANE ROTACIJE OKO SP^2 - SP^3 VEZA	59
2.5.3. ATROPIZOMERIJA KAO POSLEDICA SPREČENE ROTACIJE OKO SP^3 - SP^3 VEZE	62
2.6. „ZELENE“ SINTEZE	63
2.6.1. „E“ FAKTOR	65

2.6.2.	„EKONOMIJA ATOMA“	65
2.6.3.	SINTEZE BEZ ZAŠTITNIH GRUPA	66
2.6.4.	REAKCIJE BEZ RASTVARAČA	68
2.7.	SINTEZA AMIDA	71
2.7.1.	REAKCIJE AMINOLIZE	72
2.7.1.1.	REAKCIJE AMINA SA ACIL-HALOGENIDIMA	72
2.7.1.2.	REAKCIJE AMINA SA ESTRIMA	72
2.7.1.3.	REAKCIJE AMINA SA ANHIDRIDIMA	74
2.7.1.4.	REAKCIJA AMINA SA KARBONILDIIMIDAZOLOM	74
2.7.2.	DRUGI PRISTUPI SINTEZI AMIDA	74
2.7.2.1.	<i>BECKMANN</i> -OVO PREMEŠTANJE	74
2.7.2.2.	<i>PASSERINI</i> I <i>UGI</i> REAKCIJE	74
2.7.2.3.	<i>WILLGERODT</i> -OVA REAKCIJA	76
3.	EKSPERIMENTALNI DEO	77
3.1.	HEMIKALIJE I RASTVARAČI	78
3.2.	METODE ANALIZE I RAZDVAJANJA	78
3.2.1.	NUKLEARNO-MAGNETNA REZONANTNA (NMR) SPEKTROSKOPIJA	78
3.2.2.	KVANTITATIVNI NMR (QNMR)	78
3.2.3.	ULTRALJUBIČASTA (UV) SPEKTROSKOPIJA	79
3.2.4.	INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (IR)	79
3.2.5.	ELEMENTNA MIKROANALIZA	79
3.2.6.	ODREĐIVANJE TAČKE TOPLJENJA	79
3.2.7.	MASENA SPEKTROMETRIJA VISOKOG RAZLAGANJA (HRMS)	79
3.2.8.	GASNA HROMATOGRAFIJA (GC) I GASNA HROMATOGRAFIJA-MASENA SPEKTROMETRIJA (GC–MS)	79
3.2.9.	TANKOSLOJNA HROMATOGRAFIJA (TLC)	80
3.2.10.	<i>DRY FLASH</i> HROMATOGRAFIJA	80
3.2.11.	HROMATOGRAFIJA NA KOLONI	80
3.2.12.	GEL HROMATOGRAFIJA	81
3.3.	SINTEZA I IZOLOVANJE JEDINJENJA	81

3.3.1. SINTEZA, RAZDVAJANJE, DERIVATIZACIJA I SPEKTRALNI PODACI SASTOJAKA ARISTOLA	81
3.3.1.1. SPEKTRALNI PODACI SASTOJAKA ARISTOLA	81
3.3.1.2. METILOVANJE JEDINJENJA 1-1-1-7	85
3.3.1.3. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE TIMOLA	86
3.3.1.4. IZRAČUNAVANJE RETENCIONIH INDEKSA (<i>QUANTITATIVE STRUCTURE-PROPERTY MODELLING (QSPR) OF RETENTION INDICES</i>)	86
3.3.1.5. IZRAČUNAVANJA (PRORAČUNI)	87
3.3.2. SINTEZA I IZOLOVANJE DERIVATA KARVAKROLA	89
3.3.2.1. JODOVANJE KARVAKROLA	89
3.3.2.2. BROMOVANJE KARVAKROLA	90
3.3.2.3. DERIVATIZACIJA SINTETISANOG 3-IZOPROPIL-2,4-DIJOD-6-METILFENOLA (2-1) I 2,4-DIBROM-3-IZOPROPIL-6-METILFENOLA (2-4)	92
3.3.2.4. IZRAČUNAVANJA AKTIVACIONIH PARAMETARA ZA ROTACIONU BARIJERU JEDINJENJA	96
3.3.3. SINTEZA PRIRODNOG PROIZVODA IZ ASCIDIJE <i>D. RUBEUM</i> I NJEGOVOH ANALOGA	97
3.3.3.1. SINTEZA <i>N</i> -[2-(4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA (3-1) I <i>N</i> -[2-(4-METOKSIFENIL)ETIL]FORMAMIDA (3-2)	97
3.3.3.2. JODOVANJE JEDINJENJA 3-1 I 3-2	98
3.3.3.3. SINTEZA <i>N</i> -[2-(3-JOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]ACETAMIDA	100
3.3.3.4. NEUSPEŠNI ALTERNATIVNI SINTETIČKI PUT	101
3.3.3.5. TESTIRANJE TOKSIKOLOŠKE/FARMAKOLOŠKE AKTIVNOSTI SINTETISANIH JEDINJENJA	104
3.3.4. „ZELENA“ SINTEZA <i>N</i> -[2-(3,5-DIJOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA (3-3)	107
3.3.4.1. SINTEZA AMIDA BEZ RASTVARAČA	107
3.3.4.2. „ZELENA“ SINTEZA PRIRODNOG PROIZVODA (3-3)	116
4. RAZULTATI I DISKUSIJA	118
4.1. SINTEZA I ODREĐIVANJE STRUKTURE SASTOJAKA ARISTOLA	119
4.1.1. SINTEZA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA	119

4.1.2.	MOGUĆI MEHANIZAM JODOVANJA-OKSIDATIVNOG KUPLOVANJA TIMOLA	132
4.2.	SINTEZA HALOGENOVANIH DERIVATA KARVAKROLA	143
4.2.1.	SINTEZA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA MONO- I DIJOD-DERIVATA KARVAKROLA	143
4.2.2.	DERIVATI 3-IZOPROPIL-2,4-DIJOD-6-METILFENOLA I DRUGIH HALOGENOVANIH KARVAKROLA	149
4.2.3.	ODREĐIVANJE KINETIČKIH PARAMETARA DINAMIČKIM NMR EKSPERIMENTIMA	155
4.3.	SINTEZA I TOKSIKOLOŠKA/FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST JODOVANIH TIRAMIDA	161
4.3.1.	SINTEZA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA PRIRODNOG PROIZVODA IZ <i>D. RUBEUM</i> I ANALOGNIH SINTETIČKIH JODOVANIH TIRAMIDA	161
4.3.2.	TOKSIKOLOŠKA I FARMAKOLOŠKA SVOJSTVA SINTETISANIH JEDINJENJA	168
4.3.2.1.	TOKSIČNOST SINTETISANIH JEDINJENJA NA RAČICE <i>A. SALINA</i>	168
4.3.2.2.	EFEKAT JEDINJENJA 3-1 , 3-3-3-5 I 3-7 NA VIJABILNOST MAKROFAGA	169
4.3.2.3.	UTICAJ JEDINJENJA 3-1 , 3-3-3-5 I 3-7 NA FUNKCIONALNA SVOJSTVA MAKROFAGA	171
4.3.2.4.	IZGLED MAKROFAGA POD UTICAJEM ISPITIVANIH JEDINJENJA	174
4.4.	„ZELENA“ SINTEZA <i>N</i>-[2-(3,5-DIJOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA	175
4.4.1.	METODA GRAĐENJA AMIDA BEZ RASTVARAČA	177
4.4.2.	SINTEZA <i>N</i> -[2-(3,5-DIJOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA (3-3) I OPTIMIZACIJA REAKCIJE JODOVANJA	187
5.	IZVOD	188
6.	SUMMARY	192
7.	LITERATURA	196
8.	PRILOZI	215
9.	BIOGRAFIJA I BIBLIOGRAFIJA AUTORA	230
10.	IZJAVE AUTORA	235

1. UVOD I CILJEVI RADA

Početkom 19-og veka, *Bernard Courtois* je proučavajući sastav pepela mrkih morskih algi (*Laminaria* sp.) izolovao i identifikovao novi element – jod. Mrke alge, posebno roda *Laminaria*, sadrže najveću količinu joda u svim živim organizmima. Iako je jod otkriven tek 1811. godine, morske alge su korišćene za lečenje gušavosti još za vreme vladavine kineskog cara *Shen-Nung-a*, 3000 godina pre nove ere, i u Grčkoj, u vreme Hipokrata. Jod je esencijalni strukturni deo hormona tiroidne žlezde; ovi hormoni, a samim tim i jod, su nepohodni za život sisara. Relativno malo se zna o organskim metabolitima joda i prirodnim proizvodima koji nisu proizvodi tiroidne žlezde.

U vodama okeana jod se nalazi u obliku jodata i jodida. Odnos koncentracije rastvorenog joda i saliniteta je konstantna vrednost (12,8 nM/‰), međutim, odnos je obično manji u površinskim vodama, što ukazuje na to da se jod na neki način gubi u atmosferu kao I₂ ili isparljiva organska jedinjenja, ili je pak inkorporiran u organsku materiju. Do inkorporiranja joda u organska jedinjenja može doći usled redukcije jodata ili oksidacije jodida pri čemu nastaje HOI, ili njen ekvivalent, elektrofilni reagens (Truesdale i sar., 1995), koji dovodi do formiranja C–I ili N–I veza (Harvey, 1980).

Veliki broj jedinjenja koja sadrže jod, organskih ili neorganskih, koriste se kao reagensi u organskim sintezama, dok se molekulski jod koristi uglavnom za jodovanja, oksidaciju i kao *Lewis*-ova kiselina. Reagensi joda sa oksidacionim stanjima -1 i +1 su izvori nukleofilnog odnosno elektrofilnog joda, dok polivalentna jedinjenja joda čine posebnu klasu reagenasa sa jodom, pri čemu su oksidaciona stanja joda od +3 do +7, što ga čini veoma elektrofilnim. Reakcije jodovanja, oksidacije i formiranje C–C veze su najbitnije transformacije koje se vrše upotrebom reagensa koji sadrže jod (selektivni, netoksični i ekološki benigni reagensi).

Kako dosadašnja istraživanja koja su se bavila jedinjenjima joda ukazuju na mogući razvoj ovog polja hemije u smislu sinteze i identifikacije biološki aktivnih kako prirodnih tako i do sada nepoznatih u prirodi organskih jedinjenja joda, u ovom radu je praćena ideja sinteze, ako je to moguće one koja prati načela zelene hemije, ovakvih jedinjenja koristeći prirodni proizvod kao osnovu.

Predmet našeg istraživanja su biološki aktivna jedinjenja dobijena reakcijom jodovanja monoterpenskih fenola timola (2-izopropil-5-metilfenol) i karvakrola (5-izopropil-2-metilfenol), kao i sinteza citoksičnih prirodnih jodovanih derivata tiramina (4-(2-aminoetil)fenol):

Više od 130 godina na tržištu je prisutan antiseptik aristol, koji se dobija tretiranjem timola jodom u alkalnom rastvoru (Woollett, 1921). Do 1951. godine, predloženo je nekoliko struktura za aristol, međutim, ni jedna od njih nije odgovarala svim hemijskim i fizičkim osobinama aristola (Messinger i Vortmann, 1889; Urban, 1896; Dannenberg, 1903; Bougault, 1918; Moles i Marquina, 1919; Sanna i Zucca, 1951). Takođe, ne zna se ni da li ovaj preparat predstavlja jedno jedinjenje ili sadrži više sastojaka. Danas, većina farmakopeja i komercijalnih izvora (na primer svetski poznata hemijska kompanija *Sigma Aldrich*), aristol navodi kao derivat jodoksibifenila, iako u literaturi ne postoje dokazi u korist ove strukture; shodno tome, do sada nije predložen ni mehanizam nastanka (sastojaka) aristola.

Iznenadjuće je da nijedan dijod-derivat timola i karvakrola (regioizomera timola), kao i mnogi monojod-derivati nisu opisani u literaturi. Pomenuti jodovani timoli bi mogli biti sastojci aristola. Kod dijodkarvakrola bi se moglo očekivati da se oba atoma joda nađu u *orto*-položaju u odnosu na izopropil-grupu, a *orto*-, odnosno *para*-, u odnosu na fenolnu. Ovakva regiohemija bi potencijalno uzrokovala da rotacija oko veze aromatično jezgro–izopropil grupa (Csp^2 - Csp^3) bude otežana, i da usled toga postoje diastereoizomeri atropizomernog tipa (Casarini et al., 2007; Denmark, 2003).

Halogenovani metaboliti različitih živih organizama mogu imati interesantne biološke aktivnosti. Do sada je izolovano nekoliko jodovanih derivata tiramina iz ekstrakta plaštaša *Didemnum rubeum*. Sirovi ekstrakt ove ascidije je pokazao citotoksičnu aktivnost (Solano et al., 2009). Potencijalni značaj ovih prirodnih proizvoda se, takođe, ogleda u sličnosti njihovih struktura sa tiroksinom i trijodtironinom, tiroidnim hormonima. Postoji trend u organskoj sintezi da se one izvode tako da se maksimalno vodi računa o očuvanju životne sredine (*green synthesis*), tj. bez upotrebe organskih rastvarača ili svođenje njihove upotrebe na minimum, odnosno osmišljavanje takvih sintetskih postupaka koji ne daju sporedne proizvode ili su oni ekološki prihvatljivi (Ranu et al., 2003; Radulović et al., 2013).

Cilj ove doktorske disertacije je bio sinteza, identifikacija i spektralna karakterizacija odabranih jodovanih derivata aromatičnih jedinjenja koji su ili prirodnog porekla, ili su nastali jodovanjem prirodnih proizvoda. Konkretno, postavljeni su sledeći ciljevi:

1. Sinteza aristola, jodovanjem timola pod alkalnim uslovim.

- Potencijalno hromatografsko razdvajanje nastalih proizvoda i određivanje njihove strukture spektroskopskim metodama.
 - Potvrda strukture hemijskim transformacijama i kvantnomehaničkim proračunima.
 - Predlaganje mehanizma nastanka (sastojaka) aristola.
 - Postavljanje QSPR (*Quantitative Structure–Property Relationship*) modela kvantitativne veze strukture (strukturni deskriptori) i osobina (gasnohromatografskih retencionih indeksa) koji bi omogućio identifikaciju (sastojaka) aristola pomoću gasne hromatografije sa masenom detekcijom, bez prethodnog preparativnog hromatografskog razdvajanja.
2. Sinteza i prečišćavanje monojod-derivata i diiod-derivata timola i karvakrola.
- Detaljna spektralna karakterizacija dobijenih derivata.
 - Provera hipoteze o postojanju atropizomera oko sp^2-sp^3 veze pomoću 1H i ^{13}C nuklearne magnetne rezonantne spektroskopije.
 - Detaljna interpretacija pomenutih NMR spektara, kao i moguća potpuna asignacija 1H i ^{13}C NMR signala.
 - Sinteza estara i etara dobijenih jodovanih karvakrola u cilju potvrde njihove strukture.
 - Formalna zamena jednog ili oba atoma joda sa atomom (atomima) broma.
3. Višekoračna sinteza amida jodovanih tiramina (amidi benzoeve, mravlje i sirćetne kiseline i monojodtiramina i diiodtiramina).
- Izolovanje i potvrda strukture upotrebom spektroskopskih metoda.
 - Pronalaženje najkraćeg sintetskog puta, uz maksimalni prinos, i najblaže reakcione uslove.
 - Detaljno izučavanje ključnih koraka ove sinteze: reakcije jodovanja i građenja amida.
 - Osmišljavanje i izvođenje zelene sinteze koja u koraku građenja amida ne koristi organski rastvarač, kao i jodovanje u vodenoj sredini uz vođenje računa o „ekonomiji atoma“.
 - Optimizacija uslova reakcije nastajanja amida; sinteza velikog broja strukturno različitih amida i ispitivanje uticaja različitih strukturnih fragmenata na prinos reakcije.

Za predviđena ispitivanja korišćene su sledeće metode:

1. Dobijanje halogenovanih proizvoda – reakcijama jodovanja, bromovanja, kao i odgovarajućim sintetskim putem koji obuhvata „zelene“ reakcije (reakciju jodovanja i nastajanje amida);

2. Praćenje toka reakcija i analiza reakcionih smeša – gasna hromatografija (GC) i gasna hromatografija sa masenom detekcijom (GC–MS), tankoslojna hromatografija;
3. Izolovanje, razdvajanje i prečišćavanje – kolonska hromatografija na silika gelu i sefadeks (*Sephadex*) LH-20, *dry-flash* hromatografija;
4. Spektroskopska i strukturna karakterizacija – nuklearna magnetna rezonantna spektroskopija ugljenika-13 i vodonika-1 (^1H i ^{13}C NMR, jednodimenzionalna i dvodimenzionalna), infracrvena spektroskopija (IR), ultraljubičasta–vidljiva spektroskopija (UV–Vis), masena spektrometrija (MS).

2. OPŠTI DEO

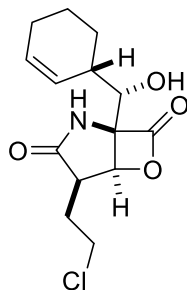
2.1. HALOGENOVANI SEKUNDARNI METABOLITI ASCIDIJA PORODICE DIDEMNIDAE

Klasa Ascidiacea obuhvata oko 3000 vrsta plaštaša koji su raspodeljeni u tri reda: Stolidobranchia, Phlebobranchia i Aplousobranchia (Lambert, 2005). Porodica Didemnidae, Giard, 1872, sa oko 580 vrsta pripada redu najbogatijem vrstama, Aplousobranchia (Shenkar i Swalla, 2011). Ova porodica obuhvata osam rodova: *Atrium* Kott, 1983; *Clitella* Kott, 2001; *Didemnum* Savigny, 1816; *Diplosoma* Macdonald, 1859; *Leptoclinides* Bjerkan, 1905; *Lissoclinum* Verrill, 1871; *Polysyncrator* Nott, 1892; i *Trididemnum* Della Valle, 1881. Budući da se u prva dva roda ubraja ukupno desetak vrsta, najveća raznolikost porodice potiče od drugih rodova, posebno *Didemnum* i *Polysyncrator* (da Silva Oliveira i sar., 2017). *Didemnum* pripada grupi kolonijalnih plaštaša, sa najvećim brojem vrsti u ovoj porodici, neke od njih se čak smatraju i invazivnim. Vrste ovog roda često sadrže karbonatne spikule (mineralne iglice) u okviru plašta i grade nepravilne ili lobularne kolonije.

Morski organizmi predstavljaju značajan izvor novih prirodnih jedinjenja: više od 20000 jedinjenja je pronađeno do 2015. godine, a taj broj raste iz godine u godinu (Blunt i sar., 2015). Najveći broj novih bioaktivnih jedinjenja izolovanih iz morskih organizama poreklom je iz beskičmenjaka (među koje se ubrajaju plaštaši, odnosno ascidije) (Blunt i sar., 2007). Iako je didemnin B, metabolit ascidija, prvi marinski prirodni proizvod koji je dospao do kliničkih ispitivanja na ljudima, opsežna istraživanja o bioaktivnim jedinjenjima ascidija su skorijeg datuma (Newman i Cragg, 2006).

Okeani su najveći izvor biogenih organohalogenida, izolovanih iz morskih algi, sunđera, korala, plaštaša, bakterija i drugih morskih organizama (Gribble, 2003). Morski organizmi proizvode najveći deo od oko 4000 ukupno identifikovanih organohalogenida (Pauletti i sar., 2010), koji se mogu svrstati u veći broj klasa jedinjenja različitog biosintetskog porekla: od peptida, poliketida, indola, terpena i fenola do isparljivih halogenovanih ugljovodonika (Butler i Sandy, 2009). Morska voda sadrži anjone halogena u srednjim koncentracijama: 19000 mg/l za Cl⁻, 65 mg/l Br⁻ i 0,06 mg/l I⁻. Iako morski hloridnog jona ima preko 600 puta više u morskoj vodi od bromidnog, brom je najčešće kovalentno vezani halogen u izolovanim prirodnim jedinjenjima (Fenical, 1981). Najjednostavnije objašnjenje je u vezi sa činjenicom da se bromidni jon može značajno lakše oksidovati do neke elektrofilne vrste i tom prilikom inkorporirati u organska jedinjenja.

Veliki broj halogenovanih prirodnih proizvoda su biološki aktivna. Biološka aktivnost ovakvih prirodnih proizvoda je obično povezana sa prisustvom atoma halogena: npr. različita aktivnost salinosporamida A (metabolit koji sadrži hlor) i nehalogenovanog salinosporamida B (Gribble, 2004; Macherla i sar., 2005). Biološka/farmakološka svojstva halogenovanih metabolita su intenzivno izučavana poslednjih decenija, i dokazana je antibakterijska, antivirusna, antifungalna, antiinflamatorna i antiproliferativna/citotoksična aktivnost (Blunt i sar., 2009).

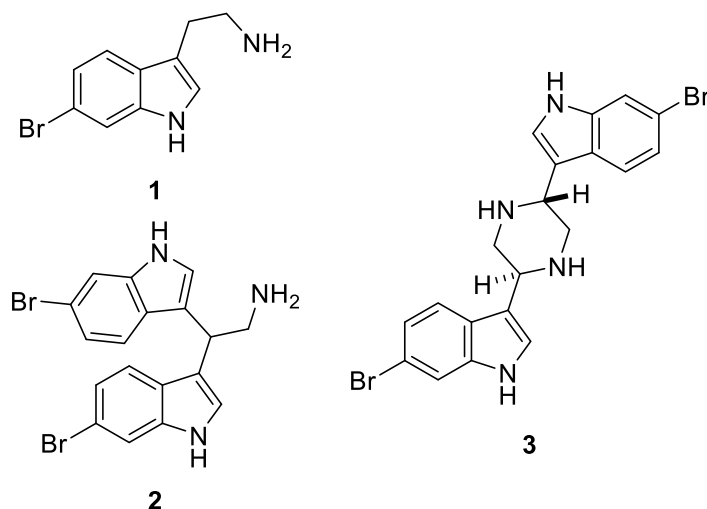


salinosporamid A

Veliki broj prirodnih proizvoda je izolovan iz ascidija, koje predstavljaju izvor peptida i alkaloida, kao i poliketida (Davidson, 1993; Chen i sar., 2017; Vera i Joullié, 2002), koji pokazuju različite bioaktivnosti (Palanisamy i sar., 2017). Međutim, još uvek je nejasno da li ovi prirodni proizvodi nastaju u samim ascidijama, ili ih biosintetišu mikroorganizami prisutni u njima (Chen i sar., 2018). Takođe, ascidije proizvode organohalogenide sa velikom strukturnom raznolikošću i širokim spektrom bioloških aktivnosti, koje mogu da imaju ekološki značaj za plaštaše ili terapijski značaj u humanoj medicini (Wang i Namikoshi, 2007). Osamdeset i jedno prirodno halogenovano jedinjenje izolovano je iz morskih ascidija porodice Didemnidae (iz rodova: *Didemnum*, *Diplosoma*, *Leptoclinides*, *Lissoclinum*, i *Trididemnum*).

2.1.1. STRUKTURNA RAZNOLIKOST HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA ASCIDIJA KOJE PRIPADAJU RODU *DIDEMNUM*

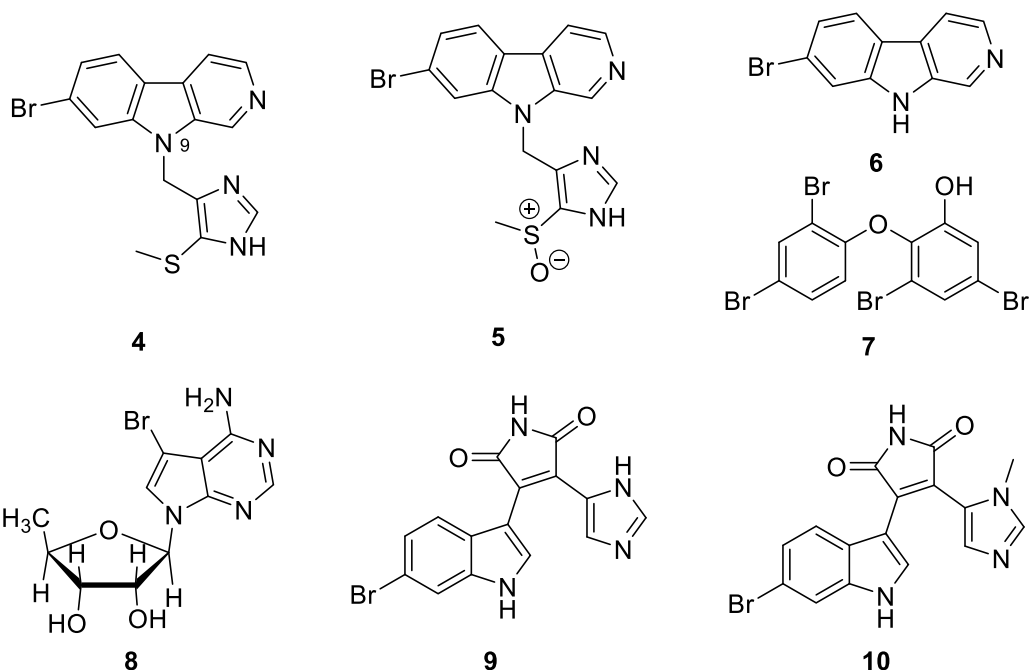
Trideset i tri halogenovana sekundarna metabolita su izolovana i identifikovana iz roda *Didemnum*. 6-Bromtriptamin (**1**), 2,2-bis(6-brom-3-indolil)etilamin (**2**) i 2,5-bis(6-brom-3-indolil)piperazin (dragmacidin C, **3**) predstavljaju prve bromovane sekundarne metabolite ascidija izolovane iz plaštaša *Didemnum candidum* (šema 2.1.1, Fahy i sar., 1991). Uzorci ascidije su sakupljeni u



Šema 2.1.1. Strukture 6-bromtriptamina (**1**), 2,2-bis(6-brom-3-indolil)etilamina (**2**) i 2,5-bis(6-brom-3-indolil)piperazina (**3**).

južnom Kalifornijskom zalivu. U ovom radu se prvi put navodi 6-bromtriptamin kao prirodni proizvod.

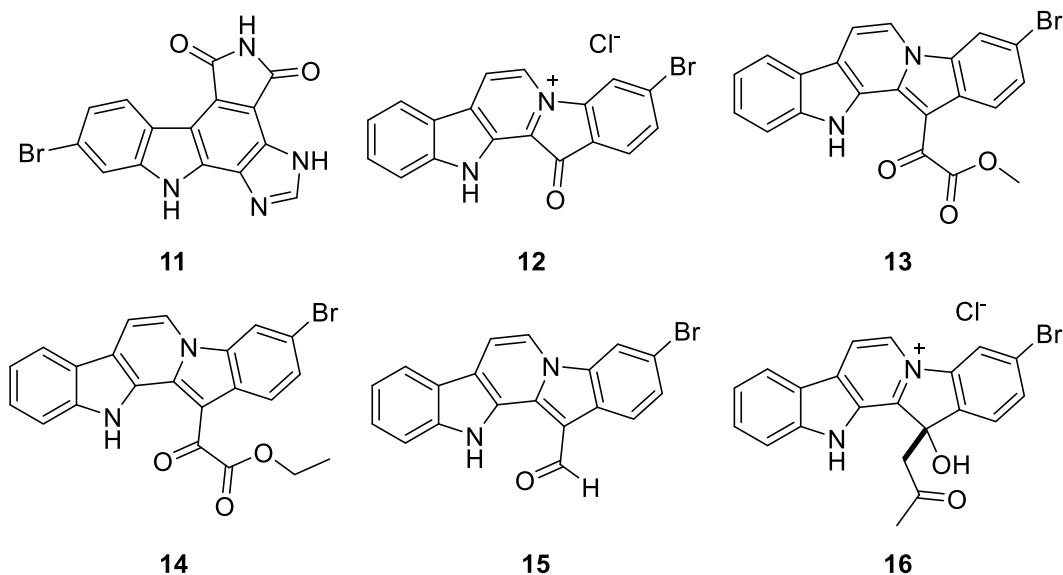
Schumacher i *Davidson* (1995) su izolovali dva nova bromovana β -karbolinska metabolita, didemnoline A (**4**) i C (**5**), zajedno sa eudistominom O (**6**) i 2-(2,4-dibromfenoksi)-3,5-dibromfenolom (**7**) (šema 2.1.2) iz nedeterminisane vrste roda *Didemnum*, sakupljene u blizini ostrva Rota, Severna Marijanska Ostrva. Jedinjenja **4** i **5** se razlikuju od većine prethodno identifikovanih morskih β -karbolinskih derivata po supstituciji na N-9, a ne na C-1. Poznato je da cijanobakterije proizvode polibromovane difenil-etere, tako da je prisustvo jedinjenja **7** kod ascidija neobično, a može se dovesti u vezu sa algama kao mogućim simbiontima ovih ascidija. *Mitchell* i saradnici su 1996. ispitali ascidiju *D. voeltzkowi* (Savigny, 1816), sakupljenu sa stena grebena Apo na Filipinima, i pritom su otkrili novi 7-deazapurinski nukleozid, 3-brom-5'-deoksitubercidin (**8**), (šema 2.2). *Vervoort* i saradnici (1997) su izolovali dva bromovana alkaloida sa novim indol-maleimid-imidazolskim skeletom, didemnimide B (**9**) i D (**10**) (šema 2.1.2), iz karipske ascidije *Didemnum conchyliatum* (Sluiter, 1898). Rendgenskom strukturnom analizom nebromovanog alkaloida didemnimida A potvrđen je predloženi skelet, dok su strukture jedinjenja **9** i **10** određene drugim spektralnim tehnikama (UV, FTIR i HRMS) i jednodimenzionalnim i dvodimenzionalnim NMR eksperimentima. Didemnimid D je takođe identifikovan u metanolnom ekstraktu ascidije



Šema 2.1.2. Strukture didemmolina A (**4**), C (**5**), eudistomina O (**6**), 2-(2,4-dibromfenoksi)-3,5-dibromfenola (**7**), 3-brom-5'-deoksitubercidina (**8**) i didemnimida B (**9**) i D (**10**)

D. granulatum sakupljene u Brazilu (Berlinck i sar., 1998). Takođe, godinu dana kasnije *Vervoort*-ova grupa je potvrdila prisustvo ovih alkaloida u ascidiji *D. conchyliatum*.

Ponovno ispitivanje ekstrakta ascidije *D. granulatum*, sakupljenim na nekoliko lokacija u *São Sebastião* (brazilska obala), rezultovalo je otkrićem novog granulatimidnog alkaloida, 6-bromgranulatimid (**11**) (šema 2.1.3), zajedno sa poznatim didemnimidom D (**10**) (Britton i sar., 2001). Struktura jedinjenja **11** je određena spektroskopskim metodama; međutim, usled male količine izolovane supstance ^{13}C NMR hemijska pomeranja ugljenika nisu bila dostupna iz standardnog ^{13}C NMR spektra, već su određena iz dvodimenzionalnih spektara (HMQC i HMBC). *Segraves* i saradnici (2003. i 2004. godine) su identifikovali četiri nova bromovana jedinjenja klase faskaplizina: 3-bromfaskaplizin (**12**), 3-bromhomofaskaplizin B (**13**), 3-bromhomofaskaplizin B-1 (**14**) i 3-bromhomofaskaplizin C (**15**) (šema 2.1.3). Pomenuta jedinjenja su izolovana iz dva uzorka nedeterminisane vrste roda *Didemnum*, koji su sakupljeni unutar severoistočnog prolaza koralnog ostrva Čuk, u Saveznim Državama Mikronezije i u blizini severnog Sulavesija, u Indoneziji.



Šema 2.3. Strukture 6-bromgranulatimida (**11**), 3-bromfaskaplizina (**12**), 3-bromhomofaskaplizina B (**13**), 3-bromhomofaskaplizina B-1 (**14**), 3-bromhomofaskaplizina C (**15**) i 3-bromhomofaskaplizina A (**16**).

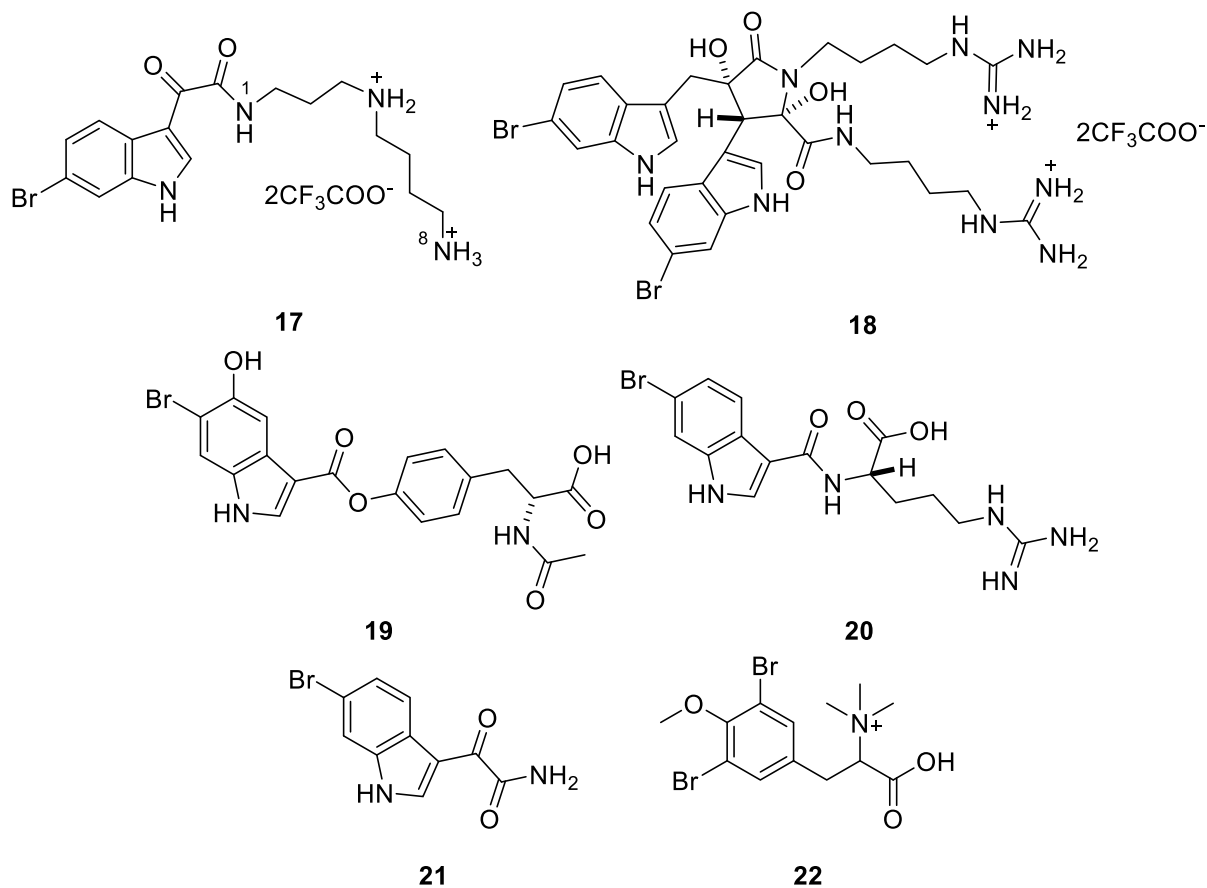
3-Bromhomofaskaplizin A (**16**, šema 2.1.3), novi analog faskaplizina, izolovan je iz nepoznatog plaštaša roda *Didemnum*, prikupljenog sa grebena *Pratt*, ostrvo Fidži (Lu i sar., 2011). Njegova struktura je određena spektralnim metodama, dok je apsolutna konfiguracija utvrđena na osnovu poređenja eksperimentalnog ECD spektra sa izračunatim.

Didemnidin B (**17**, šema 2.1.4), bromovani analog *N*¹-(indol-3-il-dikarbonil)spermidina, izolovan je iz ascidije roda *Didemnum* sa Novog Zelanda, sakupljene kod rta *Tiwai*, Sautlend (Finlayson i sar., 2011). Pored ovog jedinjenja izolovani su i već poznati maleimidi, didemnimidi B (**9**) i D (**10**), u obliku trifluoracetata (nastali u toku HPLC razdvajanja). Derivati spermidina su svega nekoliko puta identifikovani kod morskih organizama, dok su jedinjenje **17** i njegov nebromovani analog jedini primeri mono-*N*¹-supstituisanih derivata.

U cilju identifikacije novih biološki aktivnih jedinjenja, *Liberio* i saradnici (2014) su formirali biblioteku ekstrakata ascidija (143 uzorka), i ispitali njihovu biološku aktivnost. Na osnovu dobijenih rezultata izvršili su frakcionisanje aktivnih ekstrakata i tom prilikom identifikovali poznati prirodni proizvod eusinstijelamid B (**18**), kao trifluoracetat (šema 2.1.4). Identifikacija je izvršena analizom 1D- i 2D-NMR spektara, $[\alpha]_D$, CD i MS podataka, u kombinaciji sa literaturnim

podacima. Ovo jedinjenje je izolovano iz *D. candidum*, čiji uzorak je sakupljen na Velikom koralnom grebenu, Kvinslend u Australiji.

Prilikom analize uzorka kolonije plaštaša roda *Didemnum*, sakupljenog blizu *Haegeumgang*, ostrvo *Geoje*, Koreja, izolovana su sledeća jedinjenja: *N*-acetil-*O*-(6-brom-5-hidroksi-1*H*-indol-3-il-karbonil)-*D*-tirozin (**19**), zatim *N*-(6-brom-1*H*-indol-3-il-karbonil)-*L*-arginin (**20**) i (6-brom-1*H*-indol-3-il)oksoacetamid (**21**, šema 2.1.4) (Hahn i sar., 2015).



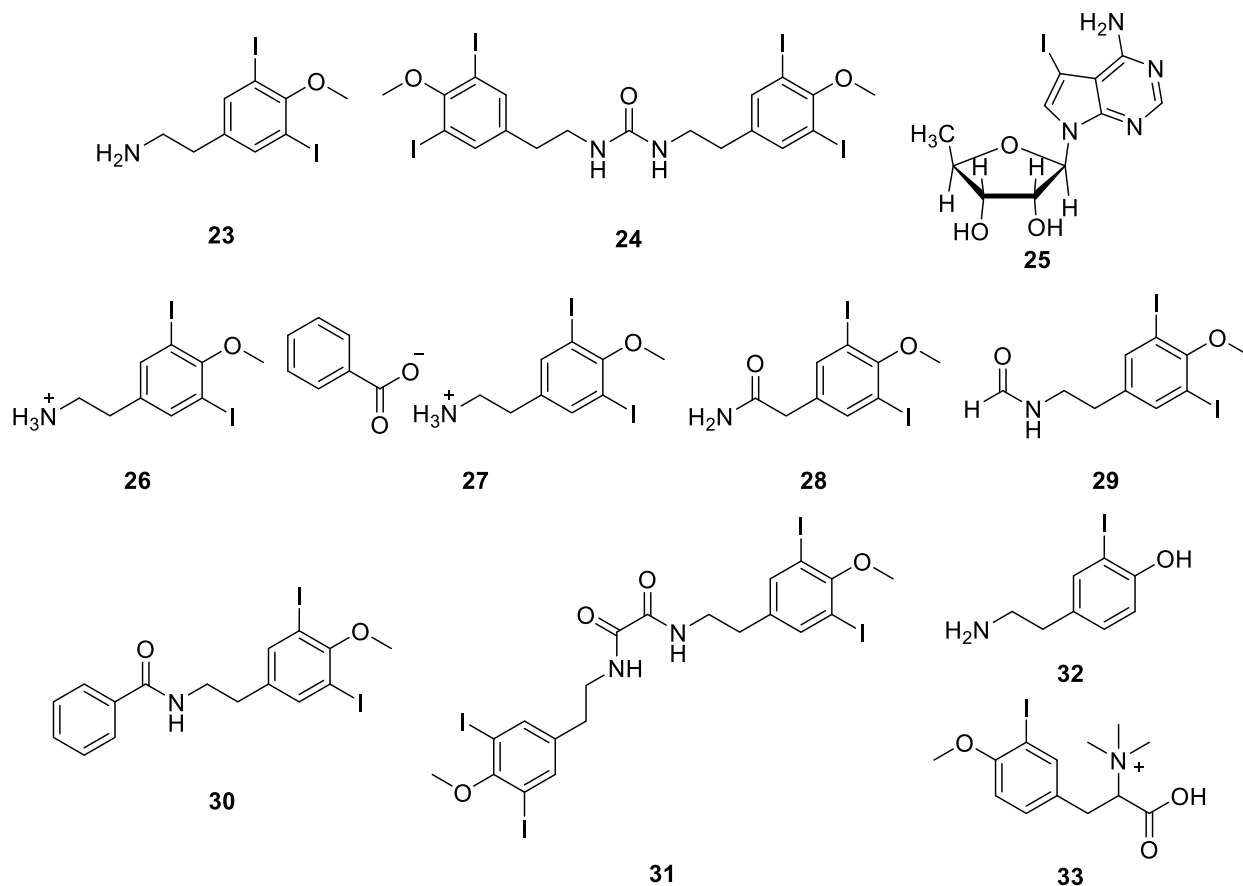
Šema 2.1.4. Strukture didemnidina B (**17**), trifluoracetatne soli eusinstijelamida B (**18**), *N*-acetil-*O*-(6-brom-5-hidroksi-1*H*-indol-3-il-karbonil)-*D*-tirozin (**19**), *N*-(6-brom-1*H*-indol-3-il-karbonil)-*L*-arginina (**20**), (6-brom-1*H*-indol-3-il)oksoacetamida (**21**) i 3,5-dibrom-*N,N,N,O*-tetrametiltirozinijum (**22**, u radu Bromley-ja i saradnika (2018) nije naveden kontra-jon).

3,5-Dibrom-*N,N,N,O*-tetrametiltirozinijum (**22**, šema 2.1.4) identifikovan je u ekstraktu ascidije roda *Didemnum* sakupljene u zalivu Algoa u Južnoj Africi upotrebom LC-ICP-MS/ESI-MS tehnike (Bromley i sar., 2018). *Sesin* i *Ireland* su 1984. godine izolovali derivate tiramina koji sadrže jod: 3,5-dijod-4-metoksibenzenetanamin (**23**) i odgovarajuću simetričnu ureu (1,3-bis(3,5-dijod-4-metoksifenil)urea) (**24**) (šema 2.1.5), kao metabolite nepoznate vrste roda *Didemnum* sakupljene u severozapadnom delu lagune Kokos, Gvam. Takođe, jedinjenje **23** je izolovano iz uzoraka nepoznate vrste roda *Didemnum* (iz mora Indonezije), zatim *D. rubeum* iz Republike Palau i uzorka iste vrste koji potiče iz okoline ostrva Rota, Severna Marijanska Ostrva (Smith i sar., 1997; Ford i Davidson, 1997).

Dva poznata anomera 5'-deoksi-3-jodtubercidina (**25**, šema 2.1.5) su identifikovana iz metanolnog ekstrakta ascidije *D. voeltzkowi* sa stena grebena Apo na Filipinima (Mitchell i sar., 1996).

Jedinjenje **23**, 2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etilamonijum-hidroksid (**26**, autori nisu naveli koji je kontra jon, ali se na osnovu njihovih podataka može zaključiti da je kontra jon OH⁻ usled disocijacije amino grupe u vodenom rastvoru) i šest novih jodovanih metabolita (2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etilamonijum-benzoat (**27**), 2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)acetamid (**28**), *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]formamid (**29**), *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**30**), *N,N'*-bis[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]etandiamid (**31**), 4-(2-aminoetil)-2-jodfenol (**32**), šema 2.1.5) izolovana su iz vodenog ekstrakta plaštaša *D. rubeum* sa dubine od 10 m u blizini koralnog ostrva Čuk (Solano i sar., 2009).

U uzorku nepoznate vrste ascidije roda *Didemnum*, sakupljene na dubini od 18 metara na peščanom grebenu u zalivu Algoa u Južnoj Africi, pronađeno je novo jedinjenje 3-jod-*N,N,N,O*-tetrametiltirozinijum-jon (**33**) (Bromley i sar., 2018; šema 2.1.5). Ovo jedinjenje je prvi primer prisustva jodovanih metabolita kod morskih beskičmenjaka u Južnoj Africi.



Šema 2.1.5. Strukture 3,5-dijod-4-metoksibenzenetanamina (**23**), 1,3-bis(3,5-dijod-4-metoksifenil)uree (**24**), 5'-deoksi-3-jodtubercidina (**25**), (3,5-dijod-4-metoksifenil)etilamonijum-hidroksid (**26**), (2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etilamonijum-benzoata (**27**), 2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)acetamida (**28**), *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]formamida (**29**), *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**30**), *N,N'*-bis[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]etandiamida (**31**), 4-(2-aminoetil)-2-jodfenola (**32**) i 3-jod-*N,N,N,O*-tetrametiltirozinijum-jona (**33**).

2.1.2. STRUKTURE HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA ASCIDIJA KOJE PRIPADAJU OSTALIM RODOVIMA PORODICE DIDEMNIDAE

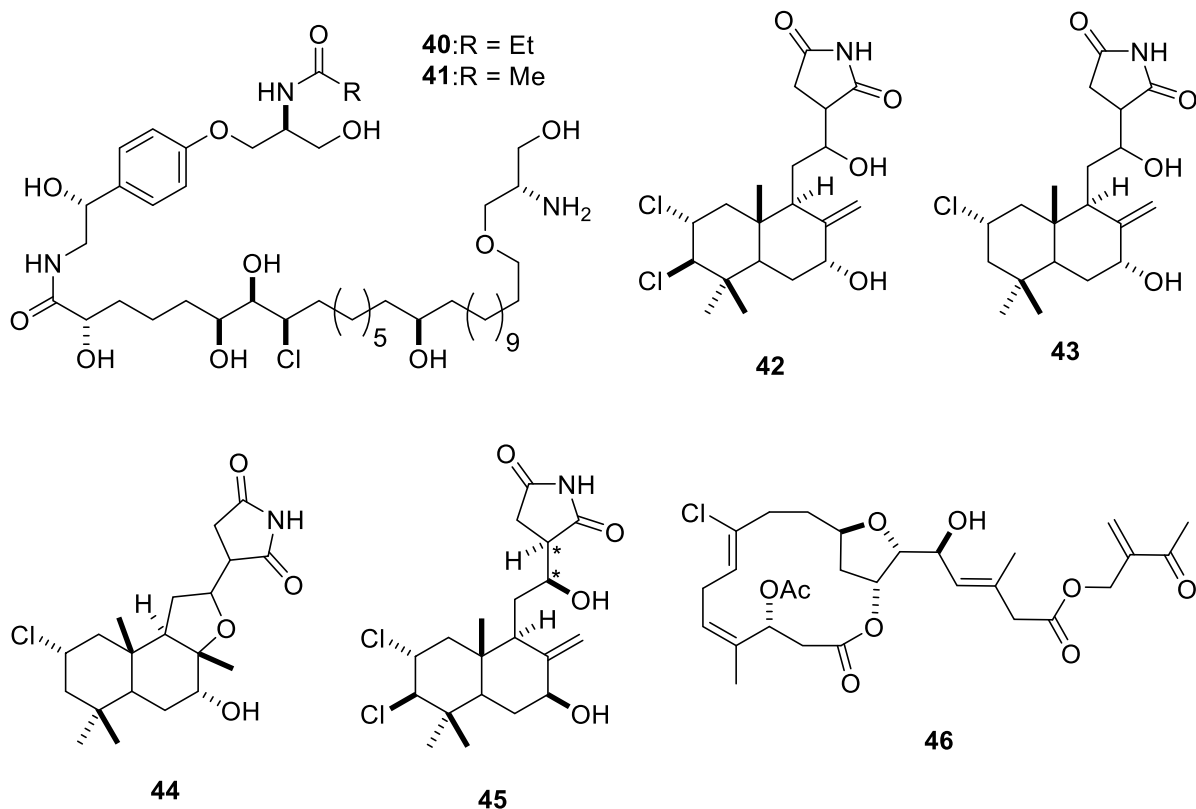
U sledećem odeljku predstavljena su halogenovana jedinjenja izolovana iz ascidija rodova *Lissoclinum*, *Trididemnum*, *Leptoclinides* i *Diplosoma*, kao i iz drugih, nepoznatih ascidija ove porodice.

Tri godine kasnije, izolovan je monohlorovani derivat, hlorlisoklimid (pogrešno dodeljena struktura **43**), iz iste ascidije sa iste lokacije. Strukture ovog jedinjenja i njegovog sintetskog analoga (inicijalno sa strukturom **44**) predložene su na osnovu poređenja njihovih spektara (masenih i NMR) sa spektrima prethodno identifikovanog dihlorisoklimida (**42**) (šema 2.1.7). Međutim, *Touplet* i saradnici (1996) su rendgenskom strukturnom analizom odredili apsolutnu konfiguraciju dihlorisoklimida (struktura **45**), pri čemu je utvrđeno da je konfiguracija alkoholne grupe na C-7 prethodno bila pogrešno određena (šema 2.1.7), a na taj način je korigovana stereohemija i u strukturama **43** i **44**. Budući da je *L. voeltzkowi* u simbiozi sa prokariotskim algama roda *Prochloron*, nije lako odrediti poreklo izolovanih metabolita. *Biard* i saradnici su pokazali da lisoklimida ima više u simbiotskoj algi, ali nisu mogli da isključe da ova jedinjenja ne potiču i iz same ascidije (Biard i sar., 1994).

Haterumalid B (**46**), novi citotoksični makrolid, izolovan je iz ascidije roda *Lissoclinum* koja je sakupljena sa mrtvih koralaa kod ostrva Hateruma, Okinava (šema 2.1.7, Ueda i Hu, 1999). Pet novih diterpena, haterumaimidi A-E (**47-51**), izolovano je iz ascidije roda *Lissoclinum* koja je sakupljena kod obale istog ostrva Hateruma, (Uddin i sar., 2001a; šema 2.1.8). Daljim proučavanjem ekstrakta identifikovano je šest novih jedinjenja haterumaimidi F-K (**52-57**, šema 2.1.8) i dva poznata jedinjenja: monohlorlisoklimid i dihlorisoklimid (**45**) (Uddin i sar., 2001b, Uddin i sar., 2002). Ponovnom analizom ovog ekstrakta 2006. godine izolovana su tri nova citotoksična labdanska alkaloida, haterumaimidi N-P (**58-60**, šema 2.1.8), i poznati haterumaimidi J (**56**) i K (**57**) (Uddin i sar., 2006).

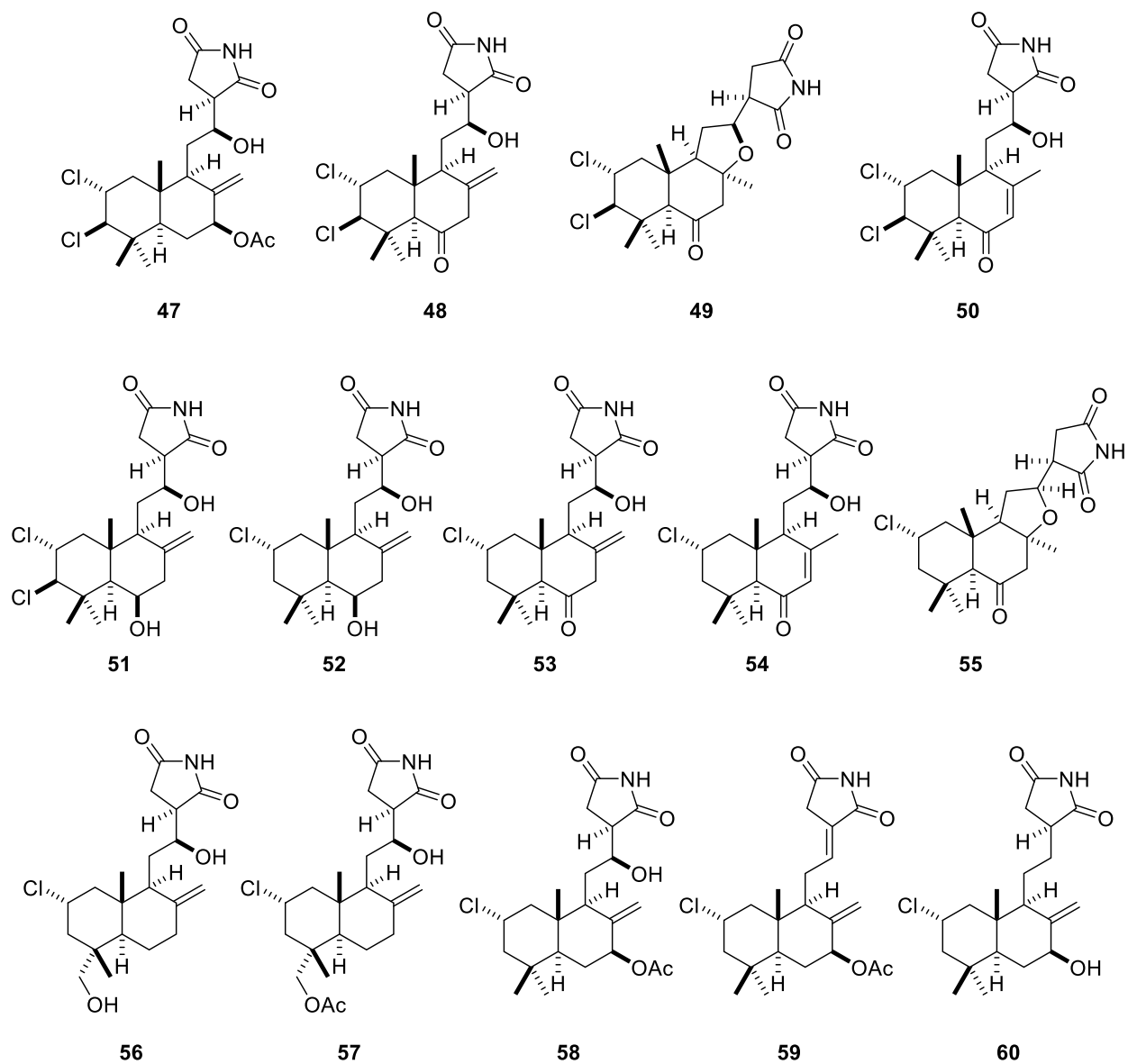
Hemijska analiza plaštaša *Trididemnum solidum* (sakupljenog na dubini od 10 m blizu Malog Kajmanskog ostrva) rezultovala je izolovanjem dva nova hlorovana jedinjenja didemninske klase (**61** i **62**; Ankisetty i sar., 2013, šema 2.1.9).

Dva nova dibromproaporfinska alkaloida, saldedini A (**63**) i B (**64**), pronađeni su u uzorku plaštaša porodice Didemnidae, sakupljenog u zalivu *Salary Bay*, oko 100 km severno od Tileara na Madagaskaru, u januaru 2007. godine (Sorek i sar., 2009). Ova jedinjenja su prvi proaporfinski alkaloidi identifikovani kod morskih organizama (šema 2.1.10). Strukture su određene standardnim spektroskopskim metodama, dok je struktura jedinjenja **63** potvrđena rendgenskom strukturnom analizom.

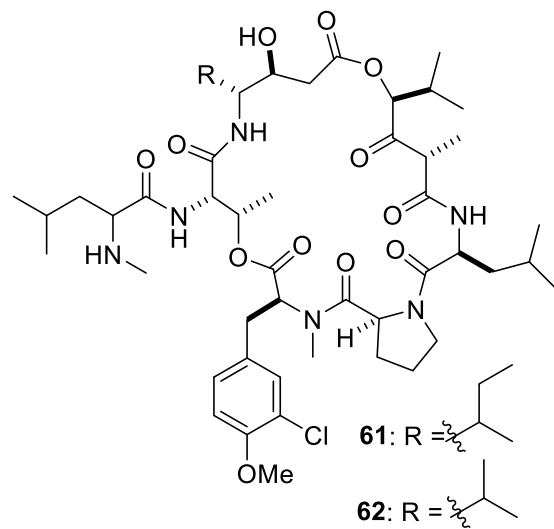


Šema 2.1.7. Strukture šišididemniola B (**40**) i D (**41**), inicijalno pogrešne strukture **42-44** (stereochemija na C-7), tačna struktura dihlorisoklimida **45** (stereochemija centara označenih asteriskom je određena sintezom (Köns i sar., 2017)) i haterumalida B (**46**).

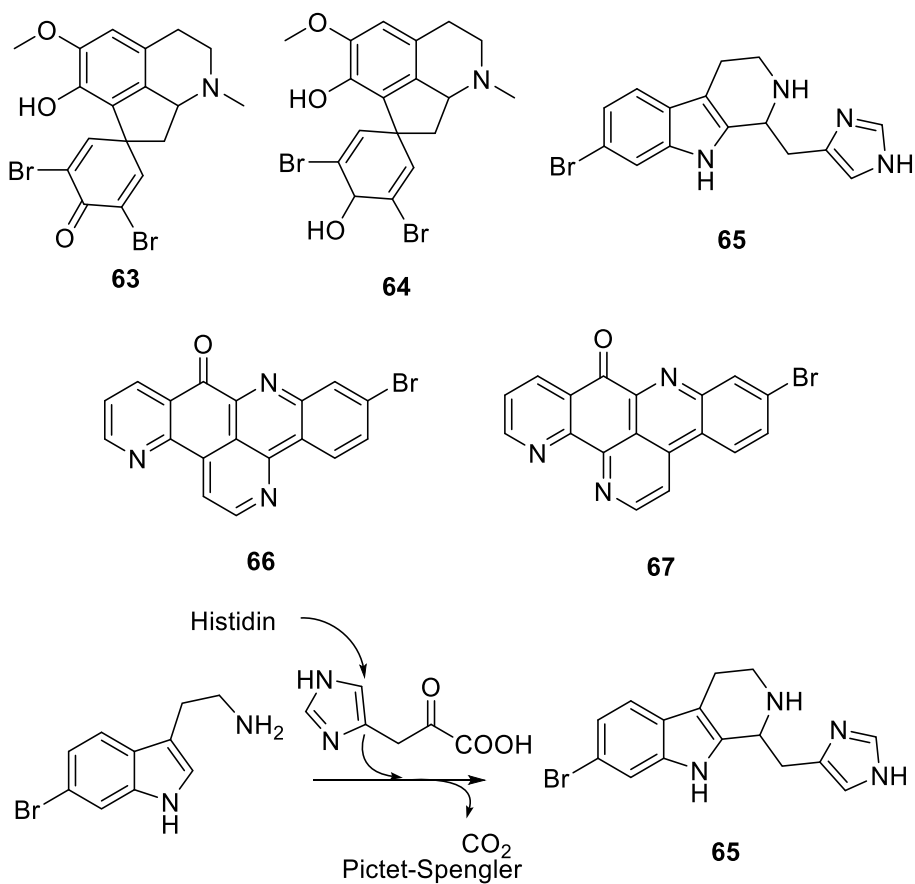
Novi indolski alkaloid, lisoklin C (**65**), izolovan je zajedno sa poznatim 6-bromtriptaminom (**1**) iz plavo-bele kolonije ascidije roda *Lissoclinum*, sa Velikog koralnog grebena, sakupljene u maju 1991. godine (Searle i Molinski, 1994). Lisoklin C je identifikovan zajedno sa svojim pretpostavljenim prekursorom, 6-bromtriptaminom, koji verovatno sa odgovarajućim aldehidom ili β -ketokiselinom u *Pictet-Spengler*-ovoj kondenzaciji daje tetrahidro- β -karbolinski sistem. Na osnovu biosintetskih razmatranja, **65** je formiran kondenzacijom jedinjenja **1** sa 4-imidazolilpirogrožđanom (šema 2.1.10).



Šema 2.1.8. Strukture haterumaimida A–K (47-57) i N–P (58-60).



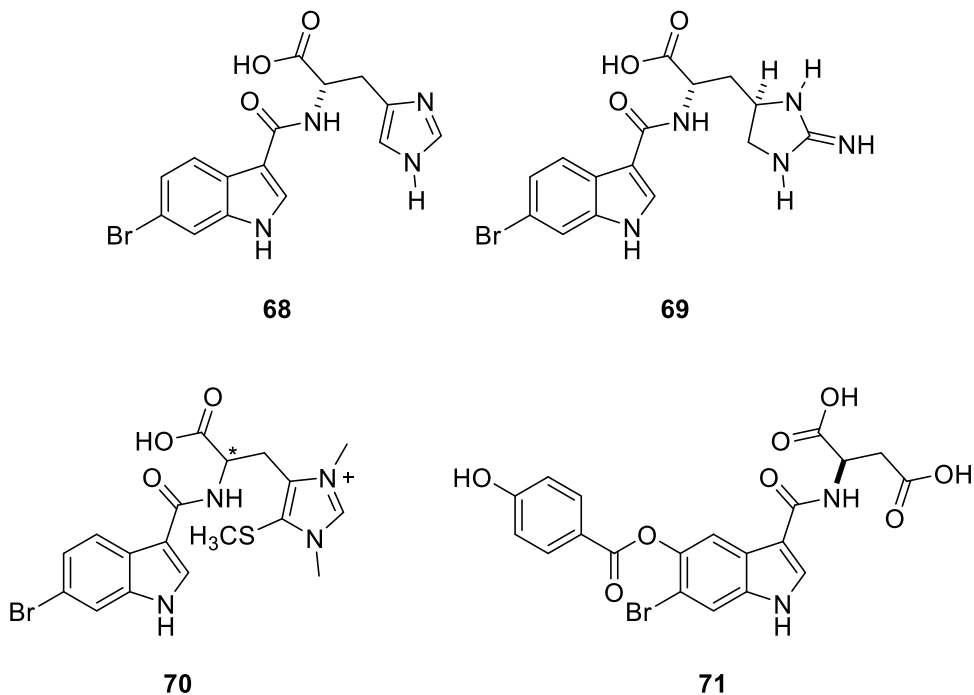
Šema 2.1.9. Strukture hlorovanih didemnina (**61** i **62**)



Šema 2.1.10. Strukture saldedina A (**63**) i B (**64**), lisoklina C (**65**), 2-bromleptoklinidinona (prvobitno pogrešno određena struktura **66**, i tačna struktura **67**), kao i predložena biosinteza lisoklina C (**65**)

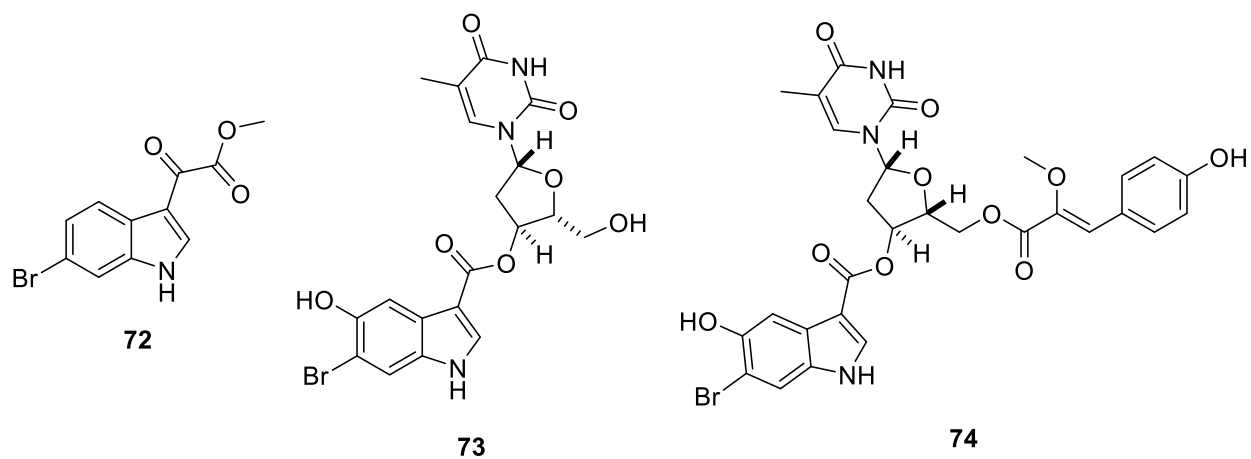
Novi pentaciklični aromatični alkaloid, 2-bromleptoklinidinon, izolovan je iz ascidije roda *Leptoclinides* sakupljene u laguni Čuk, u Saveznim Državama Mikronezije (Bloor i Schmitz, 1987). Inicijalno, 2-bromleptoklinidinu je dodeljena struktura **66** na osnovu dostupnih spektroskopskih podataka (šema 2.1.10). Međutim, nakon izolovanja alkaloida ascididemina (Kobayashi i sar., 1988) sa izomernim pentacikličnim skeletom (promenjen položaj azota), ponovo je proučena struktura 2-bromleptoklinidiona. Ključna daljinska $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ kuplovanja su određena pomoću INAPT eksperimenta (selektivna verzija INEPT-a, eksperiment je korišćen za detektovanje daljinskih interakcija i predstavlja dobru metodu za određivanje hemijskih pomeranja neprotonovanih jezgara ugljenika). Na osnovu ovih rezultata 2-bromleptoklinidinu je struktura korigovana u **67**, koja je naknadno potvrđena rendgenskom strukturnom analizom (Lindsay i sar., 1998).

Iz polarnog ekstrakta uzorka vrste *L. dubius* (Sluiter, 1909), sa dubine 5-10 m u kanalu Vudin, Nova Kaledonija, izolovani su *N*-(6-brom-1*H*-indol-3-il-karbonil)-*L*-arginin (**20**), *N*-(6-brom-1*H*-indol-3-il-karbonil)-*L*-histidin (**68**) i *N*-(6-brom-1*H*-indolil-3-karbonil)-*L*-enduracididin (**69**). Pored spektroskopskih podataka, identitet je potvrđen hidrolizom i poređenjem sa standardima (šema 2.1.11). Derivat veoma retke aminokiseline enduracididina je tada prvi put pronađen u morskim organizmima (García i sar. 1996). Leptoklinidamin C (**70**) je izolovan iz uzorka ascidije *L. durus*, Kott, 2001 (uzorak je sakupljen na dubini od 18 m u blizini ostrva Heron, centralni Kvinslend u Australiji, u avgustu 1996. godine). Ovo jedinjenje sadrži redak 1,3-dimetil-5-(metilsulfanil)histidinski fragment koji je povezan sa 6-bromindol-3-karboksilnom kiselinom (Carroll i Avery, 1996; šema 2.1.11). Proučavanje hemijskog sastava plaštaša *L. kingi* Michaelsen 1930 (sa dubine od 27 m između grebena Huk i Hardi u Kvinslendu, Australija) dovelo je do izolovanja novog bromovanog alkaloida kingamida A (**71**) (Liberio i sar., 2011; šema 2.1.11).

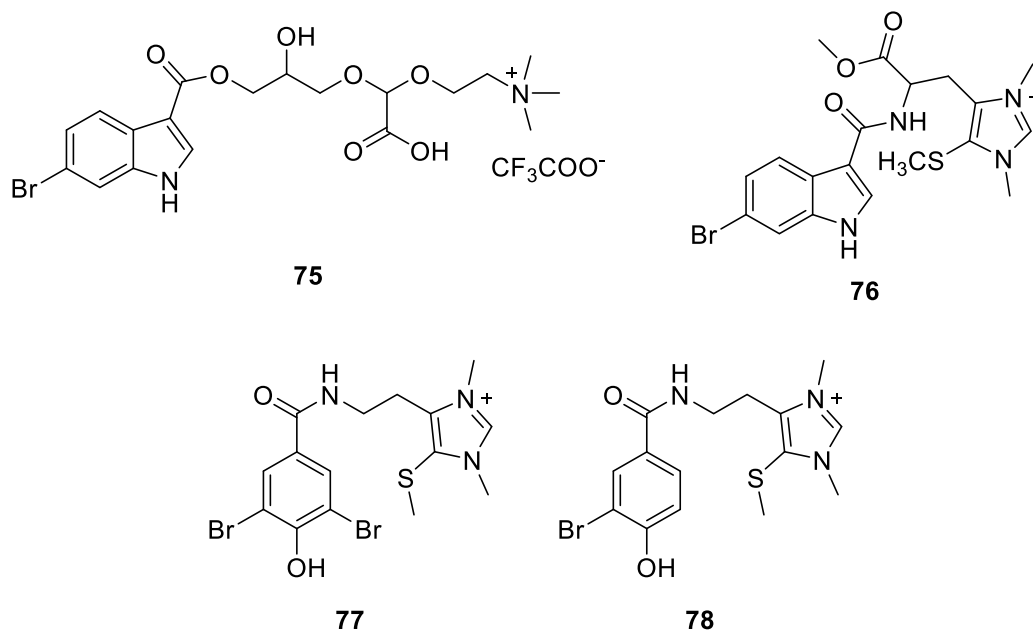


Šema 2.1.11. Strukture *N*-(6-brom-1*H*-indol-3-il-karbonil)-R, gde je R: L-His (**68**) i L-enduracididin (**69**), leptoklinidamina C (**70**, stereochemija centra označenog asteriskom do sada nije određena) i kingamida A (**71**).

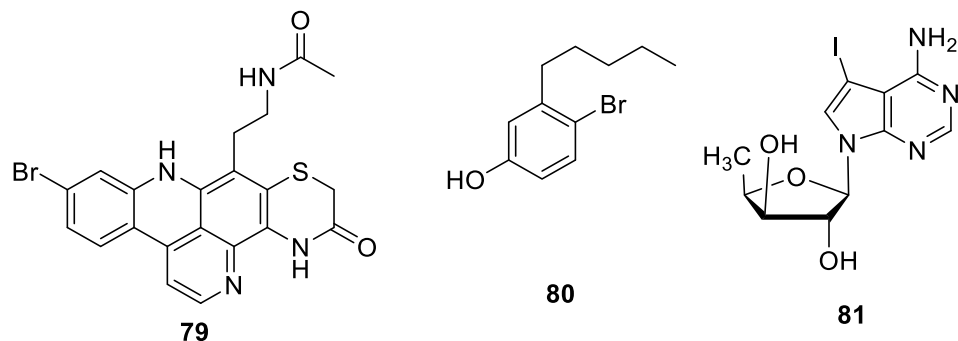
Carroll i saradnici (2013) su analizom uzorka kolonije ascidije *L. durus* sa Velikog koralnog grebena, izolovali i identifikovali šest novih bromovanih alkaloida zajedno sa poznatim jedinjenjima **70** i metil estrom 6-brom-1*H*-indol-3-il-oksosirćetne kiseline (**72**, koji je ranije izolovan iz jedne vrste sundera). Na osnovu NMR i MS podataka, izolovana jedinjenja se mogu se svrstati u tri različite strukturne klase: leptoklinidini (leptoklinidin A (**73**) i leptoklinidin B (**74**)), durabetaini (durabetain B (**75**)) i leptoklinidamini (leptoklinidamini D-F (**76-78**)). Jedinjenja **73** i **74** su prvi derivati timidina pronađeni kod morskih organizama, dok je durabetain prvi alkaloid glicerol-holinskog tipa, pronađen kod morskih organizama. Novi leptoklinidamini **77** i **78** su benzamidni derivati histamina, kod kojih je imidazol supstituisan metilsulfanil- i dvema *N*-metil-grupama (šeme 2.1.12 i 2.1.13).



Šema 2.1.12. Strukture metil estra 6-brom-1*H*-indol-3-il-oksosirćetne kiseline (**72**), leptoklinidina A (**73**) i leptoklinidina B (**74**).



Šema 2.1.13. Strukture durabetaina B (**75**) i leptoklinidamina D-F (**76-78**).



Šema 2.1.14. Strukture šermilamina A (**79**), 4-brom-3-pentilfenola (**80**) i 4-amino-7-(5'-deoksi- β -D-ksilofuranozil)-5-jodpirolo[2,3-*d*]pirimidina (**81**).

Šermilamin A (**79**), novi pentaciklični derivat, izolovan je iz kožastih ljubičastih kolonijalnih plaštaša roda *Trididemnum*, iz zaliva Pago, Gvam (Cooray i sar., 1988). Njegova struktura je određena upotrebom različitih spektralnih metoda i rendgenskom strukturnom analizom (šema 2.1.14).

4-Brom-3-pentilfenol (**80**, šema 2.1.14) izolovan je iz ekstrakta plaštaša roda *Diplosoma*, koji je sakupljen za vreme oseke na obali ostrva Hateruma, Okinava (Rob i sar., 2011). Neobični nukleozid, 4-amino-7-(5'-deoksi- β -D-ksilofuranozil)-5-jodpirolo[2,3-*d*]pirimidin (**81**), izolovan je iz ascidije roda *Diplosoma*, sa obale Hateruma ostrva (šema 2.1.14). Relativna konfiguracija je određena pomoću nOe eksperimenata i hemijskim transformacijama (Margiastuti i sar., 2008). Sintetisan je dibenzoat (delovanjem 4-brombenzoil-hlorida na jedinjenje **81**) da bi se odredila apsolutna konfiguracija 5-deoksi- β -ksilofuranozne jedinice u **82** upotrebom CD spektroskopije.

2.1.3. BIOLOŠKA AKTIVNOST HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA

Poznato je da su didemnimidi B (**9**) i D (**10**) jaki repelenti za predatore, konkretno sprečavaju prirodno grupisanje određenih riba mesožderki mangrovskih šuma. Terenski i laboratorijski eksperimenti koji su uključivali cele plaštaše i njihove ekstrakte pokazali su da su kolonije plaštaša jako hemijski zaštićene od napada karnivornih riba. Didemnimid D inhibira hranjenje predatora u laboratorijskim uslovima i testiranjima u prirodnom okruženju i to u koncentracijama od 0,035 mg/ml, i jedna je od najjačih repelentnih supstanci za predatore.

Određena je citotoksičnost 3-bromfaskaplizina za humane i mišje ćelijske kulture. Prisustvo broma u ovom molekulu povećava njegovu aktivnost u poređenju sa nebromovanim derivatom (Segraves

i sar., 2004). Jedinjenje **12** pokazuje citotoksični efekat za sedam humanih kancerskih ćelijskih linija: HL-60, THP-1, HeLa, MDA-MB-231, DLD-1, SNU-C4 i SK-MEL-28 (Kuzmich i sar., 2010). Takođe, 3-bromfaskaplizin se može primenjivati kao antiproliferativni agens u koncentracijama koje nisu toksične za netransformisane ćelije JB6 Cl41 epitela miša. Ova aktivnost jedinjenja **12** je uzrokovana indukcijom apoptoze zavisne od kaspaze-3, kaspaze-8 ili kaspaze-9. Rezultati pokazuju da dva od tri glavna MAPK signalna puta, kinaze JNK i ERK, mogu biti uključene u odgovor ćelija na dejstvo jedinjenja **12**. Citotoksična aktivnost 3-bromfaskaplizina za C6 ćelije glioma je koncentraciono zavisna i zavisi od perioda tretmana (Lyakhova i sar., 2018). Lu i saradnici su proučavali aktivnost 3-bromhomofaskaplizina A (**16**) na životni ciklus parazita *Plasmodium falciparum*. Rezultati pokazuju da su vrednosti za IC₅₀ jedinjenja **16** poredive sa prethodno objavljenim rezultatima prema soju K1.

Didemnidin B (**17**) ne inhibira nastajanje superoksida u respiratornom prasku, ne inhibira fosfolipazu A₂, kao ni farnezil-tranferazu, dok pokazuje slabu toksičnost za parazit malarije (IC₅₀ = 15 µM) i pokazuje umerenu citotoksičnost za nemaligne ćelijske humane linije L6 (Finlayson i sar., 2011). U potrazi za biološki aktivnim analogima didemnidina B, Wang i saradnici (2014) su napravili biblioteku sintetskih analoga, a neka od sintetisanih jedinjenja se mogu tretirati kao potencijalni antimalarici sa dobrom selektivnošću. IC₅₀ vrednost eusinstijelamida B (**18**) za ćelije MDA-MB-231 je bila 5 µM. Ovo jedinjenje zaustavlja ćelijski ciklus u G2/M fazi i indukuje apoptozu nakon 72 h tretmana (Liberio i sar., 2014). Jedinjenja **19–21** nisu pokazala antibakterijsku aktivnost (Hahn i sar., 2015). 3,5-Dijod-4-metoksibenzenetamin (**23**) pokazuje *in vitro* aktivnost protiv kvasca *Candida albicans* i umereno je citotoksičan za humanu ćelijsku kulturu leukemije L1210, pri čemu je IC₅₀ = 20 µg/ml (Sesin i Ireland, 1984). 5'-Deoksi-5-jodtubercidin (**25**) izaziva snažno grčenje mišića i hipotermiju kod miševa. Jedinjenje **25** snižava krvni pritisak i smanjuje broj otkucaja srca kod pacova (Davies i sar., 1986).

N-[2-(3,5-Dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**30**), prirodni proizvod izolovan iz *D. rubeum*, umereno je toksičan za parazite *Leishmania panamensis* i *Trypanosoma cruzi*, dok je veoma toksičan za *P. falciparum* (Restrepo i sar., 2019).

Haterumalid NA (**34**) i biselidi A (**35**) i C (**37**) pokazuju različite biološke aktivnosti. Haterumalid NA je citotoksičan za ćelije P388 (leukemija), sa IC₅₀ vrednošću od 0,32 µg/ml, a umereno je toksičan za miševe (Takada i sar., 1999). Haterumalid NA je citotoksičniji u odnosu na biselide

(dok je biselid A aktivniji od biselida E) (Teruya i sar., 2005). Biselid A je najtoksičniji za humanu ćelijsku kulturu raka debelog creva DLD-1. Jedinjenje **34** je jako akutno toksično za račiće *Artemia salina* ($LD_{50} = 0,6 \mu\text{g/ml}$), dok jedinjenja **35** i **37** nisu toksična za ovaj organizam čak ni u koncentracijama od $50 \mu\text{g/ml}$ (Teruya i sar., 2005). Specifična kombinacija prisustva laktona i delova bočnog lanca u strukturi je neophodna za postojanje jake citotoksičnosti haterumalida (Ueda i sar., 2009).

Šišididemnioli A (**40**) i D (**41**) pokazali su antibakterijsku aktivnost u disk-difuzionom testu prema *Vibrio anguillarum*, bakterijskom patogenu riba (Kobayashi i sar., 2007a; 2007b). Jedinjenje **45** je jako citotoksično za humane ćelijske kulture KB ćelija raka ($IC_{50} = 14 \text{ ng/ml}$) i ćelije linije P388 ($IC_{50} = 1 \text{ ng/ml}$) (Malochet-Grivois i sar., 1991). Hlorlisoklimid (šema 2.1.7) se pokazao kao efikasan citotoksični agens za 4 ćelijske kulture tumora: NSCLC, KB, P388, i doksorubicin-rezistentne P388, dok je njegov polusintetički proizvod oko 1000 puta manje aktivan (Biard i sar., 1994). Verovatno je da je citotoksičnost hlorlisoklimida posredovana oksidacijom hidroksilne grupe u reaktivni α,β -nezasićeni keton. Citotoksičnost lisoklimida može biti uzrok trovanja hranom u Novoj Kaledoniji usled upotrebe ostriga u ishrani, jer je poznato da ostrige sadrže ascidiju *Lissoclinum voeltzkowi* (Biard i sar., 1994).

Haterumalid B (**46**), haterumaimidi A, B, D, F, G i H (**47**, **48**, **50**, **52–54**) inhibiraju prvu deobu oplođenih jaja morskog ježa, dok su jedinjenja **47–51** jako citotoksična za kulture mišjih tumorskih ćelija P388 (Uddin i sar., 2001a). Haterumaimidi F-I (**52–55**) su malo citotoksični za istu kulturu mišjih tumorskih ćelija. Haterumaimidi G (**53**) i I (**55**) su manje citotoksični u poređenju sa haterumaimidima F (**52**) i H (**54**) (Uddin i sar., 2001b). Odavde sledi da su sekundarne alkoholne grupe u položajima C-6 i C-12 veoma bitne za postojanje *in vitro* citotoksičnosti (šema 2.1.8). Haterumaimidi J (**56**) i K (**57**) inhibiraju deobu oplođenih jaja morskog ježa pri koncentraciji od 3 ppm, a pokazuju jaku citotoksičnu aktivnost prema P388 ćelijama: IC_{50} $0,23 \text{ ng/ml}$ i $0,45 \text{ ng/ml}$ (Uddin i sar., 2002). Prisustvo alkoholne grupe u položaju C-6, C-7, C-12 ili C-18, hlora u položaju C-2 i imido NH u prstenu C, veoma su bitni za postojanje citotoksičnosti jedinjenja **47–60** (Uddin i sar., 2006).

Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **61** i **62** je određena u *in vitro* testovima. Ova jedinjenja inhibiraju proliferaciju ćelija četiri ćelijske linije tumora (melanom, epidermalni karcinom, karcinom dojke i jajnika) i manje su toksična za zdrave ćelije bubrega (fibroblasti bubrega

majmuna) od kontrolnog leka (Ankisetty i sar., 2013). Saldedini A (**63**) i B (**64**) su umereno toksični za račiće *A. salina*, dok je veća toksičnost zabeležena za jedinjenja **63** ($LD_{50} = 4,4 \mu M$) i **64** ($10,9 \mu M$) (Sorek i sar., 2009).

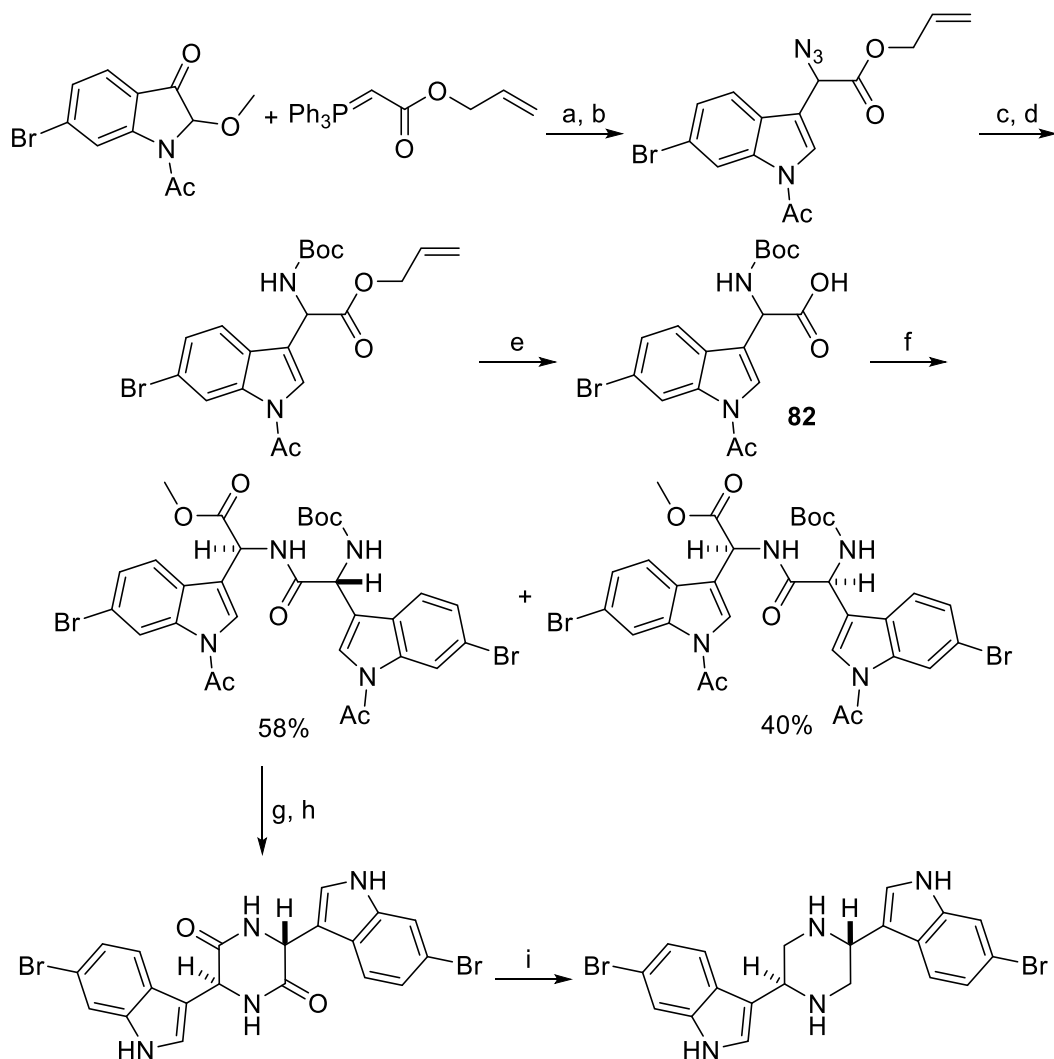
Zapaženo je da je 2-bromleptoklinidon (**67**) citotoksičan za kulture mišjih limfocitnih ćelija leukemije u koncentraciji (IC_{50}) od $0,4 \mu g/ml$ (Bloor i Schmitz, 1987). Leptoklinidamin C (**70**) je testiran na antiparazitsku aktivnost (parazit malarije *P. falciparum*, i parazit *Trypanosoma brucei*, izazivač bolesti spavanja). Određivana je njegova toksičnost za humane ćelijske linije raka HeLa i nekancerozne ćelije HEK 293. Iako je bilo neaktivno prema parazitu malarije i netoksično za ćelijske linije u koncentracijama do $40 \mu M$, ono pokazuje antitripanozomalnu aktivnost pri $250 \mu M$ (Carroll i Avery, 2009). Kingamid A (**71**) nije citotoksičan za humanu ćelijsku kulturu kancera dojke MDA-MB-231 u koncentraciji od $10 \mu M$ nakon 24 h, kao ni za 7 ćelijskih linija kancera prostate (Liberio i sar., 2011). Jedinjenje **71** nije inhibiralo rast na hlrohlin osetljivog parazita *P. falciparum* 3D7 u koncentraciji od $10 \mu M$ nakon 24 h (Liberio i sar., 2011). Jedinjenja **73–78** nisu citotoksična u koncentracijama od $10 \mu M$ nakon 72 h za ćelijske kulture MDA-MB-231 ili ćelijske kulture kancera prostate LNCaP; ne pokazuju antimikrobnu aktivnost nakon 18 h prema bakterijama *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* u koncentraciji do $330 \mu M$ (Rudolph i sar., 2013). Jedinjenje **80** u potpunosti inhibira prvu deobu oplođenih jaja morskog ježa u koncentraciji od 1 ppm (Rob i sar., 2011). Slično, jedinjenje **81** izaziva potpunu inhibiciju ćelijske deobe oplođenih jaja morskog ježa, ali u značajno većoj koncentraciji ($1 mg/ml$) (Margiastuti i sar., 2008). Ovaj jodovani nukleozid je jako citotoksičan za ćelijske linije HCT116, A431 i A549, sa IC_{50} vrednostima od 1,8; 3,1 i $3,5 \mu g/ml$, redom (Ogi i sar., 2009).

2.1.4. TOTALNE SINTEZE HALOGENOVANIH SEKUNDARNIH METABOLITA ASCIDIJA

Do sada je ostvareno 15 totalnih sinteza halogenovanih sekundarnih metabolita. Neki metaboliti su više puta sintetisani ili zbog složene „arhitekture“ molekula ili biološke aktivnosti. Halogeni su u samom molekuli bili vezani za sp^2 ugljenikove atome uglavnom aromatičnih jezgara.

Ključni korak prve totalne sinteze dragmacidina C (šema 2.1.15) jeste kondenzacija dva molekula indolilglicina, koja je praćena ciklizacijom i redukcijom. Prvi korak sinteze je Wittig-ova reakcija bromovanog derivata indola sa odgovarajućim fosforilom, nakon toga sledi „azidna“ reakcija i redukcija dobijenog azida pomoću Ph_3P-H_2O . Hidrolizom i uvođenjem Boc-zaštite nastaje estar indolilglicina u prinosu od 99%. Željena kiselina se dobija skidanjem zaštite pomoću

$\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$ u $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ u prinosu od 74%. Njenom kondenzacijom sa indolilglicinom nastaje dipeptid (dva diastereomera u prinosu od 58% i 40%). Reakcije odgovarajućeg diastereomera sa HCOOH pa NH_3 , vode uklanjanju zaštite odnosno ciklizaciji. Krajnji proizvod, dragmacidin C se formira u poslednjem koraku redukcije boranom u prinosu od 42% (Kawasaki i sar., 2002).

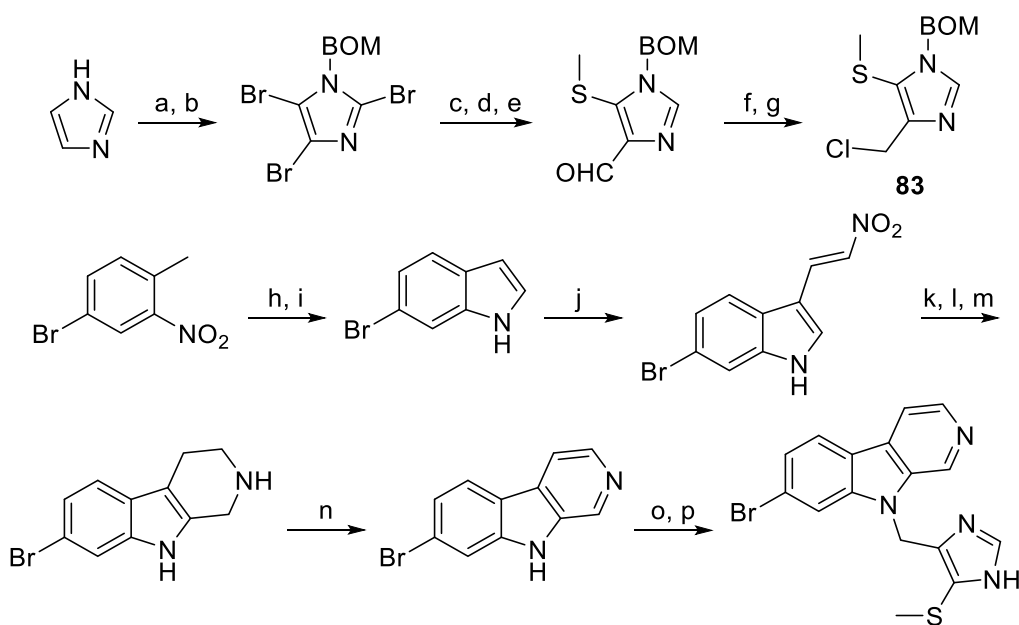


Šema 2.1.15. Totalna sinteza 2,5-bis(6-brom-3-indolil)piperazina (**3**, dragmacidin C). Reagensi i uslovi: a) C_6H_6 , refluks; b) TMS-N_3 , MeSO_3H , MS-4Å , CH_2Cl_2 , 0°C – s.t.; c) Ph_3P , H_2O , THF, s.t.; d) Boc_2O , NaHCO_3 , s.t.; e) $\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$, EtOH , H_2O , 70°C ; f) BOP, DIEA, indolilglicin (**82**), THF, 0°C – s.t.; g) HCOOH , s.t.; h) NH_3 , MeOH , 0°C – s.t.; i) $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$, 0°C – s.t.

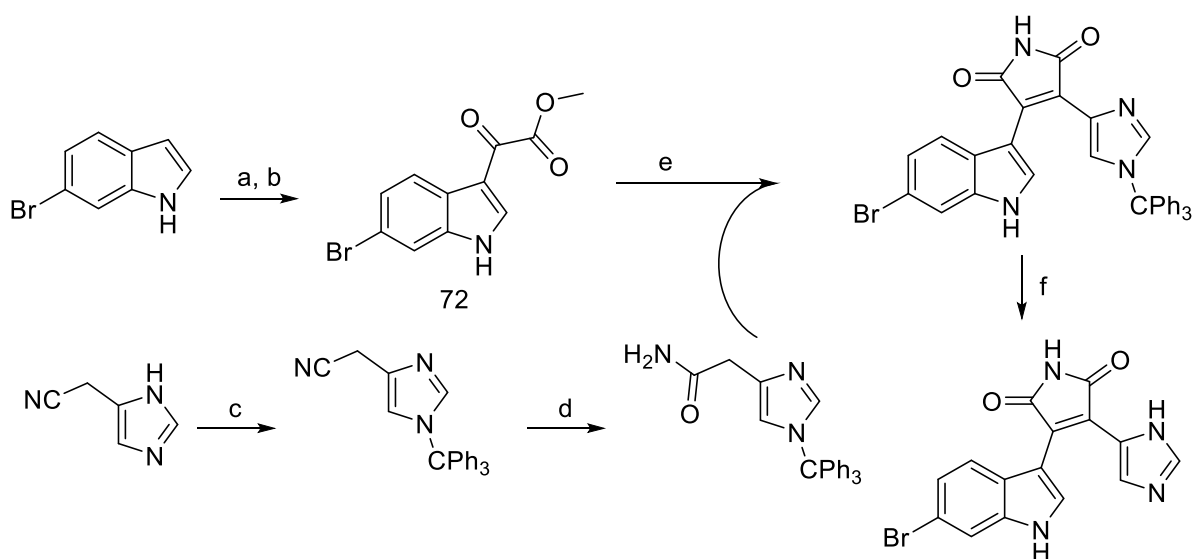
Predložene strukture didemnolina A (**4**) i C (**5**) (Schumacher i Davidson, 1995) potvrđene su sintezom koja je omogućila biološka testiranja (šema 2.1.16). Sintaza uključuje kuplovanje 1-

[(benziloksi)metil]-4-(hlormetil)-5-(metilsulfanil)imidazola (**83**) sa 7-brom- β -karbolinom (eudistominom O, **6**). Eudistomin O je sintetisan od strane *Rinehart*-a i saradnika 1984. godine u prinosu od 7%; *Schumacher* i *Davidson* (1999) su modifikovali reakcionu sekvenciju, međutim koristili su iste intermedijere: 6-brom-1*H*-indol i 1,2,3,4-tetrahidro- β -karbolin. Tretiranjem didemnolina A natrijum-perjodatom nastaje didemnolin C (**5**; *Schumacher* i *Davidson*, 1995).

U sintezi didemnimida B (**9**) polazi se od sinteze intermedijera metil-estra (6-brom-1*H*-indol-3-il)-okso-sirćetne kiseline (**72**) (*Hughes* i *Cava*, 1998; šema 2.1.17), koji nastaje tretiranjem proizvoda 6-bromindola i oksalil-hlorida metanolom. Kondenzacija **72** i imidazolskog acetamida (dobijenog od 2-(1*H*-imidazol-5-il)acetonitrila) i tretiranjem nastalog proizvoda trifluorsirćetnom kiselinom u dihlormetanu vrši se uklanjanje zaštite, pri čemu nastaje didemnimid B.



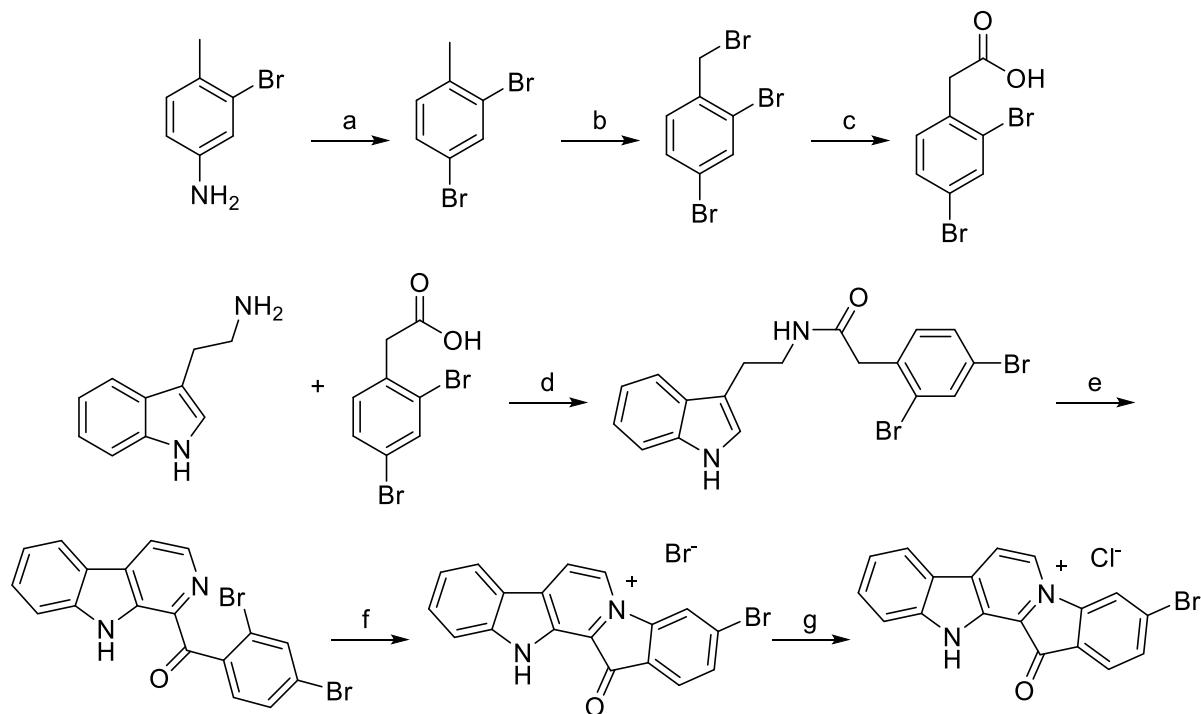
Šema 2.1.16. Totalna sinteza didemnolina A (**4**). Reagensi i uslovi: a) Br₂, AcOH; b) BOMCl, K₂CO₃, DMF; c) BuLi, -78 °C, TMSCl; d) BuLi, -78 °C, MeSSMe; e) BuLi, -78 °C, DMF; f) NaBH₄; g) SOCl₂; h) DMFDMA, pirolidin; i) TiCl₃; j) DMANE, TFA; k) NaBH₄, BF₃·OEt₂; l) HOOCCHO, KOH; m) HCl; n) S₈, ksilen, Δ; o) KOH, DMF, **83**; p) HCl, 110 °C.



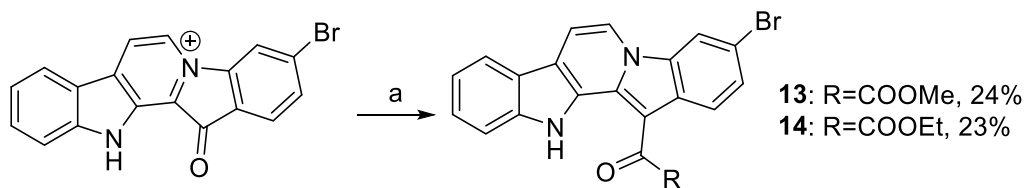
Šema 2.1.17. Totalna sinteza didemnimida B (**9**). Reagensi i uslovi: a) oksalil-hlorid (1,1 ekv.), Et₂O, 0 °C do s.t.; b) MeOH (višak), s.t., 24 h; c) tritil-hlorid (1,1 ekv.), CH₂Cl₂ (1,1 ekv.), Et₃N, s.t., 24 h; d) KOH (6 ekv.), *t*BuOH, refluks, 30 min; e) K₂CO₃ (7 ekv.), CETAB (0,07 ekv.), benzen (*Dean-Stark*), refluks, 48 h; f) TFA (8 ekv.), CH₂Cl₂, s.t., 12 h.

Zhidkov i saradnici (2007) su objavili sintezu 3-bromfaskaplizina, koja kao početni materijal koristi triptamin i (2,4-dibromfenil)sirćetnu kiselinu (dobijenu iz 3-brom-4-metilanilina). Kao kondenzacioni agens prilikom sinteze amida upotrebljen je *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimid (DCC), dok je tretmanom fosfor-oksikloridom u acetonitrilu izvedena *Bischler-Napieralski* ciklizacija, a nastali proizvod je oksidovan pomoću MnO₂. So piridodiindola nastaje zagrevanjem β-karbolina, a njena konverzija u jedinjenje **12** se vrši obradom hlorovodonikom u metanolu (šema 2.1.18).

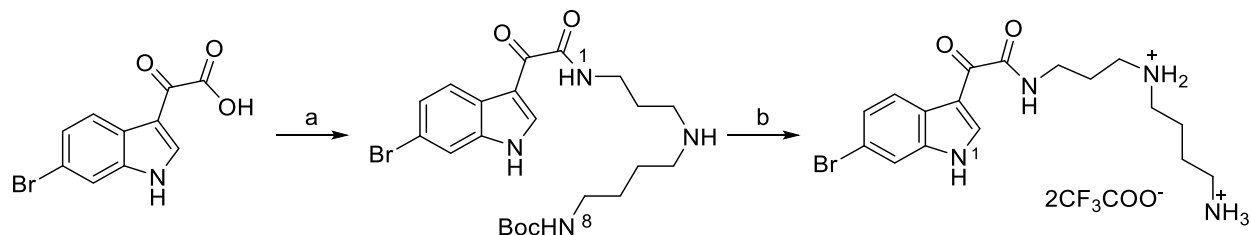
Zhidkov je sa saradnicima (2018) izvršio konverziju alkaloida 3-bromfaskaplizina u 3-bromhomofaskaplizin B (**13**) i 3-bromhomofaskaplizin B-1 (**14**) u jednom koraku (šema 2.1.19); Reduktivnim acilovanjem u C-13 položaju 3-bromfaskaplizina nastaju jedinjenja **13** i **14**.



Šema 2.1.18. Totalna sinteza 3-bromfaskaplizina (**12**). Reagensi i uslovi: a) NaNO_2 , HBr (aq), 0°C , zatim CuBr , HBr (aq), refluks, 40 min; b) NBS , AIBN , CCl_4 , refluks, 1 h; c) NaCN , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (aq), refluks, 1 h, zatim H_2SO_4 (aq), refluks, 12 h; d) DCC , CH_3CN , refluks, 30 min; e) POCl_3 , CH_3CN , Ar, refluks, 40 min, zatim MnO_2 , PhH , refluks, 3 h; f) 220°C , 20 min; g) HCl (suvi), CH_3OH .



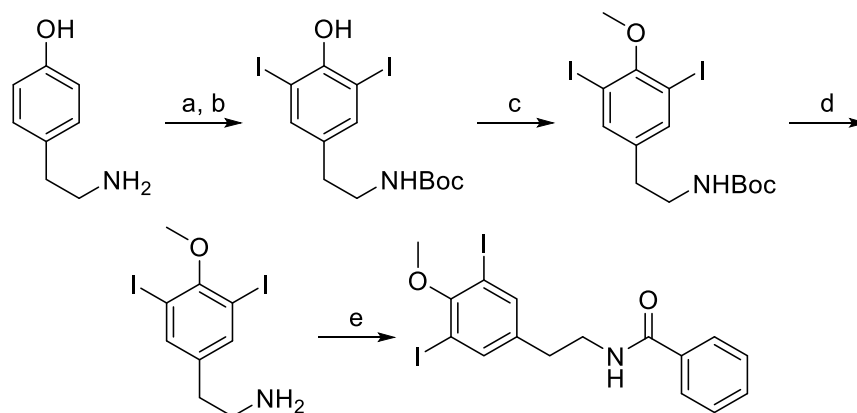
Šema 2.1.19. Sintaza 3-bromhomofaskaplizina B (**13**) i 3-bromhomofaskaplizina B-1 (**14**) iz 3-bromhomofaskaplizina. Reagensi i uslovi: a) MeOOC-COO-Me ili EtOOC-COO-Et (višak), autoklav, 200°C , 30 min.



Šema 2.1.20. Totalna sinteza didemnidina B (**17**). Reagensi i uslovi: a) *N*⁸-*tert*-butoksikarbonilpermidin, PyBOP, DMF; b) TFA, CH₂Cl₂.

Struktura prirodnog proizvoda didemnidina B (**17**) potvrđena je sintezom. Kuplovanjem 2-(6-bromindol-3-il)glioksalne kiseline sa *N*⁸-*tert*-butoksikarbonilpermidinom nastaje *N*¹-(6-bromindol-3-il-dikarbonil)-*N*⁸-*tert*-butoksikarbonilpermidin u prinosu od 47% (šema 2.1.20). Uklanjanjem zaštitne grupe sa dobijenog intermedijera nastaje **17** u obliku trifluoracetatne soli (Finlayson i sar., 2011).

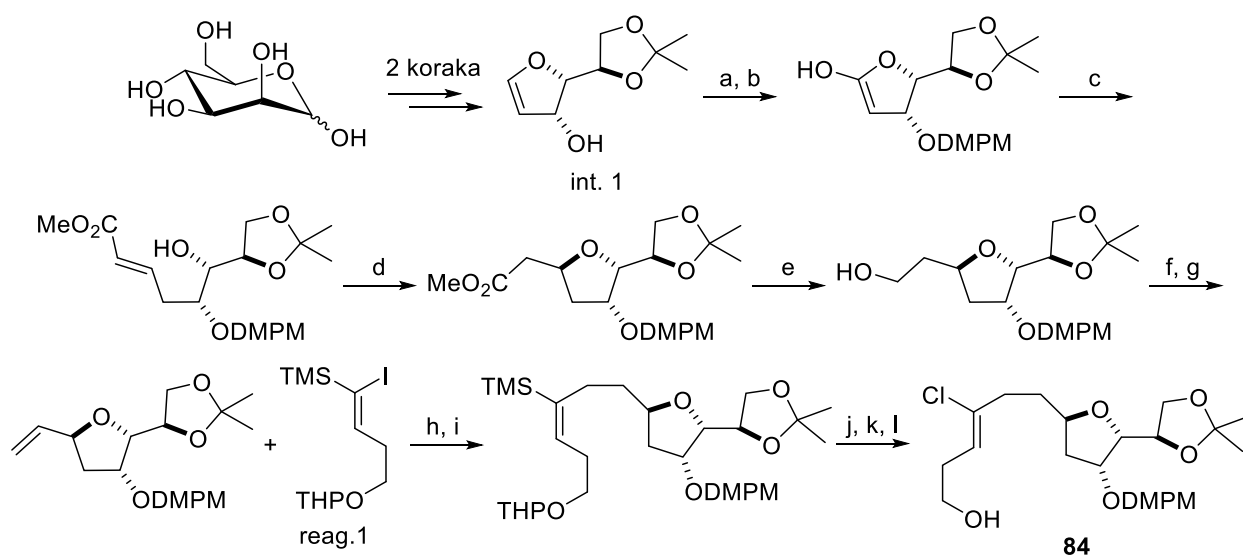
U toku 2019. objavljena je sinteza *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**30**) (šema 2.1.21), izvršena od strane *Restrepo*-a i saradnika, a koja započinje zaštitom amino grupe u tiraminu. Jodovani amin nastaje jodovanjem pomoću *N*-jodsukcinimida i hidrolizom zaštitne grupe. Građenje amida benzojeve kiseline je ostvareno pomoću reagenasa DIC i DMAP (*Restrepo* i sar., 2019).



Šema 2.1.21. Sinteza *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**30**). Reagensi i uslovi: a) Boc₂O, TEA, MeOH; b) NIS, MeOH; c) MeI, K₂CO₃, aceton; d) HCl, EtOAc; e) benzojeva kiselina, DIC, DMAP, DMF.

Kigoshi i saradnici su prvi počeli da se bave sintezom haterumalida. Oni su izvršili totalnu sintezu metil estra *ent*-haterumalida NA (*Kigoshi* i sar., 2003) koristeći intramolekulsku Reformatskog reakciju, a kao ključni korak zatvaranje makrociklusa između C2-C3, dok su *Gu* i *Snider* za ovaj korak iskoristili intramolekulsko *Stille*-ovo kuplovanje između C5-6 praćeno *Yamaguchi*-jevom makrolaktonizacijom (*Gu* i *Snider*, 2003). *Hoye* i *Wang* (2005) su objavili prvu totalnu sintezu haterumalida NA; ključni korak njihove sinteze je bila ciklizacija koja se zasniva na *Kaneda* reakciji. *Roulland* i *Kigoshi*-jeva grupa su opisali u dva odvojena rada, koja se bave sintezom haterumalida NA, korišćenje ukrštenog *Suzuki-Miyaura* kuplovanja, praćenog makrolaktonizacijom (*Roulland*, 2008; *Hayakawa* i sar., 2008).

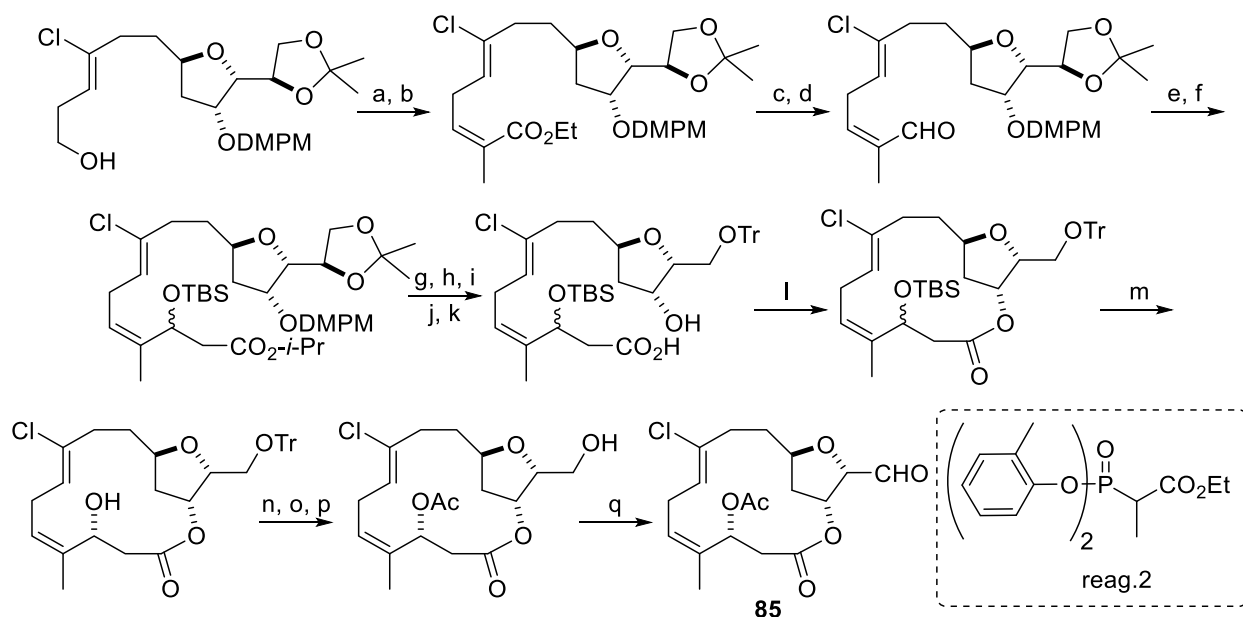
Hayakawa i saradnici su objavili novu efikasnu sintezu haterumalida i biselida. Sinteza zajedničkog intermedijera **84** (šema 2.1.22) počinje od poznatog glikala (int. 1); zatim se hidroksilna grupa glikala štiti, a dobijeno jedinjenje konvertuje u hemiacetal oksimerkurovanjem–demerkurovanjem.



Šema 2.1.22. Sinteza zajedničkog intermedijera (**84**) u sintezi haterumalida i biselamida.

Reagensi i uslovi: a) DMPMCl, NaH, DMF, s.t., kvant; b) Hg(OAc)₂, zatim KI, NaBH₄, THF-H₂O, s.t; c) Ph₃PCHCO₂Me, benzen, refluks; d) triton B, MeOH, s.t; e) LiAlH₄, Et₂O, refluks, 97%; f) *o*-NO₂C₆H₄SeCN, Bu₃P, THF, s.t., kvant; g) H₂O₂, piridin, THF, s.t., 95%; h) 9-BBN dimer, THF, s.t; i) reag.1, PdCl₂(dppf), Cs₂CO₃ (aq), dioksan, s.t; j) NCS, K₂CO₃, DMF, 50 °C, 58%; k) PPTS, MeOH, s.t; l) PPTS, aceton, s.t., 96%, za dva koraka.

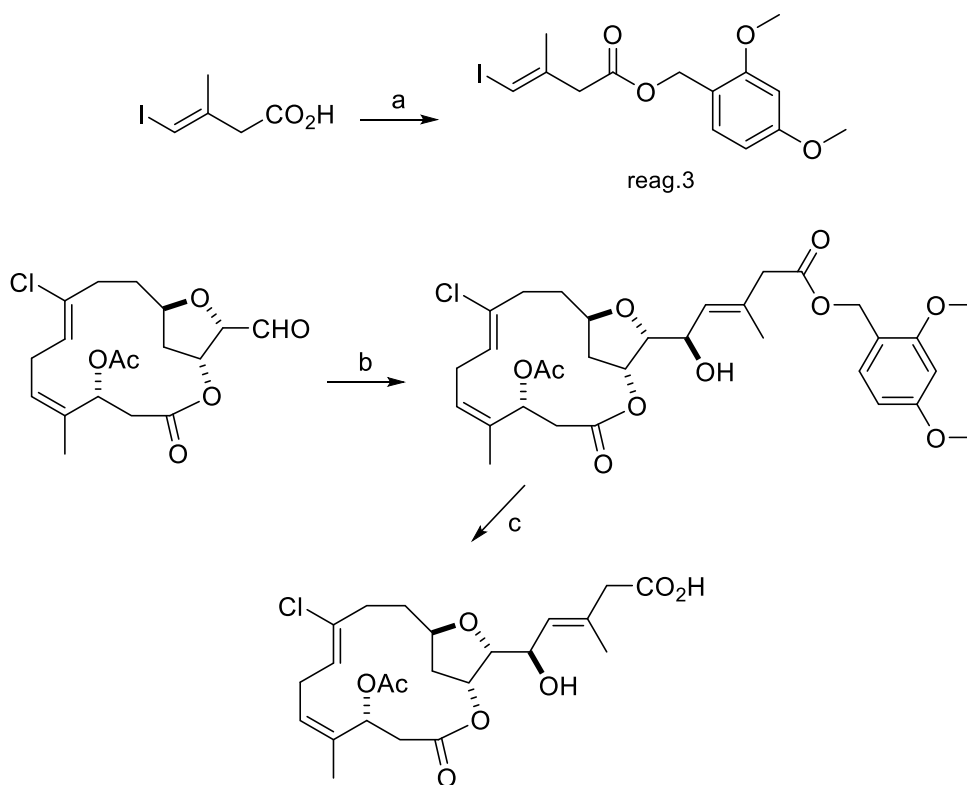
Wittig-ovom reakcijom, oksa-Michael-ovom ciklizacijom i redukcijom pomoću LiAlH_4 dobija se odgovarajući alkohol, koji se prevodi u terminalni olefin, potreban za bora-alkil-Suzuki-Miyaura kuplovanje. Željeni hlorolefin je pripremljen iz alkenilsilana upotrebom *N*-hlorsukcinimida na 50 °C u prisustvu K_2CO_3 (korak j, šema 2.1.22); skidanjem THP zaštitne grupe, i prevođenjem 1,2-diolne grupe u acetonid (korak l) dobija se zajednički sintetski intermedijer **84** za haterumalide i biselide.



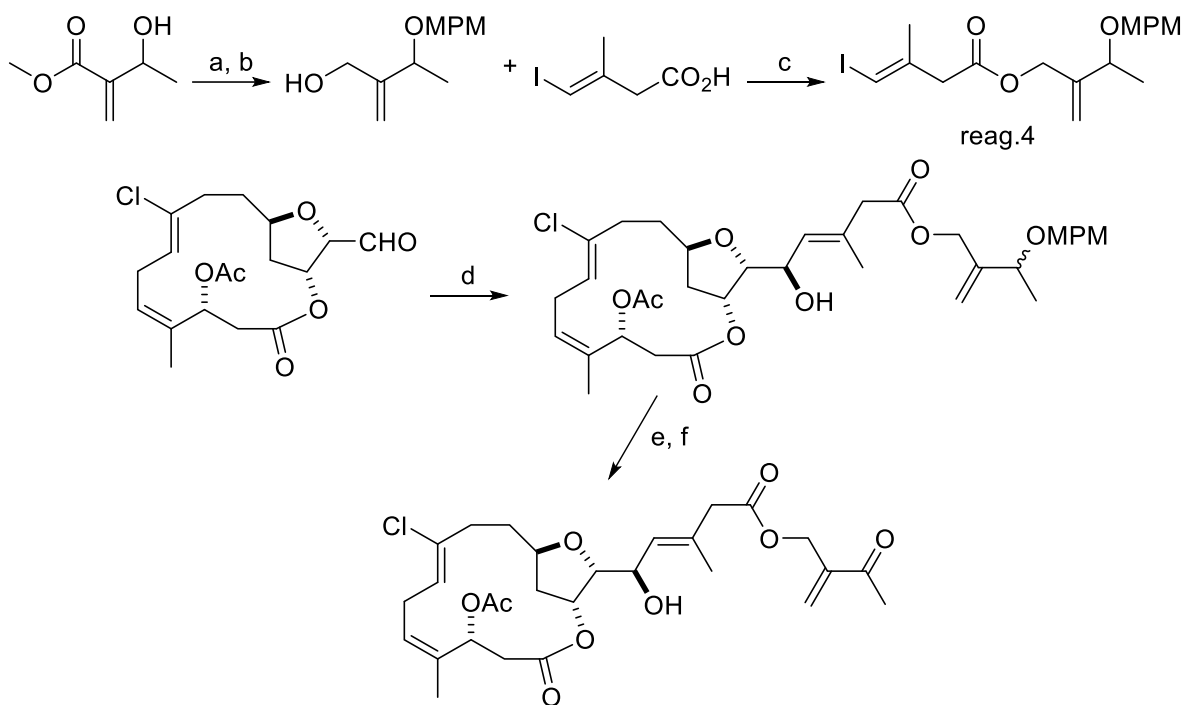
Šema 2.1.23. Sinteza zajedničkog intermedijera **85** u sintezi haterumalida. Reagensi i uslovi:
a) *Dess-Martin*-ov perjodinan, CH_2Cl_2 , s.t.; b) reag.2, NaH, THF, -78 °C, 79% za dva koraka;
c) DIBAL, toluen, -78 °C; d) *Dess-Martin*-ov perjodinan, CH_2Cl_2 , s.t.; e) *i*PrOAc, LHMDs, THF, -78 °C, 76% za tri koraka; f) TBSCl, imidazol, DMF, s.t., 91%; g) CSA, etilen-glikol, *i*PrOH, s.t., 79%; h) NaIO_4 , zatim NaBH_4 , dioksan- H_2O , s.t., 94%; i) TrCl, DMAP, piridin, CH_2Cl_2 , s.t., 98%; j) DDQ, fosfatni pufer pH 6,6, *t*BuOH- CH_2Cl_2 , s.t., 93%; k) 3 M LiOH (aq), THF-MeOH, s.t., 77%; l) 2,4,6- $\text{Cl}_3\text{C}_6\text{H}_2\text{COCl}$, Et_3N , THF, s.t; zatim DMAP, toluen, s.t., 61% + 6% dimer; m) TBAF, THF, s.t; razdvajanje; n) *Dess-Martin*-ov perjodinan, CH_2Cl_2 , s.t., 94%; o) NaBH_4 , $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EtOH, -30 °C, 94%; p) AcCl, DMAP, piridin, s.t; 80% AcOH, s.t., 91% za dva koraka; q) *Dess-Martin*-ov perjodinan, CH_2Cl_2 , s.t.

Ključni koraci za dobijanje zajedničkog intermedijera **85** koji se koristi u daljoj sintezi haterumalida su: oksidacija intermedijera **84** do aldehida, zatim transformacija u *Z*-konjugovani ester (korak b), redukcija dobijenog proizvoda diizobutilaluminijum-hidridom, a zatim oksidacija nastalog alil-alkohola, aldolna kondenzacija dobijenog aldehida (korak e), oksidativno cepanje diola (nakon uvođenja i uklanjanja odgovarajućih zaštitnih grupa, koraci f i g), *Yamaguchi*-jeva reakcija, *Lunche*-ova redukcija, i oksidacija nastalog primarnog alkohola do aldehida (šema 2.1.23).

Nozaki-Hiyama-Kishi kuplovanjem intermedijera **85** i odgovarajućeg 2,4-dimetoksibenzil-derivata (reag.3, korak c, šema 2.1.24) nastaje haterumalid NA (**34**) (Hayakawa i sar., 2008); dok je ključni korak sinteze haterumalida B (**46**) kuplovanje između **85** i reag.4 (Ueda i sar., 2009), a krajnji proizvod (jedinjenje **46**) nastaje oksidacijom dobijenog alil-alkohola (šema 2.1.25).

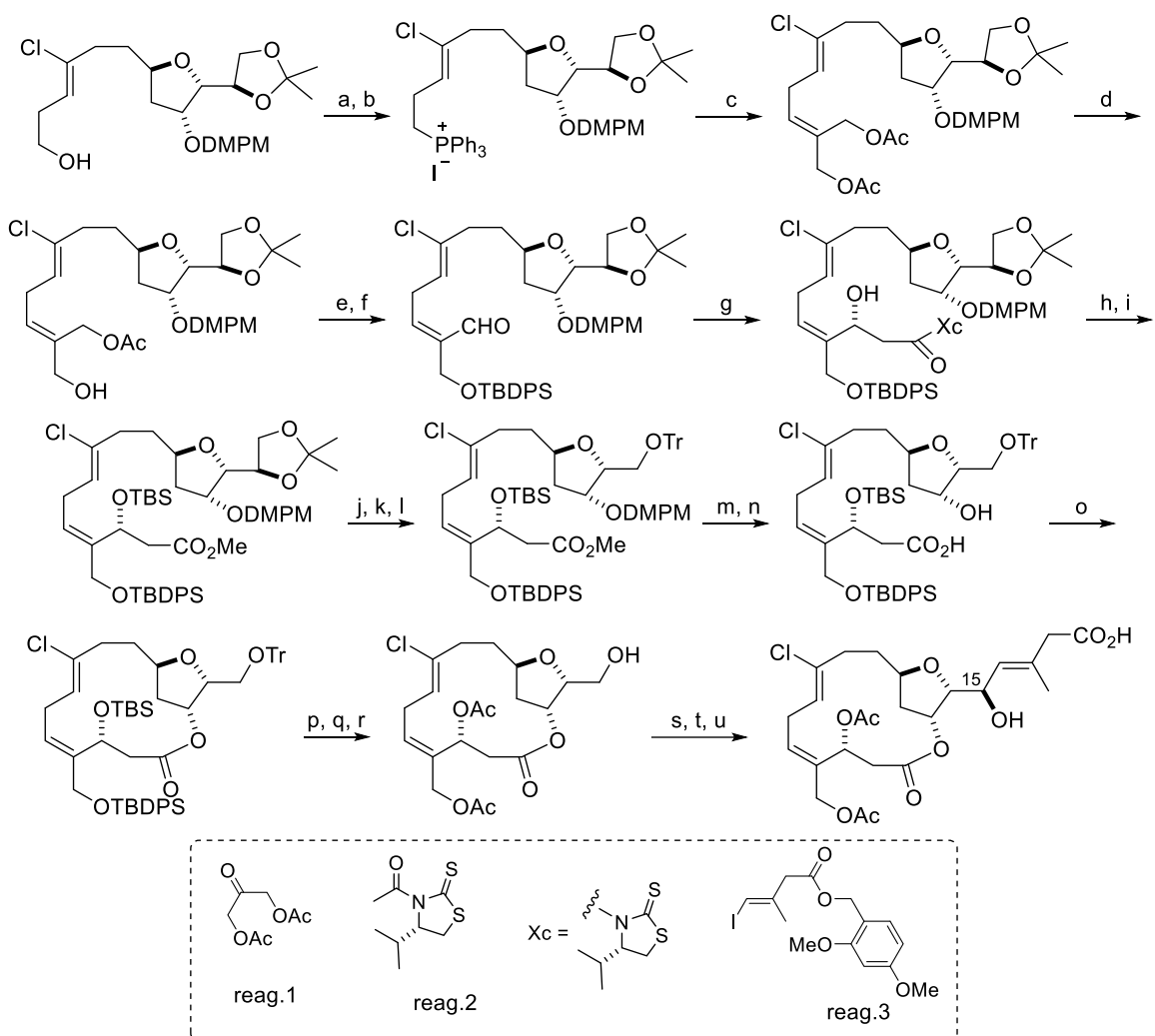


Šema 2.1.24. Sintaza haterumalida NA (**34**). Reagensi i uslovi: a) 2,4-dimetoksibenzil-alkohol, PyBOP, DMAP, CH₂Cl₂, s.t., 54%; b) reag.3, 0,5% NiCl₂·CrCl₂, DMSO, s.t., 44% za dva koraka; c) TFA, anizol, CH₂Cl₂, s.t., 66%.

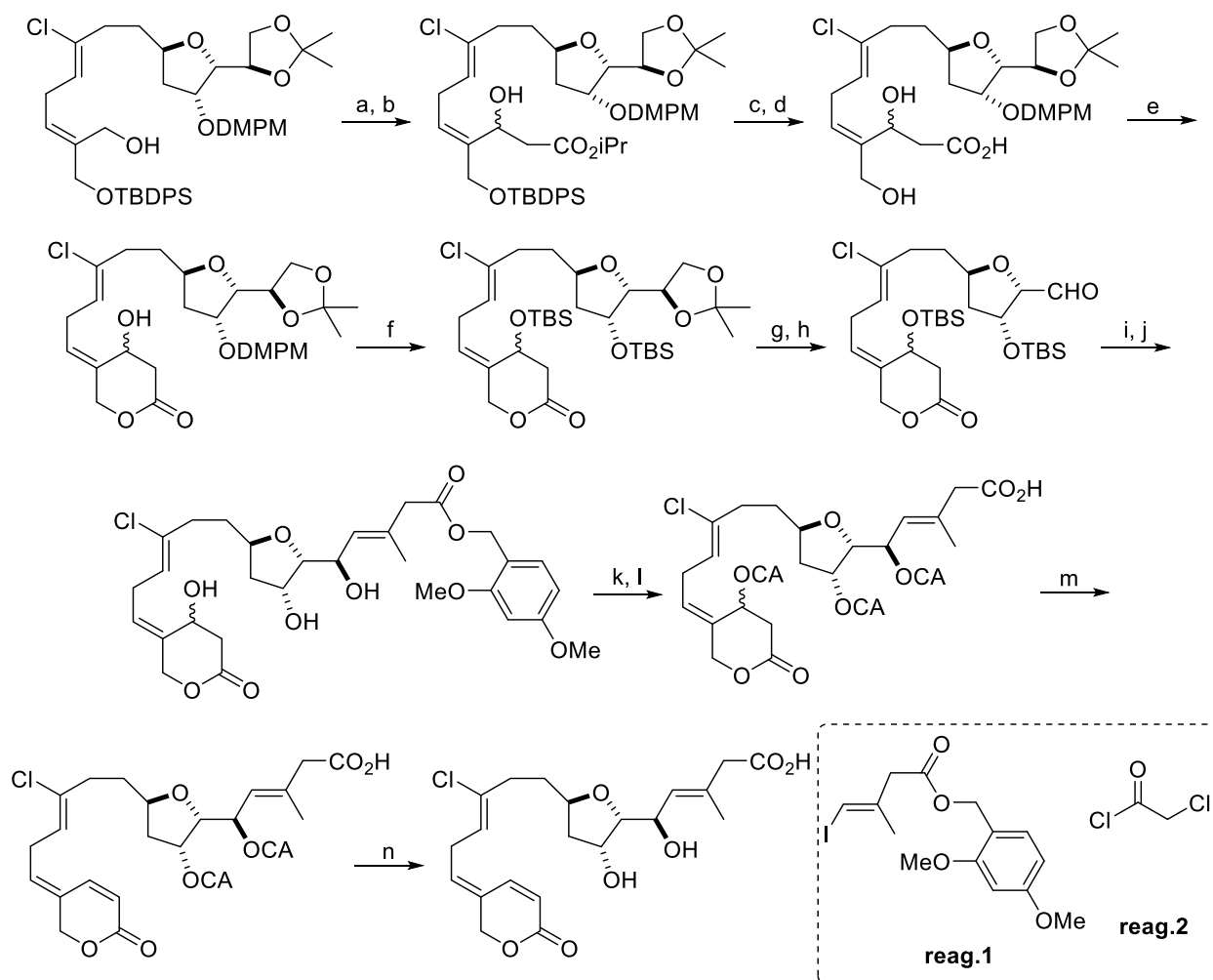


Šema 2.1.25. Sinteza haterumalida B (**46**). Reagensi i uslovi: a) MPMOC(=NH)CCl₃, PPTS, CH₂Cl₂, s.t., 65%; b) DIBALH, CH₂Cl₂, -78 °C, 85%; c) DCC, DMAP, CH₂Cl₂, s.t., 90%; d) reag.4, 1% NiCl₂·CrCl₂, DMSO, s.t., 48%; e) DDQ, fosfatni pufer pH 6,6, *t*BuOH-CH₂Cl₂, 0 °C, kvant.; f) MnO₂, CH₂Cl₂, s.t., 73%.

Totalna sinteza biselida A (šema 2.1.26) koristi strategiju sinteze haterumalida (Hayakawa i sar., 2017a). Važan korak ove sinteze je enzimaska dijastereoselektivna hidroliza acetata, pri čemu se na 27 °C sa PPL tip II (lipaze iz svinjskog pankreasa, *Lipase from porcine pancreas Type II*) u smeši acetona i fosfatnog pufera (pH 7,0), željeni alkohol dobija u visokom prinosu. Alkohol se dalje transformiše kao što je prikazano na šemi 2.1.26.



Šema 2.1.26. Totalna sinteza biselida A (**35**). Reagensi i uslovi: a) I_2 , imidazol, CH_2Cl_2 , s.t., kvant.; b) PPh_3 , toluen, $90\text{ }^\circ C$, kvant.; c) LHMDs, reagent.1, MS $3\text{ \AA}$, THF-HMPA, $-78\text{ }^\circ C$, 89%; d) PPL tip II, aceton/PB (pH 7,0) = 1:2 (v/v), $27\text{ }^\circ C$, 2 h; e) TBDS-Cl, imidazol, DMF, s.t., K_2CO_3 , MeOH; f) *Dess-Martin*-ov perjodinan, CH_2Cl_2 , s.t.; g) $Sn(OTf)_2$, *N*-etilpiperidin, reagent.2; CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ C$ do $-40\text{ }^\circ C$, 96%, za dva koraka; h) K_2CO_3 , MeOH, s.t.; i) TBDS-Cl, imidazol, DMF, s.t., kvant.; j) CSA, etilen-glikol, *i*PrOH, s.t., 97%; k) $NaIO_4$, 1,4-dioksan, H_2O , zatim $NaBH_4$, s.t., 94%; l) $TrCl$, piridin, DMAP, CH_2Cl_2 , s.t.; m) DDQ, PB (pH 6,6), *t*BuOH, CH_2Cl_2 ; n) 3 M $LiOH(aq)$, THF, MeOH, s.t., 81%; o) 2,4,6- $Cl_3C_6H_2COCl$, Et_3N , DMAP, toluen, s.t., 61%; p) nBu_4NF , THF, s.t.; q) Ac_2O , Et_3N , DMAP, CH_2Cl_2 , s.t., 83%; r) $HCOOH$, Et_2O , s.t., 89%; s) *Dess-Martin*-ov perjodinan, CH_2Cl_2 , s.t.; t) reagent.3, 1% $NiCl_2 \cdot CrCl_2$, DMSO, s.t., 3:1; u) TFA, anizol, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ C$, razdvajanje pomoću HPLC: 50% biselida A, 16% C15-*epi* biselida A.



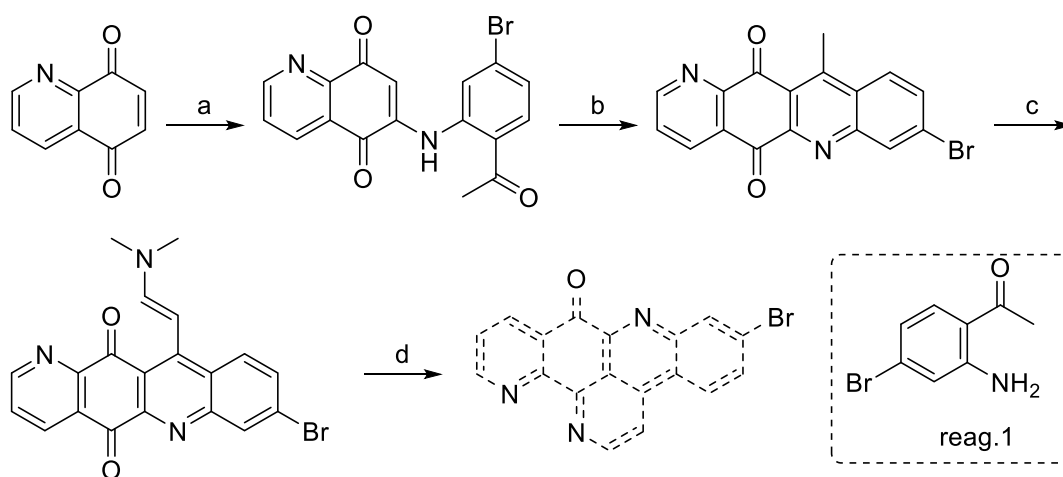
Šema 2.1.27. Sinteza biselida E (**39**). a) *Dess-Martin*-ov perjodinan (1,5 ekv.), CH_2Cl_2 , s.t.; b) $\text{AcO}i\text{Pr}$ (12 ekv.), LHMDS (12 ekv.), THF, -78°C , 3,5 h; c) $n\text{Bu}_4\text{NF}$ (5,3 ekv.), AcOH (5,3 ekv.), THF, s.t., 1,5 h, kvant.; d) 3 M $\text{LiOH}(\text{aq})$, THF, $i\text{PrOH}$, s.t., 14 h; e) $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$, DMAP, CH_2Cl_2 , s.t., 3 h; f) DDQ, PB (pH 6,6), $t\text{BuOH}$, CH_2Cl_2 , s.t., 50 min; TBSCl, imidazol, DMF, s.t., 3 h; g) $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, 1,3-propanditiol, -78°C , 1,5 h, 88%; h) NaIO_4 , 1,4-dioksan- H_2O , s.t., 4 h; i) reagent.1, $\text{NiCl}_2\cdot\text{CrCl}_2$, DMSO, s.t., 33 h; j) $n\text{Bu}_4\text{NF}$, AcOH, THF, s.t., 30 h, 77%; k) reagent.2, py, CH_2Cl_2 , -5°C , 10 min; l) TFA, anizol, CH_2Cl_2 , -5°C , 1 h, 63%; m) $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , s.t., 1 h; n) $\text{Zn}(\text{OAc})_2$, MeOH, s.t., 20 h.

Sinteza biselida E (**39**) započinje oksidacijom odgovarajućeg alil-alkohola (intermedijera koji nastaje prilikom sinteze biselida A), slede koraci aldolne kondenzacije, skidanje zaštite i hidroliza. Laktonizacija nastale kiseline (korak e) daje β -hidroksi- δ -lakton, a zatim nizom analognih reakcija sa početka sinteze haterumalida i β -eliminacijom hloracetoksi-grupe nastaje željeni $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -

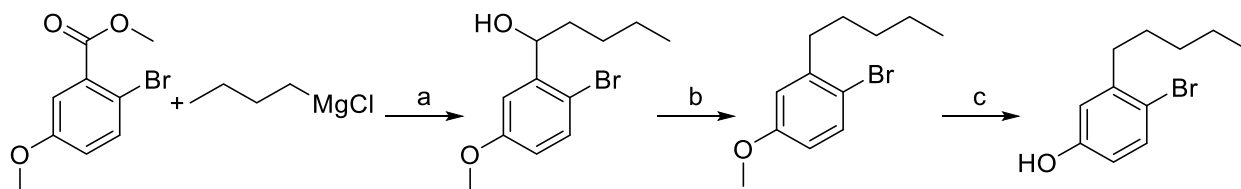
dinezasićeni lakton (šema 2.1.27). Na kraju, biselid E se dobija uklanjanjem dve hloracetil grupe cink-acetatom u metanolu (Hayakawa i sar., 2017b).

2-Bromleptoklinidinon (**67**) je sintetisan 1990. godine u četiri koraka iz hinolinhinona (šema 2.1.28, Bracher, 1990).

Sinteza 4-brom-3-pentilfenola (**80**) počinje reakcijom (šema 2.1.29) metil-2-brom-5-metoksibenzoata i viška butilmagnezijum-hlorida (Rob i sar., 2011). Nakon mezilovanja nastalog alkohola i hidrogenolize mezilata nastali 4-brom-3-pentilanizol je na kraju konvertovan u jedinjenje **80**.

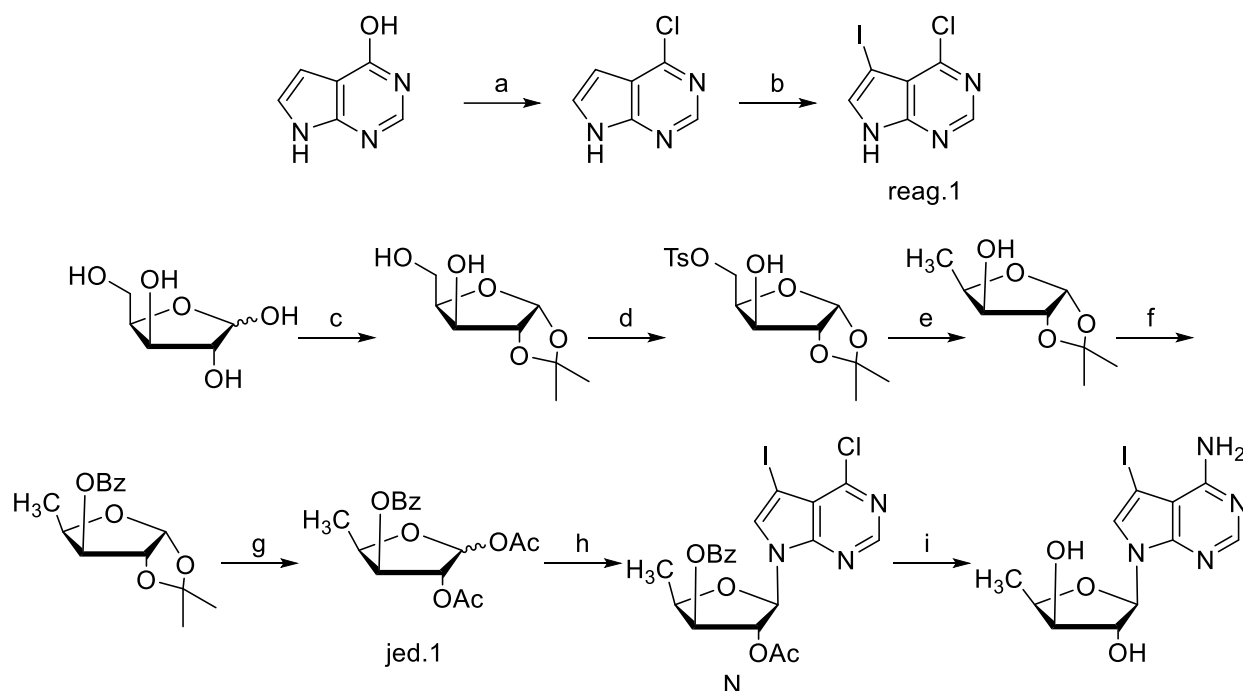


Šema 2.1.28. Sinteza 2-bromleptoklinidinona (**67**). Reagensi i uslovi: a) reag.1, CeCl_3 ; b) konc. H_2SO_4 ; c) DMF-DEA; d) NH_4Cl .



Šema 2.1.29. Sinteza 4-brom-3-pentilfenola (**80**). Reagensi i uslovi: a) THF, s.t., 2 h, 24,5%; b) MsCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , s.t., 2 h, zatim NaBH_4 , DMSO, s.t., 5 h, 23%; c) Me_3SiPh , I_2 , 115 °C, 2 h, 46%.

U acetonidu D-ksiloze (korak c, šema 2.1.30) primarni alkohol je selektivno toziloan, hydrogenolizovan, pa benzoilovana (korak f) preostala alkoholna grupa. Uklanjanjem acetalne zaštite i acetilovanjem (korak g, šema 2.1.30) nastaje jedinjenje 1 (jed.1) koje sa reag.1 (analog purinske baze) daje zaštićeni nukleozid (N), kod koga je u reakciji sa NH_3 pod drastičnim uslovima uklonjena zaštitna estarska grupa i izvršena supstitucija 4-Cl atoma sa 4- NH_2 (Sun i sar., 2012). Sinteza ove nukleotidne baze (koraci a i b) se vrši najpre hlorovanjem pirolo[2,3-*d*]pirimidin-4-ola, a zatim jodovanjem nastalog derivata, pri čemu nastaje odgovarajuća baza u prinosu od 95%.



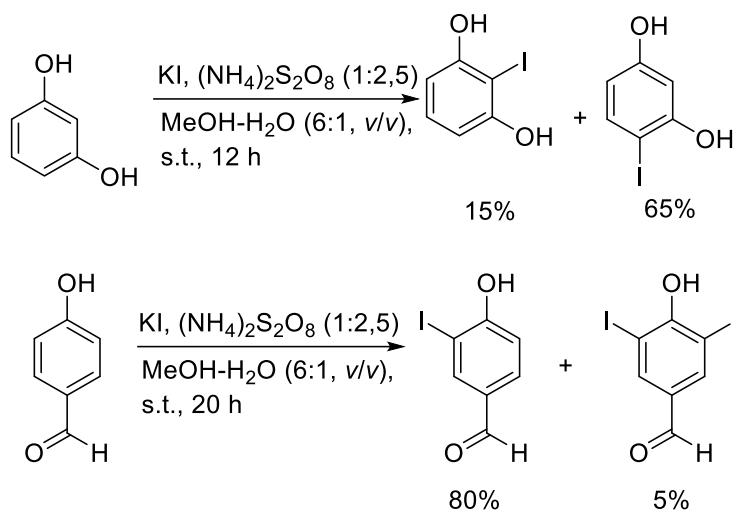
Šema 2.1.30. Totalna sinteza nukleozida pirolo[2,3-*d*]pirimidina (**81**). Reagensi i uslovi:

- a) POCl_3 (višak), refluks, 3 h, 98%; b) NIS (1,01 ekv.), DMF, 0 °C, 2 h, 98%; c) konc. H_2SO_4 , aceton, 0 °C, 3 h; zatim 5% $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq})$, 30 min, 87%; d) TsCl (1,1 ekv.), THF, Et_3N , 0 °C, preko noći, 92%; e) LiAlH_4 , THF, refluks, 6 h, 95%; f) BzCl (1,1 ekv.), CH_2Cl_2 , Et_3N , 2 h, 98%; g) konc. H_2SO_4 , Ac_2O , 26 h, 78%; h) reag.1 (1 ekv.), BSA (1,2 ekv.), TMSOTf (1 ekv.), CH_3CN , s.t. – 80 °C, 12 h, 56%; i) zasićen NH_3 u MeOH (višak), 130 °C, 12 h, 82%.

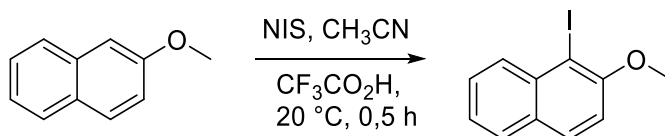
2.2. JODOVANJE AROMATIČNIH JEDINJENJA

Aril-jodidi su važni reagensi (supstrati) u modernim organskim sintezama za formiranje veze ugljenik–ugljenik. Pored toga, veliki broj jodarena je biološki aktivan i koriste se kao lekovi. Primenuju se u dijagnostičke svrhe, npr. kao radioaktivni markeri u imunološkim ispitivanjima (Volkert i Hoffman, 1999). Metode koje se koriste za sintezu aril-jodida mogu biti: direktne (vrši se supstitucija vodonika jodom) ili indirektna (dolazi do zamene nekog supstituenta npr. karboksilna ili diazonijum grupa, jodom). U reakcijama elektrofilne aromatične supstitucije elementarni jod je najmanje reaktivni halogen (Merkushev, 1988), slabiji je elektrofil od hlora ili broma. Veliki broj metoda daje dobre rezultate sa arenima koji su bogati elektronima, kao što su fenoli, fenol-etri, amini i anilidi, dok su reakcije sa deaktiviranim jezgrima arena (aromatične-kiseline i nitro jedinjenja) manje uspešne.

Jodovanje aromata bogatih elektronima, naročito fenolata, postiže se jodom u prisustvu baze. Ranije se koristio amonijak kao baza za ovu reakciju, međutim, njegova primena je svedena na minimum usled nastajanja azot-trijodida, kontaktnog eksploziva. Kod jodovanja anilina, amonijak se zamenjuje natrijum-hidroksidom ili kalijum-karbonatom. Kao baza se može koristiti i etilendiamin, koji takođe služi kao akceptor jodovodonika. Kod aktiviranih arena, često se javlja problem regioselektivnosti. Jodovanje derivata anilina može biti selektivno ukoliko se vrši smešom joda, piridina i dioksana (Monnereau i sar., 2005). *Ganguly* se bavio jodovanjem elektron-bogatih aromatičnih jedinjenja upotrebom KI i amonijum-peroksidisulfata (šema 2.2.1; Ganguly i sar., 2010). Reakcija jodovanja se može izvršiti i *N*-jodsukcinimidom u acetonitrilu (šema 2.2.2; Carreno i sar., 1996). Ova metoda je modifikovana, od strane *Castanet*-a i saradnika 2002. godine, dodatkom katalitičke količine trifluorsirćetne kiseline, pri čemu nastaje agens za jodovanje, jod-tris(trifluoracetat). Cirkonijum(IV)-hlorid se koristi kao *Lewis*-ova kiselina za selektivno *para* jodovanje aktiviranih arena (anilin ili fenol), zajedno sa *N*-jodsukcinimidom (Zhang i sar., 2005).

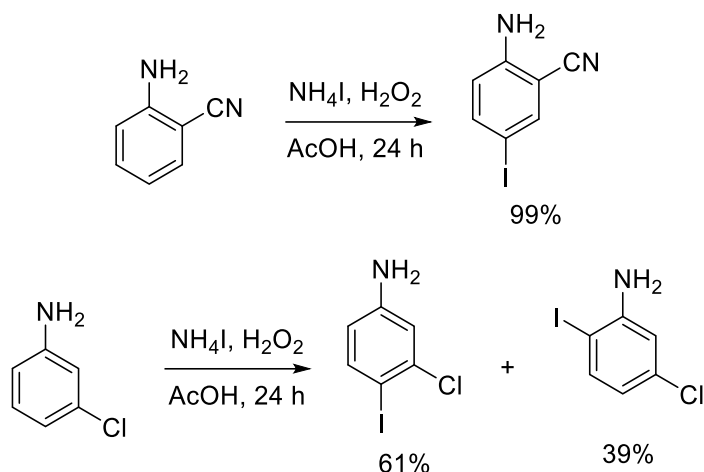


Šema 2.2.1. Jodovanje aromatičnih jedinjenja po *Ganguly*-ju i sar., (2010)



Šema 2.2.2. Jodovanje aromatičnih jedinjenja po *Carreno*-u i sar., (1996)

Osim za reaktivne supstrate, u reakcijama jodovanja aromatičnih jedinjenja potreban je oksidacioni agens koji oksiduje jod u bolji elektrofil (Butler, 1971). Standardna procedura za jodovanje deaktiviranih aromatičnih jedinjenja uključuje reakciju sa jodom i koncentrovanom azotnom kiselinom (Datta i Chatterjee, 1917). U modifikovanoj metodi, supstrat koji je rastvoren u glacijalnoj sirćetnoj kiselini, tretira se jodom, a zatim smešom azotne i sumporne kiseline na sobnoj ili povišenoj temperaturi (Tronov i Novikov, 1953). Reakcija može biti katalizovana azot-tetroksidom ili kiselinom, a veruje se da je elektrofilna vrsta protonovani NO₂I. Najsporiji korak reakcije je napad nukleofila na [HNO₂I]⁺. Ukoliko se kao oksidacioni agensi koriste SO₃ ili HIO₃, pokazano je da je I₃⁺ elektrofilna vrsta (Arotsky i sar., 1970), dok je u slučaju peroksikiselina reagens RCOOI (Ogata i Urasaki, 1970). Primeri oksidacionih agenasa koji se koriste zajedno sa jodom su: jedinjenja hipervalentnog joda (npr. PhI(OTf)₂) (Panunzi i sar., 2003), NaIO₄ (Lulinski i Skulski, 2000), amonijum-jodid i vodonik-peroksid (šema 2.2.3; Narender i sar., 2007), (NH₄)₂Ce(NO₃)₆ (Das i sar., 2007), peroksidisulfati (Tajik i sar., 2003) i smeša NaIO₄/KI/NaCl (Emmanuel i sar., 2006).



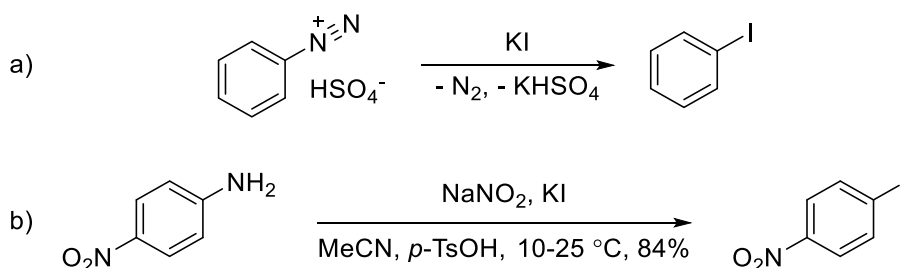
Šema 2.2.3. Oksidativno jodovanje aromatičnih jedinjenja po *Narender-u* i sar., (2007)

Regioselektivno jodovanje fenola, sa dobrim prinosom moguće je izvesti upotrebom natrijum-jodida i *terc*-butil-hipohlorita (Kometani i sar., 1985) ili natrijum-hipohlorita kao oksidansa (Edgar i Falling, 1990). Formiranje polijodovanih jedinjenja se može kontrolisati količinom korišćenog natrijum-jodida. Jod-monohlorid je bolji agens za jodovanje od samog joda (Mukaiyama i sar., 2000), međutim, brzina reakcije opada sa povećanjem koncentracije oslobođenog hlorovodonika jer on reaguje sa neizreagovanim jod-monohloridom, pri čemu nastaje manje reaktivni HICl_2 . Ovaj problem se može prevazići upotrebom (stabilnog) kompleksa jod-monohlorida i piridina (Muathen, 1994), pri čemu piridin neutrališe nastali hlorovodonik. Identitet proizvoda reakcije jod-monohlorida i fenola zavisi od eksperimentalnih uslova. Na primer, u odsustvu rastvarača, glavni proizvod je proizvod hlorovanja, dok se u sirćetnoj kiselini dobija proizvod jodovanja. Takođe se za jodovanje koristi i smeša $\text{ICl}/\text{In}(\text{OTf})_3$ (Johnsson i sar., 2005). Jodovanje je moguće i tretiranjem supstrata: 1,3-dijod-5,5-dimetilhidantoin i H_2SO_4 (Chaikovskii i sar., 2001), KI/KIO_3 u metanolu (Adimurthy i sar., 2003), KI i H_2O_2 (Reddy i sar., 2008) i NaI sa katalizatorom od gvožđa (Firouzabadi i sar., 2003). Natrijum-perjodat i jod se koriste za jodovanje β -karbolina (Bonesi i Erra-Balsells, 2001).

Soli srebra reaguju sa jodom, pri čemu se taloži srebro-jodid i generiše reaktivna elektrofilna vrsta joda. Takođe se mogu koristiti jedinjenja žive, pri čemu se zbog toksičnosti soli žive najčešće koristi živa(II)-oksid u dihlormetanu. Jodovanje fenola, kao deo sinteze bifenilendiola, uspešno je izvedeno jodom i živa(II)-acetatom (Hine i sar., 1985). Korišćenjem različitih živinih soli, *Bachky* i saradnici su 1994. godine uočili da je jodovanje aktiviranih aromatičnih jedinjenja bolje ukoliko

se koristi živa(II)-triflat nego njen nitrat ili hlorid. Nakon tretiranja arilživinog derivata jodom, formira se odgovarajući aril-jodid i ova se reakcija može izvesti kao „one-pot“ reakcija. Reakcija jodovanja može biti *orto*-regioselektivna ukoliko se koristi talijum(III)-trifluoracetat (McKillop i sar., 1971; Taylor i sar., 1971; Cambie i sar., 1976; Cambie i sar., 1997). Nastalo organotalijumovo jedinjenje sa vodenim rastvorom kalijum-jodida daje odgovarajući aril-jodid i talijum(I)-jodid. Poznato je „*solvent-free*“ jodovanje koje se može ostvariti upotrebom sledećih reagenasa: joda i srebro-nitrata (Yusubov i sar., 2007), NaICl_2 i *N*-bromamonijum soli (Hajipour i Ruoho, 2002), kao i joda sa $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ na silika-gelu (Alexander i sar., 2003).

Jedna od prvih i najčešće korišćenih metoda za sintezu aromatičnih jodida je supstitucija diazo-grupe jodom (*Sandmeyer*-ova reakcija, šema 2.2.4). Prednost ove reakcije u odnosu na druge metode koje uključuju direktno elektrofilno jodovanje aromatičnih jedinjenja je selektivno uvođenje joda u određeni položaj prstena, dok direktna elektrofilna aromatična supstitucija obično daje smešu regioizomera (Patai, 1978; Godovikova, 1983). Proces diazotovanje-jodovanje se obično vrši natrijum-nitritom u dva koraka: diazotovanje amina u kiseloj sredini i naknadna reakcija sa jodom i KI (ponekad u prisustvu soli bakra). Kao alternativa ovoj metodi koriste se skuplji reagensi kao što su alkil-nitriti sa diiodmetanom ili se uvođenje joda u aromatični supstrat vrši pomoću HI/KNO_2 u dimetil-sulfoksidu (Friedman i Chlebowsky, 1968; Smith i Ho, 1990). Jedna od pogodnih, alternativnih metoda koja daje visok prinos aromatičnih jodida sekvencijom diazotovanje-jodovanje odgovarajućih anilina, vrši se u jednom koraku pomoću smeše NaNO_2 i KI u rastvoru acetonitrila, u prisustvu *p*-toluensulfonske kiseline na sobnoj temperaturi (šema 2.2.4.b; Krasnokutskaya i sar., 2007).



Šema 2.2.4. Primeri *Sandmeyer*-ove reakcije: a) uobičajeni pristup, b) modifikovana reakcija od strane *Krasnokutskaya*-e i saradnika

2.3. ARISTOL

Aristol postoji na tržištu već 130 godina i prodaje se pod većim brojem trgovačkih naziva: timol-jodid, dijodditol, anidalin, timotol, jodtimol, timodin i dr. (Bengtsson, 1990). Aristol je materijal koji se dobija direktnim jodovanjem timola pod baznim uslovima. Danas se smatra odličnim antiseptikom (Shoemaker, 1893; FDA¹, 2015). Koristi se za lečenje velikog broja kožnih oboljenja (venskih čireva, psorijaze, kožnih apscesa), gonoreje, limfadenitisa, periostitisa itd. (Shoemaker, 1893; FDA, 2015). Takođe se koristi (slika 2.3.1) i u zubarstvu (npr. kod gangrenoznih pulpi, kao antiseptik za kanale korena zuba), u svim slučajevima gde mogu da se primene uobičajeni antiseptici (Shoemaker, 1893; FDA, 2015; Gorgas, 1895). U poređenju sa jodoformom, aristol ne iritira zdravu kožu, nema poznatih toksičnih efekata i nema neprijatan miris (Shoemaker, 1893).



Slika 2.3.1. Izgled pakovanja komercijalno dostupnog aristola (timol-jodida)²

Na osnovu skorašnje preporuke aristol bi trebalo da se nađe na listi magistralnih farmaceutskih preparata (sekcija 503A Američkog federalnog akta za hranu, lekove i kozmetičke preparate, FDA, 2015). Smatra se (pogrešno) da aristol predstavlja potpuno hemijski okarakterisanu supstancu (FDA, 2015). Struktura i hemizam nastajanja aristola su intenzivno proučavani u periodu između 1889. i 1950. Čak i nakon 100 godina istraživanja, struktura supstance (ili supstanci) koju (koje) danas nazivamo aristol nije određena, a mehanizam nastajanja nije poznat. Iako se formula ditimol-

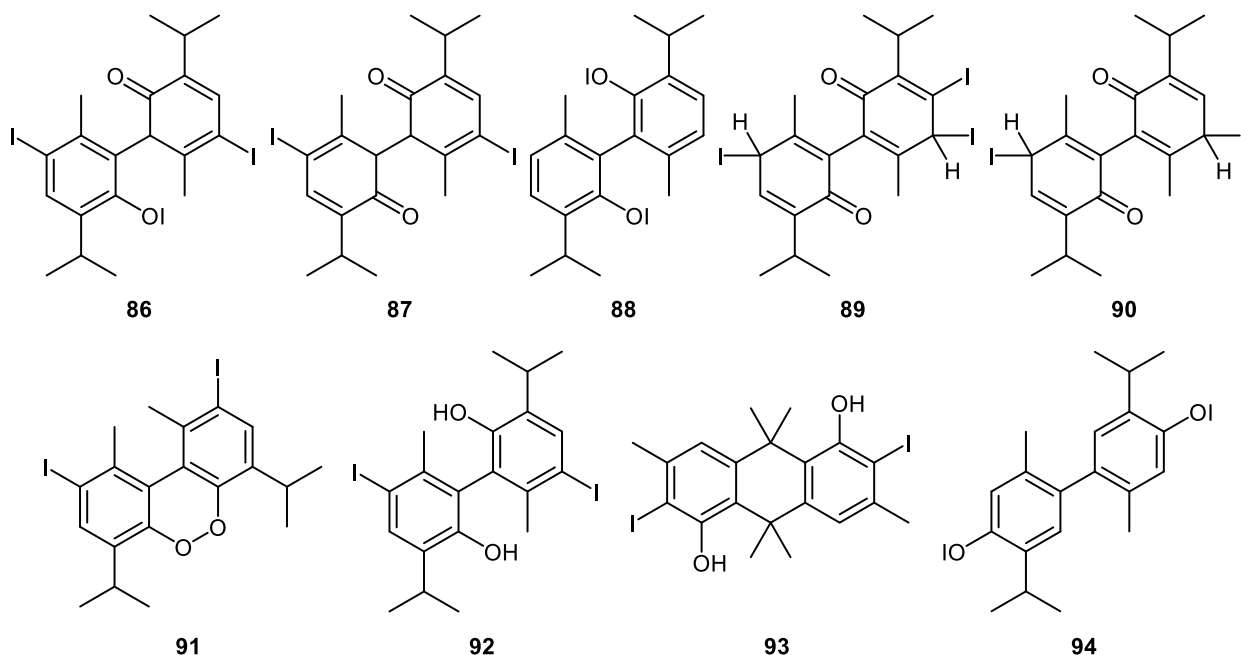
¹ U.S. Food and Drug Administration, Pharmacy Compounding Advisory Committee Meeting, Center for Drug Evaluation and Research, February 23-24, 2015.

² Edward Hand Medical Museum, <https://edwardhandmedicalmuseum.org/> (web stranici pristupljeno jula 2019)

dijodida u literaturi (Woollett, 1921) navodi kao $(C_{10}H_{12}IO)_2$ (molekulska masa 550), nije utvrđeno na koji način su međusobno povezani atomi joda i fragmenti timola

Do sada su, u pomenutom periodu, objavljeni rezultati istraživanja koja su se bavila rasvetljavanjem strukture aristola pomoću klasičnih metoda (degradacija i sinteza), ali ne postoji ni jedna studija u kojoj su korišćene moderne spektralne metode. *Messinger* i *Vortmann* su 1889. predložili strukturu **86** za „crveni aristol“, i strukturu **87** za „žuti aristol“, to jest, smatrali su da aristol predstavlja smešu hipojoditnih estara jodovanih fenola (to jest, jodoksil-derivate), ali nisu naveli dokaze sa svoje tvrdnje (šema 2.3.1). Sedam godina kasnije, *Urban* (1896) je ponovio sintezu aristola i predložio strukturu **88**, ali u radu nije pružio neophodne informacije koje bi je podržale.

Dannenberg (1903) je predlagao strukture za „crveni“ (**89**) i „žuti“ (**90**) aristol. *Bougault* (1918) je predložio strukturu **91** gde je jod direktno vezan za aromatično jezgro timola, dok su strukturni fragmenti timola međusobno dodatno povezani i peroksidnim mostom. *Moles* i *Marquina* (1919) su prvi predložili simetričnu strukturu **92** sa slobodnim fenolnim grupama. *Sanna* i *Zucca* (1951) su verovali da je aristol antracenski derivat **93**.



Šema 2.3.1. Do sada predlagane strukture aristola dostupne u literaturi

SIGMA-ALDRICH is now **MERCK**

200,000+ PRODUCTS ▾ 500+ SERVICES ▾ Featured INDUSTRIES ▾

Hello, Sign in ACCOUNT ▾ 24/7 SUPPORT ▾ 0 items ORDER ▾

Serbia Home > T2763 - Thymol iodide

T2763 SIGMA
Thymol iodide
 Synonym: 4,4'-Bis(iodoxy)-2,2'-dimethyl-5,5'-bis(1-methylethyl)-1,1'-biphenyl

SDS

CAS Number **552-22-7** Empirical Formula (Hill Notation) C₂₀H₂₄I₂O₂ Molecular Weight 550.21
 EC Number **209-007-5** MDL number MFCD00026409 PubChem Substance ID **24900073**

POPULAR DOCUMENTS SPECIFICATION SHEET (PDF)

Purchase Safety & Documentation

Properties

Related Categories	Antibiotics, Antifungal, Biochemicals and Reagents, Spectrum of Activity
InChI Key	SHOKWSLXDAIZPP-UHFFFAOYSA-N
antibiotic activity spectrum	fungi

Price and Availability

SKU-Pack Size	Availability	Price (EUR)
T2763-25G	Only 3 left in stock (more on the way) - FROM	188.50

To order products, please contact your local dealer. [Click here](#)

Slika 2.3.2. Izgled web-strane proizvođača *Sigma-Aldrich* koji navodi strukturu **94** za aristol

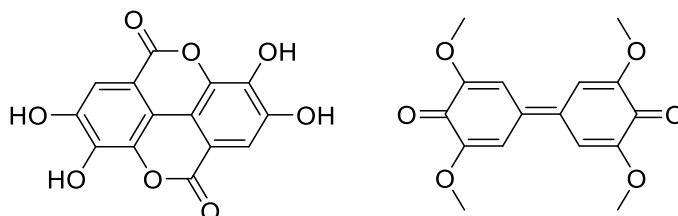
Danas većina farmakopeja i komercijalnih izvora (na primer, sajt proizvođača *Sigma-Aldrich*³, slika 2.3.2) strukturu aristola navodi kao 4,4'-bis(jodoksi)-2,2'-dimetil-5,5'-bis(1-metiletil)-1,1'-bifenil, iako ne postoje u literaturi dokazi koji bi išli u prilog strukture **94**.

Problemi sa kojim su se istraživači susretali prilikom određivanja strukture aristola potiču od činjenice da aristol najverovatnije ne predstavlja jedno jedinjenje, već da je to smeša nekoliko jedinjenja. Većina informacija dobijenih klasičnim hemijskim analizama (rastvorljivost, reaktivnost i određene fizičke konstante), na osnovu kojih su predlagane strukture, verovatno su bile drugačije od uzorka do uzorka, zbog različitih relativnih količina sastojaka.

³ https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=552-22-7&interface=CAS%20No.&N=0&mode=partialmax&lang=en®ion=SR&focus=product&gclid=Cj0KCQjw1MXpBRDjARIsAHtdN-1u6EgSxBJuunfle5fmMh7emm_s9gu_OWAzmdATpOzJCCrg-u9yvqkaAkofEALw_wcB

2.4. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE FENOLA

Reakcija oksidacije fenola do dehidrodimera je dobro poznata više od jednog veka. Veliki broj radova iz ove oblasti objavljen je i pre 1900. godine. Na primer: formiranje dilaktona (**95**) galne kiseline (elaginska kiselina) i njenih derivata (šema 2.4.1; Griessmayer, 1871; Ernst i Zwenger, 1871); dobijanje *para-para* i *orto-orto* kuplovanih dimera 1-naftola (Dianin, 1873); sinteza difenohinona **96** iz 2,6-dimetoksifenola (šema 2.4.1; Hofmann, 1878); kao i dobijanje 2,2'-dihidroksibifenila iz samog fenola (Kammerer i Benzinger, 1878). Reagensi korišćeni u ranijim radovima su najčešće bili: soli gvožđa(III), kalijum-heksacijanidoferat(III), kiseonik i halogeni; takođe su bile poznate i elektrohemijske metode, kao i reakcije katalizovane enzimima. Na primer, enzimska reakcija je korišćena čak u 19. veku za dobijanje dehidrodieugenola (Bourquelot, 1896). Sredinom dvadesetog veka, utvrđeno je da biosinteza velikog broja prirodnih proizvoda uključuje oksidativno kuplovanje fenola (Barton i Cohen, 1957; Erdtman i Wachtmeister, 1957). Prilikom nastajanja nekih alkaloida najmanje jedan korak biosinteze predstavlja oksidativno kuplovanje fenola. Takođe, biosinteza lignana, lignina, tanina, biljnih pigmenata, kao i pigmenata insekata, hormona tiroksina i nekih antibiotika uključuje oksidativno kuplovanje fenola (Battersby, 1967; Harkin, 1967; Weinges i Spänig, 1967; Humphries, 1963; Scott, 1967; Cameron i Todd, 1967; Taurog, 1967).



Šema 2.4.1. Struktura dilaktona galne kiseline (elaginska kiselina, **95**) i difenohinona **96**

2.4.1. MEHANIZMI OKSIDATIVNOG KUPLOVANJA FENOLA

Poznavanje mehanizama oksidativnog kuplovanja je značajno prilikom planiranja sinteza. Kod ovih mehanizma, treba uzeti u obzir:

- Osobine supstrata – oksidaciji mogu podleći nejonizovani fenol ili fenoladni anjon, što vodi formiranju različitih intermedijera. Takođe, proizvod nakon kuplovanja može da bude novi supstrat za oksidaciju.

- Vrsta reagensa – koriste se homogeni i heterogeni reagensi koji poseduju širok interval redoks-potencijala.
- Tok reakcije – najčešće se ukupno dva elektrona i dva protona uklanjaju pri oksidaciji, tako da je moguć različit redosled koraka reakcije. Mogu se pojaviti dva jednoelektronska koraka ili dvoelektronski korak, što vodi radikalskim ili jonskim procesima. Reakcioni put može uključiti oksidaciju jednog fenolnog jezgra do hinona ili hinonmetida koji je praćen neoksidativnim korakom kuplovanja.

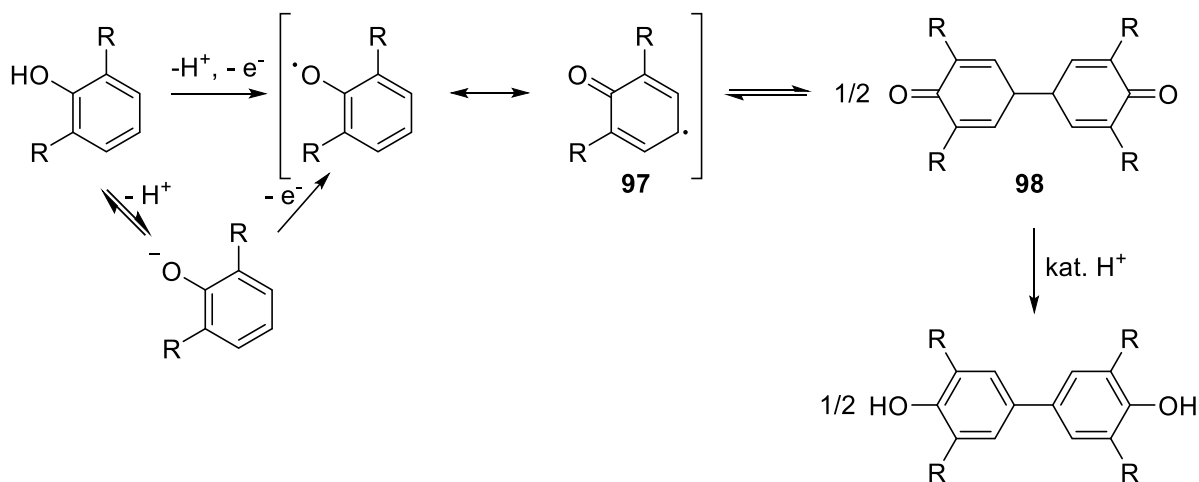
Glavni reakcioni mehanizmi su prikazani na šemama 2.4.2-2.4.7:

2.4.1.1. KUPLOVANJE ARILOKSI RADIKALA

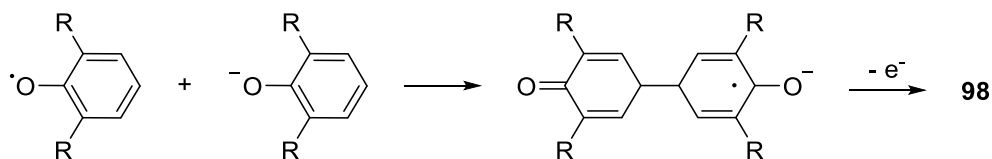
Šema ilustruje najčešće prihvaćeni mehanizam za *para-para* kuplovanje jednostavnih fenola. Oksidacija do radikala (**97**) može se vršiti od samog fenola ili fenolatnog anjona u zavisnosti od pH sredine. Formiranje ovih radikala je potvrđeno ESR spektroskopijom (Stone i Waters, 1964; Müller i sar., 1965; Müller i sar., 1966). Korak kuplovanja od **97** do **98** može biti reverzibilan i u odsustvu kiseline enolizacija **98** do bifenila je spora i određuje ukupnu brzinu reakcije.

2.4.1.2. SUPSTITUCIJA RADIKALA

Ukoliko je svaki radikal okružen molekulima neoksidovanih fenola ili fenolatnim anjonima, moguća je aromatična supstitucija, naročito kod intramolekulskih reakcija. Šema 2.4.3.



Šema 2.4.2. Mehanizam kuplovanja ariloksi radikala



Šema 2.4.3. Reakcioni put oksidativnog kuplovanja fenola supstitucijom radikala

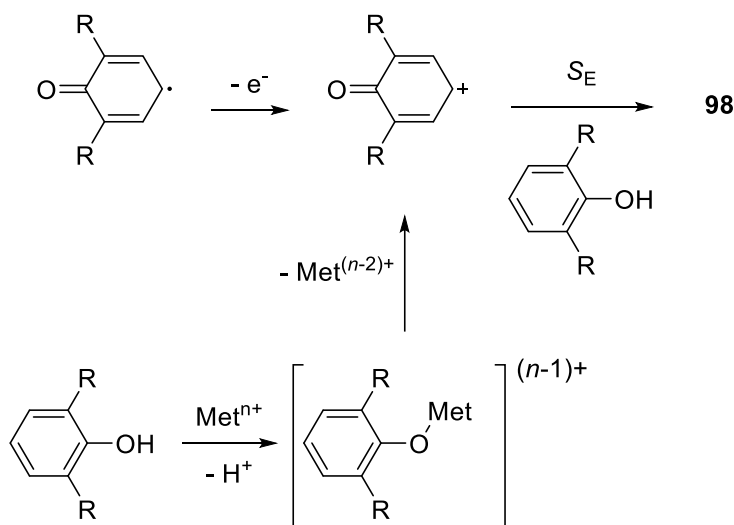
pokazuje verovatni reakcioni put koji obuhvata inserciju radikala u fenoksid praćenu kuplovanjem (McDonald i Hamilton, 1973).

2.4.1.3. ELEKTROFILNA AROMATIČNA SUPSTITUCIJA

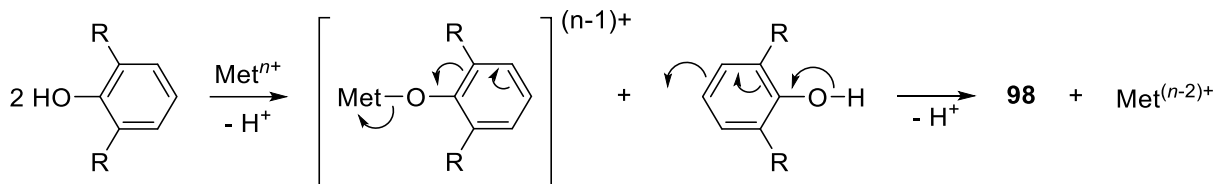
Šema 2.4.4. pokazuje da dodatna jednoelektronska oksidacija ariloksi radikala ili dvoelektronske oksidacije pomoću elektrona metala daje aril-katjone, koje mogu dovesti do stvaranja kuplovanog proizvoda elektrofilnom supstitucijom.

2.4.1.4. KONCERTOVANO KUPLOVANJE I TRANSFER ELEKTRONA

Jonska supstitucija fenola fenolatom koncertovanim mehanizmom prikazana je na šemi 2.4.5. Iako je mehanizam srodan prethodnom, u toku ovog mehanizma ne nastaju aril-katjoni iako je to verovatno energetski povoljnije; smatra se da se oksidacija fenola talijumom(III) odvija na ovaj način.



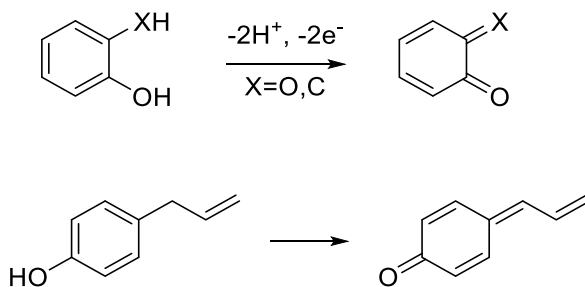
Šema 2.4.4. Mehanizam elektrofilne aromatične supstitucije



Šema 2.4.5. Mehanizam koncertovanog kuplovanja i transfera elektrona

2.4.1.5. POSTOKSIDATIVNO KUPLOVANJE

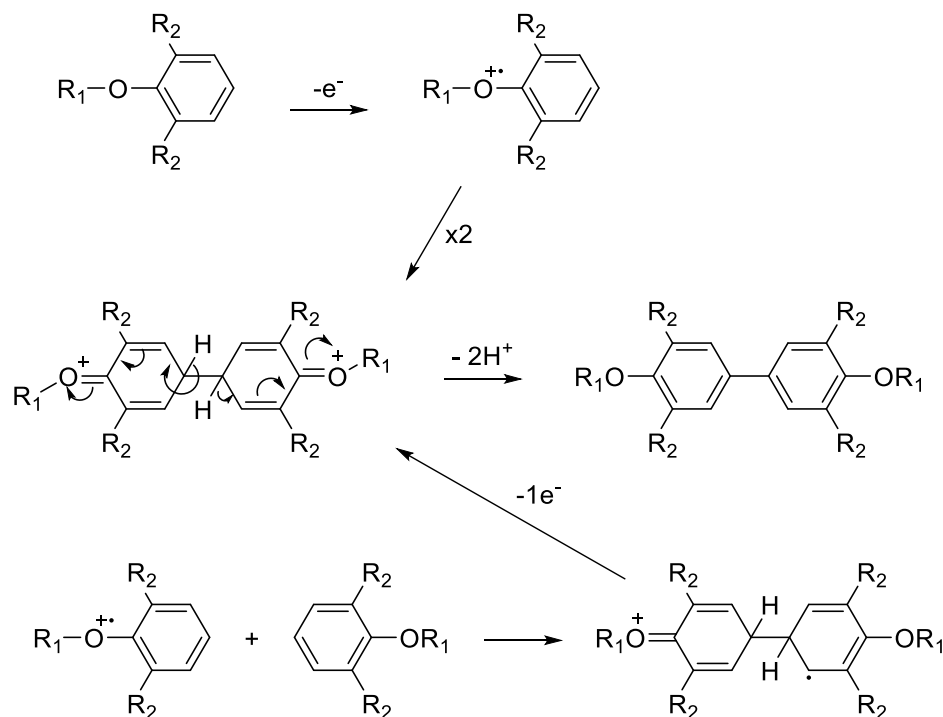
U nekim slučajevima oksidacija može biti završena pre nego što dođe do kuplovanja, pa je priroda koraka kuplovanja drugačija u odnosu na prethodne mehanizme. Takve su reakcije koje uključuju oksidaciju do hinona ili hinonmetida, tako da je drugi korak neoksidativan, tj. oni dalje adiraju nukleofil, npr. fenol, ili podležu cikloadiciji. Primeri su dati na šemi 2.4.6:



Šema 2.4.6. Primeri prvog koraka postoksidativnog kuplovanja

2.4.1.6. RADIKAL-KATJONSKE REAKCIJE

Jednoelektronska oksidacija aril-etra, npr. anodna, daje radikal-katjon koji može podleći kuplovanju (prikazan kao dimerizacija) ili supstituciji neutralnog fenol-etra. Oba puta su prikazana na šemi 2.4.7, a drugi proizvodi su mogući ukoliko se kuplovanje vrši na već supstituisanom ugljeniku. Mehanizam ovog tipa je značajan kod kuplovanja fenol-etra sa drugim fenol-etrima ili fenolima, a ne treba ga odbaciti u određenim slučajevima i kod kuplovanja dva fenola.



Šema 2.4.7. Mehanizam radikal katjonske reakcije

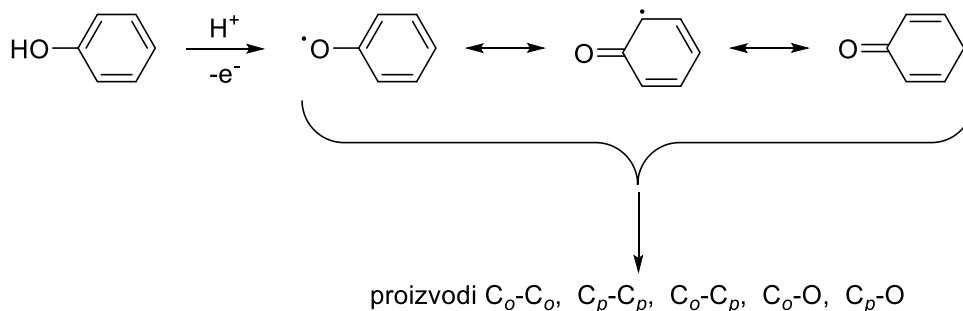
2.4.2. REGIOSELEKTIVNOST OKSIDATIVNOG KUPLOVANJA FENOLA

2.4.2.1. C–C KUPLOVANJE FENOLA

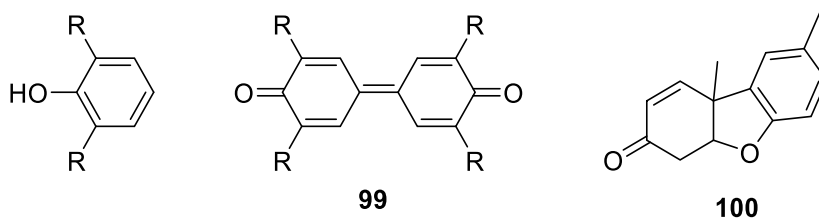
Oksidacijom fenola (kao u šemi 2.4.8), uz gubitak jednog protona i jednog elektrona, nastaje ariloksi radikal, koji se može dalje dimerizovati na pet načina pri čemu su moguća tri C–C i dva C–O vezivanja. Generalno, najveći slobodnoradikalSKI karakter nalazi se u *para* položaju, ali je kuplovanje reverzibilno (brže od tautomerizacije dienona do difenola) i odnos proizvoda C–C kuplovanja za konkretni fenol zavisi od pH, temperature, koncentracije i oksidansa, (Anderson i sar., 1977). Često se kao rezultat kuplovanja dobija smeša dehidrodimera. Teško je postići selektivnost u reakcijama mešovitog kuplovanja fenola i izbeći homokuplovanje. (Ashenhurst, 2010). Kuplovanje je regioselektivno u slučajevima kada je aromatično jedinjenje supstituisano u jednom ili dva *orto/para* položaja. *o,o*-Disupstituisani fenoli daju odličan prinos *para-para* kuplovanih proizvoda (Musso i sar., 1964). Dobijeni su kvantitativni prinosi različito supstituisanih difenohinona (npr. **99**, šema 2.4.9) iz odgovarajućih fenola oksidacijom smešom srebro-karbonata i celita u ključalom benzenu (Balogh i sar., 1971); ukoliko je supstituent *terc*-butil grupa prinos je kvantitativan, a reakcija je brza sa

heksacijanidogvožddevom(III) kiselinom u metanolu (Taimr i Pospíšil, 1971), dok je sa metil grupom kao supstuentom prinos 92% ako se za oksidans upotrebi trifenilbizmut(III)-karbonat (Barton i sar., 1981). U reakcijama oksidativnog kuplovanja fenola korišćen je veliki broj drugih oksidanasa, pri čemu se dobijaju različiti prinosi; npr. oksidacija 2,6-dimetilfenola reagensom koji predstavlja smešu srebro(I)-nitrata i kalijum-persulfata, ima prinos od 27% (Bacon i Izzat, 1966), a sa mangan(III)-acetilacetonatom prinos je 45% (Dewar i Nakaya, 1968). Slično, za kuplovanje različitih fenola mogu da se koriste: vanadijum(IV)-hlorid, vanadil-hlorid, kalijum-heksacijanidoferat(III) itd. (Carrick i sar., 1969, Allport i Bu'Lock, 1960).

p-Krezol daje *Pummerer*-ov keton (**100**, šema 2.4.9) u dobrom prinosu ukoliko se tretira srebro(I)-karbonatom (Anderson i sar., 1977); dok sa gvožđe(III)-hloridom daje najmanje deset proizvoda među kojima i ovaj keton.



Šema 2.4.8. Nastajanje ariloksi radikala i mogući načini vezivanja u dimerima



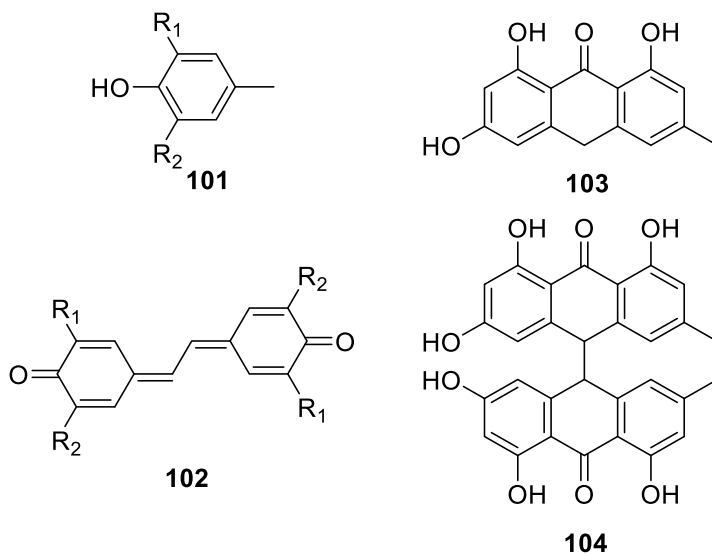
Šema 2.4.9. Uopštene strukture *o,o*-disupstituisanog fenola i difenohinona; struktura *Pummerer*-ovog ketona

2.4.2.2. KUPLOVANJA PREKO BENZILNIH UGLJENIKA

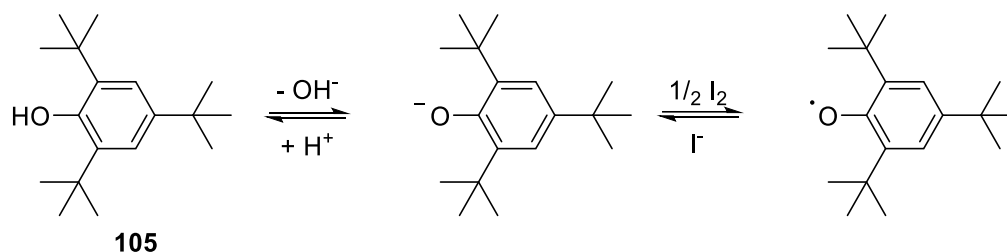
Mali broj oksidativnih kuplovanja uključuje generisanje benzilnog radikala i formiranje veze na tom mestu. Tačan mehanizam ovog procesa nije uvek poznat, ali se smatra da dolazi do primarne oksidacije fenolnog kiseonika, a nakon toga do migracije vodonika iz benzilnog položaja. U praksi se mogu dobiti odlični prinosi nekih kuplovanih proizvoda ovog tipa, npr. oksidacijom različitih *p*-krezola (**101**) srebro(I)-oksidom na celitu uz refluktovanje u suvom benzenu; tom prilikom nastaju odgovarajući bishinonmetidi (**102**) (Balogh i sar., 1971). Emodin-antron (**103**) se oksiduje u piridinu kiseonikom pri čemu se formira dehidro-dimer **104** (Brockmann, 1957).

2.4.3. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE FENOLA POMOĆU JODA

Poznato je da se jod u baznoj sredini koristi za jodovanje fenola. Međutim, pod određenim reakcionim uslovima jod može da dovede i do oksidativnog kuplovanja fenola, npr. ukoliko se reakcija izvodi u metanolu u prisustvu kalijum-hidroksida (Omura, 1984). Ishod reakcije zavisi od prirode supstituenata na jezgri i količine joda koja se koristi za reakciju, i može doći do jodovanja, oksidacije do stabilnog fenoksi-radikala, oksidativne dimerizacije ili benzilne oksidacije. Sterno zaštićeni radikali su stabilni, npr. 2,4,6-tri-*tert*-butilfenoksi-radikal, kod koga su u *orto*- i *para*-položajima vezane voluminozne grupe koje otežavaju kuplovanje. Dodatkom metanolnog rastvora joda (0,5 ekv.) u bazni (sadrži višak KOH) metanolni rastvor



Šema 2.4.10. Primeri benzilnih oksidativnih kuplovanja fenola

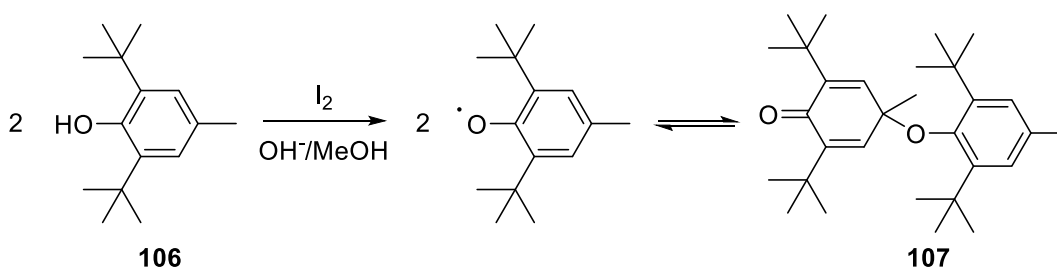


Šema 2.4.11. Reakcija 2,4,6-tri-*tert*-butilfenola (**105**) sa jodom

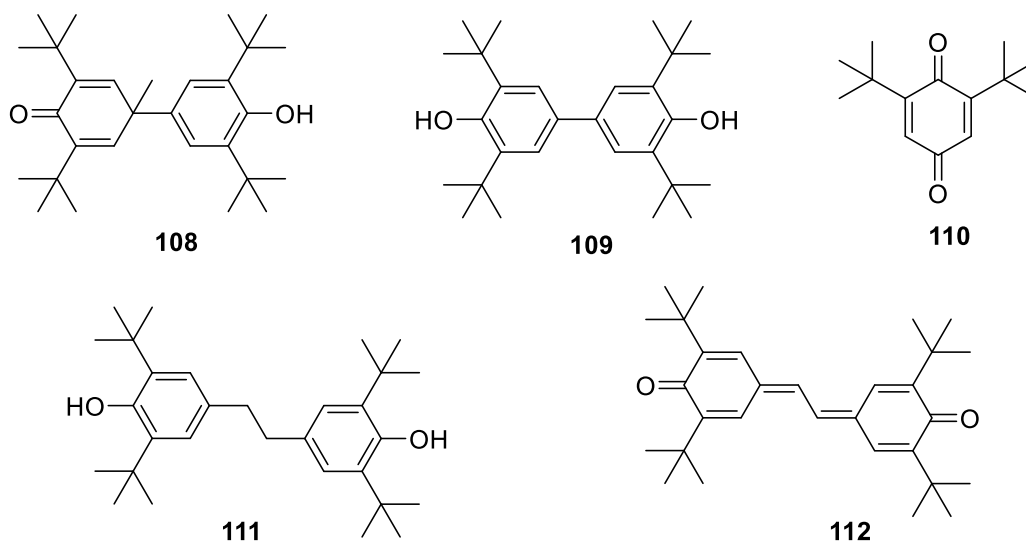
2,4,6-tri-*tert*-butilfenola (**105**) trenutno nastaje pomenuti radikal koji boji rastvor plavo (šema 2.4.11). Međutim, u reakciji sa bromom nastaje 2,4,6-tri-*tert*-butil-4-metoksi-2,5-cikloheksadien-1-on (Müller i sar., 1954).

Reakcija 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenola (**106**) sa jodom, pod istim uslovima, vodi, na kraju, ka nastajanju belog taloga, a intermedijarno je rastvor svetlo plavozelenkaste boje koja brzo nestaje, što ukazuje na formiranje odgovarajućeg fenoksi-radikala. Beli talog koji se izdvaja je dimer 4-fenoksi-2,5-cikloheksadien-1-ona (**107**) (prinos 93%), proizvod dimerizacije ovog fenoksi-radikala kuplovanjem preko kiseonika (šema 2.4.12). Ovaj dimer može nastati i oksidacijom pomoću vodenog rastvora joda (od 0,5 ekv. do viška) i kalijum-jodida u smeši rastvarača (metanola) i baze (etilendiamin). Dodavanjem etra (ili benzena) u reakcionu smešu, dolazi do brze razgradnje nastalog kuplovanog proizvoda i nastajanja 2,6-di-*tert*-butil-4-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidroksifenil)-4-metil-cikloheksa-2,5-dien-1-ona (**108**), kao glavnog proizvoda i manje zastupljenih 3,5,3',5'-tetra-*tert*-butil-[1,1'-bifenil]-4,4'-diola (**109**) i 2,6-di-*tert*-butil-1,4-benzohinona (**110**).

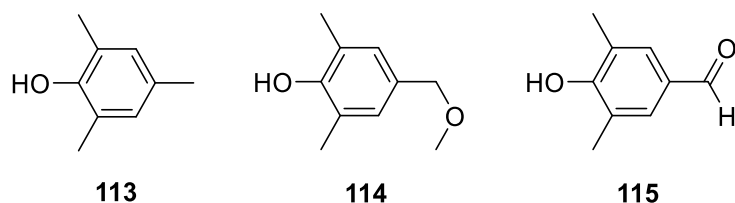
Razlaganje čistog dimera u etru u prisustvu ili odsustvu kiseonika daje smešu 4,4'-(etan-1,2-diil)bis(2,6-di-*tert*-butilfenola) (**111**) i 4,4'-(etan-1,2-diiliden)bis(2,6-di-*tert*-butilcikloheksa-2,5-dien-1-ona) (**112**) i početni fenol (**106**) (šema 2.4.13).



Šema 2.4.12. Reakcija 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenola (**106**) sa jodom



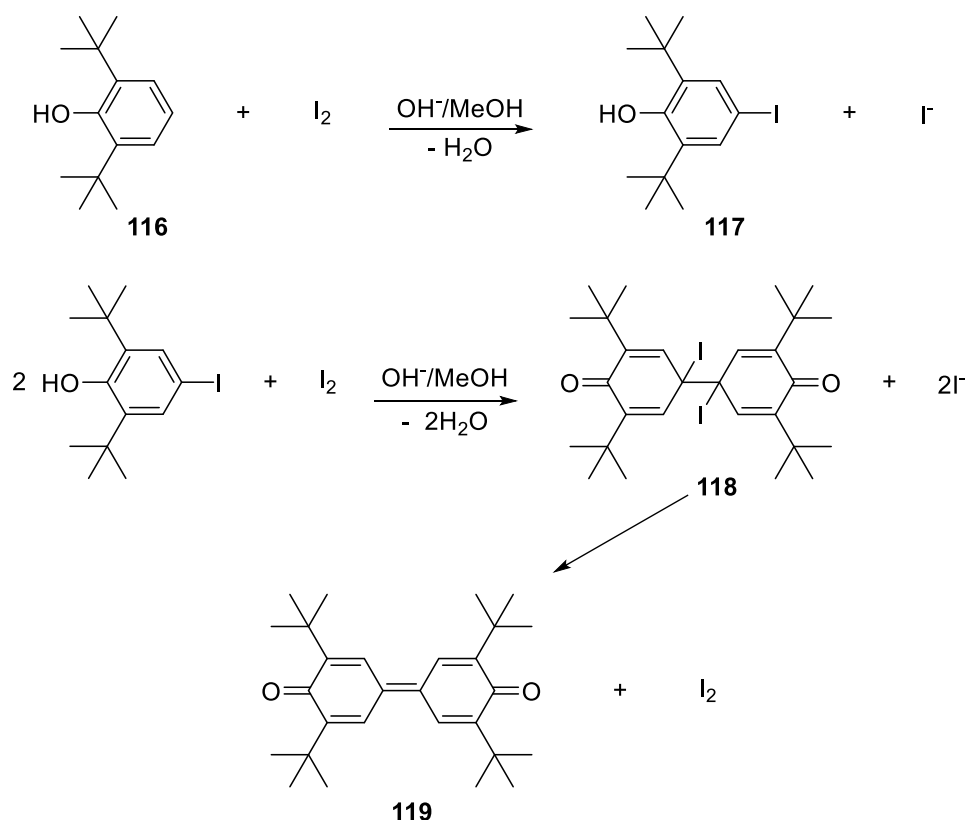
Šema 2.4.13. Proizvodi nastali razlaganjem jedinjenja **107**



Šema 2.4.14. Strukture 2,4,6-trimetilfenola (**113**), 2,6-dimetil-4-(metoksimetil)fenola (**114**) i 3,5-dimetil-4-hidroksibenzaldehida (**115**)

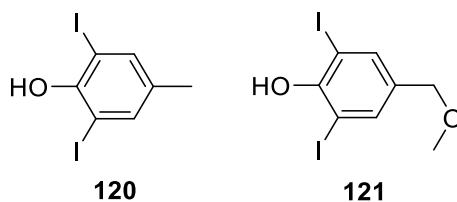
2,4,6-Trimetilfenol (**113**) u reakciji sa jodom (1 ekv.) i KOH daje 2,6-dimetil-4-(metoksimetil)fenol (**114**, šema 2.4.14) u odličnom prinosu (84%), kao i 3,5-dimetil-4-hidroksibenzaldehid (**115**, 5%).

Međutim, 2,6-di-*terc*-butilfenol (**116**) sa jodom najpre daje proizvod jodovanja 2,6-di-*terc*-butil-4-jodfenol (**117**) koji se brzo konvertuje u difenohinon **119**, reakcijom koja je katalizovana jodidom. Ukoliko smeša sadrži nešto više od 1 ekv. joda onda se celokupna količina jodovanog derivata prevodi u hinon. Pretpostavlja se da kao intermedijer u ovoj reakciji nastaje 3,3',5,5'-tetra-*terc*-butil-1,1'-dijod-bi(cikloheksa-2,5-dien-1-il)-4,4'-dion (**118**), koji je nestabilan i na sobnoj temperaturi dolazi do dejodovanja.



Šema 2.4.15. Reakcija 2,6-di-*tert*-butilfenola (**116**) sa jodom

U reakciji *para*-krezola sa 4 ekv. joda u baznom (KOH) metanolnom rastvoru nastaju 2,6-dijod-4-metilfenol (**120**) (glavni proizvod) i 2,6-dijod-4-(metoksimetil)fenol (**121**) (sporedni proizvod) (šema 2.4.16). Najpre dolazi do brze reakcije dijodovanja odgovarajućeg fenola pri čemu se troši 2 ekv. joda. Zatim se potrošnja joda usporava, a tamno-braon boja reakcione smeše, koja potiče od joda, ne gubi se ni nakon 2 h. Višak joda je izazvao oksidaciju metil grupe dijodfenola pri čemu nastaje jedinjenje **121**. Prinos jedinjenja **121** se povećava upotrebom velikog viška joda (14 ekv.). Zamenom kalijum-hidroksida, npr. kalijum-karbonatom, ne nastaje metil-etar (**121**) dok upotrebom natrijum-metoksida kao baze, ovo jedinjenje nastaje u visokom prinosu.

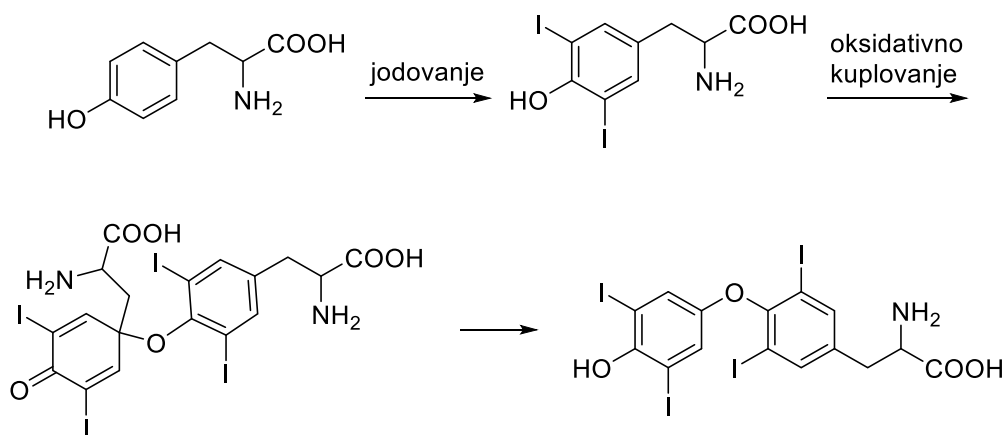


Šema 2.4.16. Proizvodi nastali u reakciji jodovanja (sa 4 ekv. joda) *p*-krezola

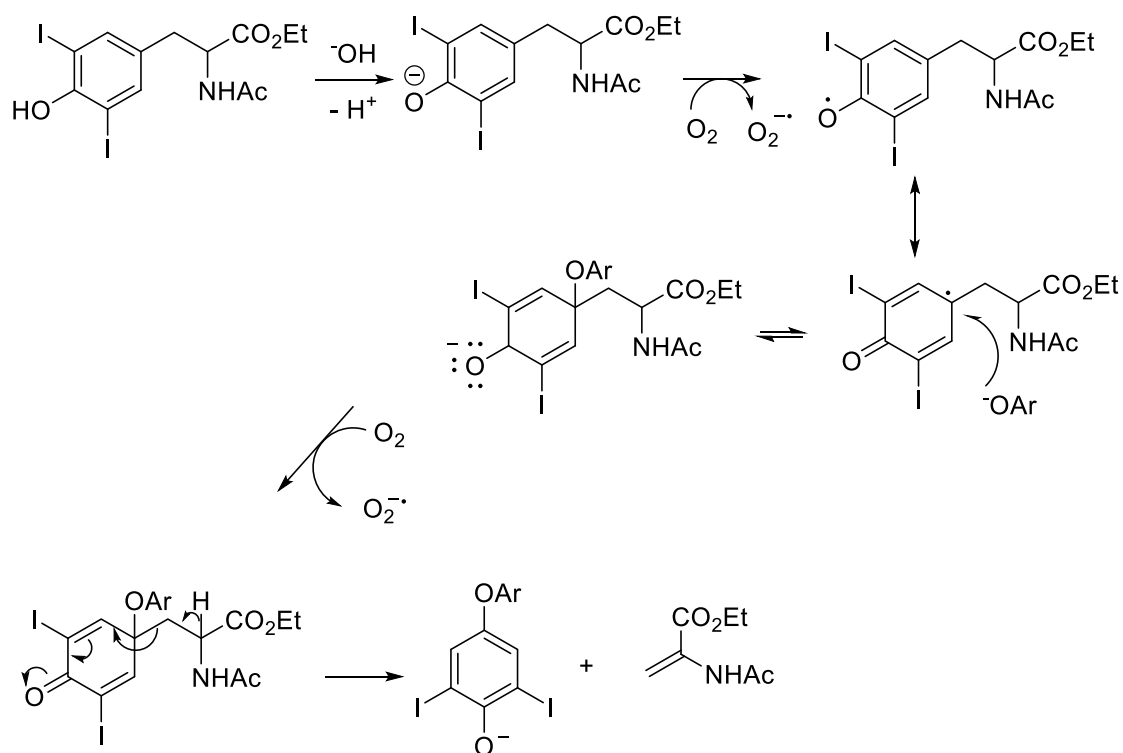
2.4.4. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE U PRIRODI

Nastajanje tiroksina, tiroidnog hormona, dobar je primer oksidativnog kuplovanja u prirodi; nastaje iz aminokiseline tirozin, najpre jodovanjem, a zatim oksidativnim kuplovanjem (O-Cp) i uklanjanjem lanca od tri ugljenika (šema 2.4.17, Hart i Reilly, 1978).

Bell i saradnici su 1997. godine biomimetičkom studijom proučavali mehanizam sinteze tiroksina, pri čemu su vršili oksidativno kuplovanje etil-estra *N*-acetil-3,5-dijodtirozina do etil-estra *N*-acetiltiroksina. Predloženi mehanizam obuhvata oksidaciju fenolata do fenoksi-radikala (šema 2.4.18), koji potom brzo reaguje sa fenolatnim anjonom i formira intermedijerni radikal-anjon. Dimerizacijom fenoksi-radikala nastaje dienon. Fenoksi-radikal je prisutan u smeši u maloj koncentraciji za razliku od fenolata, tako da je pomenuta reakcija mnogo brža u odnosu na reakciju između dva molekula radikala pretpostavlja se da je gubitak bočnog niza E2 eliminacija (*Bell* i sar., 1997).



Šema 2.4.17. Šematski prikaz biosinteze tiroksina

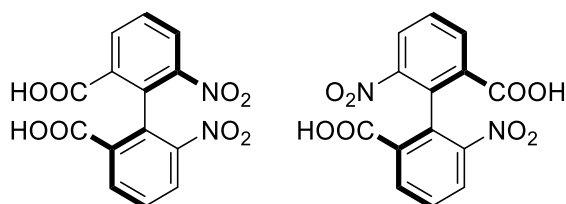


Šema 2.4.18. Potencijalni mehanizam biosinteze tiroksina.

Prisustvo atoma joda u molekulu olakšava eliminaciju bočnog lanca, čineći dienon boljom odlazećom grupom. Takođe, pK_a 3,5-dijodtirozina je 6,35 što ga čini oko 100 puta kiselijim od 3-jodtirozina, tako da se 3,5-dijodtirozin jonizuje na fiziološkom pH. Veličina atoma joda ima ulogu u sternom dirigovanju kuplovanja, pri čemu diktira *para* regioselektivnost. Metilenska grupa u *para* položaju je manja od atoma joda, a rotacijom oko Ar-CH₂ sprečava se guranje sa α -acetamidoestarskom grupom. Međutim, ova regioselektivnost može da se objasni i činjenicom da je elektronska gustina kod fenoksi radikala veća u *para* položaju nego u *orto*-položaju.

2.5. ATROPIZOMERIJA

Atropizomeri⁴ su stereoizomeri koji nastaju usled otežane rotacije oko jednostrukih veza. Na primer, zbog sternih smetnji izazvanih prisustvom *orto* supstituenata kod bifenila, rotaciona barijera između konformera je dovoljno visoka da je moguće njihovo izolovanje. Poseban izazov je izolovanje atropizomera koji su posledica ograničene rotacije oko veza između atoma koji su sp^2-sp^3 i sp^3-sp^3 (Eliel i Wilen, 1994; Oki, 1993; Lomas i Dubois, 1976). Desetak godina posle detektovanja prvih atropizomera kod 6,6'-dinitrobifenil-2,2'-dikarboksilne kiseline, *Kuhn* je 1933. godine uveo termin atropizomerizam (šema 2.5.1; Christie i Kenner, 1922).



Šema 2.5.1. Atropizomeri 6,6'-dinitrobifenil-2,2'-dikarboksilne kiseline

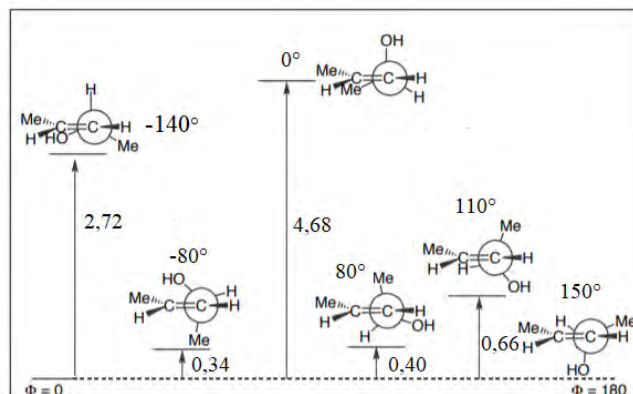
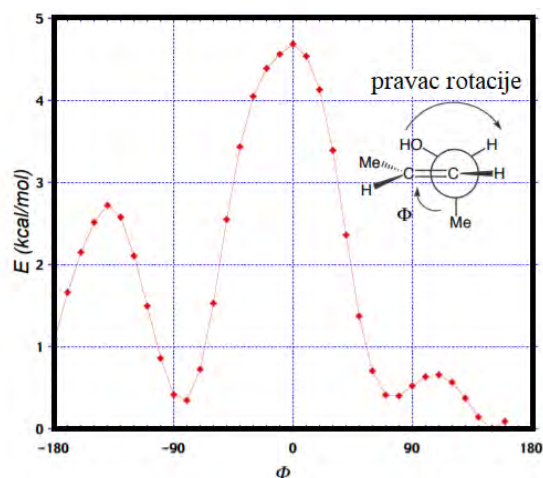
2.5.1. ATROPIZOMERIJA KAO POSLEDICA OTEŽANE ROTACIJE OKO sp^2-sp^2 VEZA

Ovu kategoriju najvećim delom čine bifenili. Atropizomeri su enantiomerni jer dva benzenova prstena nisu koplanarna, a zato što su oba prstena asimetrično supstituisana, ravan koja sadrži jedan od benzenovih prstenova i C–C vezu sa drugim prstenom nije ravan simetrije. Ovaj tip izomerije se javlja ne samo kod bifenila, već i kod drugih jedinjenja kod kojih je rotacija oko sp^2-sp^2 veze ograničena i dve ravni koje sadrže sp^2 centre se ne poklapaju i nejednako su supstituisani. Takođe, amidi, nitrozoamini i enamini spadaju u ovu kategoriju.

2.5.2. ATROPIZOMERIJA KAO POSLEDICA OTEŽANE ROTACIJE OKO sp^2-sp^3 VEZA

Atropizomerija oko sp^2-sp^3 veze ima tri ili šest rotacionih barijera, što je slično kao kod jedinjenja (Z)-3-penten-2-ol ilustrovano na šemi 2.5.2. Energetskom minimumu odgovara konformer kod koga je Me (metil-grupa) pod uglom od 30° u odnosu na H-atom na dvostrukoj vezi. Konformer koji odgovara energetskom maksimumu je onaj gde je Me-grupa eklipsna sa C=C, pri čemu energetska barijera iznosi 4,68 kcal mol⁻¹. Ukoliko je ugao između Me-grupe i C=C 140°,

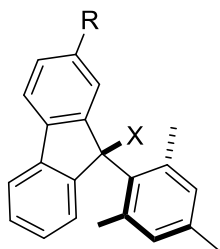
⁴ Grč. *atropos*, u prevodu „koji se ne okreće“ (*a*-ne i *tropos*-obrnuti)



Šema 2.5.2. Barijere koje se javljaju oko sp^2 - sp^3 veze kod (Z)-3-penten-2-ola

onda je OH grupa eklipsna sa C=C, pa ovaj konformer odgovara drugom maksimumu energije, sa energetsom barijerom od $2,72 \text{ kcal mol}^{-1}$. Slično se može tumačiti i kod aromatičnih sistema.

Prvi slučaj sp^2 - sp^3 atropizomera otkrili su *Chandross* i *Sheley* (1968) kada su utvrdili da su *orto* metil-grupe 9-mezitilfluorena neekvivalentne na svim ispitivanim temperaturama. Energetska barijera određena za 9-hlor jedinjenje (B; šema 2.5.3) bila je mnogo manja. U kasnijim istraživanjima *Riekler*-a i *Kessler*-a određene su vrednosti za barijere; redosled veličina barijera bio $A > C > B$ (šema 2.5.3), drugim rečima jedinjenje sa najmanjim supstituentom u položaju 9 ima najveću barijeru i obrnuto. Zamenom mezitil grupe 2,6-dimetoksifenil grupom, značajno se smanjuje energetska barijera, tj. drugim rečima smanjenje veličine grupa X i Y dovodi do sniženja barijere.

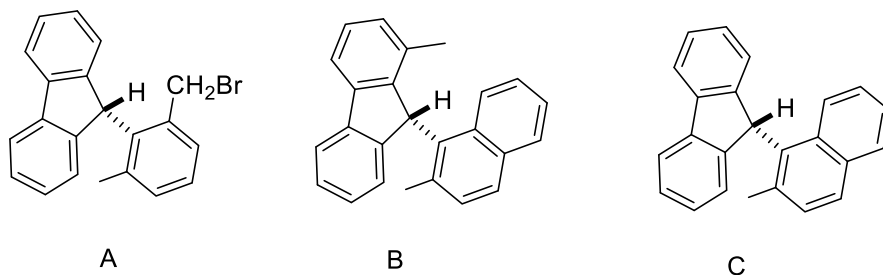


- A, X=H, R=H
- B, X=Cl, R=H
- C, X=OH, R=H
- D, X=Cl, R=CH(CH₃)₂

Šema 2.5.3. Struktura derivata 9-mezitilfluorena koji pokazuju sp^2 - sp^3 atropizomeriju

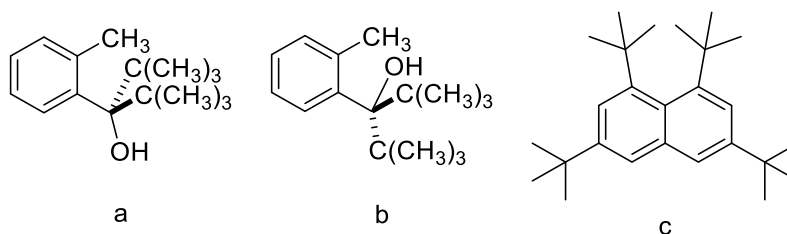
Visoke barijere se uočavaju kod jedinjenja poput onih na šemi 2.5.4, a u tim slučajevima atropizomeri se mogu izolovati, a njihova interkonverzija može da se proučava klasičnim kinetičkim metodama. Barijera u jedinjenju A na šemi 2.5.4. (Nakamura i Ōki, 1974) od 27

kcal/mol je približna barijeri A na šemi 2.5.3, međutim u slučaju jedinjenja B na šemi 2.5.4 (Ford i sar., 1975) barijera od 33 kcal/mol je značajno veća nego kod jedinjenja C, što pokazuje da povećanje grupe N ili O (šema 2.5.2) povećava barijeru kao što je i predviđeno. Povećanje veličine i N i O, sa druge strane, nema aditivni efekat jer se prolazak X pored N i Y pored O ne dešava istovremeno. Aktivaciona energija za *ap-sp* interkoverzije kod monometil (C) i dimetil (B) jedinjenja je gotovo ista.



Šema 2.5.4. Strukture 9-arilfluorena.

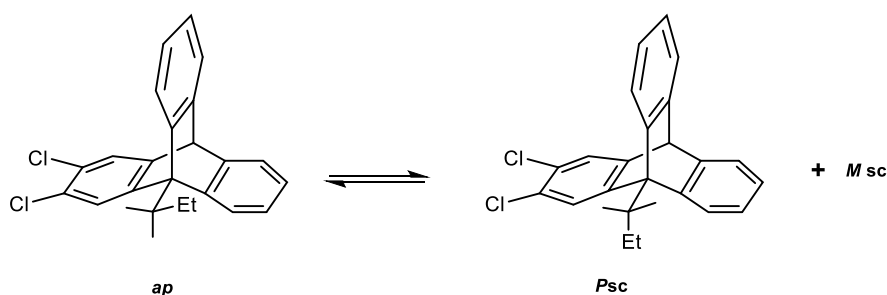
Na sobnoj temperaturi mogu se izolovati izomeri 2,2,4,4-tetrametil-3-(*o*-tolil)pentan-3-ola (šema; 2.5.5; Brown, 1966). Konformacije ovih izomera su određene rendgenskom strukturnom analizom, koja je pokazala da je rastojanje *o*-metil grupe i kiseonika hidroksilne grupe u sinperiplanarnom izomeru samo 2,66 Å, a C–O veza je pod uglom od 11,6° u odnosu na benzenov prsten. Kod nekih jedinjenja signali ovakvih izomera u ¹H NMR spektrima na sobnoj temperaturi se ne razlikuju već se javlja samo jedan signal usled brze rotacije, npr. kod 1,3,6,8-tetra-*tert*-butilnaftalena na sobnoj temperaturi se javlja jedan singlet za *tert*-butil grupe u položaju 1 i 8, dok se na -80 °C signali šire, a razdvajaju na -153 °C (Anderson i sar., 1972).



Šema 2.5.5. Strukture a i b: atropizomeri 2,2,4,4-tetrametil-3-(*o*-tolil)pentan-3-ola; struktura c: 1,3,6,8-tetra-*tert*-butilnaftalen.

2.5.3. ATROPIZOMERIJA KAO POSLEDICA SPREČENE ROTACIJE OKO sp^3-sp^3 VEZE

Ukoliko je rotaciona barijera oko sp^3-sp^3 veze dovoljno visoka i ako je odgovarajuća struktura nesimetrična, atropizomeri se mogu izolovati. Tripticen i dibenzobiciklo[2.2.2]oktatrien su sistemi na kojima može da se objasni atropizomerija ovog tipa (šema 2.5.6). Ōki i Yamamoto (1972) su izolovali *ap* i *sc* diastereomere dibenzobiciklo[2.2.2]oktadiena. Uprošćene *Newman*-ove projekcije formule pokazuju da je *ap* izomer *meso* dok *sc* odgovaraju M i P enantiomerima. *ap*-Izomer je inicijalni proizvod *Diels-Alder*-ove reakcije, a odnos *sc:ap* u smeši je 3:1, dok energetska barijera iznosi 33,2 kcal/mol.



Šema 2.5.6. Atropizomeri u sistemu 3,4-dihlortripticena (tribenzobiciklo[2.2.2]oktatriena)

Tripticenski sistem prikazan na šemi nastaje *in situ* adicijom dihlorbenzina na odgovarajući supstituisani antracen (*ap*), ili benzina na odgovarajući supstituisani dihlorantracen (*sp*). Ovaj tip atropizomerije je poznat i za jednostavnija jedinjenja, kod 1,1,2,2-tetra-*terc*-butiletan, koja pokazuju dva različita skupa signala za *terc*-butil protone. U srodnom 1,2-di(1-adamantil)-1,2-di-*terc*-butil-etanu su izolovana dva atropizomera (Flamm-ter Meer i sar., 1986). Energetska barijera od 66,3 kcal/mol kod tetra-*terc*-butil jedinjenja je najveća poznata kod acikličnih ugljovodonika (Flamm-ter Merr i sar., 1986).

Veliki broj atropizomera je prisutan u prirodi. Iz australijskog plaštaša roda *Didemnum* sp. izolovan je lamelarin-S, koji predstavlja prvi primer atropizomerije.

2.6. „ZELENE“ SINTEZE

Usled zagađenja životne sredine, devedesetih godina prošlog veka javila se potreba za razvojem ekološki prihvatljivih industrijskih procesa, što je vodilo ka razvoju „zelene“ (*green*) ili „održive“ hemije. Zakon o sprečavanju zagađenja, donesen 1990. godine, podigao je svest naučnika o potrebi za razvojem na ovaj način inovativnih hemijskih tehnologija. *Paul Anastas* je uveo termin „zelena“ hemija i definisao oblast njene primene. Kasnije su pokrenuti različiti istraživački programi „zelene“ hemije, kao i njena promocija i dodela nagrada i stipendija koje su podstakle razvoj istraživanja za sprečavanje zagađenja u istraživačkim laboratorijama i u industriji.

Sa teorijskog aspekta koncepti kao što su „ekonomija atoma“ (koju je predložio *Trost*, 1991) i „E faktor“ (uveden od strane *Sheldon-a*), promenili su način sagledavanja kvantitativnih kriterijuma na osnovu kojih bi se odredilo da li i koliko je neki proizvod ili proces „zelen“ (*Sheldon*, 2007; *Constable i sar.*, 2002). U današnje vreme veliki broj najsavremenijih procesa je neefikasan, bez obzira na razvoj nauke i mogućnosti sinteza vrlo složenih molekula. Koncept „ekonomije atoma“ treba da naglasi važnost ove neefikasnosti, dok faktor E pokazuje koliko se proizvede kilograma hemijskog otpada za svaki kilogram čistih hemijskih ili farmaceutskih proizvoda. U savremenim organskim sintezama veliki izazov je postići dobru efikasnost i smanjiti zagađenje životne sredine hemijskim otpadom, kao i njegov uticaj na zdravlje ljudi.

Institut zelene hemije (*Green Chemistry Institute*), oformljen 1997. godine, imao je važnu ulogu u razvoju ove hemije, a njegova uloga se ogledala u saradnji sa industrijom i univerzitetima po pitanjima zaštite životne sredine, a svoju međunarodnu mrežu je proširio na 27 zemalja. *Anastas* je bio jedan od osnivača. Međutim, osnivanje časopisa *Green Chemistry*, od strane Kraljevskog hemijskog društva, podstaklo je dalji razvoj.

Anastas i *Warner* su 1998. godine napisali najprodavaniju i najcitiraniju knjigu iz oblasti zelene hemije: „Zelena hemija, teorija i praksa“ (*Green Chemistry: Theory and Practice*), gde su izveli 12 principa zelene hemije. Principi, koji su zamišljeni kao smernice za praktičnu hemiju, pružaju dovoljno informacija za hemičare, bilo sa univerziteta bilo iz industrije, kako da spreče zagađenje kroz ekološki savesni dizajn hemijskih proizvoda i procesa:

1. Bolje je sprečiti nastajanje otpada nego ga tretirati i uklanjati nakon njegovog formiranja.

2. Sintetičke metode treba da budu tako dizajnirane da se maksimalno ugrađuju svi materijali koji učestvuju u procesu u konačan proizvod.
3. Kada god je to izvodivo, sintetičke metodologije treba da budu dizajnirane tako da koriste i generišu supstance koje nisu uopšte toksične za ljude i loše za životnu sredinu.
4. Hemijski reagensi i proizvodi treba da budu tako dizajnirani da sačuvaju funkcionalnost, a da budu što je moguće manje toksični.
5. Upotreba pomoćnih supstanci, npr. rastvarača, agenasa za razdvajanje, opravdava se samo kada je to neophodno i ako su upotrebljene supstance bezopasne.
6. Potrošnja energije treba da sagledava i ekonomsku i ekološku stranu. „Najzelenije“ sintetičke metode se sprovode na sobnoj temperaturi i atmosferskom pritisku.
7. Sirovine koje se koriste treba da budu obnovljive, a ne iscrpive, kad god je to tehnički i ekonomski prihvatljivo.
8. Nepotrebne derivatizacije (blokiranje, uvođenje zaštite/uklanjanje zaštite, privremene modifikacije fizičkih/hemijskih procesa) treba izbegavati kad god je to moguće.
9. Katalitički reagensi (što je moguće selektivniji) imaju prednost nad stehiometrijskim.
10. Hemijski proizvodi treba da budu dizajnirani tako da kada se završi njihova funkcija ne ostaju u životnoj sredini, već se razlažu na neškodljive proizvode.
11. Potrebno je razviti analitičke metode za praćenje i kontrolu procesa pre nego što dođe do formiranja opasnih supstanci.
12. Supstance i oblici supstanci koji se koriste u hemijskim procesima treba da budu odabrani tako da se hemijske nesreće (ispuštanja supstanci u životnu okolinu, eksplozije i požari) svedu na minimum.

Ovih 12 smernica/principa mogu se svrstati u 4 grupe: efikasno korišćenje energije, smanjenje opasnosti, smanjenje otpada i upotreba obnovljivih izvora. Prilikom planiranja sinteze poželjno je da se primenjuje što veći broj principa. Primer jedne takve sinteze može da se opiše na sledeći način: proces uključuje reakciju dve polazne supstance (100% ekonomičnost atoma) koje su izvedene iz obnovljivih sirovina (pravilo broj 7), reakcija se odvija na savršen stereoselektivan način (pri čemu se količina otpada svodi na minimum) na sobnoj temperaturi (energetski efikasna) u vodi (zeleni rastvarač) u prisustvu male količine katalizatora koji se može reciklirati (pravilo broj 9). Zelena hemija nas uči da prinos reakcije nije dovoljno merilo efikasnosti neke sinteze. Ne uzima u obzir upotrebu reagenasa, rastvarača i katalizatora koji se ne mogu ponovo iskoristiti. Za

zelenu hemiju je vrlo bitna „ekonomiji atoma“, pri čemu se nastoji da se što veći broj atoma koji se unose u proces nađu u konačnom proizvodu.

2.6.1. E FAKTOR

E faktor uzima u obzir prinos reakcije, reagense, sirovine, gubitke rastvarača i sva pomoćna sredstva u nekom procesu; može se definisati kao odnos mase otpada prema masi željenog proizvoda. Međutim, E faktor ne uključuje vodu kao medijum. Na primer, kada se razmatra vodeni rastvor kao otpad, računaju se samo neorganske soli i organska jedinjenja sadržana u vodi. Uračunavanje vode u E faktor dovelo bi do visokih vrednosti E faktora koje nisu pogodne prilikom poređenja procesa (Lancaster, 2002). Velika vrednost ovog faktora znači da ima više otpada, odnosno veći je negativan uticaj na životnu sredinu. Njegova idealna vrednost je nula.

Glavni uzrok visokih vrednosti E faktora prilikom proizvodnje hemikalija i farmaceutskih proizvoda je upotreba klasičnih tehnologija uz korišćenje reagenasa u stehiometrijskim količinama bez upotrebe katalizatora. Tom prilikom nastaju velike količine otpada koji sadrži neorganske soli (npr. natrijum-hlorid, natrijum-sulfat i amonijum-sulfat); u sintezi hemikalija odnos broja kg otpada i broja kg proizvoda kreće se od 5 – 50, a kod farmaceutskih proizvoda taj odnos je 25 – 100 (Sheldon i sar., 2007). Primeri reakcija su redukcije metalima (Zn, Fe) i metalnim hidridima (NaBH_4 , LiAlH_4 i njihovi derivati) i stehiometrijska oksidacija permanganatom, dihromatom, perjodatom, itd. Slično tome, procesi koji uključuju mineralne, *Lewis*-ove kiseline ili neorganske baze, često predstavljaju glavne izvore neorganskog otpada koji se ne može lako reciklirati.

2.6.2. „EKONOMIJA ATOMA“

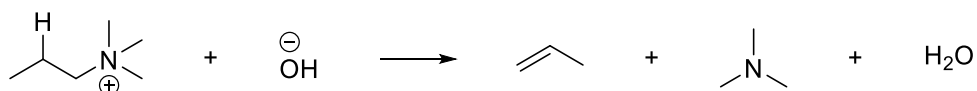
Prinos reakcije se odnosi samo na količinu željenog proizvoda koji je izolovan u odnosu na stehiometrijsku količinu proizvoda, međutim „ekonomija atoma“ uzima u obzir sve korišćene reagense i nastale neželjene, odnosno sporedne proizvode (šema 2.6.1). Na primer, reakcije supstitucije i eliminacije su neekonomične reakcije bez obzira na to da li su kvantitativne (šema 2.6.2), dok se na primer reakcije adicije, cikloadicije ili premeštanja vrše uz 100% ekonomiju atoma (Li i Trost, 2008).

$$\text{prinos reakcije} = \frac{\text{količina izolovanog proizvoda}}{\text{stehiometrijska količina proizvoda}} \times 100\%$$

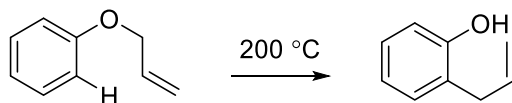
$$\text{ekonomija atoma} = \frac{Xi \text{ Mr (željeni proizvod)}}{\sum Xi \text{ Mr (svi proizvodi)}} \times 100\%$$

Xi – stehiometrijski koeficijent

Šema 2.6.1. Definisanje osnovnih razlika u načinu na koji se izračunavaju prinos reakcije i ekonomija atoma



$$\text{Ekonomija atoma} = (42,08/119,21) \times 100\% = 35,3\%$$



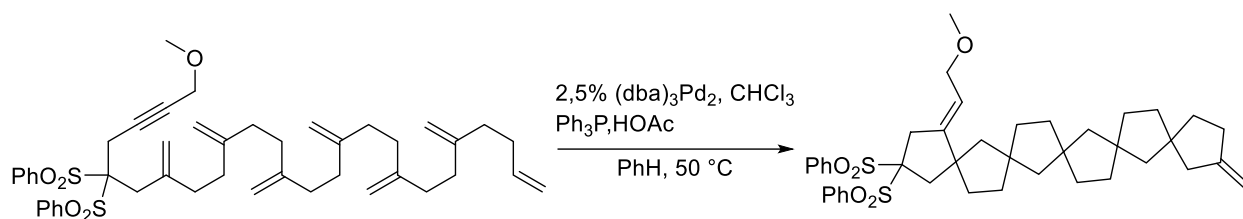
$$\text{Ekonomija atoma} = (134,18/134,18) \times 100\% = 100\%$$

Šema 2.6.2. Primeri neefikasne (35,3%) i efikasne reakcije (100%) u pogledu ekonomije atoma

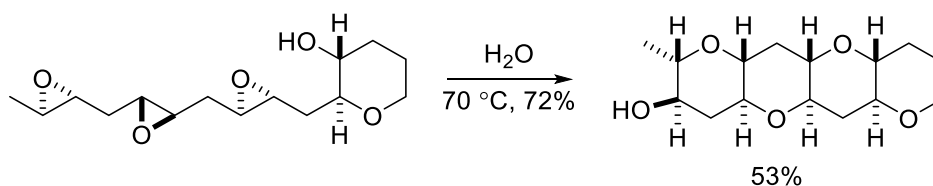
2.6.3. SINTEZE BEZ ZAŠTITNIH GRUPA

Često je priroda reagenasa koji se koriste u organskoj sintezi takva da je neophodna selektivna zaštita funkcionalnih grupa (i skidanje zaštite), što dodatno povećava broj sintetskih koraka. Danas postoji pravac u organskoj sintezi u kome se ne koriste zaštitne grupe: npr. *Baran* (2007) je objavio sintezu većeg broja prirodnih proizvoda bez korišćenja zaštitnih grupa.

Od velikog značaja za „zelenu“ sintezu je razvoj tandemskih i kaskadnih reakcionih procesa koji uključuju što je moguće više reakcija u jednoj laboratorijskoj operaciji da bi se dobio konačni proizvod. Na primer, tandemski reakcija katalizovana kompleksom paladijuma(0) (šema 2.6.3) vodi ka nastajanju nekoliko prstenova u jednom koraku (Trost i Shi, 1992). Još jedan primer je *Jamison*-ova sinteza dela jezgra molekula morskih prirodnih proizvoda putem biomimetičke kaskadne ciklizacije u vodi (šema 2.6.4; Vilotijevic i Jamison, 2007).



Šema 2.6.3. Tandemska reakcija katalizovana paladijumom.



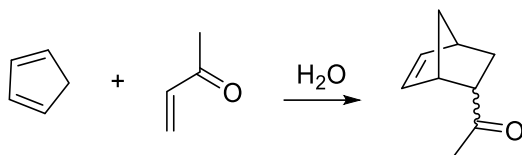
Šema 2.6.4. Jamison-ova sinteza dela jezgra prirodnih proizvoda izolovanih iz morskih organizama.

Organske sinteze se mogu pojednostaviti ukoliko se izvedu sekvencijalne reakcije u protočnim reaktorima. Ley i saradnici su 2006. objavili višekoračnu sintezu alkaloida ($\pm$)-oksomaritidina koja se može postići upotrebom mikrofluidnih sistema pumpi koji omogućava protok kroz različite kolone sa imobilisanim reagensima, katalizatorima, agensima za hvatanje i otpuštanje, kombinovanjem sedam različitih sintetskih koraka povezanih u jednu kontinualnu sekvenciju (Baxendale i sar., 2006).

Kroz milione godina evolucije, priroda je razvila efikasna i selektivna sredstva (enzimi) za postizanje željenih transformacija. U organskoj sintezi je upotreba enzima, celih ćelija ili katalitičkih antitela vrlo korisna jer biokatalizom je moguće postići veću brzinu reakcije i selektivnost (enantioselektivnost), koje se ne mogu postići hemijskim katalizatorima.

Rastvarači imaju važnu ulogu u hemijskoj sintezi. Međutim, velika količina nastalog otpada u toku reakcija potiče od njih. Razvojem hemije upotreba „egzotičnih“ organskih rastvarača ona je povećana, što je dovelo do većih ekoloških, odnosno zdravstvenih problema. Razvoj „zelene“ hemije ponovo definiše ulogu rastvarača: idealan rastvarač olakšava prenos mase, ali ne rastvara. Pored toga, zeleni rastvarač treba da bude prirodan, netoksičan, jeftin i lako dostupan, i da omogući lako izdvajanje i recikliranje katalizatora. Jedini prirodni, najjeftiniji i ekološki najprihvatljiviji rastvarač na Zemlji je voda. Nakon objavljivanja da se *Diels-Alder*-ova reakcija (šema 2.6.5) ubrzava ukoliko se izvodi u vodi kao rastvaraču, značajna pažnja je posvećena razvoju organskih

reakcija u ovom rastvaraču (Rideout i Breslow, 1980; Li, 2005; Li i Chan, 2007; Lindström, 2007), čak i onih reakcija koje su „osetljive“ na prisustvo vode (Wei i Li, 2002).



Šema 2.6.5. Zelena *Diels-Alder*-ova reakcija u vodi.

Zbog hidrofobnih efekata, upotrebom vode ne samo da se ubrzava reakcija, već se povećava njena selektivnost, čak i kada su reaktanti slabo rastvorni ili nerastvorni u tom medijumu. Upotreba vode eliminiše reakcije uvođenja i uklanjanja zaštite za određene funkcionalne grupe, što doprinosi ukupnoj efikasnosti sinteze. Katalizatori rastvorni u vodi mogu ponovo da se koriste nakon razdvajanja od proizvoda koji su nerastvorni u njoj. Razvoj novih tehnologija za prečišćavanje vode nakon upotrebe kao rastvarača u organskim sintezama, veliki je izazov, kao i izolovanje proizvoda iz vode. Takođe, mnoga jedinjenja se ne rastvaraju u vodi, a pristup izvođenja reakcije „u vodi“ je pružio odlične rezultate, međutim, u nekim situacijama, poželjno je potpuno rastvaranje supstance.

Iako se hemijski procesi mogu modifikovati da se voda koristi kao rastvarač, nekad je potrebno da zeleni rastvarač ima drugačija svojstva od vode. Jedan takav rastvarač je tečni i superkritični CO₂, koji je takođe prisutan u prirodi, obnovljiv, nezapaljiv i lako isparava, ali se za njegovu upotrebu troši određena energija (rad pod pritiskom). Ima bolju sposobnost rastvaranja organskih jedinjenja i bolji protok zbog niske viskoznosti u poređenju sa drugim rastvaračima, uključujući i vodu. Dobra mešljivost sa gasovima i njegovo brzo odvajanje od katalizatora čine ga dobrim rastvaračem za organske sinteze (Leitner, 2002; Beckman, 2003).

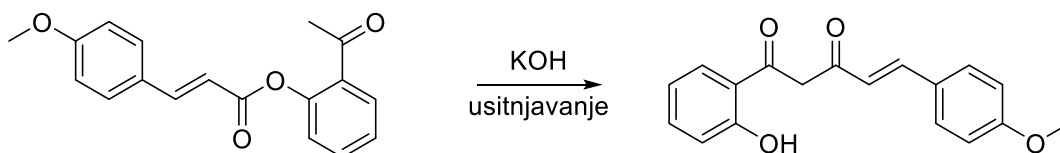
Pored pomenuta dva „prirodna“ zelena rastvarača, proučavanje su i zelene alternative kao što su jonske tečnosti (Wasserscheid i Welton, 2002). Njihova najveća prednost su niski napon para, pa se na taj način smanjuje emisija količine isparljivih organskih materija u vazduh.

2.6.4. REAKCIJE BEZ RASTVARAČA

Jedna od sugestija koja je u prošlosti navela hemičare da veruju da hemijske reakcije ne mogu da se odigraju u odsustvu rastvarača ili u čvrstom stanju je Aristotelova „*corpora non agunt nisi fluida*

seu soluta”⁵. Sinteza bez rastvarača je jedna od najboljih tehnika u „zelenoj“ hemiji pomoću koje se mogu sintetisati mnoga važna jedinjenja na efikasan i ekološki prihvatljiv način. Ovakve sinteze imaju nekoliko prednosti u odnosu na klasične metode sinteze: smanjenje otpada/nusproizvoda, maksimalna ugradnja reaktanata u konačni proizvod, minimalna energija je potrebna za odvijanje reakcije, visoka selektivnost, jednostavan proces ekstrakcije, itd. Postoji nekoliko tehnika kojima se vrše reakcije bez rastvarača: u mehaničkim kugličnim mlinovima, mikrotalasne reakcije, rastopi, u avanu sa tučkom.

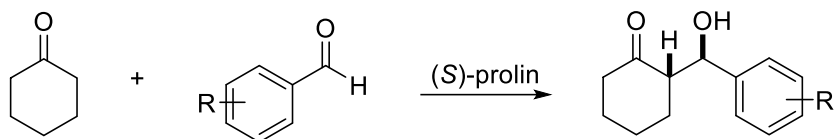
Reakcije oksidacije, redukcije i kondenzacije proučavane su u uslovima bez rastvarača upotrebom avana sa tučkom (Dunn i sar., 2010). Mnoge od ovih reakcija se vrše bolje u uslovima bez rastvarača, nego u rastvoru. Ova metoda je jedna od najekonomičnijih, bez obzira na ograničenja koja mogu da se jave usled neujednačenih uslova reakcije zbog ručnog mešanja reakcione smeše. Reakcije u mehaničkim mlinovima su dosta proučavane, posebno u karbonilnoj hemiji. *Wittig*-ova reakcija se može ostvariti u visokom prinosu upotrebom vibracionog mlina (Challenger i sar., 2008). Takođe, proizvod *Horner–Wadsworth–Emmons*-ove reakcije nastaje u visokom prinosu pri uslovima „*solvent free*“ sinteze (Andrews i sar., 2010a; 2010b). *Sharma* je pokazao da do *Baker–Venkataraman*-ovog premeštanja može doći pri uslovima bez rastvarača (*solvent free*) (šema 2.6.6, Sharma i sar., 2009)



Šema 2.6.6. *Baker–Venkataraman*-ovo premeštanje upotrebom avana sa tučkom.

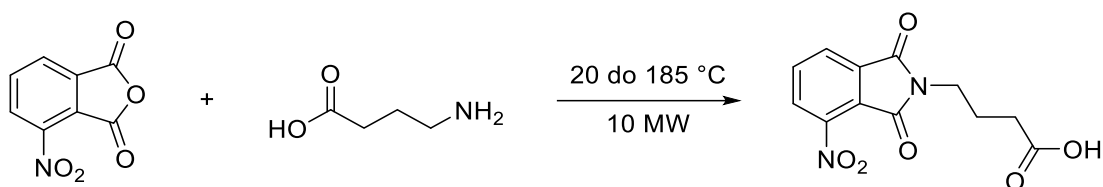
Aldolna kondenzacija je takođe uspešna ukoliko se odigrava u mehaničkom mlinu (Hernandez, i Juaristi, 2011; Guillena, 2007; Bruckmann, 2009). Na primer, *Rodriguez* je izvršio stereoselektivnu aldolnu kondenzaciju bez rastvarača reakcijom cikloheksanona sa derivatima benzaldehida, u prisustvu 10 mol% (*S*)-prolina. Pod ovim uslovima izolovan je proizvod u prinosu od 99%, a sa >99% enantioselektivnosti (Rodriguez i sar., 2007).

⁵ „Tela koja nisu tečna ili u rastvoru, ne reaguju“ (Eng. „*Compounds that are not fluid or dissolved, do not react*“)



Šema 2.6.7. Enantioselektivna „*solvent free*“ aldolna kondenzacija u mehaničkom mlinu

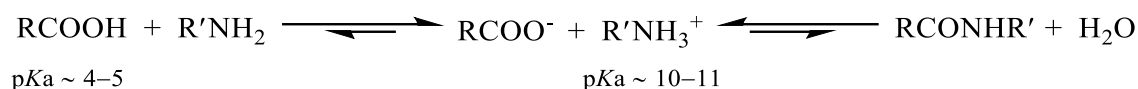
Takođe i reakcije formiranja C-C veza koje su katalizovane metalima mogu da se izvode uspešno na ovaj način: *Suzuki*-jeva (Torborg i Beller, 2009), *Heck*-ova (Alonso i sar., 2005) i *Sonogashira*-ina (Viciu i Nolan, 2009; Doucet i Hierso, 2007) reakcija. Brze i efikasne sinteze uz pomoć mikrotalasa su sve popularnije (npr. šema 2.6.8) (Dallinger i Kappe, 2007; Lew i sar., 2002). Osnovni mehanizam kojim mikrotalasi uspešno povećavaju brzinu, selektivnost i prinose reakcija još uvek nisu potpuno razjašnjeni, ali se zna da ne postoje netermalni mikrotalasni efekti (Herrero i sar., 2008; Razzaq i sar., 2008).



Šema 2.6.8. Konverzija derivata ftalne kiseline u ftalimidnu grupu

2.7. SINTEZA AMIDA

Reakcije koje uključuju formiranje amidne veze su među najvažnijim u organskoj hemiji i biohemiji zbog široke rasprostranjenosti amida u farmaceutskim proizvodima, prirodnim proizvodima (primarnim i sekundarnim metabolitima) i biološki aktivnim jedinjenjima (proteini imaju ključnu ulogu u biološkom procesima kao enzimi, transportni molekuli, molekuli uključeni u imuni odgovor, mehanička podrška organizmu–kolagen). Amidnu grupu sadrži 25% poznatih lekova (Ghose i sar., 1999), a ovu grupu sadrži i veliki broj industrijskih materijala (npr. polimeri). Reakcija karboksilne kiseline i amina vodi ka formiranju stabilnih soli, dok je kondenzacija termodinamički nepovoljna (šema 2.7.1).



Šema 2.7.1. Reakcije između karboksilne kiseline i amina

Ukoliko je amonijum-so nastala od primarnih ili sekundarnih amina, pirolizom mogu nastati amidi, međutim ova metoda nema preparativni značaj. Prilikom pirolize često dolazi do sporednih reakcija ili razgradnje celog molekula, pa je neophodna aktivacija kiseline. Karboksilne kiseline se mogu aktivirati (prevesti u elektrofilnije derivate) kao acil-halogenidi, acil-azidi, acil-imidazoli, anhidridi, estri itd.

Postoji nekoliko načina koji se koriste za aktiviranje kiseline, a zatim i sintezu amida:

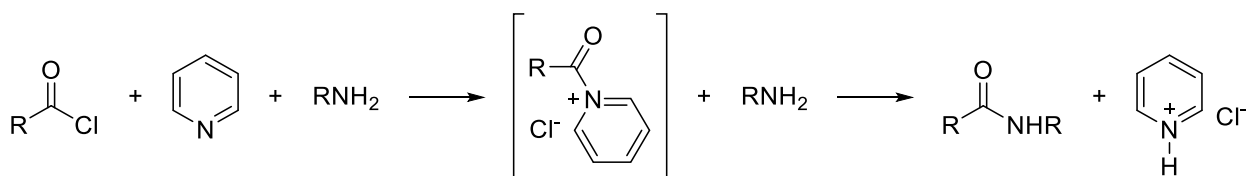
- agens kojim se vrši acilovanje se najpre sintetiše, izoluje, a zatim podvrgava reakciji sa aminom;
- reaktivni agens za acilovanje se sintetiše iz kiselina u odvojenom koraku, bez izolovanja, a zatim se odmah tretira aminom;
- agens za acilovanje se generiše *in situ* iz kiseline u prisustvu amina, dodatkom reagensa za aktiviranje ili kuplovanje.

Prilikom sinteze amida mogući su sledeći problemi: mali prinos, racemizacija/epimerizacija prisutnih hiralnih centara, degradacija, komplikovano prečišćavanje itd. Da bi ovi problemi bili rešeni, razvijeni su brojni regensi i metode koji omogućavaju dobijanje proizvoda u visokom prinosu i potencijalno pomažu u sprečavanju racemizacije α -hiralnih centara.

2.7.1. REAKCIJE AMINOLIZE

2.7.1.1. REAKCIJE AMINA SA ACIL-HALOGENIDIMA

Ova reakcija je jedna od najjednostavnijih metoda za sintezu amida, pri čemu se najpre vrši aktiviranje karboksilne kiseline, odnosno njena konverzija npr. u acil-hlorid, koji zatim reaguje sa odgovarajućim aminom. Veliki broj acil-hlorida je komercijalno dostupan što olakšava sintezu. Neophodno je prisustvo baze da bi ona neutralisala nastalu hlorovodoničnu kiselinu, i da se na taj način izbegne konverzija amina u njegovu nereaktivnu so. Reakcije se obično izvode u inertnim suvim rastvaračima, u prisustvu nenukleofilnog tercijarnog amina (NEt_3 , $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ Hünig-ova baza) ili N -metilmorfolin) (Sánchez-Sancho i sar., 2000). Reakcija se odvija ili preko tetraedarskog intermedijera ili preko ketena. Ove reakcije se mogu ubrzati katalitičkom količinom piridina (šema 2.7.2) ili 4-(N,N -dimetilamino)piridina (DMAP) pri čemu se formira N -acilpiridinium so (Ragnarsson i Grehn, 1998). U nekim slučajevima piridin se koristi i kao rastvarač. Upotreba metalnog cinka takođe može ubrzati reakciju na sobnoj temperaturi uz visoke prinose (Meshram i sar., 1998).

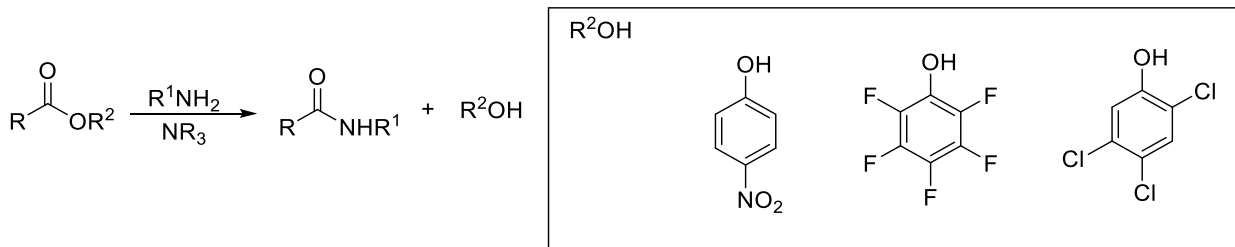


Šema 2.7.2. Sinteza amida iz acil-hlorida i primarnog amina u prisustvu piridina kao katalizatora

Racemizacija i sporedne reakcije se ponekad mogu izbeći upotrebom acil-fluorida kao aktiviranih intermedijera, koji su manje osetljivi na vlagu od hlorida (Carpino i sar., 1996). Acil-bromidi se retko koriste za sintezu amida. Pripremaju se *in situ*, a najčešće se koristi α -bromacetil-bromid (Froeyen, 1995; Pryor i sar., 1998).

2.7.1.2. REAKCIJE AMINA SA ESTRIMA

Konverzija estara u amide je značajna reakcija: nesupstituisani, N -supstituisani i N,N -disupstituisani amidi mogu biti sintetisani na ovaj način iz odgovarajućih amina (Montalbetti i Falque, 2005). Reakciji podležu estri alkohola ili fenola, pri čemu je naročito dobra odlazeća grupa p -nitrofenil. Mnogi jednostavni estri (npr. $\text{R}^2 = \text{Me}$, Et , na šemi 2.7.3) nisu dovoljno



Šema 2.7.3. Aminoliza estara

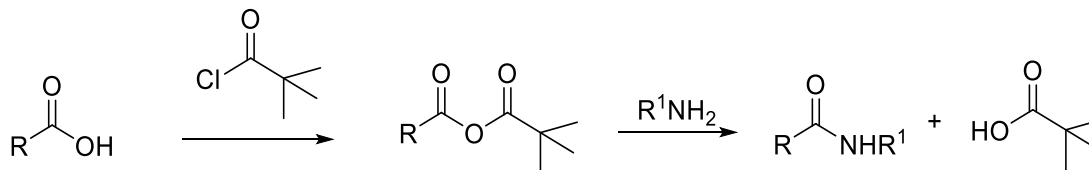
reaktivni, pa je u ovim slučajevima neophodno prisustvo baznih katalizatora (Matsumoto, 1989).

2.7.1.3. REAKCIJE AMINA SA ANHIDRIDIMA

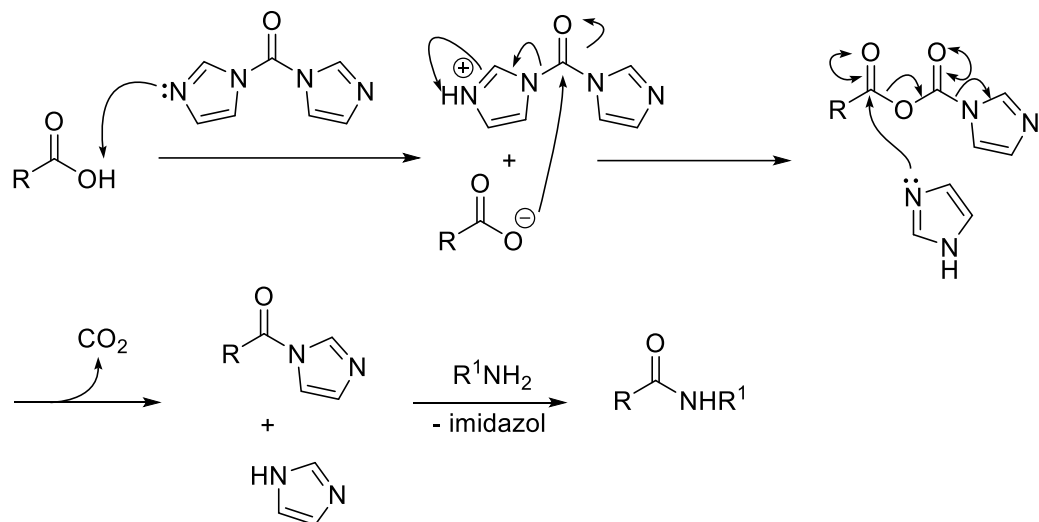
Anhidridi su vrlo korisni reagensi jer lako reaguju sa nukleofilima kao što su alkoholi, tioli i amini; koriste se i jednostavni simetrični anhidridi i mešoviti. Međutim, broj komercijalno dostupnih anhidrida je ograničen i često je potrebno prethodno pripremiti željeni anhidrid. Anhidridi se dobijaju dehidratacijom odgovarajućih karboksilnih kiselina ili pod blagim uslovima, reakcijom dva molekula kiseline u prisustvu jednog ekvivalenta *N,N*-dicikloheksilkarbodiimida (Mikolajczyk i Kielbasinski, 1981). Anhidrid reaguje sa aminom, pri čemu kod mešovitih anhidrida postoji mogući problem regioselektivnosti. Kod mešovitih anhidrida pivalinske kiseline selektivnost je određena sternom smetnjom *terc*-butil grupe (šema 2.7.4).

2.7.1.4. REAKCIJA AMINA SA KARBONILDIIMIDAZOLOM

Karbonildiimidazol (1,1'-karbonildiimidazol, CDI) je vrlo koristan reagens za kuplovanje koji omogućava *one-pot* (u jednom sudu) sintezu amida (šema 2.7.5). Ova reakcija, tokom koje se generiše imidazol, ne zahteva prisustvo dodatne baze (Staab, 1957; Staab i sar, 1962).



Šema 2.7.4. Sinteza amida korišćenjem mešovitog anhidrida sa pivalinskom kiselinom



Šema 2.7.5. *One-pot* sinteza amida upotrebom CDI

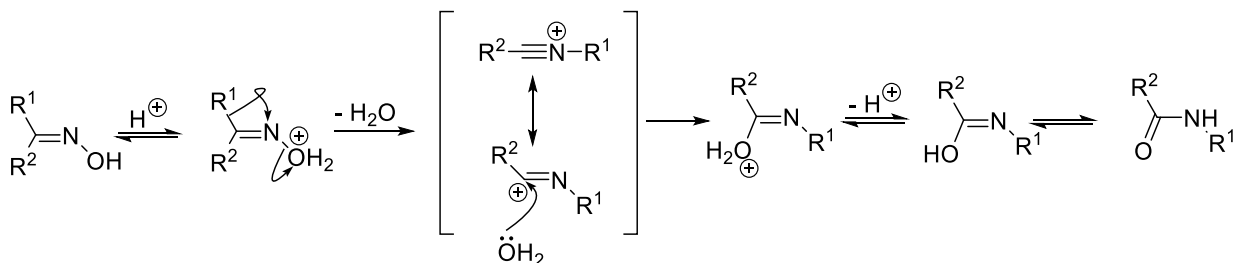
2.7.2. DRUGI PRISTUPI SINTEZI AMIDA

2.7.2.1. *BECKMANN*-OVO PREMEŠTANJE

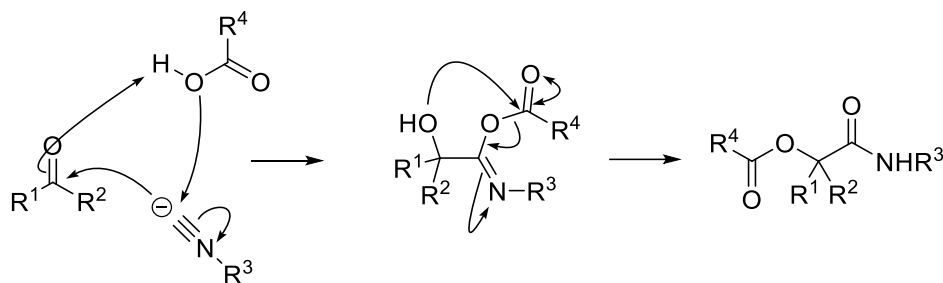
Kada se oksimi podvrgnu dejstvu PCl_5 ili nekog srodnog reagensa, oni se premeštaju u supstituisane amide u reakciji koja se naziva *Beckmann*-ovo premeštanje (šema 2.7.6; Gawley, 1988). Reagensi mogu biti: koncentrovana sumporna kiselina, mravlja kiselina, silika-gel (Costa i sar., 1982), $RuCl_3$ (De, 2004), I_2 (Ganguly i Mondal, 2010b), $HgCl_2$ (Ramalingan i Park, 2007), bromdimetilsulfonijum-bromid- $ZnCl_2$ (Yadav i sar., 2010), polifosforna kiselina (Beckwith, 1970), itd.

2.7.2.2. *PASSERINI*-JEVA I *UGI*-JEVA REAKCIJA

Reakcija izocijanida sa karboksilnom kiselinom i aldehidom ili ketonom pri čemu nastaje α -(aciloksi)amid naziva se *Passerini*-jeva reakcija (šema 2.7.7). Ona može biti *solvent-free*, a



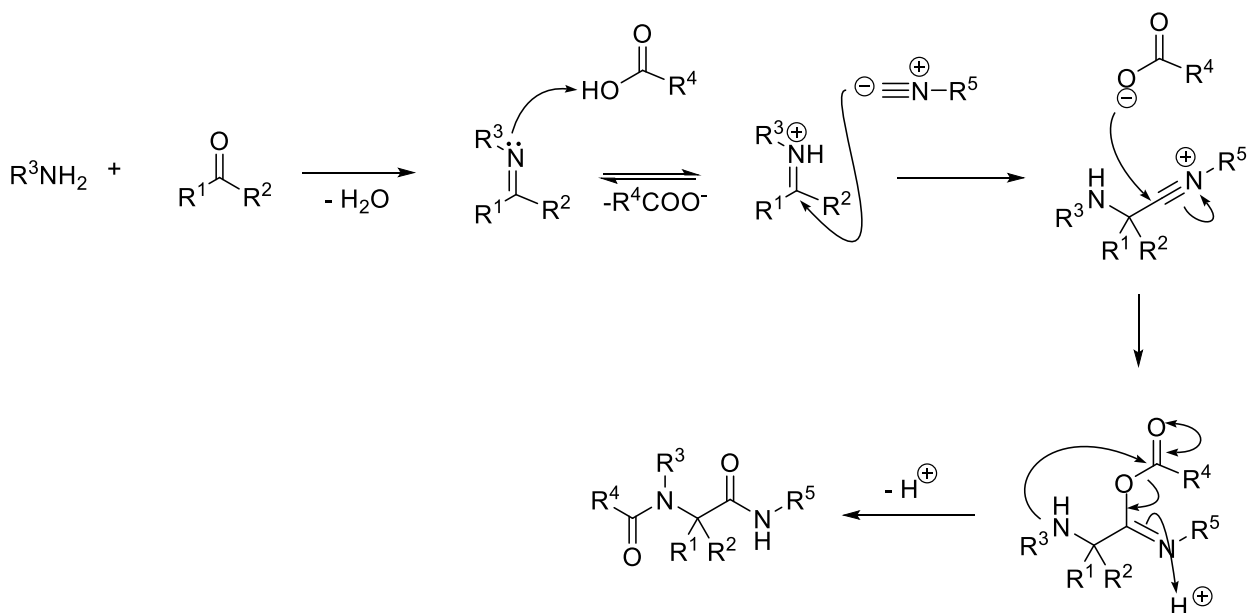
Šema 2.7.6. Mehanizam *Beckmann*-ovog premeštanja



Šema 2.7.7. Mehanizam *Passerini*-jeve reakcije

može da se vrši i u jonskim tečnostima (Koszelewski i sar., 2008; Fan i sar., 2006). Reakcija pokazuje dobru enantioselektivnost ukoliko se koristi SiCl_4 u prisustvu hiralnog bis(fosforamida) (Denmark i Fan, 2005).

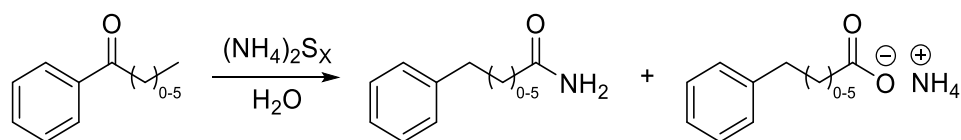
Ukoliko se amonijak ili neki amin doda u smešu izocijanida, aldehida ili ketona i kiseline nastaje odgovarajući bis-amid, tj. proizvod *Ugi*-jeve reakcije (Constabel i Ugi, 2001). Reakcija se odvija adicijom izocijanida na imin aldehida ili ketona i amonijaka ili primarnog amina, pa zatim adicijom karboksilne kiseline na dobijeni *N*-alkilnitril (šema 2.7.8). Nakon toga se nastali proizvod izomerizuje u krajnji bis-amid. U ovoj reakciji izocijanid može da se generiše *in situ* ukoliko se koriste alkil-halogenidi i srebro-cijanid/ KCN (El Kaïm i sar., 2009).



Šema 2.7.8. Mehanizam *Ugi*-jeve reakcije

2.7.2.3. WILLGERODT-OVA REAKCIJA

U *Willgerodt*-ovoj reakciji (šema 2.7.9) vrši se konverzija alkil-aril-ketona u amide i/ili amonijum-soli kiselina zagrevanjem sa amonijum-polisulfidom (Oae i sar., 1963). U reakciji karbonilna grupa migrira na kraj niza. Međutim, prinosi naglo opadaju sa povećanjem dužine niza. Reakcioni prinosi su niski u slučaju alifatičnih i nezasićenih aromatičnih ketona.



Šema 2.7.9. Primer *Willgerodt*-ove reakcije

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. HEMIHALIJE I RASTVARAČI

Komercijalno dostupne hemikalije (*p.a.* čistoće), koje su korišćene u radu, nabavljene su od sledećih kompanija: *Acros Organics* (Moris Plejns, Nju Džersi, SAD), *Sigma Aldrich* (Sent Luis, Mizuri, SAD), *Alfa Aesar* (Vord Hil, Masačusec, SAD), *Merck* (Darmštat, Germany), *Fluka* (Noj-Ulm, Nemačka), *Carl Roth* (Karlsruhe, Nemačka), *Tokyo Chemical Industry Co.* (Tokio, Japan), Zdravlje (Leskovac, Srbija), Centrohem (Stara Pazova, Srbija) i Zorka (Šabac, Srbija). Rastvarači su neposredno pre upotrebe prečišćeni destilacijom.

3.2. METODE ANALIZE I RAZDVAJANJA

3.2.1. NUKLEARNO-MAGNETNA REZONANTNA (NMR) SPEKTROSKOPIJA

Jednodimenzionalni (^1H i ^{13}C) i dvodimenzionalni (grHSQC, grHMBC, gr ^1H - ^1H COSY, ROESY i NOESY) NMR spektri su snimljeni na Bruker Avance III spektrometru (Bruker, Felanden, Švajcarska). Spektri su snimljeni na 25 °C u deuterisanom hloroformu (CDCl_3), deuterisanom benzenu (C_6D_6) ili deuterisanom dimetil-sulfoksidu ($\text{DMSO}-d_6$). Vrednosti hemijskih pomeranja su date u δ (ppm) jedinicama u odnosu na tetrametilsilan (Me_4Si , TMS) koji je korišćen kao unutrašnji standard. Skalarna sprežanja data su u Hz. 2D NMR spektri kao i višepulsni eksperimenti (DEPT90 i DEPT135) i eksperimenti selektivnog ^1H homonuklearnog dekuplovanja su snimani uz primenu uobičajnih pulsnih sekvenci koje su bile dostupne iz Brukerovih biblioteka pulsnih sekvenci. Snimljeni spektri su obrađivani softverom *MestreNova* (11.0.3-18688, *Mestrelab Research*, A Korunja, Španija).

3.2.2. KVANTITATIVNI NMR (QNMR)

Kvantitativni NMR eksperimenti su izvedeni po proceduri iz rada Radulović i sar. (2014). U odmerenu količinu aristola, koji je rastvoren u deuterisanom hloroformu, kao interni standard dodata je poznata količina 1,4-dioksana. Nisu primećene nikakve promene u izgledu spektra nakon dodatka standarda. Snimljeni su ^1H NMR spektri sa ^{13}C dekuplovanjem i velikom digitalnom rezolucijom (10 tačaka po hercu). U svim spektrima dobijen je odnos signal-šum 1000:1 ili veći. Parametri su bili sledeći: broj tačaka u vremenskom domenu = 32000, spektralna širina=10 ppm, $\text{O1}=6$ ppm, $\text{p1}=45^\circ$ ^1H pulsa, vreme snimanja=5 s i broj skenova=1024. Nakon korekcije faze i osnovne linije signali su integraljeni (za 1,4-dioksan korišćen je signal na 3,71 ppm; za jedinjenja **1-1-1-9** korišćeni su signali u oblasti vodonika sa aromatičnog jezgra). Količine jedinjenja u

aristolu izračunate su iz odnosa integrala signala aristola sa signalima standarda. Rezultati su izraženi kao maseni procenti.

3.2.3. ULTRALJUBIČASTA (UV) SPEKTROSKOPIJA

Ultraljubičasti spektri su snimani na spektrofotometru UV-1800 *Shimadzu* (Tokio, Japan), koristeći acetonitril kao rastvarač.

3.2.4. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (IR)

Infracrveni spektri FT-ATR-IR (FT = *Fourier*-ova transformacija, ATR = oslabljena totalna refleksija (*attenuated total reflectance*) čistih sintetisanih supstanci snimani su na FT-IR instrumentu *Thermo Nicolet*, model 6700 (Votam, SAD).

3.2.5. ELEMENTNA MIKROANALIZA

Elementna mikroanaliza ugljenika, vodonika i azota čistih jedinjenja je izvršena na Carlo Erba 1106 mikroanalizatoru i dobiveni rezultati su se dobro slagali sa predviđenim vrednostima.

3.2.6. ODREĐIVANJE TAČKE TOPLJENJA

Tačka topljenja čvrstih sintetisanih supstanci je određena na aparatu za merenje tačke topljenja MPM-HV2 (*Paul Marienfeld GmbH & Co. KG*, Lauda-Kenigshofen, Nemačka). Vrednosti nisu korigovane.

3.2.7. MASENA SPEKTROMETRIJA VISOKOG RAZLAGANJA (HRMS)

Masena spektrometrija visokog razlaganja sintetisanih jedinjenja je izvršena na JEOL *MStation* JMS-700 masenom spektrometru (JEOL Ltd., Tokio, Japan) pri energiji jonizacije od 70 eV, jonskoj zamci od 300 μ A i temperaturi jonskog izvora od 230 °C. Greška dobijenog elementarnog sastava izračunata je *MStation* softverom i data je u amu jedinicama.

3.2.8. GASNA HROMATOGRAFIJA (GC) I GASNA HROMATOGRAFIJA SA MASENOM SPEKTROMETRIJOM (GC–MS)

Za praćenje toka reakcija i analizu sastava reakcionih smeša korišćena je metoda GC–MS. Ova analiza (3 injektovanja), izvedena je korišćenjem Hewlett-Packard 6890N gasnog hromatografa, koji je opremljen kapilarnom kolonom DB-5 (5% fenilmetilsiloksana, 30 m x 0,25 mm, debljina filma 0,25 μ m, Agilent Technologies, SAD), i direktno kuplovan sa 5975B masenim detektorom

iste kompanije. Jonizacija je vršena elektronima energije 70 eV. Pun sken masenog detektora beležen je u intervalu m/z 35–600 (brzina skeniranja 5 skenova u sekundi), a vreme skeniranja je bilo 0,32 s. Temperaturni režim rada bio je: temperature injektora i detektora su održavane na 250 i 320 °C; temperatura peći je programirana linearno od 70 do 315 °C brzinom od 5 °C/min, nakon toga je temperatura održavana 10 do 30 min na 315 °C; kao noseći gas korišćen je helijum, čiji je konstantni protok održavan na 1,0 ml/min tokom analize, sem što je pulsno injektirana zapremina od 1 µl rastvora ispitivane supstance/reakcione smeše kada je protok bio 1,5 ml/min. Identifikacija je ostvarena na osnovu bilo analize fragmentacije ili poređenja masenih skenova, nakon dekonvolucije programom AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System*, Ver. 2,1; DTRA/NIST, 2002), sa masenim spektrom standarda i/ili masenim spektrima iz Wiley 7, NIST14, *MassFinder* 2.03 biblioteke i iz MS biblioteke laboratorije OSA napravljene na osnovu čistih supstanci. Kada je god to bilo moguće, identifikacija je potvrđivana koinjektiranjem sa standardom. GC (FID) analiza je rađena pod istim eksperimentalnim uslovima koristeći kolonu iste polarnosti koja je opisana za GC–MS. Procentualni sastav je dobijen integraljenjem hromatograma bez korišćenja korekcionih faktora.

3.2.9. TANKOSLOJNA HROMATOGRAFIJA (TLC)

TLC (eng. *Thin-Layer Chromatography*) je vršena na aluminijumskim pločama sa prethodno nanesenim slojem silika-gela 60 (*Merck*, Darmštat, Nemačka). Mrlje na TLC-u su vizualizovane pomoću UV lampe (254 i 365 nm) i izazivane 50% rastvorom H₂SO₄, (v/v) nakon čega su ploče zagrevane 2 minuta na 110 °C.

3.2.10. DRY-FLASH HROMATOGRAFIJA

Za preparativno razdvajanje pomoću *dry-flash* hromatografije korišćena je jednostavna aparatura koja se sastojala od kolone silika gela 60 (>230 *mesh*-a, proizvođač *Merck*, Darmštat, Nemačka), napakovane u sinterovanom staklenom levku srednje poroznosti i veličine, i standardne vakuum boce.

3.2.11. HROMATOGRAFIJA NA KOLONI

Za preparativno razdvajanje pomoću gravitacione kolonske hromatografije korišćene su kolone (od 20 do 70 cm, prečnika od 1–3 cm), napakovane silika-gelom (>230 *mesh*-a, proizvođač *Merck*, Darmštat, Nemačka), i smeše odgovarajućih rastvarača.

3.2.12. GEL HROMATOGRAFIJA

Preparativno razdvajanje je vršeno i na koloni sefadeksa LH-20 dužine 50 cm (prečnika 1,5 cm) smešom hloroforma i metanola u odnosu 1:1 (v/v) kao eluentom.

3.3. SINTEZA I IZOLOVANJE JEDINJENJA

3.3.1. SINTEZA, RAZDVAJANJE, DERIVATIZACIJA I SPEKTRALNI PODACI SASTOJAKA ARISTOLA

U 100 cm³ vodenog rastvora natrijum-hidroksida (3,2 g, 80 mmol) rastvoreno je 3 g (20 mmol) timola, a zatim je uz mešanje, na sobnoj temperaturi, dodat u kapima vodeni rastvor smeše joda i kalijum-jodida (koji se dobija rastvaranjem 14 g (55 mmol) joda i 10 g (60 mmol) kalijum-jodida u 50 ml vode). Nakon završetka reakcije (tamna braon boja se gubi), reakciona smeša je proceđena kroz *Büchner*-ov levak, a talog je ispran nekoliko puta vodom, i osušen na vazduhu na tamnom mestu. Dobijeno je 5,6 g aristola, što je u skladu sa originalnim propisom (Woollett, 1921).

Osušeni aristol je najpre frakcionisan gradijentnom *dry-flash* hromatografijom (smešom *n*-heksana i dietil-etera) na silika-gelu. Frakcije su spojene na osnovu tankoslojne hromatografije (2:1 (v/v), *n*-heksan i dietil-etar) i GC–MS analize, pri čemu je dobijeno šest frakcija (I–VI). Frakcije IV i V su bila čista jedinjenja (**1-1** i **1-2**). Frakcija I (1,05 g) je podvrgnuta još jednoj gradijentnoj *dry-flash* hromatografiji pri čemu je dobijeno 19 frakcija. Kao eluent za prvih sedam potfrakcija upotrebljen je *n*-heksan (350 ml), zatim 2% (v/v) dietil-etar u *n*-heksanu (300 ml, potfrakcije od 8–14), 4% (v/v) dietil-etar u *n*-heksanu (100 ml, potfrakcije 15 i 16), 10% (v/v) dietil-etar u *n*-heksanu (100 ml, potfrakcije 17 i 18) i na kraju čisti dietil-etar (100 ml, potfrakcija 19). Rastvarač je uklonjen pomoću rotacionog vakuum uparivača, a frakcije su analizirane pomoću GC–MS-a. Na osnovu dobijenih rezultata, potfrakcije 1–4 su spojene i predstavljale su čisto jedinjenje **1-3**, dok su potfrakcije 5, 7, 12, 13, 15–16 i 17–18, predstavljale čiste uzorke jedinjenja **1-4**, **1-5**, **1-6**, **1-7**, **1-8** i **1-9**.

3.3.1.1. SPEKTRALNI PODACI SASTOJAKA ARISTOLA

Hemijska pomeranja protona ¹H i ugljenika ¹³C prikazana su u poglavlju Rezultati i diskusija (tabele 4.1.1 i 4.1.2).

2-Izopropil-5-metilfenol (timol, 1-8).

Bela kristalna supstanca, relativni sadržaj u aristolu 1,2% (w/w); tačka topljenja 50,2 °C (literaturna vrednost 48-51 °C, Mishra i Singh, 2005)

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 275,5 (3,60), 217 (4,11), 198 (4,92)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3167, 2957, 2926, 2867, 1621, 1585, 1516, 1241, 943, 855, 804, 738

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 150 (M⁺, 29,0%), 135 (100), 136 (9,7), 117 (7,5), 115 (14,2), 107 (6,7), 105 (4,5), 91 (16,1), 79 (3,9), 77 (6,4)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1291

6-Izopropil-2-jod-3-metilfenol (o-jodtimol, 1-4)

Bezbojna amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 0,1% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za C₁₀H₁₃IO: C, 43,50; H, 4,75; O, 5,79; I, 45,96. Nađeno: C, 43,34; H, 4,59%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 284 (3,21), 232 (3,92), 205 (4,47)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3372, 2967, 2869, 1555, 1472, 1381, 1370, 1287, 1232, 1151, 880, 874, 714, 568

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 276 (M⁺, 38,4%), 262 (10,1), 261 (100), 134 (26,6), 133 (4,5), 116 (4,1), 115 (8,3), 105 (5,1), 91 (8,6), 77 (8,3)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1529

2-Izopropil-4-jod-5-metilfenol (p-jodtimol, 1-9)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 21% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za C₁₀H₁₃IO: C, 43,50; H, 4,75; O, 5,79; I, 45,96. Nađeno: C, 43,29; H, 4,70%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ): 283 (3,23), 233 (3,93), 205,5 (4,46)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3382, 2962, 2874, 1543, 1463, 1386, 1377, 1295, 1228, 1157, 886, 880, 707, 570

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 276 (M⁺, 79,8%), 262 (9,9), 261 (100), 134 (39,6), 133 (6,1), 116 (7,0), 115 (11,8), 91 (9,1), 77 (8,6)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1692

6-Izopropil-2,4-dijod-3-metilfenol (1-3)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 12,8% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za $C_{10}H_{12}I_2O$: C, 29,88; H, 3,01; O, 3,98; I, 63,13. Nađeno: C, 29,69; H, 2,82%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ): 285 (3,45), 214,5 (4,66)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3462, 2959, 2866, 1633, 1581, 1442, 1470, 1386, 1203, 1165, 882, 631, 590

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 402 (M^+ , 91,2%), 388 (9,8), 387 (100), 260 (27,8), 133 (9,5), 115 (7,9), 105 (9,7), 103 (6,3), 77 (9,8)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1933

5,5'-Diizopropil-3,3'-dijod-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-4,4'-diol (1-6)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 1,5% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za $C_{20}H_{24}I_2O_2$: C, 43,66; H, 4,40; O, 5,82; I, 46,12. Nađeno: C, 43,82; H, 4,29%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ): 282,5 (3,73), 208 (4,81)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3473, 2959, 2866, 1728, 1662, 1596, 1458, 1391, 1162, 1117, 1020, 884, 800, 609, 570

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 550 (M^+ , 100%), 536 (15,4), 535 (75,7), 393 (5,6), 380 (7,6), 365 (7,3), 260 (29,2), 196 (6,7), 165 (7,1)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2892

3,3'-Diizopropil-5,5'-dijod-6,6'-dimetil-[1,1'-bifenil]-2,2'-diol (1-7)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 1,0% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za $C_{20}H_{24}I_2O_2$: C, 43,66; H, 4,40; O, 5,82; I, 46,12. Nađeno: C, 43,43; H, 4,61%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ): 282,5 (3,69), 208 (4,78)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3480, 2952, 2875, 1738, 1657, 1590, 1464, 1168, 880, 806, 601, 574

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 550 (M^+ , 100%), 536 (9,8), 535 (52,0), 493 (9,1), 393 (8,1), 366 (9,7), 267 (9,8), 260 (24,4), 165 (7,7)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2863

6-Izopropil-4-(2-izopropil-4-jod-5-metilfenoksi)-2-jod-3-metilfenol (1-5)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 29,3% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za $C_{20}H_{24}I_2O_2$: C, 43,66; H, 4,40; O, 5,82; I, 46,12. Nađeno: C, 43,81; H, 4,26%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ): 283,5 (3,61), 206 (4,72)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3479, 2959, 2921, 2866, 1548, 1465, 1402, 1336, 1237, 1163, 883, 853, 630

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 550 (M^+ , 100%), 535 (10,0), 393 (22,1), 351 (19,1), 275 (13,5), 274 (18,5), 260 (11,7), 115 (13,3), 91 (10,5)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2863

4-(5-Hidroksi-4-izopropil-2-jodbenzil)-2-izopropil-5-metilfenol (1-2)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 29,3% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za $C_{20}H_{24}I_2O_2$: C, 56,61; H, 5,90; O, 7,54; I, 29,95. Nađeno: C, 56,80; H, 5,75%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ): 279 (3,82), 202 (4,71)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3365, 2958, 2926, 2869, 1599, 1394, 1334, 1159, 1098, 894, 857, 754, 604

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 424 (M^+ , 100%), 410 (14,4), 409 (70,1), 381 (5,1), 267 (17,1), 255 (11,8), 254 (8,9), 239 (14,3), 213 (32,3), 211 (16,4), 197 (22,3), 127 (2,9), 91 (4,4), 77 (3,3), 43 (3,9)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2863

3-(4-Hidroksi-5-izopropil-2-metilbenzil)-6-izopropil-2,4-dijodfenol (1-1)

Bela amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u aristolu 1,1% (w/w)

Elementna analiza: izračunato za $C_{20}H_{24}I_2O_2$: C, 43,66; H, 4,40; O, 5,82; I, 46,12. Nađeno: C, 43,50; H, 4,59%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ): 281 (4,10), 203 (4,98)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3457, 2958, 2926, 2870, 1611, 1391, 1158, 905, 854, 731, 602

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 550 (M^+ , 100%), 535 (46,9), 393 (20,6), 381 (16,4), 380 (14,2), 260 (15,4), 253 (21,3), 212 (13,8), 211 (20,4)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2923

3.3.1.2. METILOVANJE JEDINJENJA 1-1-1-7

U suspenziju koja sadrži 30 mg (0,2 mmol) kalijum-karbonata u dimetil-formamidu (5 cm³) dodat je odgovarajući fenol (1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6 ili 1-7, 0,1 mmol) i metil-jodid (30 mg, 0,21 mmol), pa je smeša mešana na sobnoj temperaturi tokom 24 h. Reakciona smeša je zatim izlivena u 50 ml vode i ekstrahovana tri puta dietil-etrom. Spojeni organski slojevi su nekoliko puta isprani zasićenim vodenim rastvorom natrijum-hlorida, a nakon toga, organski sloj je osušen iznad anhidrovanog MgSO₄, a rastvarač uparen *in vacuo*. Sirovi (neprečišćeni) metilovani proizvodi su potvrđeni GC–MS analizom.

MASENI SPEKTRI I RETENCIONI INDEKSI METILOVANIH PROIZVODA

1-Isopropil-4-metil-2-metoksibenzen

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 164 (M⁺, 27,3%), 150 (11,0), 149 (100), 134 (7,3), 119 (11,7), 117 (8,7), 115 (8,0), 105 (5,9), 91 (16,6), 77 (6,4)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1237

1-Isopropil-3-jod-4-metil-2-metoksibenzen

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 290 (M⁺, 75,3%), 275 (100), 260 (13,6), 148 (13,2), 133 (11,2), 118 (21,6), 117 (12,5), 115 (12,1), 105 (13,2), 77 (11,0)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1517

1-Isopropil-5-jod-4-metil-2-metoksibenzen

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 290 (M⁺, 65,4%), 276 (13,2), 275 (100), 260 (9,4), 148 (13,2), 133 (10,0), 118 (14,6), 117 (10,6), 115 (11,1), 77 (8,0)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1609

1-Isopropil-3,5-dijod-4-metil-2-metoksibenzen

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 416 (M⁺, 100%), 401 (56,7), 402 (6,2), 386 (14,5), 274 (16,6), 244 (8,2), 117 (13,1), 115 (11,7), 91 (8,8), 77 (8,4)

Retencioni indeks (DB5-MS): 1956

5,5'-Diizopropil-3,3'-dijod-2,2'-dimetil-4,4'-dimetoksi-1,1'-bifenil

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 578 (M^+ , 100%), 564 (7,2), 563 (31,7), 452 (7,6), 437 (7,1), 274 (16,7), 266 (7,3), 178 (5,8), 165 (6,8), 128 (5,6)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2894

5,5'-Diizopropil-3,3'-dijod-2,2'-dimetil-6,6'-dimetoksi-1,1'-bifenil

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 578 (M^+ , 100%), 563 (18,0), 452 (18,5), 437 (14,1), 436 (13,1), 421 (12,8), 394 (10,3), 274 (15,6), 165 (7,4), 128 (7,2)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2824

5-Izopropil-1-(2-izopropil-4-jod-5-metilfenoksi)-3-jod-2-metil-4-metoksibenzen

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 564 (M^+ , 100%), 438 (13,9), 407 (12,7), 275 (16,5), 274 (36,2), 148 (29,5), 117 (19,4), 115 (19,4), 91 (19,0), 77 (9,7)

Retencioni indeks (DB5-MS): 2800

3.3.1.3. OKSIDATIVNO KUPLOVANJE TIMOLA

U rastvor timola (1 g, 6,7 mmol) i baze (1,12 g, 20,1 mmol kalijum-hidroksid) u metanolu (20 ml) dodat je u kapima, uz mešanje, rastvor joda u metanolu. Nakon 10 minuta mešanja, reakciona smeša je koncentrovana na rotacionom vakuum uparivaču, izlivena u vodu i neutralisana hlorovodoničnom kiselinom (1:1, v/v). Nakon ekstrakcije dietil-etrom, spojeni organski slojevi su ispirani nekoliko puta vodenim rastvorom natrijum-tiosulfata, a zatim osušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata i rastvarač uklonjen uparavanjem. Dobijena smeša (2,3 g) je analizirana GC–MS-om.

3.3.1.4. IZRAČUNAVANJE RETENCIONIH INDEKSA (*QUANTITATIVE STRUCTURE–PROPERTY MODELLING (QSPR) OF RETENTION INDICES*)

Kao model jedinjenja odabrana su jedinjenja **1-1-1-9**. Njihovi eksperimentalno određeni retencioni indeksi su dati u odeljku 3.3.1.1. Pri postavljanju modela veze strukture i retencioni osobina uzeti su u obzir sledeći izračunati deskriptori model jedinjenja: tačka ključanja, kritična zapremina, *Connolly*-jeva zapremina (zapremina molekula nedostupna rastvaraču), particioni koeficijent, *Balaban*-ov indeks, polarna površina molekula, molekulski topološki indeks, molarna refrakcija, *Wiener*-ov indeks, ukupni brojevi atoma ugljenika, vodonika, kiseonika i joda.

Optimizacija geometrije jedinjenja **1-1-1-9** je opisana u sledećem odeljku; za ostala jedinjenja korišćena je MM2 metoda koja je deo softvera *ChemBio 3D Ultra* 12.0¹ (CambridgeSoft, SAD). Optimizovane geometrije jedinjenja **1-1-1-9** su bile ekvivalentne onim izračunatim pomoću disperziono-korigovanog *B3LYP-D* funkcionala (*dispersion-corrected B3LYP-D functional*).

ChemBio 3D je korišćen za izračunavanje osam molekulskih deskriptora, dok je tačka ključanja izračunata korišćenjem *EPISuite* programa². *The Estimation Programs Interface (EPI) Suite*TM predviđa različite tačke ključanja za neke od izomera dok *ChemBio 3D* daje iste vrednosti. Statistička obrada podataka je izvršena u programu *Microsoft Office Excel* 2010³, za regresionu analizu (interval poverenja 95%). Korišćeni su sledeći statistički parametri: koeficijent korelacije (R^2), *t*-vrednost i *P*-vrednost. Dobijeni QSPR model je validiran korišćenjem „izostaviti jedan“ (*leave one-out*) pristupom unakrsne potvrde.

3.3.1.5. IZRAČUNAVANJA (PRORAČUNI)

Minimalizovana je energija konformacije jedinjenja bez ograničenja korišćenjem disperziono-korigovanog B3LYP-D funkcionala ($I_{op}(3/124) = 3$) i veoma precizne mreže za integraljenje (*ultra fine integration grid*). Korišćen je standardni 6-32G(d) osnovni skup (*basis set*) za atome H, C i O. Za atome joda korišćen je Štutgartov relativistički efektivni potencijal jezgra (*Stuttgart relativistic ECPs*) i osnovni skup sa dodatnom funkcijom polarizacije ($\zeta_d=0,289$) (dostupna iz *Basis set Exchange*). Strukture su potvrđene kao minimumi potencijalne energije pomoću izračunavanja vibracionih frekvencija na istom nivou teorije (nije bilo imaginarnih frekvencija). Dodatni pojedinačni proračuni, zasnovani na optimizovanim geometrijama dobijenim korišćenjem prethodnog osnovnog skupa, izvedeni su sa dvostrukim hibridom mPW2PLYPD funkcionalom i većim osnovnim skupom (to je uključivalo isti *ECP* i osnovni skup za I i osnovni skup 6-311++G(2d,p) za C, H i O atome). Za izračunavanje energije disocijacije odabranih veza (D_0), korišćene su energije datog rasporeda atoma u hemijskoj vrsti (*single point*), sa aproksimacijom da budu numerički jednake entalpijama disocijacije veza (DH_{298}). Za sva izračunavanja kod radikala korišćene su talasne funkcije bez određenih granica (*unrestricted wave functions*). Hemijska pomeranja i konstante kuplovanja optimizovanih struktura sastojaka aristola su

¹ ChemBio 3D Ultra 12.0, CambridgeSoft, USA, 2010, <http://www.cambridgesoft.com/>

² US EPA, *Estimation Programs Interface Suite*TM for Microsoft®Windows, v. 4.11, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, 2016

³ Microsoft Office Excel, 2010, <http://www.microsoft.com/>

izračunate pomoću GIAO metode sa B3LYP funkcionalom (6-311++ (d,p) osnovni skup za C, H i O atome i isti *ECP* i osnovni skup za I) su izvršeni programom *Gaussian 09*.

3.3.2. SINTEZA I IZOLOVANJE DERIVATA KARVAKROLA

3.3.2.1. JODOVANJE KARVAKROLA

U balonu od 100 ml pomešani su karvakrol (5 g, 33 mmol) i rastvor natrijum-hidroksida (1,2 g, 30 mmol) u vodi (20 ml). Uz mešanje je na magnetnoj mešalici ukapavan rastvor koji sadrži 6 g joda (23,6 mmol) i 9 g (54 mmol) kalijum-jodida rastvorenih u 10 ml vode. Obezbojavanje reakcione smeše je uzeto za kraj reakcije. Reakciona smeša je neutralisana hlorovodoničnom kiselinom (1:1, v/v), ekstrahovana dietil-etrom, a spojeni organski slojevi su isprani vodenim rastvorom natrijum-tiosulfata, organski sloj je osušen, a rastvarač uparen. Dobijeno je 6,67 g smeše proizvoda.

Dobijena smeša je podvrgnuta frakcionisanju gradijentnom *dry-flash* kolonskom hromatografijom (smešom *n*-heksana i dietil-etara (v/v)) na silika-gelu. Dobijeno je 6 frakcija, spojene na osnovu tankoslojne hromatografije (1% dietil-etra u *n*-heksanu (v/v)). Na osnovu GC–MS analize, prva frakcija (frakcija dobijena spiranjem kolone čistim *n*-heksanom) je sadržala smešu 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenola (**2-1**) i 3-izopropil-2-jod-6-metilfenol (*o*-jodkarvakrola, **2-2**), pa je ona dalje razdvajana na sefadesu LH-20, dok je frakcija 5 sadržala 5-izopropil-4-jod-2-metilfenol (*p*-jodkarvakrol, **2-3**). Jedinjenja **2-1** i **2-2** je bilo nemoguće dobiti u čistom stanju hromatografijom na koloni silika-gela. Na TLC pločici se vide dve različite mrlje pri razvijanju sa 1% dietil-etrom u *n*-heksanu, ali *R_f* vrednosti su bile 0,7 za jedinjenje **2-2**, a 0,8 za jedinjenje **2-1**. Posle više rehromatografija na sefadesu LH-20 smešom MeOH i CHCl₃ u odnosu 1:1 (v/v) dobijena su čista jedinjenja koja su dalje korišćena za sintezu derivata monojod- i dijodkarvakrola.

Hemijska pomeranja protona ¹H i ugljenika ¹³C atropizomera jedinjenja **2-1**, **2-4**, **2-7–2-15** su prikazana u poglavlju Rezultati i diskusija 4.2.

3-Izopropil-2,4-dijod-6-metilfenol (2-1, smeša dijastereomernih atropizomera):

Bezbojna amorfnu čvrsta supstanca, relativni sadržaj u smeši 51%

Elementna analiza: izračunato za C₁₀H₁₂I₂O: C, 29,88; H, 3,01; O, 3,98; I, 63,13. Nađeno: C, 30,00; H, 3,07%

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ε) 286 (2,51), 215 (3,65) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3450, 2955, 2922, 2869, 1584, 1434, 1344, 1203, 1120, 874, 645, 610, 602

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 402 (M^+ , 100), 403 (11,0), 387 (40,5), 261 (8,0), 260 (67,0), 247 (9,8), 133 (10,2), 91 (9,5), 77 (13,9)

3-Izopropil-2-jod-6-metilfenol (o-jodkarvakrol, 2-2):

Bezbojna uljasta tečnost, relativni sadržaj u smeši 15%

Elementna analiza: izračunato za $C_{10}H_{13}IO$: C, 43,50; H, 4,75; O, 5,79; I, 45,96. Nađeno: C, 43,42; H, 4,70%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 280 (2,75), 210 (3,90) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3487, 2950, 2915, 1610, 1447, 1338, 1130, 727, 700, 625

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 276 (M^+ , 100), 261 (81,5), 134 (75,4), 105 (9,8), 91 (12,3), 77 (14,2)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7,02 (d, 7,7 Hz, 1H), 6,71 (d, 7,7 Hz, 1H), 5,53 (s, $\underline{OH}$), 3,10 (septet, 6,8 Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 1,21 (d, 6,8 Hz, 6H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 16,9, 23,2 (2C), 38,5, 94,1, 117,6, 122,2, 130,8, 148,7, 152,4

5-Izopropil-4-jod-2-metilfenol (p-jodkarvakrol, 2-3)

Bezbojna amorfna čvrsta supstanca, relativni sadržaj u smeši 30%

Elementna analiza: izračunato za $C_{10}H_{13}IO$: C, 43,50; H, 4,75; O, 5,79; I, 45,96. Nađeno: C, 43,51; H, 4,82%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 275 (2,35), 205(3,60) nm

TIR (ATR) cm^{-1} : 3480, 2962, 2925, 2876, 1590, 1455, 1349, 1145, 738, 705, 634, 610

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 276 (M^+ , 100), 262 (8,1), 261 (79,6), 134 (70,7), 91 (11,3), 77 (15,8)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7,54 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 4,79 (s, $\underline{OH}$), 3,08 (septet, 6,8 Hz, 1H), 2,16 (br s, 3H), 1,18 (d, 6,8 Hz, 6H)

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 15,0, 23,2 (2C), 37,8, 89,4, 112,9, 124,1, 141,1, 149,5, 154,6

3.3.2.2. BROMOVANJE KARVAKROLA

Karvakrol (0,50 g, 3,3 mmol) se dodaje u rastvor kalijum-hidroksida (0,559 g, 9,9 mmol, rastvoren u 10 ml metanola), a zatim, uz mešanje se ukapava i rastvor 0,639 g broma (4 mmol) u metanolu.

Reakcija se meša još 30 min nakon dodatka celokupne količine rastvora broma. Reakciona smeša je koncentrovana, izlivena u vodu, neutralisana vodenim rastvorom hlorovodonične kiseline (1:1 (v/v)) i organski sloj je ispran rastvorom natrijum-tiosulfata. Nakon obrade reakcione smeše, izolovano je 0,626 g proizvoda. Na osnovu GC–MS analize, utvrđeno je da reakciona smeša sadrži više proizvoda koji su razdvajani, najpre grubo, gradijentnom *dry-flash* kolonskom hromatografijom (smešom *n*-heksana i dietil-etra (v/v)), dobijene frakcije su spojene na osnovu tankoslojne hromatografije, pri čemu je dobijeno 7 frakcija. Takođe su prve dve frakcije smeše 2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenola (**2-4**) i 2-brom-3-izopropil-6-metilfenola (*o*-bromkarvakrola, **2-5**), spojene i dalje podvrgnute hromatografijama na sefadesku LH-20 smešom MeOH i CHCl₃ u odnosu 1:1 (v/v). Peta frakcija hromatografije na silika-gelu je sadržala 4-brom-3-izopropil-6-metilfenol (*p*-bromkarvakrol, **2-6**).

2,4-Dibrom-3-izopropil-6-metilfenol (2-4, smeša diastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, relativni sadržaj u smeši 55%

Elementna analiza: izračunato za C₁₀H₁₂Br₂O: C, 39,00; H, 3,93; O, 5,19; Br, 51,88. Nađeno: C, 39,20; H, 5,13%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 291,0 (3,31), 206,0 (4,73) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3494, 2959, 2927, 2874, 1598, 1451, 1349, 1220, 1133, 732, 708, 627, 610

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 308 (M⁺, 55,9%), 310 (27,2), 306 (28,8), 293 (100), 291 (53,3), 212 (37,7), 77 (17,2), 51 (11,6)

2-Brom-3-izopropil-6-metilfenol (o-bromkarvakrol, 2-5):

Bezbojna uljasta tečnost, relativni sadržaj u smeši 17%

Elementna analiza: izračunato za C₁₀H₁₃BrO: 52,42; H, 5,72; O, 6,98; Br, 34,87. Nađeno: C, 52,35; H, 5,75%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 285,0 (3,50) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3493, 2960, 2928, 2872, 1596, 1450, 1218, 1131, 705, 625, 609

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 228 (M⁺, 33,4%), 230 (34,8), 215 (95,1), 213 (100), 134 (89,7), 133 (16,0), 91 (12,2), 77 (25,3)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 7,03 (d, 7,8 Hz, 1H), 6,75 (d, 7,8 Hz, 1H), 5,74 (d, 0,5 Hz, OH), 3,24 (septet, 6,9 Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 1,22 (d, 6,9 Hz, 6H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 16,4, 22,9 (2C), 33,3, 112,7, 177,6, 122,84, 129,7, 145,3, 150,1

4-Brom-3-izopropil-6-metilfenol (p-bromkarvakrol, 2-6):

Bezbojna uljasta tečnost, relativni sadržaj u smeši 17%

Elementna analiza: izračunato za $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{BrO}$: 52,42; H, 5,72; O, 6,98; Br, 34,87. Nađeno: C, 52,31; H, 5,63%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 283,0 (3,62) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3490, 2955, 2936, 2872, 1445, 1215, 1140, 706, 625,

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 228 (M^+ , 53,6%), 230 (51,5), 215 (96,7), 213 (100), 134 (95,5), 133 (19,0), 91 (14,2), 77 (24,2)

^1H i ^{13}C NMR spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Berlin i sar., 2006).

3.3.2.3. DERIVATIZACIJA SINTETISANOG 3-IZOPROPIL-2,4-DIJOD-6-METILFENOLA (**2-1**) I 2,4-DIBROM-3-IZOPROPIL-6-METILFENOLA (**2-4**)

SINTEZA ESTARA FENOLA 2-1 I 2-4, JEDINJENJA 2-7–2-10

Rastvori propanske ili 2-metilbutanske kiseline (0,082 mmol), jedinjenja **2-1** ili jedinjenja **2-4** (0,075 mmol), 4-(dimetilamino)piridina (1,2 mg, 0,01 mmol) i *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimida (16,9 mg, 0,082 mmol) u 10 ml suvog dihlormetana mešani su preko noći na sobnoj temperaturi. Rastvarač je uparen, a sirovi proizvodi su prečišćeni gradijentnom hromatografijom na koloni (smešom *n*-heksana i dietil-etera (*v/v*)). Dobijeno je 31 mg (88%) čistog 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenil-propionata (**2-7**), 25 mg (92%) 2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenil-propionata (**2-8**), 34 mg (96%) čistog 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenil-izobutirata (**2-9**), odnosno 23 mg (82%) čistog 2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenil-izobutirata (**2-10**).

3-Izopropil-2,4-dijod-6-metilfenil-propionat (2-7, smeša diastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 88%

Elementna analiza: izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{I}_2\text{O}_2$: C, 34,09; H, 3,52; O, 6,99; I, 55,41. Nađeno: C, 34,21; H, 3,59%

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 214,0 (4,35), 196 (4,25) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2957, 2925, 2871, 1763, 1426, 1334, 1114, 1072, 881, 714, 692

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 458 (M⁺, 5,5), 402 (100), 386 (24,0), 260 (18,2), 103 (7,7), 51 (30,0)

2,4-Dibrom-3-izopropil-6-metilfenil-propionat (2-8, smeša diastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 92%

Elementna analiza: izračunato za C₁₃H₁₆Br₂O₂: C, 42,89; H, 4,43; O, 8,79; Br, 43,89. Nađeno: C, 42,81; H, 4,52%

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 291,0 (3,1), 206 (4,37) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2960, 2928, 2874, 1453, 1394, 1351, 1221, 1134, 1006, 733, 629

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 364 (M⁺, 2,9), 308 (100), 292 (55,6), 212 (6,9), 103 (12,6), 77 (16,1), 57 (64,7)

3-Izopropil-2,4-dijod-6-metilfenil-izobutirat (2-9, smeša diastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 96%

Elementna analiza: izračunato za C₁₄H₁₈I₂O₂: C, 35,62; H, 3,84; O, 6,78; I, 53,76. Nađeno: C, 35,55; H, 3,72%

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 214,0 (4,26), 196,5 (4,14) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2958, 2927, 2870, 1750, 1453, 1351, 1134, 873, 733, 629, 611

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 472 (M⁺, 7,3), 402 (100), 386 (16,8), 260 (14,1), 71 (39,5), 43 (65,4)

2,4-Dibrom-3-izopropil-6-metilfenil-izobutirat (2-10, smeša diastereomernih atropizomera)

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 82%

Elementna analiza: izračunato za C₁₄H₁₈Br₂O₂: C, 44,47; H, 4,80; O, 8,46; Br, 42,27. Nađeno: C, 44,38; H, 4,89%

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 206,5 (4,78) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2962, 2930, 2873, 1755, 1440, 1231, 1118, 1039, 910, 707

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 378 (M^+ , 2,4), 308 (45,6), 292 (20,9), 103 (9,1), 71 (67,9), 43 (100)

SINTEZA ETARA FENOLA **2-1** I **2-4**, JEDINJENJA **2-11**–**2-14**

U suspenziju kalijum-karbonata (0,350 mmol) u acetonu (5 ml) dodato je jedinjenje **2-1** ili **2-4** (0,174 mmol) i metil-jodid (0,178 mmol), odnosno alil-bromid (0,178 mmol). Reakciona smeša je mešana na sobnoj temperaturi tokom 24 h. Zatim je aceton uparen, dodata voda i reakciona smeša ekstrahovana dietil-etrom. Organski slojevi su sušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata, a rastvarač uparen na rotacionom vakuum uparivaču. Nakon prečišćavanja gradijentnom hromatografijom na koloni silika-gela smešom *n*-heksana i dietil-etra (v/v) dobijena su čista jedinjenja **2-11** (15 mg, 21%), **2-12** (36 mg, 63%), **2-13** (52 mg, 67%) i **2-14** (43 mg, 67%).

2-Izopropil-1,3-dijod-5-metil-4-metoksibenzen (2-11, smeša diastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 21%

Elementna analiza: izračunato za $C_{11}H_{14}I_2O$: C, 31,76; H, 3,39; O, 3,85; I, 61,01. Nađeno: C, 31,70; H, 3,31%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ) 216,5 (4,38) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 2954, 2926, 2869, 1446, 1412, 1264, 1132, 1016, 870, 712, 679, 635, 600

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 416 (M^+ , 100), 401 (34,9), 274 (45,7), 147 (15,6), 127 (11,7), 115 (18,9), 77 (12,9)

1,3-Dibrom-2-izopropil-5-metil-4-metoksibenzen (2-12, smeša diastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 63%

Elementna analiza: izračunato za $C_{11}H_{14}Br_2O$: C, 41,03; H, 4,38; O, 4,97; Br, 49,62. Nađeno: C, 41,12; H, 4,35%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ) 208,0 (4,63) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 2959, 2930, 1453, 1324, 1270, 1147, 940, 870, 732, 706, 652

EI-MS m/z (rel. intenzitet, %): 322 (M^+ , 82,6), 320 (41,7), 309 (48,5), 307 (100), 305 (50,0), 115,1 (26,9), 103,1 (17,7), 77 (17,9), 51 (9,9)

2-(Aliloksi)-4-izopropil-3,5-dijod-1-metilbenzen (2-13, smeša dijastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 67%

Elementna analiza: izračunato za $C_{13}H_{16}I_2O$: C, 35,32; H, 3,65; O, 3,62; I, 57,41. Nađeno: C, 35,28; H, 3,60%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 216,50 (3,72) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 2956, 2923, 2869, 1647, 1434, 1416, 1263, 1136, 987, 920, 870, 684

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 442 (M^+ , 67,0), 401 (100), 274 (58,3), 188 (46,9), 147 (59,2), 91 (53,8), 41 (64,1)

2-(Aliloksi)-3,5-dibrom-4-izopropil-1-metilbenzen (2-14, smeša dijastereomernih atropizomera):

Bezbojna uljasta tečnost, prinos 67%

Elementna analiza: izračunato za $C_{13}H_{16}Br_2O$: C, 44,86; H, 4,36; O, 4,60; Br, 45,91. Nađeno: C, 44,70; H, 4,41%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 216,5 (4,38) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 2960, 2928, 2873, 1706, 1647, 1584, 1444, 1323, 1330, 1267, 1150, 1010, 989, 921, 732, 710, 689

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 348 (M^+ , 42,4), 307 (79,4), 267 (28,2), 147 (51,9), 119 (56,0), 77 (52,0) 41 (100)

BROMOVANJE *p*-JODKARVAKROLA (2-2)

Jedinjenje **2-2** (0,60 g, 2,17 mmol) je rastvoreno u 10 ml metanolnog rastvora KOH (0,364 g, 6,51 mmol), a uz mešanje je dodato u kapima 5 ml rastvora broma (0,382 g, 2,39 mmol) u metanolu. Smeša je mešana 30 min, zatim je uparen metanol, a čvrstom ostatku je dodata voda. Vodeni rastvor je neutralisan vodenim rastvorom hlorovodonične kiseline, smeša ekstrahovana dietil-etrom, a organski sloj je ispran vodenim rastvorom natrijum-tiosulfata. Nakon sušenja i uparavanja organskog rastvarača, masa sirovog proizvoda je bila 537 mg. Dobijena smeša je analizirana GC-MS-om, pri čemu je uočeno da sadrži smešu 4 proizvoda slične polarnosti. Pokušano je da se gradijentnom *dry-flash* hromatografijom na koloni silika-gela dobije čisto jedinjenje 2-brom-3-izopropil-4-jod-6-metilfenol (**2-15**), međutim, ovo jedinjenje je eluiralo *n*-

heksanom zajedno sa jedinjenjem **2-4**. Smeša je sadržala 60% željenog proizvoda. Signali jedinjenja **2-15** u NMR spektrima se nisu preklapali sa signalima jedinjenja **2-4** (čiji su signali prethodno asignirani), tako da je bilo moguće asignirati signale oba atropizomera jedinjenja **2-15** (Rezultati i diskusija, odeljak 4.2).

2-Brom-3-izopropil-4-jod-6-metilfenol (**2-15**):

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 354 (M^+ , 100), 356 (97,2), 341 (55,7), 339 (57,1), 214 (74,9), 212 (75,9), 133 (27,4), 127 (23,4), 91 (24,2), 77 (41,3)

3.3.2.4. IZRAČUNAVANJA AKTIVACIONIH PARAMETARA ZA ROTACIONU BARIJERU JEDINJENJA

Strukture jedinjenja **2-1**, **2-4** i njihovih odabrananih derivata (**2-7**, **2-8**, **2-13**, **2-14** i **2-15**) su u potpunosti DFT optimizovane na B3LYP/6-311G(d,p) nivou teorije za sve atome. Efekat rastvarača nije uzet u obzir, već je izračunavanje izvršeno za molekul u vakuumu. Proračuni su izvedeni korišćenjem programskog paketa *Gaussian 09* (Frisch i sar., 2013).

3.3.3. SINTEZA PRIRODNOG PROIZVODA IZ ASCIDIJE *D. RUBEUM* I NJEGOVIH ANALOGA

3.3.3.1. SINTEZA *N*-[2-(4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA (**3-1**) I *N*-[2-(4-METOKSIFENIL)ETIL]FORMAMIDA (**3-2**)

Rastvor 2-(4-metoksifenil)etilamina (1,00 g, 6,6 mmol), 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 30 mg), *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimida (DCC, 1,50 g, 7,3 mmol) i benzojeve (1,21 g, 9,9 mmol) ili mravlje 95% *w/w* kiseline (0,474 g, 9,8 mmol) u suvom dihlormetanu (20 ml) je mešan preko noći na sobnoj temperaturi zaštićen od vlage CaCl₂-cevčicom. Za sintezu formamida je korišćena mravlja kiselina koja sadrži do 5% vode, pa je u reakcionu smešu dodat i čvrsti anhidrovani MgSO₄ (2 g). U dobijenu suspenziju proizvoda je zatim dodato 5 g silika-gela, dihlormetan je uparen, a suvi ostatak nanesen na prethodno napakovanu kolonu silika-gela. Za hromatografiju je korišćena smeša rastvarača heksan, dietil-etar i dihlormetan, (gradijentno od 1:1:1 do 1:1:2, *v/v*), pri čemu je izolovano 1,27 g (75%) jedinjenja **3-1** i 0,98 g (83%) jedinjenja **3-2**.

N-[2-(4-Metoksifenil)etil]benzamid (**3-1**)

Bela kristalna supstanca; tačka topljenja 120,7 °C (literaturna vrednost 123-124 °C, Kincl i sar., 1956)

Elementna analiza: izračunato za C₁₆H₁₇NO₂: C, 75,27; H, 6,71; N, 5,49; O, 12,53. Nađeno: C, 75,12; H, 6,78; N, 5,42; O, 12,68%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 283,2 (3,37), 275,8 (3,49), 225,2 (4,41), 194,2 (5,04)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3314, 3080, 2931, 2833, 1633, 1536, 1510, 1240, 814, 754, 692

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 255 (M⁺, 1,5%), 135 (10,1), 134 (100), 121 (20,6), 105 (30,6), 78 (5,3), 77 (21,9), 51 (4,6)

Retenciono vreme (HP-5MS): 11,835 min

N-[2-(4-Metoksifenil)etil]formamid (**3-2**)

Bela amorfna čvrsta supstanca

Elementna analiza: izračunato za C₁₀H₁₃NO₂: C, 67,02; H, 7,31; N, 7,82; O, 17,85. Nađeno: C, 67,12; H, 7,20; N, 7,78; O, 17,90%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 283,4 (3,14), 276,8 (3,21), 224,6 (3,99), 195,0 (4,65)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3286, 3080, 2934, 2836, 1654, 1611, 1510, 1440, 1241, 810, 752

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 179 (M^+ , 3,7%), 135 (10,3), 134 (100), 121 (76,9), 119 (8,2), 91 (9,5), 77 (10,9), 51 (3,3)

Retenciono vreme (HP-5MS): 5,805 min

3.3.3.2. JODOVANJE JEDINJENJA **3-1** I **3-2**

Smeša amida **3-1** ili **3-2** (0,7 mmol), živa(II)-acetata (0,55 g, 1,73 mmol) i jedne kapi 70% (w/w) perhlorne kiseline u 14 ml glacijalne sirćetne kiseline mešana je 48 h na sobnoj temperaturi. Reakcija je prekinuta dodatkom 31 ml zasićenog rastvora natrijum-hlorida u vodi, a zatim je mešana još 30 min na sobnoj temperaturi. Istaloženi arilmerkuri-hlorid je odvojen centrifugiranjem i sušen pod sniženim pritiskom. Zatim je suspenzija sirovog arilmerkuri-hlorida u suvom CH_2Cl_2 (20 ml) tretirana rastvorom joda (0,44 g, 1,73 mmol u 10 ml suvog dihlormetana) i mešana još 16 h, nakon čega je talog profiltriran. Filtrat je ispran rastvorom natrijum-tiosulfata i zasićenim rastvorom natrijum-hlorida, sušen nad anhidrovanim rastvorom $MgSO_4$ i rastvarač je uparen. Sirovi proizvodi (smeša derivata monojodovanih i diiodovanih benzamida i formamida) razdvojeni su izokratskim hromatografijama na koloni korišćenjem smeše rastvarača *n*-heksan/dietil-etar/dihlormetan u odnosu 3:1:1 ili 1:1:1.

N-[2-(3,5-Dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-3**)

Bela kristalna supstanca; tačka topljenja 127,7 °C

Elementna analiza: izračunato za $C_{16}H_{15}I_2NO_2$: C, 37,90; H, 2,98; I, 50,05; N, 2,76; O, 6,31.

Nađeno: C, 37,78; H, 2,85; N, 2,78%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ) 288,4 (3,45), 222,6 (4,64), 193,0 (4,90)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3280, 3060, 2928, 1628, 1533, 1458, 1245, 995, 866, 692

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 507 (M^+ , 0,7), 386 (100), 380 (23,3), 373 (6,8), 260 (13,9), 246 (1,9), 244 (3,6), 207 (5,9), 105 (91,5), 77 (38,9), 51 (7,6)

Retenciono vreme (HP-5MS): 18,131 min

N-[2-(2,5-Dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-4**)

Bela kristalna supstanca; tačka topljenja 192 °C

Elementna analiza: izračunato za $C_{16}H_{15}I_2NO_2$: C, 37,90; H, 2,98; I, 50,05; N, 2,76; O, 6,31.

Nađeno: C, 37,82; H, 2,96; N, 2,73%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ) 298,0 (3,98), 241,0 (4,68), 213,6 (4,93), 193,0 (5,12)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3293, 3080, 2910, 2830, 1625, 1540, 1478, 1243, 1052, 880, 830, 692, 595

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 507 (M^+ , 0,7), 387 (9,6), 386 (100), 380 (25,7), 373 (7,5), 260 (3,8), 105 (80,3), 77 (35,2), 51 (6,4)

Retenciono vreme (HP-5MS): 18,201 min

N-[2-(3-Jod-4-metoksifenil)etil]benzamid (3-5)

Bela kristalna supstanca; tačka topljenja 141,2 °C

Elementna analiza: izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{INO}_2$: C, 50,41; H, 4,23; I, 33,29; N, 3,67; O, 8,39.

Nađeno: C, 50,53; H, 4,15; N, 3,70%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 283,0 (3,77), 225,0 (4,72), 194,0 (5,12)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3241, 3090, 2930, 2830, 1630, 1538, 1489, 1250, 860, 807, 697, 595

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 381 (M^+ , 0,4), 260 (100), 247 (8,0), 245 (6,0), 134 (1,4), 118 (2,2), 105 (44,5), 77 (25,4), 51 (5,7)

Retenciono vreme (HP-5MS): 15,502 min

N-[2-(2-Jod-4-metoksifenil)etil]benzamid (3-6)

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 381 (M^+ , 0,9), 260 (100), 254 (9,1), 247 (14,6), 134 (1,4), 120 (6,1), 105 (55,4), 91 (4,1), 77 (27,7), 51 (6,8)

Retenciono vreme (HP-5MS): 15,142 min

N-[2-(3-Jod-4-metoksifenil)etil]formamid (3-7)

Bela kristalna supstanca; tačka topljenja 80,5 °C

Elementna analiza: izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{INO}_2$: C, 39,36; H, 3,96; I, 41,59; N, 4,59; O, 10,49.

Nađeno: C, 39,41; H, 3,85; N, 4,55%

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 290,2 (2,21), 283,0 (2,23), 204,6 (3,24), 198,2 (3,25)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3241, 3090, 2930, 2830, 1630, 1538, 1489, 1250, 860, 807, 697, 595

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 305 (M^+ , 4,5), 260 (100), 247 (32,1), 245 (8,4), 231 (1,2), 118 (3,6), 90 (14,6), 77 (12,5), 51 (3,3).

Retenciono vreme (HP-5MS): 10,039 min

Hemijska pomeranja protona ^1H i ugljenika ^{13}C sintetisanih *N*-aciltiramina su prikazana u poglavlju Rezultati i diskusija 4.3.

3.3.3.3. SINTEZA *N*-[2-(3-JOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]ACETAMIDA (**3-8**)

U balonu od 100 ml, koji je opremljen magnetnom mešalicom, nalazi se 10 ml vode, 0,1 ml koncentrovane hlorovodonične kiseline i 0,19 g (1,26 mmol) 2-(4-metoksifenil)etilamina, koji se potpuno rastvorio mešanjem. U reakcionu smešu je dodato 0,158 g (1,55 mmol) anhidrida sirćetne kiseline, i mešano do njegovog rastvaranja, a zatim je smeša prelivena u rastvor 0,189 g kristalnog natrijum-acetata u 0,57 ml vode. Reakcija je vođena uz energično mešanje i hlađenje balona smešom led–voda preko noći. Reakciona smeša je ekstrahovana više puta dihlormetanom, ekstrakti su spojeni i osušeni iznad anhidrovanog MgSO_4 , sušilo je uklonjeno filtracijom, a rastvarač uparen na rotacionom vakuum uparivaču. Dobijeno je 0,13 g *N*-[2-(4-metoksifenil)etil]acetamida u vidu beličastih kristala. Prinos reakcije je bio 54%.

Dobijeni proizvod je podvrgnut reakciji jodovanja. U balonu od 100 ml, koji je opremljen magnetnom mešalicom, rastvoreno je 0,13 g (0,7 mmol) *N*-(4-metoksifenetil)acetamida u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (14 ml) na sobnoj temperaturi. Dodato je, zatim, 0,245 g (0,77 mmol) živa(II)-acetata, kao i jedna kap 70% (w/w) perhlorne kiseline. Reakciona smeša je mešana tokom 48 h na sobnoj temperaturi (za to vreme se primećuje formiranje belih čestica taloga). Nakon isteka ovog vremena, smeša je izlivena u 21 ml zasićenog rastvora NaCl, i mešana još 30 min, a zatim je centrifugirana (3000 obrtaja u s, 30 min) da bi se obezbedilo brže i bolje taloženje čestica taloga i njihovo prenošenje i sušenje. Talog je sušen nekoliko puta dodavanjem rastvarača (dihlormetana), a zatim višestrukim uparavanjem na rotacionim vakuum uparivaču (azeotropna destilacija). Osušenom talogu organskog jedinjenja je uz mešanje na sobnoj temperaturi dodat rastvor joda 0,181 g (0,71 mmol) u suvom dihlormetanu (30 ml). Reakciona smeša je mešana tokom 16 h, a zatim profiltrirana. Filtrat je ispran rastvorom $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, vodom i sušen iznad anhidrovanog MgSO_4 . Uklonjeno je sredstvo za sušenje, a rastvarač uparen. Dobijeno je 0,004 g *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]acetamida (prinos reakcije je bio 1,9%).

N-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]acetamid (**3-8**):

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 319 (M^+ , 3,3), 304 (0,1), 288 (0,1), 276 (0,1), 260 (100), 247 (18,8), 233 (0,8), 134 (1,6), 118 (4,3), 103 (7,0), 90 (13,6), 77 (14,3), 43 (19,8)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7,88 (bt, 5,8 Hz, NH), 7,60 (d, 2,1 Hz, 1H), 7,18 (dd, 8,4, 2,1 Hz, 1H), 6,92 (d, 8,4 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,19 (*pseudo* q, 6,8 Hz, 2H), 2,60 (bt, 7,2 Hz, 2H), 1,77 (s, 3H)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 22,6, 33,6, 40,2, 56,1, 85,9, 111,4, 129,9, 133,8, 138,9, 156,2, 169,0

3.3.3.4. NEUSPEŠNI ALTERNATIVNI SINTETIČKI PUT

SINTEZA 4-HIDROKSI-3,5-DIJODBENZALDEHIDA (**3-9**)

U ohlađenu suspenziju (12-15 °C) 4-hidroksibenzaldehida (3,00 g, 24,6 mmol) u vodenom rastvoru natrijum-hidrogenkarbonata (3,10 g, 36,9 mmol NaHCO_3 u 20 ml vode) uz dobro mešanje dodat je čvrst usitnjen jod u malim porcijama. Mešanje je nastavljeno još 30 min na sobnoj temperaturi, a zatim je reakciona smeša neutralisana rastvorom hlorovodonične kiseline (10%, w/w) i ekstrahovana etil-acetatom. Osušeni organski sloj (nad MgSO_4) je uparen pomoću rotacionog vakuum uparivača. Iz čvrstog ostatka uklonjen je 4-hidroksi-3-jodbenzaldehyd ispiranjem dietil-etrom, pri čemu je beli kristalni ostatak predstavljao 4-hidroksi-3,5-dijodbenzaldehyd (prinos ovog jedinjenja je bio 1,0 g, 29%).

4-Hidroksi-3,5-dijodbenzaldehyd (**3-9**)

Bela kristalna supstanca; tačka topljenja 195,0 °C (lit. 194-195 °C, Kiran i sar., 2008)

Elementna analiza: izračunato za $\text{C}_7\text{H}_4\text{I}_2\text{O}_2$: C, 22,49; H, 1,08; I, 67,88; O, 8,56%. Nađeno: C, 22,58; H, 1,12%

UV (CH_3CN) λ_{max} (log ϵ) 350,0 (3,22), 273,8 (4,18), 272,0 (4,18), 241,6 (4,58)

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3160, 3048, 2834, 2720, 1662, 1563, 1225, 1186, 877, 810, 702, 600

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 374 (M^+ , 100%), 373 (56,8), 345 (5,2), 245 (3,6), 218 (11,0), 173 (4,8), 127 (9,1), 119 (12,9), 92 (14,3), 63 (25,2)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,74 (s, 1H), 8,20 (s, 2H), 6,29 (s, 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 82,8 (2C), 133,0, 141,2 (2C), 158,5, 180,8

Retenciono vreme (HP-5MS): 10,039 min

SINTEZA 3,5-DIJOD-4-METOKSIBENZALDEHIDA (3-10)

U balon od 100 ml, koji je opremljen magnetnom mešalicom i sadrži suspenziju 0,75 g (5,5 mmol) kalijum-karbonata u 5 cm³ DMF, dodat je 1,0 g (2,7 mmol) 4-hidroksi-3,5-dijodbenzaldehida. Zatim je, uz mešanje, u kapima dodato 0,4 g (2,8 mmol) metil-jodida. Mešano je tokom 21 h. Smeši je dodata voda i izvršena ekstrakcija dietil-etrom tri puta. Etarski slojevi su spojeni i ispirani nekoliko puta vodom, a zatim su sušeni iznad anhidrovanog MgSO₄, i dietil-etar uparen. Dobijeno je 0,68 g 3,5-dijod-4-metoksibenzaldehida (**3-10**) u vidu belih kristala. Prinos ovog jedinjenja je bio 46%.

3,5-Dijod-4-metoksibenzaldehid (3-10):

Bela kristalna supstanca, tačka topljenja 121,2 °C (lit. 132 °C, Covello i sar., 1968);

Elementna analiza: izračunato za C₈H₆I₂O₂: C, 24,77; H, 1,56; I, 65,42; O, 8,25%. Nađeno: C, 24,70, H, 1,45%

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 305,0 (3,30), 265,4 (4,02), 235,6 (4,56), 197,4 (4,44)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3050, 2937, 2858, 2752, 1687, 1247, 1183, 983, 876, 640, 574

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 388 (M⁺, 100%), 387 (23,0), 373 (0,1), 359 (0,4), 261 (0,6), 245 (24,2), 231 (6,1), 218 (13,6), 127 (7,1), 75 (18,7), 62 (17,5)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9,81 (s, 1H), 8,27 (s, 2H), 3,93 (s, 3H)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 61,0, 91,4 (2C), 135,5, 141,3 (2C), 163,8, 188,2

Retencioni indeks (HP-5MS) = 1916

SINTEZA (E)-1,3-DIJOD-2-METOKSI-5-(2-NITROVINIL)BENZENA (3-11)

Smeša 0,68 g (1,8 mmol) 3,5-dijod-4-metoksibenzaldehida, 0,6 g (7,8 mmol) amonijum-acetata, 3,3 ml glacijalne sirćetne kiseline i 2,3 ml (43 mmol) nitrometana, u balon od 100 ml, je izložena delovanju ultrazvuka tokom 3 h. Višak nitrometana je uparen na rotacionom vakuum uparivaču, a ostatku je dodata voda i ekstrahovan je dihlormetanom nekoliko puta. Spojeni organski slojevi ispirani su rasolom, i sušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata. Rastvarač je uklonjen uparavanjem. Dobijeno je 0,47 g smeše mrke boje. Prinos (*E*)-1,3-dijod-2-metoksi-5-(2-nitrovinil)benzena u smeši bio 32% (na osnovu GC-MS-a).

(E)-1,3-Dijod-2-metoksi-5-(2-nitrovinil)benzen (3-11)

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 431 (M^+ , 100%), 384 (32,3), 369 (23,1), 274 (16,2), 259 (29,9), 242 (18,1), 215 (13,5), 127 (6,5), 116 (32,3), 88 (46,6), 62 (25,9)

Retencioni indeks (HP-5MS) = 2450

SINTEZA 1,3-DIJOD-2-METOKSI-5-(2-NITROETIL)BENZENA (3-12)

U balonu od 100 ml opremljenom magnetnom mešalicom, rastvoreno je 0,47 g (1,1 mmol) *(E)-1,3-dijod-2-metoksi-5-(2-nitrovinil)benzena* u 10 ml apsolutnog etanola. Smeši je uz mešanje i hlađenje balona smešom led–voda, dodata petostruka količina natrijum-borhidrida. Smeša je mešana 5 h na sobnoj temperaturi uz korišćenje kalcijum-hloridne cevčice. Nakon toga, etanol je uklonjen uparavanjem, a ostatku dodata voda. Višak NaBH_4 je uklonjen dodatkom razblažene sumporne kiseline u kapima. Smeša je ekstrahovana više puta dihlormetanom, a spojeni organski slojevi isprani zasićenim vodenim rastvorom NaCl i osušeni iznad anhidrovanog MgSO_4 . Rastvarač je uklonjen uparavanjem na rotacionom vakuum uparivaču. Dobijeno je 0,13 g proizvoda. Prinos 1,3-dijod-2-metoksi-5-(2-nitroetil)benzena u smeši bio je 54% (na osnovu GC–MS-a).

1,3-Dijod-2-metoksi-5-(2-nitroetil)benzen (3-12)

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 433 (M^+ , 31,0%), 386 (100), 371 (29,0), 260 (14,6), 244 (22,0), 230 (4,2), 127 (4,6), 118 (19,1), 89 (32,9), 63 (14,0)

Retencioni indeks (HP-5MS) = 2340

3.3.3.5. TESTIRANJE TOKSIKOLOŠKE/FARMAKOLOŠKE AKTIVNOSTI SINTETISANIH JEDINJENJA

Lekovi i hemikalije koji su korišćeni u ispitivanjima

Medijum za ćelijske kulture (RPMI medijum, kupljen od *Sigma-Aldrich*, Sent Luis, MO, SAD), upotrebljen za eksperimente, sadržavao je RPMI 1640 sa dodatim 20 mmol dm⁻³ HEPES-om i L-glutaminom, bez natrijum-hidrogenkarbonata, kao i 5% (w/v) serum fetusa govečeta, streptomycin (200 mg ml⁻¹) (*AppliChem*, Darmštat, Nemačka) i penicilin (200 IU ml⁻¹) (*AppliChem*, Darmštat, Nemačka). Cisplatin, korišćen kao pozitivna kontrola, (*Teva*, Beograd, Srbija) i 3-(4,5-dimetiltijazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid (MTT, *Sigma-Aldrich*, Sent Luis, MO, SAD) korišćeni su za određivanje vijabilnosti ćelija.

Akutna toksičnost ispitana u modelu slanovodnih račića Artemia salina

Krajnje koncentracije uzoraka rastvorenih u smeši vode i dimetil-sulfoksida (DMSO) bile su sledeće: 1–200 µM, dok je koncentracija dimetil-sulfoksida bila manja od 1% (v/v). DMSO je bio neaktivan pod uslovima eksperimenta, što je i pokazano negativnom kontrolom. Mrtvi naupliji (račići) su brojani nakon 24 i 48 h. Svi testovi su izvođeni u triplicatu. LC₅₀ (letalna koncentracija koja uzrokuje smrt 50% nauplija) je određena nakon statističke analize. Natrijum-dodecil-sulfat (SDS) je korišćen kao pozitivna kontrola.

Eksperimentalne životinje, izolovanje ćelija i kultivacija

U eksperimentu su korišćeni mužjaci i ženke pacova soja *Wistar*, starosti 2–3 meseca, težine 250–300 g). Životinje su čuvane pod standardnim laboratorijskim uslovima (temperatura 22 ± 2 °C, vlažnost 60%, sa hranom i vodom dostupnom *ad libitum*) u vivarijumu Instituta za biomedicinska istraživanja, na Medicinskom fakultetu, Univerzitet u Nišu. Svi eksperimentalni postupci sa životinjama sprovedeni su u skladu sa deklaracijom iz Helsinkija i smernicima Evropske zajednice za etičko postupanje sa eksperimentalnim životinjama (Direktiva EU iz 2010. godine; 2010/63/EU) i takođe su odobreni od strane lokalnog etičkog odbora (br. 323-07-06862/2016-05/2).

Pacovima je intraperitonealno ubrizgana tioglikolna kiselina da bi se podstakla migracija monocita iz krvi u peritoneum i proliferacija rezidentnih peritonealnih makrofaga (Radulović i sar., 2014, 2017). Izdvojeni peritonealni makrofagi (M) su izolovani prethodno opisanim standardnim postupcima, a suspenzije ćelija (vijabilnost je određena bojenjem tripan-plavim; >95% vijabilnih

ćelija) su podešene na $2,5 \times 10^6$ ćelija ml^{-1} . Zatim su ćelije prebačene u mikrotitrarske ploče i ostavljene da adheriraju na površinu ploča tokom 1,5 h na 37°C pod atmosferom sa 5% (v/v) ugljen-dioksida. Svi eksperimenti su izvođeni u triplikatu i ponovljeni tri puta.

Sposobnost makrofaga da metabolišu MTT (test vijabilnosti)

Nakon inicijalnog koraka adheriranja, makrofagi su izloženi različitim koncentracijama cisplatine ($4 \times 10^{-8} - 7 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$) ili jedinjenja **3-1**, **3-3-3-5**, **3-7** ($1 \times 10^{-7} - 5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$), rastvorenih u RPMI medijumu, a zatim inkubirani 24 h na 37°C pod atmosferom sa 5% (v/v) ugljen-dioksida. Nakon inkubacije, određena je vijabilnost ćelija, upotrebom standardnog MTT (5 mg ml^{-1}) testa (Radulović i sar., 2017). Formiranje formazana, 4 h kasnije, određeno je merenjem apsorbancije svakog bunarića na 540 nm (*Multiscan Ascent*, *Labsystems*, Finska). Aktivnost jedinjenja je izražena kao % vijabilnosti u odnosu na ćelije kultivisane u RPMI medijumu.

Procena funkcionalnih svojstava makrofaga

Test neutralnog crvenog (procena funkcije lizozoma). Ovaj test koristi neutralno crveno, boju koja prodire u normalne lizosome i boji ih (Radulović i sar., 2017). Ukratko, nakon perioda inkubacije od 24 h sa jedinjenjima, prateći protokol opisan u prethodnom odeljku, medijum je uklonjen, a ćelije isprane i inkubirane još 2 h sa neutralnim crvenim. Nakon toga, višak boje je uklonjen, ploče su isprane i dodat je rastvor za obezbojavanje (smeša etanola, vode i sirćetne kiseline u odnosu 5:5:1, v/v/v). Količina ekstrahovane/preostale boje je merena spektrofotometrijski na 540 nm. Dobijeni rezultati su predstavljeni kao % ćelijske sposobnosti da zadrže neutralno crveno u odnosu na istu sposobnost kultivisanih ćelija u RPMI medijumu. Svi eksperimenti su izvođeni u triplikatu i ponovljeni su tri puta.

Test metilenskog plavog (procena sposobnosti adheriranja). Sposobnost adheriranja makrofaga, izloženih cisplatinu ili jedinjenjima **3-1**, **3-3-3-5**, **3-7** u istim koncentracijama kao što je opisano kod testa vijabilnosti, određena je upotrebom bojenja metilenskim plavim. Tretman je sproveden tokom inicijalnog koraka adheriranja makrofaga u trajanju od 1,5 h. Nakon ovog perioda, ćelije su fiksirane metanolom i bojene 30 min 1% (w/v) rastvorom metilenskog plavog. Višak boje je uklonjen naknadnim ispiranjem destilovanom vodom, a preostala boja zadržana od strane ćelija ekstrahovana je smešom etanola i hlorovodonične kiseline koncentracije $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (1:1, v/v).

Apsorbancije ekstrakata svakog bunarića su izmerene na 620 nm, a rezultati su predstavljeni kao % adheriranih ćelija u odnosu na izmerene apsorbancije za ćelije kultivisane u RPMI medijumu. Svi eksperimenti su izvedeni u triplicatu i ponovljeni tri puta.

Određivanje aktivnosti mijeloperoksidaze (MPO). Primarne kulture makrofaga su izložene cisplatinu ili jedinjenjima **3-1**, **3-3-3-5**, **3-7** (u istim koncentracijama kao što je već opisano kod MTT testa). Aktivnost MPO je određena upotrebom 1,2-diaminobenzena kao reagensa za bojenje a enzimska reakcija je inicirana dodatkom vodonik-peroksida (Radulović i sar., 2014). Reakcija je prekinuta rastvorom sumporne kiseline koncentracije $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, a optička gustina (OD) je merena na 540 nm. Rezultati su izraženi kao OD (apsorbancija na 540 nm) x 1000.

Mikroskopiranje makrofaga. Nakon inkubacije od 24 h, makrofagi koji su bili izloženi cisplatinu i jedinjenjima **3-1**, **3-3-3-5**, **3-7** su posmatrani pod svetlosnim mikroskopom *Zeiss ZI AxioObserver* (Carl Zeiss, Getingen, Nemačka), korišćenjem optičkih uvećanja 100x i 200x. Opisane su promene u broju, obliku i morfološkim karakteristikama makrofaga.

Statistička analiza

Rezultati bioloških testiranja su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija. Statistički značajne razlike između grupa su određene jednofaktorskom analizom varijanse (*One-Way ANOVA*) i *Dunnett*-ovim *post-hoc* testom za višestruka poređenja (*GraphPad Prism version 5.03, San Diego, CA, SAD*). Razlike u vrednostima za koje je *p* manje od 0,05 smatrane su statistički značajnim.

3.3.4. „ZELENA“ SINTEZA *N*-[2-(3,5-DIJOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA

3.3.4.1. SINTEZA AMIDA BEZ RASTVARAČA

U avanu je homogenizovana odmerena količina amina (0,278 - 14,5 mmol, 1 ekv.) i natrijum-hidrogenkarbonata (1 ekv.), a zatim je u kapima⁴ (ili u porcijama) dodavan odgovarajući acil-halogenid uz stalno mešanje tučkom. Nakon dodatka celokupne količine hlorida, smeša je dodatno homogenizovana, pa je dodato 10 ml vode, i ukoliko je pao talog nastalog amida on je prenesen u kivetu za centrifugiranje; ako je amid bio tečan, smeša je prebačena u levak za odvajanje. Dobijeni tečni amidi se mogu nakon razdvajanja od vode osušiti rastvaranjem u etil-acetatu, a zatim sušiti anhidrovanim magnezijum-sulfatom i izolovati uparavanjem na rotacionom vakuum uparivaču.

Sintetisani su sledeći amidi:

N-Butilbenzamid (**4-1**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Wang i sar., 2011; Yamashina i sar., 1988).

N-Pentilbenzamid (**4-2**):

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 225,5 (3,78), 194 (4,53) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3320, 3061, 2955, 2929, 2859, 1700, 1635, 1537, 1310, 1238, 707, 649

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 191 (M⁺, 8,1), 162 (9,1), 148 (8,6), 135 (16,3), 134 (20,3), 106 (7,7), 105 (100), 78 (2,9) 77 (33,2), 51 (6,2)

¹H i ¹³C-NMR spektralni podaci se slažu sa literaturnim vrednostima (Abaee i sar., 2010).

N-Heksilbenzamid (**4-3**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Ohshima i sar., 2008; Yamashina i sar., 1988)

N-Dodecilbenzamid (**4-4**):

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 223,50 (3,96), 209,50 (4,57) nm

⁴ U slučaju čvrstog acil-hlorida, dodaje se hlorid u malim porcijama (npr. *p*-nitrobenzoi-hlorid).

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3338, 2916, 2847, 1630, 1529, 1487, 1462, 1300, 1075, 713, 691, 604
EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 289 (M^+ , 10,0), 176 (11,0), 162 (11,3), 148 (14,0), 135 (29,7), 134 (27,3), 105 (100), 77 (22,9)
 ^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7,76 (m, 2H), 7,48 (m, 1H), 7,42 (m, 2H), 6,25 (s, 1H), 3,44 (pseudo q, 6,8 Hz, 2H), 1,61 (p, 7,2 Hz, 2H), 1,18–1,43 (m, preklopljeni signali 18 H), 0,88 (t, 6,6 Hz, 3H)
 ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 22,8, 29,5 (2C), 29,68, 29,72, 29,75, 29,77, 29,80, 32,0, 40,3, 127,0 (2C), 128,6 (2C), 131,4, 135,0, 167,6

N-Heksadecilbenzamid (**4-5**):

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3340, 2917, 2848, 1631, 1531, 1462, 714, 691, 611
 ^1H i ^{13}C -NMR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim vrednostima. (Zaffalon i sar., 2010; Yamashina i sar., 1988)

N-(*sec*-Butil)benzamid (**4-6**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Balalaie i sar., 2007; Roice i sar., 2004; Yamashina i sar., 1988)

N-Izobutilbenzamid (**4-7**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 227,0 (4,03), 194,0 (4,57) nm
 ^1H i ^{13}C -NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Chattopadhyay i sar., 2008; Kuang i sar., 2007)

N-(*terc*-Butil)benzamid: (**4-8**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Yoo i Li., 2006; Shaabani i sar., 2007; Khalafi-Nezhad i sar., 2011; Yamashina i sar., 1988)

N-Fenilbenzamid (**4-9**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Han i sar., 2005; Roychowdhury i sar., 2006; Antony Muthu Prabhu i sar., 2009)

N-Fenilacetamid (**4-10**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Tsukamoto i sar., 2006; Garkani-Nejad i Poshteh-Shirani, 2011; Lee i sar., 2010; Siddiqi i Khan, 2004)

N,N'-Difeniloksalamid (**4-11**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 274 (4,11) nm

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7,16 (m, 2H), 7,36 (m, 4H), 7,92 (m, 4H), 10,83 (s, 2H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 120,3 (4C), 124,4 (2C), 128,6 (4C), 137,6 (2C), 158,5 (2C)

IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Donohoe i sar., 2006)

N-(*o*-Tolil)benzamid (**4-12**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Wang i sar., 2011; Zhang i sar., 2003)

N-(*m*-Tolil)benzamid (**4-13**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Wang i sar., 2011; Zhang i sar., 2003)

N-(*p*-Tolil)benzamid (**4-14**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Zhang i sar., 2009; Hsieh i Cheng, 2005; Zhang i sar., 2003)

N-(*p*-Tolil)izobutiramid (**4-15**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 244,5 (3,99), 202 (4,23) nm

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 177 (M^+ , 21,8), 108 (8,3), 107 (100), 106 (36,0), 79 (6,9), 78 (5,5), 77 (13,4), 43 (30,4), 41 (10,2), 35 (5,8)

^1H i ^{13}C -NMR i IR spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Gowda i sar., 2003)

N-Mezitolbenzamid (**4-16**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 219 (4,39) nm

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 239 (M^+ , 40,7), 240 (7,2), 136 (5,8), 134 (24,0), 106 (8,2), 105 (100), 91 (6,3), 77 (34,5), 51 (4,9)

^1H i ^{13}C -NMR i IR spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Vovk i sar., 1987; Efremov i sar., 1994)

N-(2-Metoksifenil)benzamid (**4-17**):

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 292,5 (4,00), 267,0 (3,94), 221,5 (4,25) nm

¹H i ¹³C-NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Yao i Wei., 2010)

N-(4-Metoksifenil)benzamid (**4-18**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Faler i Joullie, 2006; Mohamed i sar., 2009; Khan i Reza, 2005)

N-(4-Metoksifenil)acetamid (**4-19**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Das Sharma i sar., 2007; Liu i sar., 2011)

N-(2-Nitrofenil)benzamid (**4-20**):

¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Darvesh i sar., 2006)

N-(3-Nitrofenil)benzamid (**4-21**):

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 257,5 (4,22) nm

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 242 (M⁺, 9,0), 196 (15,3), 106 (8,0), 105 (100)

¹H i ¹³C-NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Lee i sar., 2002; komercijalna baza spektara *Bio-Rad*).

N-(3-Nitrofenil)acetamid (**4-22**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Su i sar., 2008; Sudharsanam i sar., 2003; komercijalna baza spektara *Bio-Rad*).

N-(4-Nitrofenil)benzamid (**4-23**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Wang i sar., 2011; Uscumlic i Petrovic, 2002).

N-(4-Hlorfenil)benzamid (**4-24**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Zhang i sar., 2009; Wu i sar., 2010; Orlic-Nuber i sar., 1983).

N-(3-Acetilfenil)benzamid (**4-25**):

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 244,0 (4,31), 219,00 (4,31), 194 (4,54) nm

¹H i ¹³C-NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Ueda i Nagasawa, 2009)

Metil-2-benzamidobenzoat (**4-26**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Miltojević, 2016)

N-(4-Izobutoksifenil)-4-nitrobenzamid (**4-27**):

Bezbojna amorfna supstanca

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 252,0 (4,38), 251,0 (2,66) nm

EI-MS *m/z* (relativni intenzitet, %): 314 (M⁺, 28,0), 258 (70,2), 151 (16,6), 150 (100), 110 (14,5), 108 (11,7), 76 (22,5), 57 (15,8)

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3203, 3023, 2984, 1620, 1517, 1425, 1285, 782, 690

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 8,37 (m, 2H), 8,18 (m, 2 H), 7,68 (m, 2H), 6,95 (m, 2H), 3,74 (d, 6,6 Hz, 2H), 2,02 (*pseudo* nonet, 6,7 Hz, 1H), 0,99 (d, 6,7 Hz, 6H), 10,45 (b s, NH)

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 19,1 (2C), 22,8, 73,9, 114,4 (2C), 122,0 (2C), 123,7 (2C), 129,1 (2C), 131,7, 140,7, 148,0, 155,4, 163,3

N-Naftalen-1-ilbenzamid (**4-28**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Chen i sar., 2005; baza IR spektara *Bio-Rad*; Zhang i sar., 2003)

N-Piridin-2-ilbenzamid (**4-29**):

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 272,0 (3,79), 229,5 (4,05) nm

¹H i ¹³C-NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Yao i Wei, 2010)

N-(3-Bromfenil)benzamid (**4-30**):

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 267,5 (3,91), 223,5 (3,94), 198,0 (4,28) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3278, 3068, 1650, 1602, 1513, 1417, 1293, 776, 693, 672, 578

¹H i ¹³C-NMR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Ueda i Nagasawa, 2009)

N-(2,4-Dijod-6-metilfenil)benzamid (**4-31**):

Bezbojna amorfná supstanca

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 265,5 (3,14), 225,50 (3,97) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 3206, 3059, 2917, 1635, 1504, 1482, 1281, 857, 714, 688

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 336 (M⁺,100), 337 (13,7), 209 (8,3), 106 (7,5), 105 (99,3), 104 (6,2), 78 (8,4), 76 (8,0), 51 (22,5)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 8,04 (d, 1,2 Hz, 1H), 7,97 (bs, NH), 7,95 (bs, 1H), 7,50–7,62 (m, 5H), 2,29 (s, 3H)

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 19,5, 93,2, 100,2, 127,4, 128,8 (2C), 132,2, 133,7, 137,1, 139,7, 139,9 (2C), 144,7, 165,4

N-benzilbenzamid (**4-32**):

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 282,0 (3,18), 284,0 (3,57), 210,5 (4,09) nm

¹H i ¹³C-NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Nordstrom i sar., 2008).

N-Benzilacetamid (**4-33**): ¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Bi i sar., 2010; Park i sar., 2002; Ohmura i sar., 2010).

N-Fenetilbenzamid (**4-34**):

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 225,0 (3,99) nm

¹H i ¹³C-NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Boehner i sar., 2010).

N-(4-Hlorfenetil)benzamid (**4-35**):

UV (CH₃CN) λ_{max} (log ϵ) 267,0 (4,26), 224,50 (4,13)

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 259 (M⁺, 9,5), 140 (13,7), 138 (43,3), 105 (100), 89 (8,0), 77 (52,4), 51 (13,5)

¹H i ¹³C-NMR i IR spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Romines i sar., 2006).

N-(4-Metoksifenetil)benzamid (**4-36**): ^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Liao i sar., 1988; WSS baza)

N-(4-Hidroksifenetil)benzamid (**4-37**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 276,5 (3,23), 224,5 (4,13) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3325, 3024, 2936, 1637, 1541, 1511, 1235, 824, 693, 669, 565

^1H i ^{13}C -NMR spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Gutierrez i sar., 2006)

N,N'-Bis[2-(4-hidroksifenil)etil]oksalamid (**4-38**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 278,0 (3,24), 223,5 (3,87), 194,0 (4,61) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3321, 3018, 2942, 1635, 1525, 1237, 820, 690, 672

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 6,96 (m, 4H), 6,66 (m, 4H), 2,69 (bt, 7,3 Hz, 4H), 2,48–2,54 (signal preklopljen sa signalom rastvarača)

^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) δ : 39,1, 43,94, 115,04, 129,41, 155,51

Etil-*N*-benzoilglicinat (**4-39**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 224,5 (3,93), 194,0 (4,49)

^1H i ^{13}C -NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Nadimpally i sar., 2011)

N-(2-Hidroksietil)benzamid (**4-40**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 224,5 (4,02) nm

^1H i ^{13}C -NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Wu i sar., 2011; Xu i Li, 2009)

N-(3-Hidroksipropil)benzamid (**4-41**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 224,5 (3,99) nm

^1H i ^{13}C -NMR, IR i MS spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Movassaghi i Schmidt, 2005)

N-Benzoilglicin (**4-42**):

¹H i ¹³C-NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Yousif i sar., 2009; Keun i sar., 2002; Jayarama i sar., 2009; Albrecht i sar., 2003)

Fenil-[4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il]metanon (**4-43**):

Bezbojna amorfna supstanca

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 360 (3,24), 280,50 (3,64), 245,5 (4,12), 210,0 (4,50) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2964, 2931, 2813, 1637, 1499, 1433, 1230, 1152, 1025, 744

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 296 (M⁺, 34,5), 163 (11,8), 162 (100), 150 (11,2), 149 (23,9), 105 (28,3), 77 (31,7), 56 (14,6)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 7,36–7,50 (m, 5H), 7,03 (ddd, 8,1, 6,1, 3,0 Hz, 1H), 6,91–6,97 (m, 2H), 6,88 (d, 8,1 Hz, 1H), 3,98 (bs, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,61 (bs, 2H), 3,14 (bs, 2H), 3,0 (bs, 2H)

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 42,4, 48,0, 50,7, 51,2, 55,4, 111,3, 118,4, 121,0, 123,6, 127,1 (2C), 128,5 (2C), 129,7, 135,8, 140,6, 152,2, 170,3

2-Metil-[4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il]-propan-1-on (**4-44**):

Bezbojna amorfna supstanca

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 282,0 (3,27), 248,0 (3,67), 210,5 (4,18) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2951, 2805, 2746, 1615, 1498, 1427, 1238, 1010, 742, 708

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 262 (M⁺, 25,3), 162 (100), 149 (33,2), 134 (36,6), 56 (17,3), 43 (17,7)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 7,03 (ddd, 8,4, 6,6, 2,6 Hz, 1H), 6,96–6,85 (m, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,81 (t, 5,0 Hz, 2H), 3,69 (t, 4,9 Hz, 2H), 3,05 (t, 4,9 Hz, 2H), 3,01 (t, 5,0 Hz, 2H), 2,84 (septet, 6,7 Hz, 1H), 1,16 (d, 6,7 Hz, 6H)

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 19,4 (2C), 29,9, 41,9, 45,7, 51,2, 55,4, 111,3, 111,3, 118,4, 121,0, 123,5, 140,6, 152,2, 175,4

1-[4-(1,3-Benzodioksol-5-ilmetil)piperazin-1-il]-2-metilpropan-1-on (**4-45**):

Bezbojna amorfna supstanca

UV (CH₃CN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 286,50 (3,32), 236,0 (2,59), 200,0 (4,38) nm

FTIR (ATR) cm⁻¹: 2971, 2915, 1631, 1489, 1440, 1241, 1032, 927, 810, 776

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 290 (M^+ , 6,2), 190 (8,3), 176 (20,5), 135 (100), 85 (19,6), 77 (10,2), 43 (8,1)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 6,85 (bs, 1H), 6,75–6,73 (m, 2H), 5,94 (s, 2H), 3,62 (t, 5,0 Hz, 2H), 3,50 (t, 5,0 Hz, 2H), 3,42 (s, 2H), 2,77 (septet, 6,8 Hz, 1H), 2,40 (*pseudo* q, 5,0 Hz, 4H), 1,11 (d, 6,8 Hz, 6H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 19,4 (2C), 29,9, 41,7, 45,4, 52,8, 53,2, 62,6, 100,9, 107,9, 109,4, 122,2, 131,6, 146,7, 147,7, 175,3

N-(Furan-2-ilmetil)pentanamid (**4-46**)

Bezbojna amorfna supstanca

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 215,5 (4,12) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3295, 2956, 2930, 2880, 1634, 1536, 1226, 1147, 727, 597

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 181 (M^+ , 60,9), 139 (28,5), 97 (74,1), 81 (100), 69 (38,6), 57 (40,7), 53 (33,3), 41 (31,8)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7,34 (dd, 1,9, 0,8 Hz, 1H), 6,31 (dd, 3,2, 1,9 Hz, 1H), 6,21 (dq, 3,2, 0,8 Hz, 1H), 6,08 (bs, NH), 4,42 (dd, 5,5, 0,8 Hz, 2H), 2,20 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,34 (dq, 14,6, 7,4 Hz, 2H), 0,91 (t, 7,4 Hz, 3H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 13,8, 22,4, 27,7, 36,3, 36,4, 107,3, 110,4, 142,1, 151,4, 173,1

N-(Furan-2-ilmetil)-2-metilbutanamid (**4-47**)

Bezbojna amorfna supstanca

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 215,0 (4,05) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3281, 2964, 2933, 2876, 1644, 1537, 1266, 1231, 1193, 1011, 727, 598

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 181 (54,3), 152 (15,1), 97 (48,3), 96 (13,2), 81 (100), 69 (19,1), 57 (57,6), 53 (27,4), 41 (25,7)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 7,34 (dd, 1,9, 0,9 Hz, 1H), 6,31 (dd, 3,2, 1,9 Hz, 1H), 6,21 (dq, 3,2, 0,9 Hz, 1H), 6,06 (bs, NH), 4,43 (bt, 5,1 Hz, 2H), 2,20 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,34 (dq, 14,6, 7,4 Hz, 2H), 0,91 (t, 7,4 Hz, 3H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 11,9, 17,4, 27,3, 36,4, 43,0, 107,2, 110,4, 142,1, 151,6, 176,4

N,N'-(Etan-1,2-diil)dibenzamid (**4-48**):

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1,82 (m, 2H), 3,54 (m, 4H), 7,40–7,60 (m, preklopljeni signali, 10H), 7,89 (NH, 2H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 36,5 (2C), 127,2 (4C), 128,6 (4C), 131,7 (2C), 133,8 (2C), 168,5 (2C)

^1H i ^{13}C -NMR, IR, MS i UV spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Katritzky i sar., 2006; Chen i sar., 1988)

N,N'-(Propan-1,3-diil)dibenzamid (**4-49**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 267,0 (3,15), 226,50 (4,27) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3315, 3058, 2936, 1628, 1525, 1290, 1128, 1690, 647

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 282 (M^+ , 2,8), 177 (9,7), 148 (17,9), 134 (19,7), 105 (100), 77 (55,0), 56 (18,1)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1,82 (m, 2H), 3,54 (m, 4H), 7,40–7,60 (m, 10H), 7,89 (NH, 2H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 29,7, 36,5, 62,7, 127,2 (4C), 128,6 (4C), 131,7 (2C), 133,8 (2C), 168,5 (2C)

^1H i ^{13}C -NMR spektralni podaci se slažu sa literaturnim podacima (Zhu i sar., 2011).

N,N'-(2,2-Dimetilpropan-1,3-diil)dibenzamid (**4-50**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 266,5 (3,10), 226,0 (4,15) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3313, 3059, 2955, 2927, 1637, 1538, 1309, 1174, 901, 693, 661

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 310 (M^+ , 2,7), 176 (38,3), 162 (18,5), 134 (10,5), 122 (23,5), 105 (100), 77 (51,0), 51 (8,6)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1,00 (m, preklopljeni signali 6H), 3,29 (d, 7,0 Hz, 4H), 7,40–7,70 (m, preklopljeni signali 10H), 7,95 (NH, d, 7,0 Hz, 2H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 23,8 (2C), 37,2, 46,3 (2C), 127,1 (4C), 128,6 (4C), 131,6 (2C), 133,5 (2C), 168,4 (2C)

N,N'-(1-Etil-1,3-propandiil)dibenzamid (**4-51**):

UV (CH_3CN) λ_{max} ($\log \epsilon$) 267,5 (3,14), 226,5 (4,12) nm

FTIR (ATR) cm^{-1} : 3289, 3060, 2958, 2872, 1628, 1530, 1328, 691, 666

EI-MS m/z (relativni intenzitet, %): 310 (M^+ , 2,3), 205 (8,0), 163 (15,3), 148 (9,0), 105 (100), 84 (13,0), 77 (48,0), 51 (7,7)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0,98 (t, 7,4 Hz, 3H), 1,54 (m, 1H), 1,63 (m, 2H), 1,97 (dddd, 14,2, 11,0, 4,9, 3,3 Hz, 1H), 3,00 (ddt, 13,9, 11,1, 4,0 Hz, 1H), 3,98 (m, 1H), 4,14 (m, 1H), 7,40–7,60 (m, 10H), 7,94 (NH, 2H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 10,8, 28,6, 35,3, 36,2, 49,2, 127,0 (2C), 127,1 (2C), 128,5 (2C), 128,7 (2C), 131,3, 131,8, 134,2, 134,3, 167,40, 168,9

3.3.4.2. „ZELENA“ SINTEZA PRIRODNOG PROIZVODA (3-3)

U 10 ml amonijačnog rastvora (31% w/w) tiramina (1 mmol, 0,137 g), ukapavano je 5 ml etanolnog rastvora joda (2 ekv., 0,508 g) na 5 °C. Zatim je reakcija vođena 1 h , na sobnoj temepraturi. Izdvojeni talog je više puta ispran vodom i osušen, dobijeno je 0,250 g dijudtiramina.

4-(2-Aminoetil)-2,6-dijodfenol:

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 8,2 (izmenljivi protoni), 7,64 (s, 2H), 3,33 (izmenljivi protoni), 3,0 (dd, 8,2, 6,9 Hz, 2H), 2,73 (t, 8,2 Hz, 2H),

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 30,7, 39,6, 87,3 (2C), 132,9, 139,1 (2C), 154,2

U avanu je dalje homogenizovana odmerena količina dijudtiramina (0,250 g, 0,644 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonata (1 ekv.), a zatim je u kapima dodavan benzoil-hlorid (1 ekv.) uz stalno mešanje tučkom. Nakon dodatka celokupne količine hlorida, smeša je dodatno homogenizovana, pa je dodato 10 ml vode. Talog od dobijenog amida je prenesen u kivetu za centrifugiranje. Vodeni sloj je dekantovan, a talog je ostavljen da se suši na vazduhu. Dobijeno je 178 mg *N*-[2-(4-hidroksi-3,5-dijodfenil)etil]benzamida.

N-[2-(4-Hidroksi-3,5-dijodfenil)etil]benzamid:

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 8,56 (t, 5,2 Hz, NH), 7,78–7,75 (m, 2H), 7,59 (s, 2H), 7,55–7,40 (m, 3H), 3,41 (*pseudo* q, 6,6 Hz, 2H), 2,71 (t, 6,6 Hz, 2H)

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 32,81, 40,76, 87,54, 127,13 (2C), 128,22 (2C), 131,03, 134,46, 134,65, 138,98, 139,11 (2C), 154,69, 166,28

U balonu od 100 ml, koji je opremljen refluks kondenzatorom i magnetnom mešalicom, zagrevana je smeša *N*-[2-(4-hidroksi-3,5-dijodfenil)etil]benzamida (0,150 g, 0,305 mmol) sa dimetil-karbonatom (10 ml) i kalijum-hidroksidom (0,34 g, 0,610 mmol) tokom 30 h. Dobijeno je 0,038 g prirodnog proizvoda *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (3-3).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

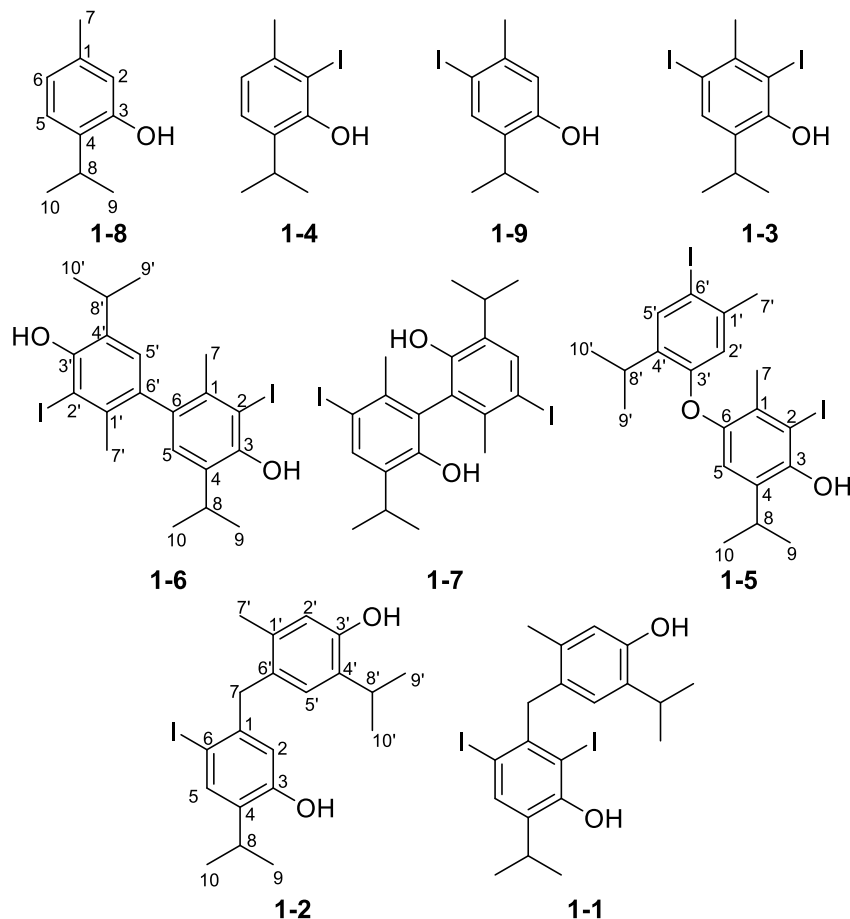
4.1. SINTEZA I ODREĐIVANJE STRUKTURE SASTOJAKA ARISTOLA

4.1.1. SINTEZA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA

Uzorak aristola koji je korišćen za dalja ispitivanja dobijen je jodovanjem timola pod alkalnim uslovima, a po proceduri *Woollett*-a (1919). Dobijeni proizvod je podvrgnut hromatografskom razdvajanju: gradijentna *dry flash* hromatografija na koloni silika-gela uz eluiranje smešom heksana i dietil-etra. Ova hromatografija je omogućila izolovanje dva čista jedinjenja (**1-1** i **1-2**, šema 4.1.1). Ponovnom hromatografijom prve frakcije dobijeno je još šest čistih jedinjenja. Rasvetljavanje strukture izolovanih čistih sastojaka – 5 kuplovanih proizvoda (**1-1**, **1-2**, **1-5**, **1-6** i **1-7**), diiodtimola (**1-3**), dva regioizomera monojodtimola (**1-4** i **1-9**) i neizreagovanog timola (**1-8**) – postignuto je kombinovanjem NMR (1D: ^1H i ^{13}C NMR, i eksperimenata selektivnog ^1H homonuklearnog dekuplovanja; 2D: grHSQC, grHMBC, gr ^1H – ^1H -COSY i NOESY eksperimenata), HRMS, FTIR i UV spektralnih podataka, kao i hemijskim transformacijama (metilovanjem). NMR podaci su prikazani u tabelama 4.1.1 (**1-3**, **1-4**, **1-8**, **1-9**) i 4.1.2 (**1-1**, **1-2**, **1-5**, **1-6**, **1-7**). Numeracija atoma vodonika i ugljenika zasnovana je na numeraciji *p*-mentanskog skeleta, a kako je prikazano na šemi 4.1.1, a zarad lakšeg upoređivanja spektralnih podataka. Izolovani proizvodi oksidativnog kuplovanja timola predstavljaju nova jedinjenja na osnovu pretrage CAS baze podataka¹. Interesantno je, takođe, da *orto*-regioizomer monojodtimola **1-4**, kao i jedinjenje **1-7**, koje je prethodno objavljeno (Moles i Marquina, 1919), nisu zavedeni u ovoj bazi.

Da bismo olakšali interpretaciju NMR spektralnih podataka kuplovanih proizvoda (**1-1**, **1-2**, **1-5**, **1-6** i **1-7**), potpuno su asignirani i timol, monojod-derivat i diiod-derivat timola. Potpuna spinska analiza signala u protonskom spektru timola (**1-8**) ne postoji u literaturi. Vrednosti daljinskih konstanti kuplovanja protona (na primer, H2 se kupluje sa H6 ($^4J = 1,7$ Hz), H5 ($^5J = 0,3$ Hz) i H7 ($^4J = 0,6$ Hz)) određene su serijom eksperimenata selektivnog ^1H homonuklearnog dekuplovanja, dok je potpuna asignacija signala iz ^1H i ^{13}C NMR spektara (tabela 4.1.1) ostvarena pomoću 2D-NMR podataka (gr ^1H – ^1H COSY, grHMBC, grHSQC i NOESY).

¹ SciFinder, pristupljeno maja 2016. godine, <https://scifinder.cas.org/>



Šema 4.1.1. Spektralno okarakterisani sastojci aristola

Masena spektrometrija visokog razlaganja i elementna analiza jedinjenja **1-4** i **1-9** pokazale su da su to dva (različita) monojod-derivata timola sa m/z 276,0001 ($\Delta = -0,0010$ amu) i 276,0000 ($\Delta = -0,0011$ amu) vrednostima; koje odgovaraju molekulskoj formuli $C_{10}H_{13}IO$.

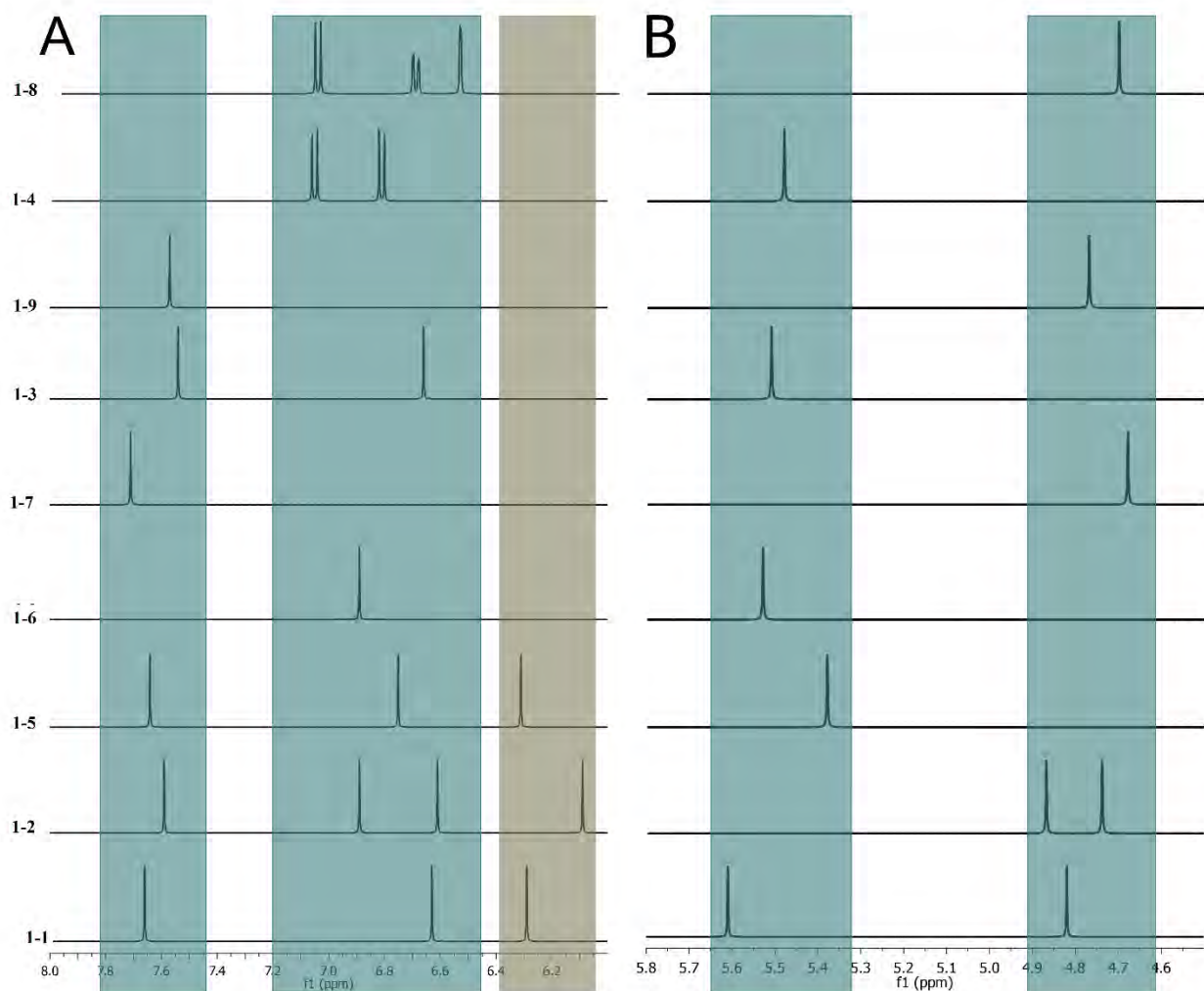
Položaj atoma joda je određen na osnovu NMR podataka; kod *o*-jodtimola (**1-4**) uočava se 6 signala u protonskom NMR spektru. Vrednosti hemijskih pomeranja atoma H8–H10 su nešto niže u poređenju sa timolom, dok je njihov izgled (multiplernost) ista. Pored nepostojanja signala koji odgovara H2, postoji i razlika u vrednosti hemijskih pomeranja H-atoma fenolnih grupa (δ 5,48 (jedinjenje **1-4**) i 4,70 ppm (jedinjenje **1-8**)), što je sugerisalo na blizinu ove OH grupe i elektronegativnog atoma (I). Položaj atoma joda je takođe potvrđen i iz smanjenja hemijskog pomeranja (pomeranja ka jačem polju) C2 atoma u poređenju sa timolom ($\Delta\delta = -21,5$ ppm). C-H konektivnost i asignacija svih 1H i ^{13}C NMR signala zasnovana je na podacima iz grHMBC, grHSQC i NOESY spektara. U grHMBC spektru jedinjenja **1-4** uočena je interakcija između

C2(-I) i H5 preko 4 veze, što je sugerisalo na relativno veliku vrednost daljinske konstante C-H kuplovanja (moguća su dva puta za kuplovanje ovih jedinjenja) između ovih jezgara, u opsegu vrednosti C-H kuplovanja kroz 2 ili 3 veze.

Spektralni podaci jedinjenja **1-3** i **1-9**, takođe se ne mogu naći u literaturi. Analogno identifikaciji jedinjenja **1-4**, analizom spektalnih podataka, utvrđeno je da su strukture ovih jedinjenja *p*-jodtimol (**1-9**) i 6-izopropil-2,4-dijod-3-metilfenol (**1-3**) (šema 4.1.1), a njihovi NMR podaci su prikazani u tabeli 4.1.1. Položaj atoma joda je bio očigledan iz vrednosti hemijskih pomeranja C6 kod jedinjenja **1-9** ($\Delta\delta = -31,5$ ppm) i C2 i C6 kod **1-3** ($\Delta\delta = -22,6$ ppm i $-33,6$ ppm) kada se ova porede sa timolom. Hemijska pomeranja njihovih hidroksilnih protona su pomerena ka slabijem polju. Smanjenje zaštite (oko 0,8 ppm; slika 4.1.1) OH protona u jedinjenju **1-3** je mnogo izraženije i uporedivo sa vrednostima koje su zabeležene kod *o*-jodtimola; ovi spektralni podaci su bili korisni u daljem rasvetljavanju struktura kuplovanih proizvoda.

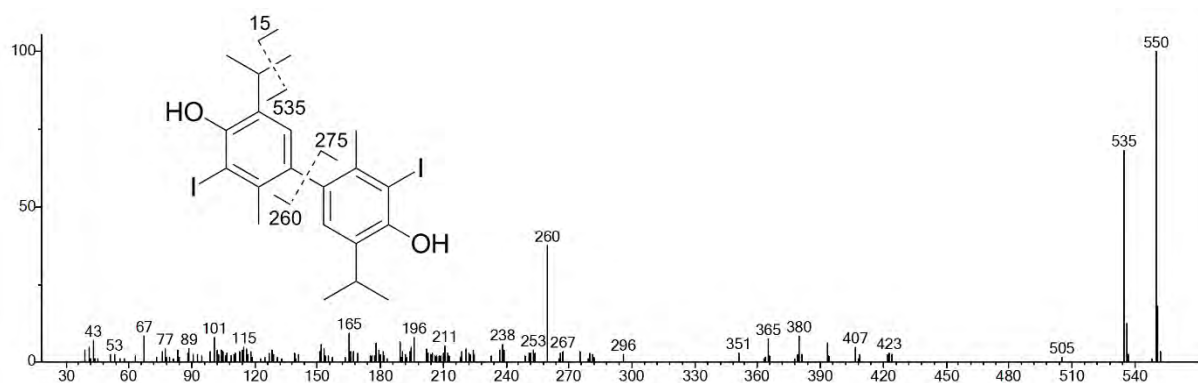
Tabela 4.1.1. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za jedinjenja **1-3**, **1-4**, **1-8** i **1-9**

Položaj	1-8		1-4		1-9		1-3	
	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.
1		136,6 C		139,2 C		139,5 C		140,2 C
2	6,57, dqd (1,7, 0,6, 0,3)	116,0 CH		94,5 C	6,66 p q (0,7)	116,9 CH		93,4 C
3		152,4 C		151,6 C		152,7 C		152,3 C
4		131,3 C		132,2 C		134,4 C		134,5 C
5	7,08, dd (7,8, 0,3)	126,2 CH	7,05, d (7,7)	126,1 CH	7,54, s	136,5 CH	7,57, s	136,8 CH
6	6,73, dqd (7,8, 1,7, 0,5)	121,7 CH	6,81, d (7,7)	121,8 CH		90,2 C		88,1 C
7	2,27, br s	20,9 CH ₃	2,41, s	28,4 CH ₃	2,32, br s	27,5 CH ₃	2,72, s	35,2 CH ₃
8	3,16, sept (6,9)	27,5 CH	3,28, sept (6,9)	26,7 CH	3,10, sept (6,9)	26,6 CH	3,23, sept (6,9)	28,3 CH
9	1,24, d (6,9)	22,7 CH ₃	1,20, d (6,9)	22,5 CH ₃	1,22, d (6,9)	22,5 CH ₃	1,21, d (6,9)	22,3 CH ₃
10	1,24, d (6,9)	22,7 CH ₃	1,20, d (6,9)	22,5 CH ₃	1,22, d (6,9)	22,5 CH ₃	1,21, d (6,9)	22,3 CH ₃
C3-OH	4,70, br s		5,48, br s		4,77, br s		5,51, br s	



Slika 4.1.1. ^1H NMR pomeranja OH i protona vezanih za aromatično jezgro za jedinjenja **1-1-1-9**

Prvi podaci o jedinjenju **1-6** dobijeni su na osnovu HRMS analize. Molekulski jon (M^+ , takođe je i osnovni pik u masenom spektru jedinjenja **1-6**) odgovara vrednosti m/z 549,9880 ($\Delta = +0,0014$ amu), što sugeriše da je molekulska formula ovog jedinjenja $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{I}_2\text{O}_2$; odnos intenziteta M^+ i $(\text{M}+1)^+$ jona (100:22), ukazuje na to da ovo jedinjenje sadrži 20 C-atoma. Na osnovu dobijenih rezultata pretpostavljeno je da **1-6** predstavlja diiod-derivat proizvoda oksidativnog kuplovanja dva molekula timola. Pikovi, drugi i treći po intenzitetu, u masenom spektru jedinjenja **1-6** jesu na m/z 535 i 260, i to odgovara jonima $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ i $[\text{M} - \text{CH}_3 - \text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{IO}]^+$ jona (slika 4.1.2). U jedinjenju **1-6** dva atoma joda su vezana za različita jezgra, što je zaključeno na osnovu fragmentacije; gubljenje fragmenta $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{IO}$ u jednom koraku



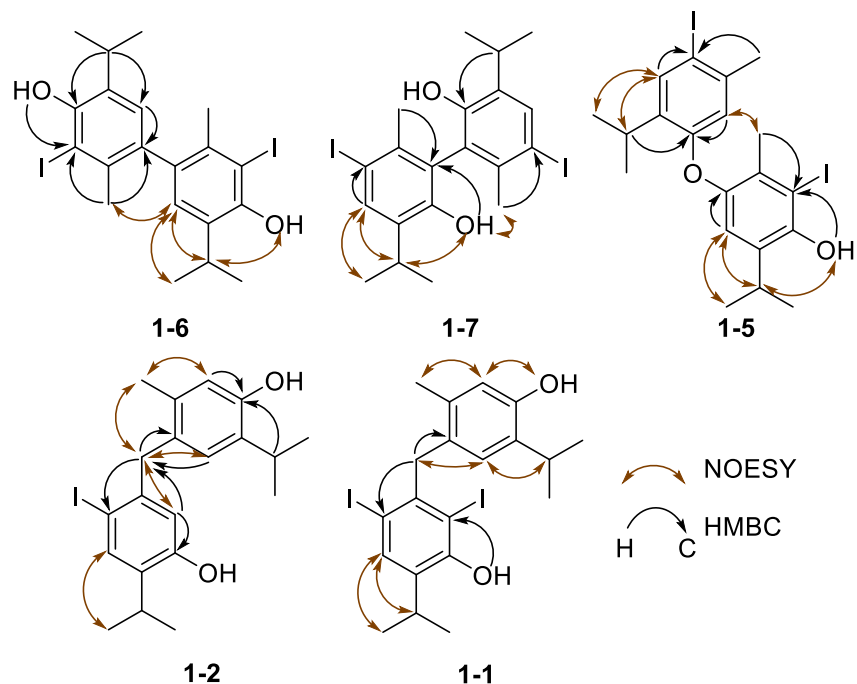
Slika 4.1.2. Maseni spektar jedinjenja **1-6**

je moguće samo ako su atomi joda vezani za različita jezgra. Prisustvo hidroksilne grupe, kao i supstituisanog benzenovog prstena, kod ovog jedinjenja je potvrđeno prisustvom odgovarajućih traka u IR spektru (3480, 1657, 880, 806 cm^{-1}).

^1H NMR spektar jedinjenja **1-6** (tabela 4.1.2) sastoji se od 6 signala, uključujući samo jedan (δ 6,89, singlet) koji odgovara protonu direktno vezanom za aromatično jezgro (Ar–H). Na osnovu ovoga pretpostavljeno je da je **1-6** simetrično jedinjenje, koje sadrži dva identična jodtimolna fragmenta sa direktnim $\text{C}_{\text{Ar}}\text{--}\text{C}_{\text{Ar}}$ kuplovanim benzenovim prstenima. Ova tvrdnja je potvrđena i brojem (10) signala u ^{13}C NMR spektru, od kojih 5 nije direktno vezano za protone. Hemijska pomeranja signala koji su uočeni u ^1H i ^{13}C NMR spektrima podsećaju na signale *o*-jodtimola (**1-4**), pri čemu nedostaje signal za H6, a H5 signal je singlet, što sugeriše *para* C–C kuplovanje u **1-6** (u odnosu na OH grupu) dve *o*-jodtimol jedinice. Položaj atoma joda u sklopu ove jedinice je potvrđen prisustvom korelacije kroz tri veze u grHMBC spektru između širokog singleta na δ 5,53, tj. protona OH grupe, i signala C2 za koji je vezan atom joda (šema 4.1.2); ovaj ugljenik takođe pokazuje ukršteni signal (*cross-peak*) sa protonima na 2,15 ppm (H7, metil grupa).

Tabela 4.1.2. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za jedinjenja **1-1**, **1-2**, **1-5**–**1-7**

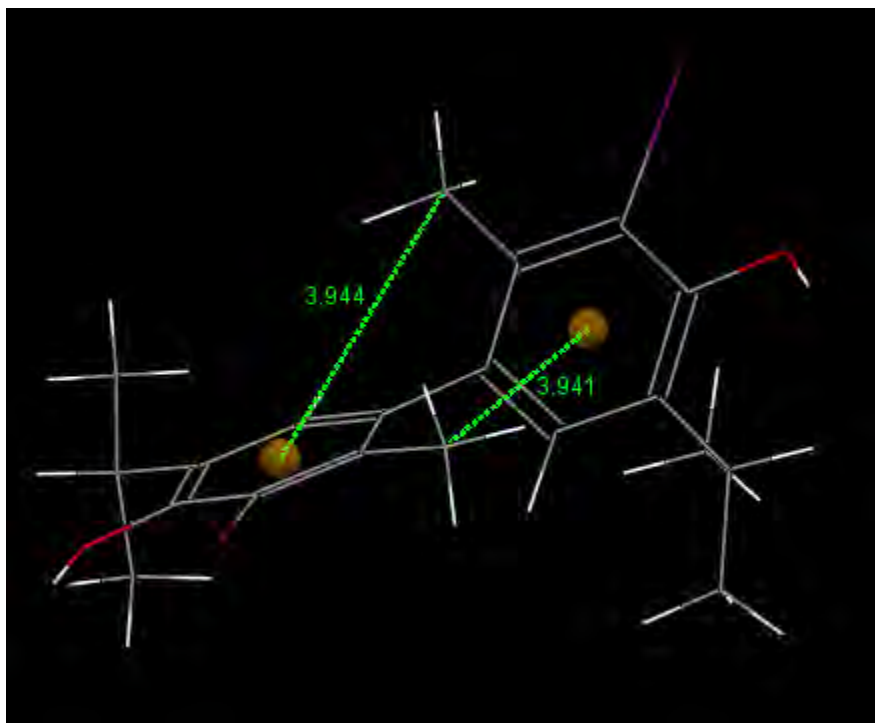
Položaj	1-6		1-7		1-5		1-2		1-1	
	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.	δ_{H} (J u Hz)	δ_{C} , mult.
1		136,8 C		138,1 C		130,9 C		141,6 C		142,3 C
2		95,7 C		120,7 C		95,2 C	6,09, s	116,0 CH		94,4 C
3		150,9 C		151,2 C		148,8 C		153,2 C		152,5 C
4		132,0 C		135,8 C		133,5 C		134,8 C		135,2 C
5	6,89, s	128,1 CH	7,71, s	137,7 CH	6,75, s	118,9 CH	7,59, s	136,7 CH	7,66, s	137,2 CH
6		134,8 C		91,3 C		146,4 C		90,1 C		89,7 C
7	2,15 s	26,4 CH ₃	2,06, s	25,2 CH ₃	2,28, s	22,0 CH ₃	3,80, s	44,0 CH ₂	4,26, s	49,3 CH ₂
8	3,33, sept (7,0)	28,4 CH	3,22, sept (6,9)	27,2 CH	3,29, sept (6,9)	28,6 CH	3,10, sept (7,0)	26,7 CH	3,30, sept (6,9)	28,4 CH
9	1,22, d (7,0)	22,5 CH ₃	1,29, d (6,9)	22,3 CH ₃	1,18, d (6,9)	22,6 CH ₃	1,22, d (7,0)	22,4 CH ₃	1,26, d (6,9)	22,3 CH ₃
10	1,24, d (7,0)	22,6 CH ₃	1,29, d (6,9)	22,3 CH ₃	1,18, d (6,9)	22,6 CH ₃	1,22, d (7,0)	22,4 CH ₃	1,26, d (6,9)	22,3 CH ₃
C3-OH	5,53, br s		4,68, s		5,38, br s		4,73, br s		5,61, br s	
1'		136,8 C		138,1 C		139,7 C		135,4 C		127,3 C
2'		95,7 C		120,7 C	6,31, s	116,0 CH	6,61, s	117,2 CH	6,63, s	117,1 CH
3'		150,9 C		151,2 C		155,9 C		151,4 C		150,8 C
4'		132,0 C		135,8 C		137,2 C		131,8 C		131,3 C
5'	6,89, s	128,1 CH	7,71, s	137,7 CH	7,64, s	136,8 CH	6,89, s	128,5 CH	6,29, s	124,8 CH
6'		134,8 C		91,3 C		92,0 C		129,9 C		134,5 C
7'	2,15, s	26,4 CH ₃	2,06, s	25,2 CH ₃	2,25, s	27,8 CH ₃	2,07, s	19,1 CH ₃	2,33, s	19,5 CH ₃
8'	3,33, sept (7,0)	28,4 CH	3,22, sept (6,9)	27,2 CH	3,34, sept (6,9)	26,8 CH	3,15, sept (7,0)	26,8 CH	3,02, sept (6,9)	26,8 CH
9'	1,22, d (6,9)	22,5 CH ₃	1,29, d (6,9)	22,3 CH ₃	1,27, d (6,9)	22,7 CH ₃	1,22, d (7,0)	22,7 CH ₃	1,14, d (6,9)	22,5 CH ₃
10'	1,24, d (6,9)	22,6 CH ₃	1,29, d (6,9)	22,3 CH ₃	1,27, d (6,9)	22,7 CH ₃	1,22, d (7,0)	22,7 CH ₃	1,14, d (6,9)	22,5 CH ₃
C3'-OH	5,53, s		4,68, s				4,87, br s		4,82, br s	



Šema 4.1.2. Važne HMBC i NOESY interakcije za strukturno određivanje jedinjenja **1-1**, **1-2**, **1-5**, **1-6** i **1-7**

NOESY korelacije između H7 metil-protona sa jednog aromatičnog jezgra i H5' sa drugog jezgra (tj. obrnuto H5 i H7') potvrdili su mesto kuplovanja (C6–C6'). Dodatni podatak koji ide u prilog ovog načina kuplovanja je pomeranje ka jačem polju (kada se uporedi sa odgovarajućim signalom kod jedinjenja **1-4**) metil-protona H7 usled anizotropnog efekta benzenovog jezgra na protone koji se nalaze iznad ravni prstena (slika 4.1.3; H7, 2,15 ppm za **1-6** i 2,41 ppm za **1-4**). Na osnovu svih dobijenih podataka zaključeno je da je struktura jedinjenja **1-6**, simetrični didehidroditimol derivat, 5,5'-diizopropil-3,3'-dijod-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-4,4'-diol.

Metil-grupe iz izopropil-grupe u timolu, monojodovanim timolima i dijdottimolu su enantiotopne tako da je samo jedan signal prisutan za ove CH₃-grupe u njihovim protonskim i ¹³C NMR spektrima. Postojanje hiralne ose u jedinjenju **1-6**, zbog otežane rotacije oko Ar–Ar veze, čini ove metil-grupe međusobno diastereotopnim (unutar izopropil-grupe), tj. postoje 4 različita stereoizomera (dva para enantiomera). Ova očigledna posledica atropizomerije potvrđuje predloženu strukturu **1-6**.



Slika 4.1.3. Uticaj benzenovog prstena na hemijsko pomeranje protona iznad ravni prstena
(jedinjenje **1-6**)

Molekulskom jonu M^+ (m/z 549,9847, $\Delta = -0,0019$ amu) jedinjenja **1-7** odgovara molekulska formula $C_{20}H_{24}I_2O_2$. MS fragmentacija, IR i UV spektri su skoro identični kao kod jedinjenja **1-6**. Tako, broj signala koji potiču od 1H (protona koji su direktno vezani za aromatično jezgro, Ar-H, i signali sledećih grupa: CH_3Ar , $CH(CH_3)_2$ i fenolna OH) i ^{13}C (10 signala) jezgara, zabeleženih u odgovarajućim NMR spektrima, sugerše da je jedinjenje **1-7** simetrični dehidrodimer koji sadrži dva pentasupstituisana benzenova prstena. Metilovanjem ovog jedinjenja nastalo je jedinjenje koje ima masu veću za 28 amu, a što je ukazalo da postoje dve slobodne fenolne OH grupe. Vrednosti hemijskih pomeranja Ar-H (δ 7,71) i OH (δ 4,68) protona su bliske vrednostima odgovarajućih protona kod *p*-jodtimola (**1-9**; δ 7,54; δ 4,74), a što ukazuje na to da su identična *p*-jodtimolna jezgra direktno kuplovana ($C_{Ar}-C_{Ar}$) preko C2/C2' atoma u jedinjenju **1-7**. Prisustvo nOe interakcije između fenolnog protona (OH) sa jednog i H7' metil-protona sa drugog jezgra (šema 4.1.2) dovelo je do konačnog zaključka o načinu kuplovanja benzenovih prstenova u **1-7**; ove interakcije nisu moguće u samo jednom aromatičnom jezgru. Ove i druge važne HMBC i NOESY interakcije (H5-C6, C2-H7 ili C2-OH) za rasvetljenje strukture jedinjenja **1-7**, prikazane su na

šemi 4.1.2. Na ovaj način je izvršena potpuna asignacija signala jedinjenja **1-7** i njemu dodeljena struktura 3,3'-diizopropil-5,5'-dijod-6,6-dimetil-[1,1'-bifenil]-2,2'-diola.

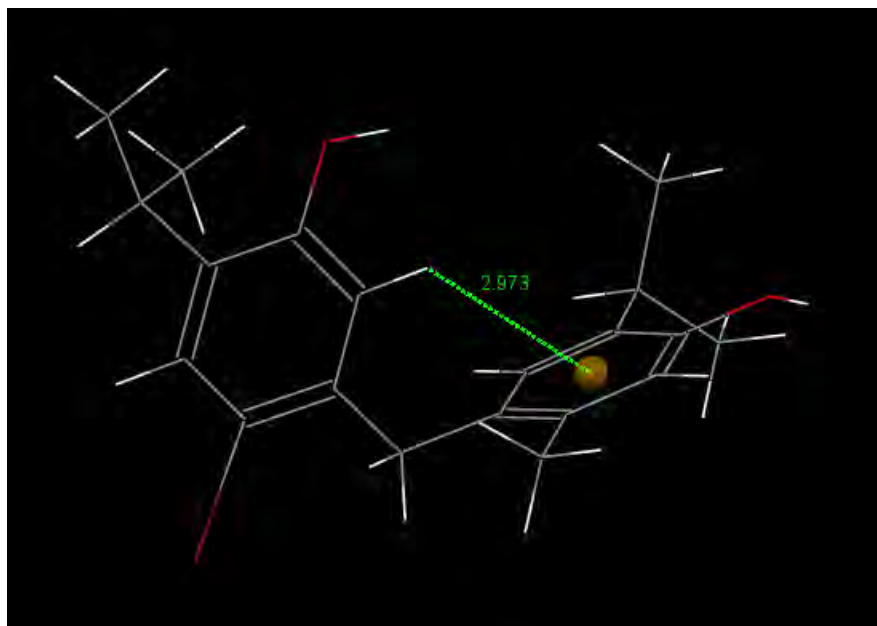
Izolovano je jedinjenje **1-5** ($C_{20}H_{24}I_2O_2$) koje je još jedan izomer jedinjenja **1-6** i **1-7** (molekulski jon na m/z 549,9901, $\Delta = +0,0035$ amu). Iako su IR i UV spektri (na osnovu kojih je zaključeno prisustvo aromatičnog jezgra i/ili OH grupe) bili slični spektrima dva pomenuta jedinjenja, fragmentacija u masenom spektru se značajno razlikovala. Prisustvo samo jedne slobodne OH grupe utvrđeno je metilovanjem (jedna CH_3O grupa se pojavila). Mnogo veći broj rezonancija u 1H NMR (ukupno 10; dve različite metil- i izopropil-grupe, tri različita Ar-H protona i jedan izmenljivi OH proton) i ^{13}C NMR spektrima (ukupno 18 signala; signali izopropil-grupe bili su izohroni) upućivao je na to da je jedinjenje **1-5** proizvod kuplovanja ili dva neidentična jodtimola ili dva identična jodtimola koja su asimetrično vezana. Vrednosti hemijskih pomeranja i multipliciteta Ar-H rezonanci (singleti na δ 6,31, 6,75 i 7,64) sugerisale su da nije bilo Ar-H protona koji su međusobno u *orto* položaju i da je samo jedan proton bio u *orto* položaju u odnosu na atom joda (δ 7,64, H5'; slika 4.1.1, fragment *p*-jodtimola). HMBC-korelacije između C2 ugljenika na δ 95,2 (niže hemijsko pomeranje u odnosu na odgovarajući ugljenikov atom kod timola zbog veze sa jodom), i vodonika iz C3–OH, na δ 5,38, ukazivale su da jedinica *o*-jodtimola sadrži slobodnu OH grupu (visoka vrednost hemijskog pomeranja C3–OH protona potvrđivala je ovu pretpostavku, slika 4.1.1). Tri sp^2 -hibridizovana ugljenikova atoma (δ 146,4 (C6), 148,8 (C3) i 155,9 (C3')) direktno su bila vezana za kiseonikov atom. Kako je ovo moguće samo ukoliko su aromatična jezgra povezana preko kiseonikovog atoma ($C_{Ar}-O-C_{Ar}$), zaključeno je da je jedinjenje **1-5** proizvod kuplovanja *o*-jodtimola i *p*-jodtimola preko kiseonikovog atoma *p*-jodtimola. Ova pretpostavka dodatno je potvrđena pomoću HMBC-korelacije između H2'-C6' (na 6,31 i 92,0 ppm), H5-C6 i H5-C3 (na 6,75, 146,4 i 148,8 ppm). Takođe, uočena je i NOESY-interakcija dva signala koja potiču sa različitih aril-grupa, na δ 6,32 (H2') i 2,28 (H7) što ukazuje na to da su ovi protoni prostorno bliski (šema 4.1.2). Na osnovu toga određeno je da je jedinjenje **1-5** 6-izopropil-4-(2-izopropil-4-jod-5-metilfenoksi)-2-jod-3-metilfenol.

Na osnovu molekulske formule, utvrđeno je da je jedinjenje **1-2** monojod-derivat dehidroditimola ($C_{20}H_{25}IO_2$; na osnovu HRMS, $[M]^+$ je na m/z vrednosti 424,0871, $\Delta = 0,0028$ amu), sa dve slobodne OH grupe (u IR spektru uočena je široka traka na 3365 cm^{-1} i dva izmenljiva protona na 4,73 i 4,87 ppm koja nisu bila u blizini atoma joda, šema 4.1.1). Tip kuplovanja aromatičnih

jezgara u jedinjenju **1-2** utvrđen je iz 1D- i 2D-NMR spektara. Pored signala za CH₃-Ar (singlet na δ 2,07, sa integralom 3), neočekivano je uočen i signal jedne CH₂ grupe (singlet na δ 3,80, sa integralom 2). DEPT135 eksperiment je potvrdio prisustvo CH₂ grupe na relativno visokom hemijskom pomeranju (δ 44,0), što je ukazivalo na to da je ova grupa povezana za dva aromatična prstena (hemijsko pomeranje odgovarajućih metil-protona iz **1-1-1-9** je od 19,1 do 35,2 ppm). Na osnovu ovoga, zaključeno je da je jedinjenje **1-2** proizvod neobičnog benzilnog (C_{Ar}-CH₂-C_{Ar}) kuplovanja timola i izomera jodtimola. S obzirom na to da se svi Ar-H protoni javljaju kao singleti može se zaključiti da je C7 iz fragmeta *p*-jodtimola vezan za C6' nesupstituisanog timola. C_{Ar}-CH₂-C_{Ar} kuplovanje preko CH₃ timola bi dalo proizvod sa parom Ar-H protona koji su u *orto* položaju. Rezultati HMBC i NOESY eksperimenata slagali su se sa ovom hipotezom. U HMBC spektru metilenski H7 protoni su korelisali sa C1 (141,6 ppm), C2 (116,0 ppm), C6 (90,1 ppm; direktno vezan za atom joda), C1' (135,4 ppm), C5' (128,5 ppm) i C6' (129,9 ppm) (šema 4.1.2). NOESY-interakcije između H7-H5', H7-H7' i H7-H2 dodatno su potvrdile strukturu jedinjenja **1-2** (4-(5-hidroksi-4-izopropil-2-jodbenzil)-2-izopropil-5-metilfenol). Vrednosti hemijskih pomeranja vodonika C3-OH (δ 4,73) i C3'-OH (δ 4,87) pratili su isti trend kao i u slučaju jedinjenja **1-1-1-8** (slika 4.1.1).

Jedini preostali proizvod kuplovanja izolovan u čistom stanju bio je takođe izomer jedinjenja **1-5**, **1-6** i **1-7**. Na osnovu protonskog i DEPT135 spektara zaključeno je da je jedinjenje **1-1** takođe bilo proizvod kuplovanja timola tipa C_{Ar}-CH₂-C_{Ar} (rezonancije metilenske grupe u ¹H i ¹³C NMR spektrima nalazile su se na δ 49,3 (C7) i 4,26 (H7); signali svih Ar-H protona su singleti), ali sa dva atoma joda u strukturi (C₂₀H₂₄I₂O₂; na osnovu HRMS, [M]⁺ ima vrednost *m/z* 550,9845, Δ = 0,0021). Uočeno je daljinsko C-H kuplovanje metilenskih protona i ugljenika na δ 94,4 i 87,7 (ovako niske vrednosti hemijskih pomeranja ukazivale su da su za ove ugljenike vezani atomi joda). U isto vreme nisu uočene HMBC-korelacije između Ar-CH₃ i pomenutih jodovanih ugljenika. To ukazuje da su oba atoma joda vezana za isto aromatično jezgro. Prisustvo HMBC-interakcija između signala na δ 7,66-89,7 (H5-C6), 7,66-94,4 (H5-C2), 7,66-152,5 (H5-C3), 5,61-152,5 (C3-OH-C3) ili 5,61-94,4 (C3-OH-C2), bilo je u skladu sa ovom pretpostavkom. NOESY-korelacije između H-atoma na δ 4,26 (H7) i 6,29 (H5') i između H2' i C3'-OH (δ 4,82) potvrdile su tip kuplovanja kod jedinjenja **1-1**. Na osnovu svih ovih podataka zaključeno je da struktura jedinjenja **1-1** odgovara 3-(4-hidroksi-5-izopropil-2-metilbenzil)-6-izopropil-2,4-dijodfenolu.

Kako bismo dobili dodatnu potvrdu za strukturu sastojaka aristola, geometrije jedinjenja (1-1)–(1-7) i 1-9 su optimizovane da odgovaraju globalnim minimumima energije, a zatim su izračunata hemijska pomeranja jezgara ^1H i ^{13}C (*GIAO* metoda; B3LYP/6-31G++(p,d) nivo teorije; Jain i sar., 2009). Da bi proverili ovu metodu isto je urađeno i za timol (1-8). Izračunate vrednosti pomeranja $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -signala timola dobro su se slagale sa eksperimentalno određenim vrednostima (korelacioni koeficijenti, R^2 , između tih vrednosti bili su 0,99 (za ^{13}C) i 0,97 (^1H)), iako su one bile nešto precenjene (za oko 10 ppm u slučaju ugljenika, tj. 0,2 ppm u slučaju pomeranja protona). Isti je bio slučaj i kod preostalih jedinjenja (vrednosti koeficijenata korelacije, R^2 , bile su veće od 0,93; najveća razlika između izračunatih i eksperimentalnih vrednosti pomeranja uočena je za polarne (OH protone) i ugljenikove atome za koje su vezani atomi joda). Ove vrednosti predstavljaju još jednu dodatnu potvrdu tipa supstitucije i/ili kuplovanja kod pomenutih jedinjenja. Na primer, izračunate i eksperimentalne vrednosti ^1H NMR hemijskih pomeranja Ar-H za jedinjenja 1-2–1-4, 1-8 i 1-9 prikazana su u tabeli 4.1.3. U optimizovanoj konformaciji jedinjenja 1-2 (energetski minimum); H2 je smešten tačno iznad prstena drugog aromatičnog jezgra tj. unutar „shielding“ konusa (slika 4.1.4). Međutim, usled (barem delimične) konformacione slobode u nizu veza C1–C7–C6' moguće su konformacije u kojima jezgro H2 nije pod ovakvim uticajem drugog aromatičnog prstena, stoga nije iznenađujuće da je „shielding“ efekat (efekat zaklanjanja) H2 u jedinjenju 1-2 bio manji od izračunatog (tabela 4.1.3). Za sve ostale protone sa aromatičnog jezgra razlika između izračunatih i eksperimentalnih vrednosti hemijskih pomeranja bila je manja od 0,3 ppm. Sličnosti i razlike izračunatih vrednosti odgovarajućih jezgara iz jedinjenja 1-1–1-7 i 1-9 (vrednosti se slažu sa eksperimentalnim) potvrđuju da se jedinjenje 1-2 sastoji od monomernih jedinica timola i *p*-jodtimola, povezanih preko metilenske grupe.

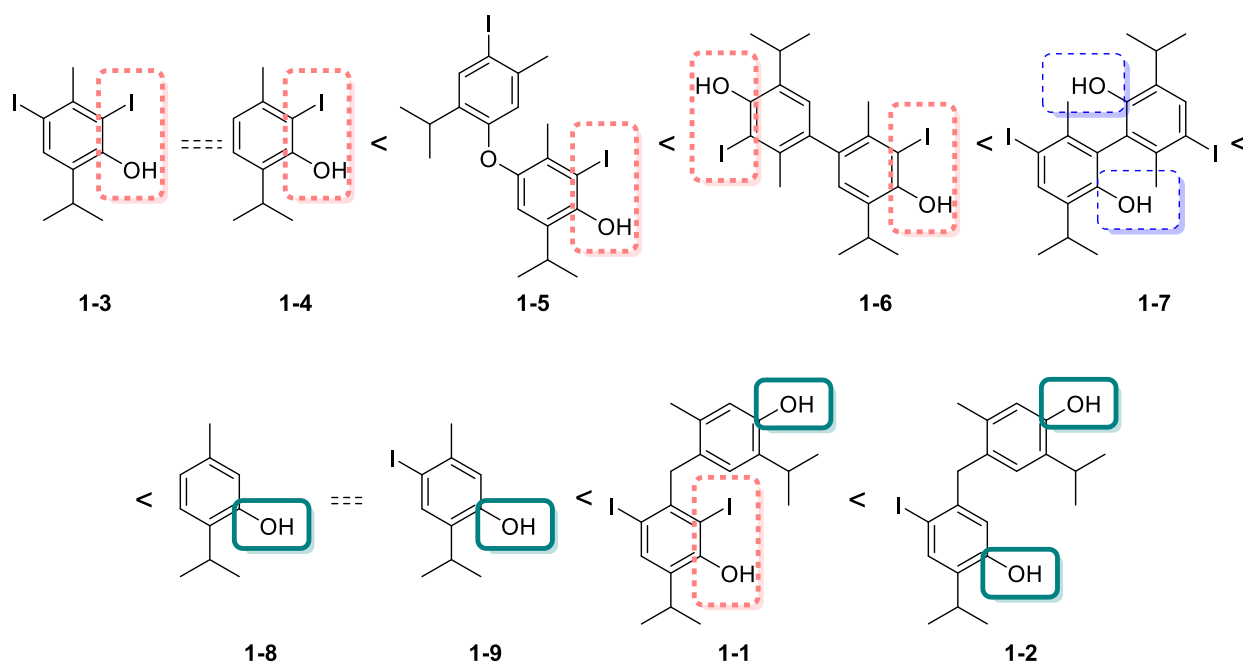


Slika 4.1.4. Optimizovana konformacija jedinjenja **1-2** (B3LYP/6-31G++(p,d) nivo teorije)

Tabela 4.1.3. Izračunate (izrač.) i eksperimentalne (eksp.) vrednosti hemijskih pomeranja određenih protona

Položaj	1-8	1-4	1-9	1-3	1-2
	δ , ppm (izrač./eksp.)				
H2	6,64/6,57	/	6,49/6,66	/	5,86/6,09
H5	7,32/7,08	7,17/7,05	7,33/7,54	7,19/7,57	7,85/7,59
H6	6,97/6,73	6,87/6,81	/	/	/
H2'	/	/	/	/	6,55/6,61
H5'	/	/	/	/	6,99/6,89

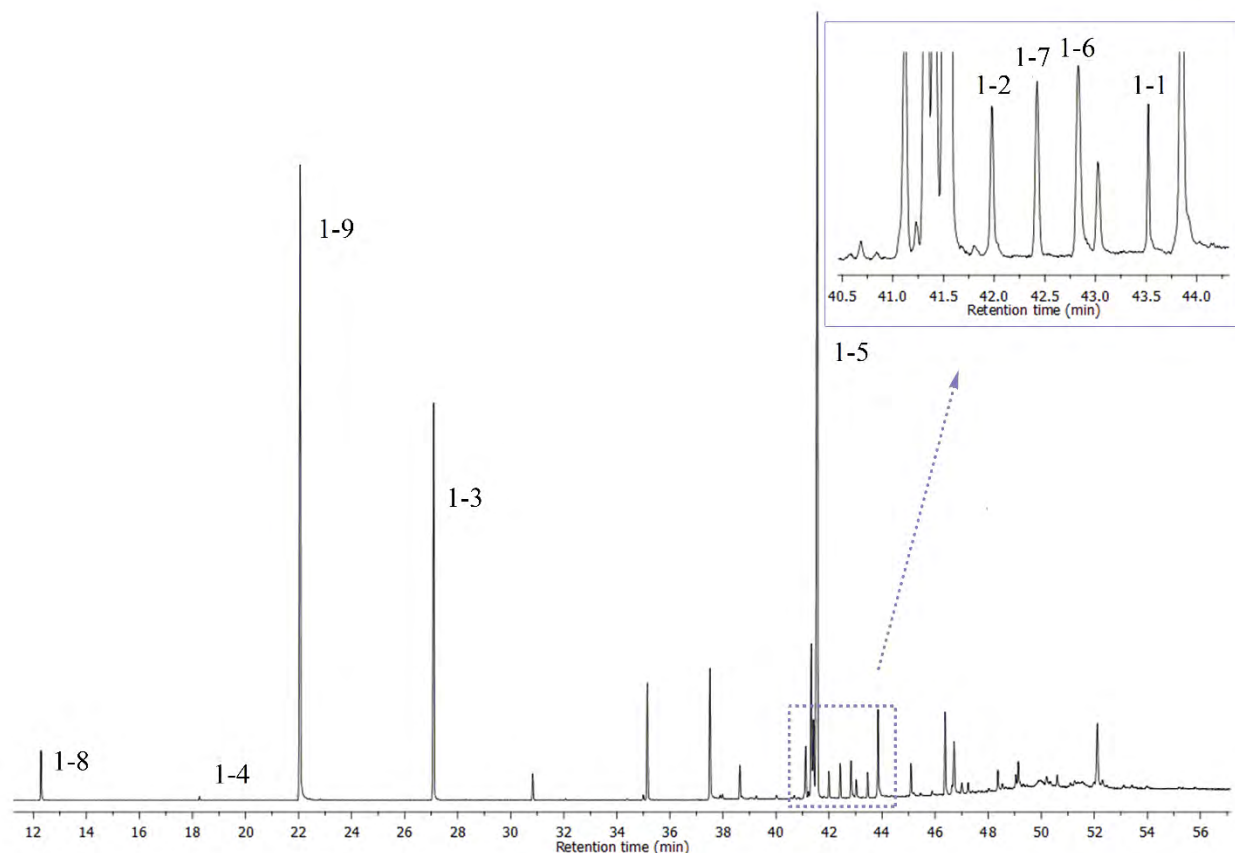
Jedinjenja **1-1–1-7** i **1-9** razlikovala su se (međusobno i od ostalih sastojaka prisutnih u aristolu) po polarnosti i dostupnosti OH grupa za intermolekulska vodonična vezivanja sa SiO₂ stacionarnom fazom. Redosled eluiranja (smešom heksana i dietil-etera) sa kolone SiO₂ (šema 4.1.3) bio je još jedan argument koji potvrđuje prethodno određene strukture ovih jedinjenja. Atom joda u *orto* položaju u odnosu na hidroksilnu grupu sterno je ometao vodonično vezivanje sa silanolne (SiOH) grupe sa površine stacionarne faze. Kao rezultat toga, najpre su eluirala jedinjenja **1-3–1-6**. Uvođenjem joda u *para* položaj u odnosu na OH dolazi do povećanja kiselosti hidroksilne



Šema 4.1.3. Redosled eluiranja sastojaka aristola

grupe i do jačanja vodonične veze sa stacionarnom fazom, tj. uočeno je duže hromatografsko zadržavanje jedinjenja ove regiohemije u odnosu na nejodovana i *orto*-jodovana jezgra. Iako jedinjenje **1-7** sadrži dve hidroksilne grupe sa atomima joda u *para* položajima, ovo jedinjenje eluiralo je pre timola, zbog drugačijeg tipa sternog ometanja vodonične veze usled kuplovanja dva aromatična jezgra u blizini OH grupe. Dostupnost dve OH grupe, kao kod jedinjenja **1-2**, čini da molekul ima više mogućnosti za vodonično vezivanje nego kod jedinjenja sa jednom takvom grupom (**1-8**, **1-9** i **1-1**).

Široko posmatrano, hromatografsko razdvajanje aristola, tj. smeše dobijene jodovanjem timola pod alkalnim uslovima, dalo je osam čistih jedinjenja (**1-1–1-7** i **1-9**); pet od ovih jedinjenja (jedan mono- i četiri dijoddidehidroditimola) predstavlja nova jedinjenja formirana oksidativnim kuplovanjem jodtimola (tri različita tipa kuplovanja: $C_{Ar}-O-C_{Ar}$, $C_{Ar}-CH_2-C_{Ar}$ i direktno $C_{Ar}-C_{Ar}$). Međutim, na osnovu tankoslojne hromatografije, uočeno je da su neki sastojci aristola ostali neidentifikovani u većem broju hromatografskih frakcija. Kako bismo pokušali da odredimo identitet još nekih sastojaka aristola, polazna smeša aristola i nerazdvojive frakcije su podvrgnute GC–MS analizi. TIC hromatogram (slika 4.1.5) osnovne smeše je pokazao da je osim jedinjenja **1-1–1-9** prisutan veći broj sastojaka čiji je udeo u smeši iznosio do nekoliko procenata (u odnosu na ukupnu površinu pikova detektovanih jedinjenja); relativne zastupljenosti nekih od ovih



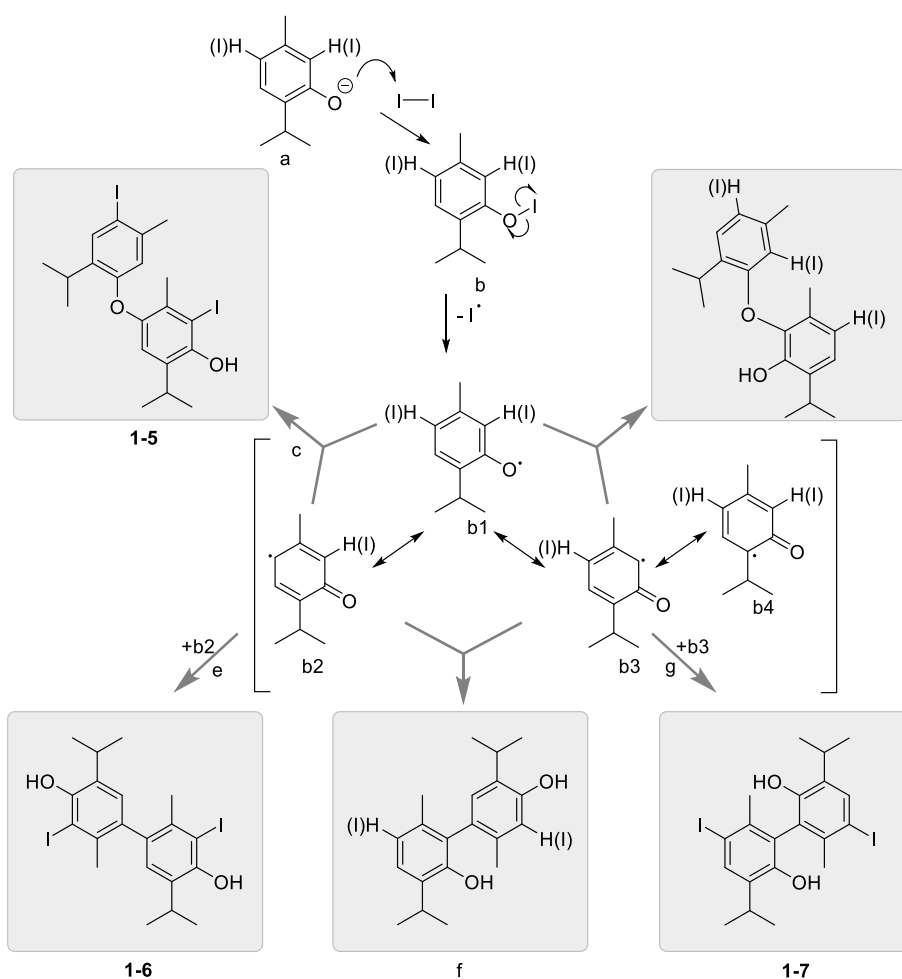
Slika 4.1.5. Ukupni jonski hromatogram aristola

jedinjenja bile su slične ili čak veće od jedinjenja **1-1–1-9**. Sličnosti u MS-fragmentaciji, molekulskim masama i retencionim indeksima ovih neidentifikovanih sastojaka aristola sa jedinjenjima **1-1–1-9** sugerisala je njihovu srodnost, tj. da su i ova jedinjenja proizvodi oksidativnog kuplovanja timola i/ili jodtimola. Kako bismo odredili prirodu pomenutih sastojaka najpre smo razmatrali reakcioni mehanizam ovih kuplovanja kako bismo smanjili broj potencijalnih izomernih struktura.

4.1.2. MOGUĆI MEHANIZAM JODOVANJA-OKSIDATIVNOG KUPLOVANJA TIMOLA

Kao što je već navedeno u opštem delu, pod oksidativnim uslovima arenska jezgra bogata elektronima (fenoli, alkil-aril-etri i slično) mogu podleći reakcijama oksidativnog kuplovanja čime se formiraju aril-aril veze. Dehidrodimerizacija je dvostruka C–H transformacija koja može ići preko nekoliko reakcionih puteva u zavisnosti od prirode supstrata i reagenasa (Whiting, 1991; Waldvogel i Mirk, 2005). Npr. gubitkom jednog protona i jednog elektrona iz molekula timola

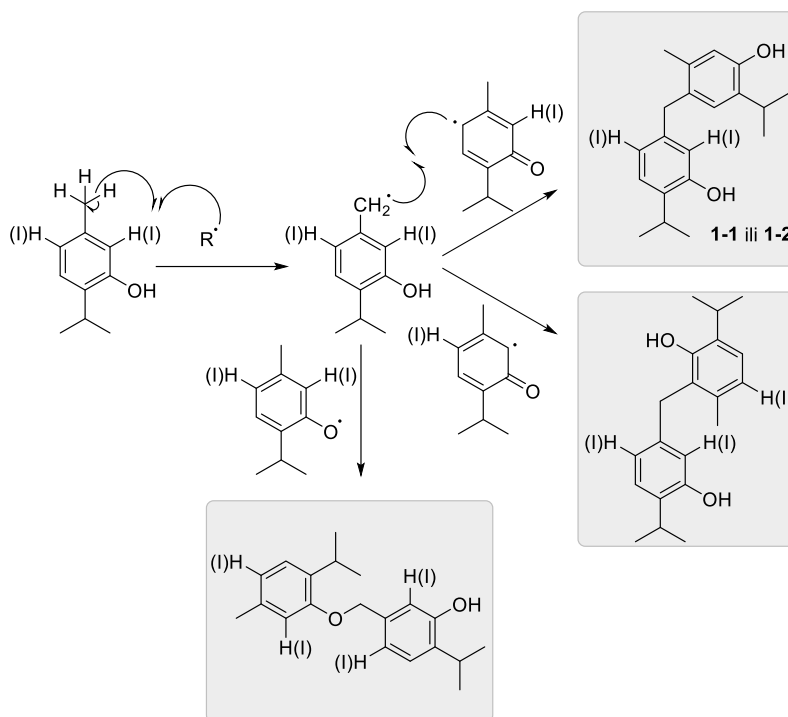
(potencijalno preko intermedijera b, šema 4.1.4, koji se može formirati tretiranjem timola jodom u alkalnoj sredini) najpre se dobija ariloksi-radikal (b1); isto važi i za *orto*- i *para*-jodovane derivate **1-1** i **1-9**. Nespareni elektron je delokalizovan π -sistemom aromatičnog jezgra (rezonantne strukture b2–b4), što čini položaje C2 i C6 (ili čak C4) dodatnim položajima dostupnim za kuplovanje. Rekombinacijom ovih ugljeničnih radikala dobijaju se dimeri koji se u slučaju jedinjenja b2 i b3 brzo tautomerizuju u protičnom rastvaraču do stabilnih proizvoda kuplovanja (e–g). Na ovaj način se može objasniti nastajanje jedinjenja **1-6** i **1-7**. Slično, rekombinacijom kiseoničnih (b1) i ugljeničnih (b2 i b3) radikala dobijaju se Ar–O–Ar proizvodi c i d kuplovanja (ili njihovi jodovani analozi). Jedinjenje **1-5** je najverovatnije nastalo na ovaj način.



Šema 4.1.4. Mogući mehanizam formiranja **1-5** (put c), **1-6** (e) i **1-7** (g)

Nije moguće lako utvrditi da li je došlo do kuplovanja jodovanih radikala ili su atomi joda naknadno uvedeni u proizvode kuplovanja. Međutim, na osnovu odnosa *orto*- i *para*-monojodtimola u reakcionoj smeši, gde je *orto*-jodovanja otežano zbog sternih faktora, čini se da su svi *orto*-supstituisani ditimol-derivati nastali kada više nije bilo drugih dostupnih položaja za jodovanje. Nakon uvođenja jednog atoma joda u molekul, uvođenje drugog bilo je mnogo manje otežano što se može zaključiti na osnovu količine dijodtimola u aristolu. U slučaju jedinjenja **1-5** atom joda je *para* u odnosu na etarsku grupu, što najverovatnije potiče od *para*-jodtimolskog prekursora usled manje nukleofilnosti ariloksi-supstituisanog jezgra u odnosu na fenolat. Takođe, s obzirom na to da je jedinjenje **1-5** bilo glavni sastojak aristola, vrlo je izvesno da je ono formirano iz najzastupljenijeg monojod-derivata timola. Međutim, ne treba odbacivati ni mogućnost da do jodovanja ovih jedinjenja može doći pre i posle kuplovanja.

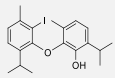
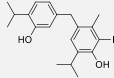
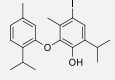
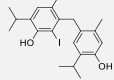
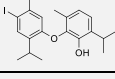
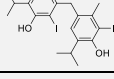
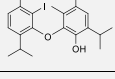
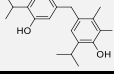
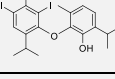
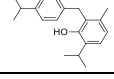
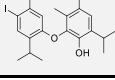
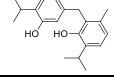
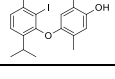
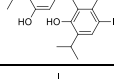
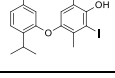
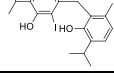
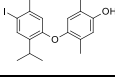
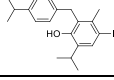
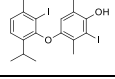
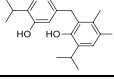
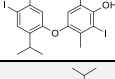
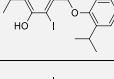
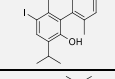
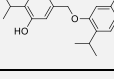
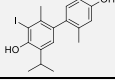
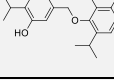
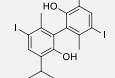
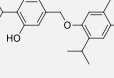
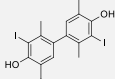
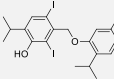
Za razliku od jedinjenja **1-5–1-7**, čini se da su jedinjenja **1-1** i **1-2** nastala oksidativnim bočnim *meta*-kuplovanjem (u odnosu na fenoksi-radikal). Mehanizam formiranja **1-1** i **1-2** najverovatnije se sastojao od početnog formiranja benzilnog radikala koji se zatim rekombinuje sa radikalom tipa b2 čime se dobija proizvod tipa $C_{Ar}-CH_2-C_{Ar}$ (šema 4.1.5). Mehanistički put nastajanja ovih *meta*-kuplovanih proizvoda nije sasvim jasan, dok po nekim autorima, oksidacija na fenolnom kiseoniku i premeštanje vodonika sa benzilnog položaja može da objasni formiranje *orto*-supstituisanih benzil-radikala (Whiting, 1991). Izračunate vrednosti energija disocijacija (D_0) benzilnih C–H veza za timol i mono/dijodtimole bile su relativno niske, približno iste (366–368 kJ mol⁻¹) i u skladu sa prethodno izračunatim ili eksperimentalno određenim vrednostima za slične ugljenične radikale (Blanksby i Ellison, 2003; Hioe i Zipse, 2012). Na osnovu dobijenih vrednosti moguće je spekulirati o postojanju ovakvih benzilnih radikala (do sada nije poznato da se ovakve vrste formiraju prilikom oksidativnih kuplovanja) kao intermedijera u mehanizmu formiranja jedinjenja **1-1** i **1-2**.

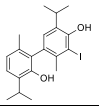
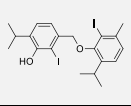
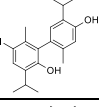
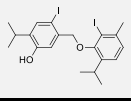
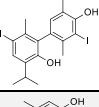
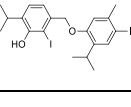
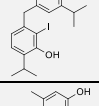
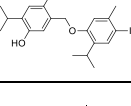
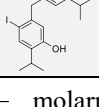
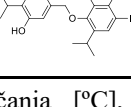


Šema 4.1.5. Mogući mehanizam formiranja **1-1** i **1-2**

Prethodna istraživanja bočnih benzilnih oksidativnih kuplovanja fenola (uključujući i jodovane fenole) bila su ograničena na slučajeve kada je benzilni radikal bio *para* ili *orto* u odnosu na kiseonikov atom (Taylor i Battersby, 1967); u literaturi nismo našli primere oksidativnih *meta*-kuplovanja alkilfenola. U mnogim zabeleženim slučajevima, formiranje $C_{Ar}-CH_2-C_{Ar}$ proizvoda bilo je uočeno samo za supstrate kod kojih $C_{Ar}-C_{Ar}$ ili $C_{Ar}-O-C_{Ar}$ kuplovanje ne vodi ka stabilnim proizvodima, npr. Omura (1984) je primetio da se raspadanjem C–O kuplovanog dimera (nastalog tretiranjem 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenola sa I_2/KOH u metanolu) dobija proizvod $C_{Ar}-CH_2-CH_2-C_{Ar}$ tipa (1,2-bis(3,5-di-*terc*-butil-4-hidroksifenil)etan) (Omura, 1984). Slično, 2,6-dijod-4-metilfenol podleže bočnoj benzilnoj oksidaciji, ali preko metil-grupe u *para* položaju. Može se uočiti da je formiranje jedinjenja **1-1**, $C_{Ar}-CH_2-C_{Ar}$ proizvoda *meta*-kuplovanja b2 sa benzilnim radikalom dobijenim iz *orto*-jodovanog timola, slično (položaji C2, C4 i C6 dijodtimola već su zauzeti tj. nedostupni za kuplovanje praćeno aromatizacijom sa građenjem Omurinog jedinjenja). Međutim, usled formiranja jedinjenja **1-2** (monojod-derivata), postoji slobodan položaj za $C_{Ar}-C_{Ar}$ ili $C_{Ar}-O-C_{Ar}$ kuplovanje, što čini da to nije razlog *meta*-kuplovanja. Da bismo proverili da li drugačiji reakcioni uslovi koje je koristio Omura (1984) favorizuju benzilnu oksidaciju, izvršili smo jodovanje timola (**1-8**) u metanolu umesto u vodenoj sredini. Međutim,

Tabela 4.1.4. Lista svih mogućih kuplovanih proizvoda korišćenih u QSPR analizi, predviđene vrednosti retencionih indeksa i odgovarajuće QSPR promenljive

Struktura jedinjenja	M ^a [g mol ⁻¹]	Tk ^b [°C]	MTI ^c	RIpred ^d	Struktura jedinjenja	M [g mol ⁻¹]	Tk [°C]	MTI	RIpred
	424	445,31	8484	2666		424	468,09	9098	2823
	424	445,31	8524	2670		550	517,04	9570	2923
	424	445,31	8596	2678		550	517,04	9620	2929
	550	494,25	9040	2775		550	517,04	9626	2929
	550	494,25	9106	2782		424	468,09	8914	2804
	550	494,25	9156	2787		424	468,09	8920	2804
	424	445,31	8618	2680		424	468,09	8976	2810
	424	445,31	8646	2683		550	517,04	9430	2909
	424	445,31	8730	2692		550	517,04	9492	2915
	550	494,25	9168	2789		550	517,04	9498	2916
	550	494,25	9284	2801		424	445,31	9506	2773
	424	482,17	7932	2756		424	445,31	9512	2773
	424	482,17	8188	2785		424	445,31	9528	2775
	550	531,12	8454	2864		424	445,31	9640	2787
	550	531,12	8710	2891		550	494,26	10056	2882

	424	482,17	8054	2771		550	494,26	10078	2884
	424	482,17	8066	2772		550	494,26	10084	2885
	550	531,12	8582	2877		550	494,26	10194	2896
	424	468,09	9048	2817		550	517,04	9430	2897
	424	468,09	9054	2818		550	494,26	10206	2897

^aM – molarna masa, ^bTk – predviđena tačka ključanja [°C], ^cMTI – molekularni topološki indeks, ^dRipred – predviđena vrednost retencionog indeksa

promena rastvarača nije imala uticaj na ishod reakcije, dobijeni su isti reakcioni proizvodi, uključujući jedinjenja **1-1** i **1-2**, u sličnom relativnom odnosu.

Na osnovu predloženih mehanizama, prikazanih na šemama 4.1.4 i 4.1.5, logično je očekivati i dodatne rekombinacije nekoliko različitih kiseoničnih i ugljeničnih radikala (uključujući i benzilne radikale) dobijenih iz timola i monojod- i diiodtimola (b1–b3), čime bi se dobio mnogo veći broj proizvoda kuplovanja ($C_{Ar}-C_{Ar}$, $C_{Ar}-O-C_{Ar}$, $C_{Ar}-CH_2-C_{Ar}$, strukture svih mogućih kuplovanih proizvoda date su u tabeli 4.1.4). Rezultati GC–MS analize sirovog aristola bili su u skladu sa ovom pretpostavkom. Pretragom CAS baze utvrdili smo da ni jedno od ovih jedinjenja nije zavedeno, tj. nisu postojali ni MS ni RI podaci pomoću kojih bi se lako odredio njihov identitet.

Poznato je da postoji dobra korelacija između retencionih indeksa jedinjenja slične strukture i njihovih strukturnih osobina (Škrbić i Onjia, 2006). Na primer, QSPR modelovanjem retencionih indeksa alkil-(poli)sulfida uz korišćenje jednostavnih i dostupnih 0D- i 1D-deskriptora identifikovan je veliki broj (novih) jedinjenja u etarskom ulju *Allium ursinum* L. (Radulović i sar., 2015). Iako nije moguće odrediti strukturu jedinjenja samo na osnovu RI, ove informacije uz spektralne podatke (na primer MS) mogu biti dovoljne da se razreše situacije kada postoji veći broj očekivanih struktura. To je upravo bio slučaj sa kuplovanim derivatima (jodovanog) timola iz uzorka aristola. MS podaci (m/z vrednosti molekulskog jona; ujedno i osnovnog jona) korišćeni su za razvrstavanje detektovanih sastojaka aristola u odgovarajuće grupe izomera (npr. monomerne ili dimerne proizvode; monojod-derivate ili diiod-derivate, itd.). Prepostavili smo da ukoliko

razvijemo odgovarajući QSPR model možemo da predvidimo vrednosti retencionih indeksa svih mogućih (regio)izomera iz svake grupe kuplovanih proizvoda (Katritzky i sar., 2000). Poklapanje izračunatih i eksperimentalnih vrednosti RI moglo bi pomoći da se odredi struktura dodatnih sastojaka aristola ili barem smanji broj potencijalnih struktura.

Jedinjenja **1-1–1-9**, za koja su van svake sumnje određene strukture, korišćena su kao polazne tačke u našoj QSPR analizi; broj jedinjenja je bio ograničen, međutim, očekivali smo da ukoliko model funkcioniše (visok R^2 i mala vrednost srednje kvadratne greške RMSE) na tako malom skupu podataka, da ćemo dobiti dobre rezultate kada se primene na ostale proizvode kuplovanja. Zna se da se vrednosti RI dobro korelišu sa (barem) nekim od sledećih deskriptora: izračunata tačka ključanja, kritična zapremina, *Connolly*-jeva zapremina (zapremina molekula nedostupna rastvaraču), particioni koeficijent, *Balaban*-ov indeks, polarna površina molekula, molekulski topološki indeks, molarna refrakcija, *Wiener*-ov indeks, ukupni brojevi atoma ugljenika, vodonika, kiseonika i joda (ukupno 13; mogu se lako izračunati samo na osnovu strukture molekula korišćenjem *ChemBio3D* i *EPISuite* programa; Katritzky i sar., 2000; Zenkevich i Marinichev, 2001; Goodner, 2008). Prilikom razvijanja našeg QSPR modela primenjen je „izostaviti jedan“ (*leave one-out*) pristup unakrsne potvrde. Iako je korelacioni koeficijent dobijen korišćenjem početne grupe podataka bio veoma visok, vrednost RMSE je bila izuzetno visoka (RMSE=270). Srednja apsolutna devijacija vrednosti RI zabeležena na različitim instrumentima, na kolonama iste polarnosti, uz korišćenje istog temperaturnog programa, uglavnom iznosi 10-15 RI jedinica, pa u tom smislu QSPR model koji može da predvidi RI vrednosti sa sličnom preciznošću se može smatrati pouzdanim.

Pretpostavili smo da monomerni (**1-3**, **1-4**, **1-8** i **1-9**) i kuplovani (**1-1**, **1-2** i **1-5–1-7**) proizvodi interaguju različito sa stacionarnom fazom kolone gasnog hromatografa, stoga, napravljen je novi QSPR model od podataka kuplovanih proizvoda. Ovo je rezultovalo značajnim poboljšanjem modela, ali RMSE je i dalje bio veoma visok ($R^2 = 1$, RMSE = 52 RI-jedinice). Mnogi od korišćenih deskriptora sadržavali su slične informacije o molekulu ili se uopšte nisu korelisali sa RI. Stoga su neki od početnih deskriptora eliminisani kako bismo dodatno poboljšali korelaciju. Najbolji rezultati ($R^2 = 0,9997$, RMSE = 1,65 RI jedinica) dobijeni su za model u kom su korišćeni tačka ključanja, molekulski topološki indeks i broj atoma joda po molekulu (tabela 4.1.4). Za ovaj model dobijena je sledeća regresiona jednačina:

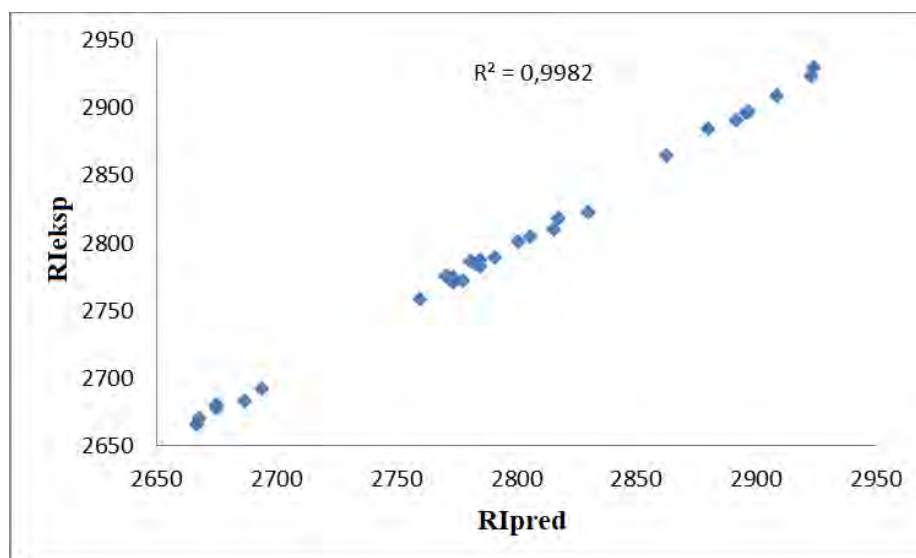
$$RI_{pred} = 116,09 + 4,07Bp + 0,10MTI - 147,55N_i \quad (1)$$

Gde su:

- Bp - predviđena tačka ključanja,
- MTI – molekularni topološki indeks,
- N_i – broj atoma joda

Razlika između predviđenih i eksperimentalnih vrednosti RI bila je jedna RI jedinica ili manje (jedinjenje **1-6** $RI_{eksp} = 2892$, $RI_{pred} = 2890,7$; jedinjenje **1-5** $RI_{eksp} = 2801$, $RI_{pred} = 2800,8$; jedinjenje **1-1** $RI_{eksp} = 2923$, $RI_{pred} = 2923,4$).

Ohrabreni ovim rezultatima odlučili smo da izračunamo RI-vrednosti svih mogućih proizvoda kuplovanja korišćenjem ove jednačine (tabela 4.1.4). Nakon toga su predviđene vrednosti RI (RI_{pred}) mogućih proizvoda kuplovanja upoređivane sa eksperimentalnim (RI_{eksp}) vrednostima za odgovarajuće molekulske mase (tj. m/z vrednosti molekulskog jona). Sve strukture kod kojih je razlika između RI_{eksp} i RI_{pred} (ΔRI) bila veća od 10 RI jedinica bile su odbačene. Za 16 detektovanih sastojaka aristola postojao je samo jedan mogući kandidat sa dobrim slaganjem ovih vrednosti (razlika ovih indeksa bila je između 0 i 6 RI jedinica). Ova jedinjenja su data u tabeli 4.1.5. Vrednost RMSE za skup identifikovanih proizvoda kuplovanja bio je 3,3 RI-jedinice dok je $R^2 = 0,998$ (slika 4.1.6).



Slika 4.1.6. Korelacija između eksperimentalnih retencionih indeksa i izračunatih vrednosti na osnovu jednačine 1

Tabela 4.1.5. Lista kuplovanih sastojaka aristola identifikovanih na osnovu QSPR studije

Broj	Struktura jedinjenja	M ^a [g mol ⁻¹]	R _{le} sp ^b /R _l pred ^c	%	Broj	Struktura jedinjenja	M [g mol ⁻¹]	R _{le} sp/R _l pred ^d	%
1-10 ^d		424	2675/2680	tr	1-23		424	2778/2772	0,2
1-11		424	2687/2683	tr	1-24		424	2806/2804	tr
1-12		424	2694/2692	0,1	1-25		424	2816/2810	tr
1-13		550	2791/2789	2,4	1-26		550	2909/2909	0,5
1-14		424	2667/2666	tr	1-27		424	2830/2823	tr
1-15		424	2668/2670	tr	1-28		550	2924/2929	tr
1-16 ^d		424	2675/2678	tr	1-29 ^f		424	2774/2773	
1-17		550	2771/2775	1,4	1-30 ^f		424	2774/2773	
1-18 ^e		550	2785/2782	4,2	1-31 ^f		424	2774/2775	
1-19 ^e		550	2785/2788	4,2	1-32		424	2781/2787	tr
1-20		424	2760/2756	tr	1-33		550	2880/2885	tr
1-21		424	2783/2785	4,2	1-34 ^g		550	2896/2896	1,2
1-22 ^f		424	2774/2771	tr	1-35 ^g		550	2897/2896	1,2

^aM – molarna masa. ^bR_{le}sp – eksperimentalna vrednost. ^cR_lpred – predviđene vrednosti. ^{d-g}QSPR modelom se ne razlikuju strukture koje su označene istim slovom u superskriptu

U slučaju jedinjenja sa $RI_{\text{eksp}} = 2675$ postajala su dva moguća regioizomerna kandidata sa sličnim vrednostima predviđenih retencionih indeksa (jedinjenje **1-10** i **1-16** $RI_{\text{pred}} = 2680$ i 2678). Slično jedinjenja **1-18** ($RI_{\text{pred}} = 2782$) i **1-19** ($RI_{\text{pred}} = 2788$) mogu da budu dobri kandidati za jedinjenje čiji je $RI = 2785$; jedinjenja **1-22** ($RI_{\text{pred}} = 2771$), **1-30** ($RI_{\text{pred}} = 2773$), **1-31** ($RI_{\text{pred}} = 2773$) i **1-32** ($RI_{\text{pred}} = 2775$) mogu da budu sastojak sa $RI = 2774$. Bez obzira na malu razliku u retencionim indeksima (koja je osim u slučaju jedinjenja **1-10** bila manja od RMSE modela) identitet ovih sastojaka aristola ne može da se odredi samo na osnovu QSPR modela.

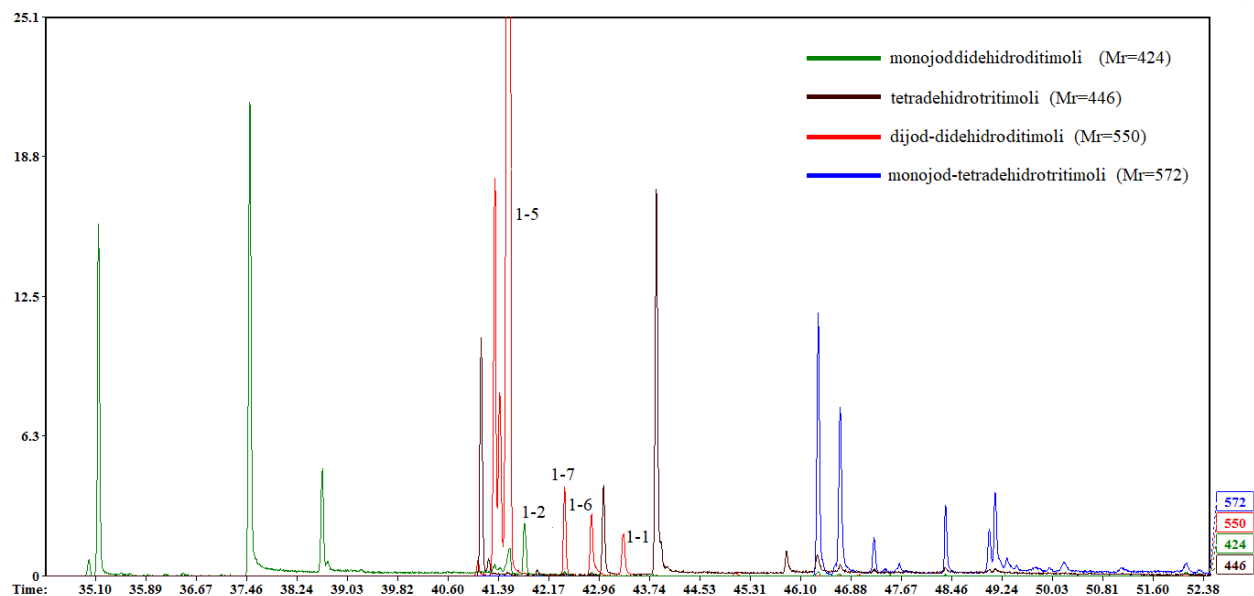
Predviđene vrednosti RI za jedinjenja **1-34** i **1-35** ($RI_{\text{pred}} = 2896$) čini ih odličnim kandidatima za detektovane sastojke čiji su eksperimentalni RI 2896 i 2897. Međutim zbog male razlike u RI nije bilo moguće predvideti koja struktura odgovara kom piku. Na osnovu eksperimentalnih, odnosno izračunatih vrednosti RI mogu se izvesti sledeći zaključci:

- atom joda doprinosi sa oko 105 RI -jedinica;

- vrednosti retencionih indeksa su zavisile od načina kuplovanja (npr. jedinjenja tipa $C_{Ar}-O-C_{Ar}$ imala su niže vrednosti indeksa od odgovarajućih $C_{Ar}-C_{Ar}$)

- jedinjenja izvedena iz *orto*-jodtimola imala su najniže vrednosti RI indeksa unutar grupe jedinjenja sa istim tipom kuplovanja.

Interesantno, pažljivim proučavanjem TIC hromatograma aristola uočeno je prisustvo još pet jedinjenja (1,4% od ukupne površine detektovanih pikova aristola) sa molekulskim jonima na m/z 446 (njihovi maseni spektri bili su međusobno gotovo identični). Njihovi reticioni indeksi ($RI = 2770, 2779, 2906, 2967, 3108$) bili su približni ili značajno veći (oko 100 RI -jedinica) u odnosu na moguće regioizomere monojoddidehidroditimola (molekulska masa = 424, slika 4.1.7). Verujemo da su ova jedinjenja regioizomerni trimeri nejodovanig timola.



Slika 4.1.7. Deo hromatograma aristola (35-52 min)

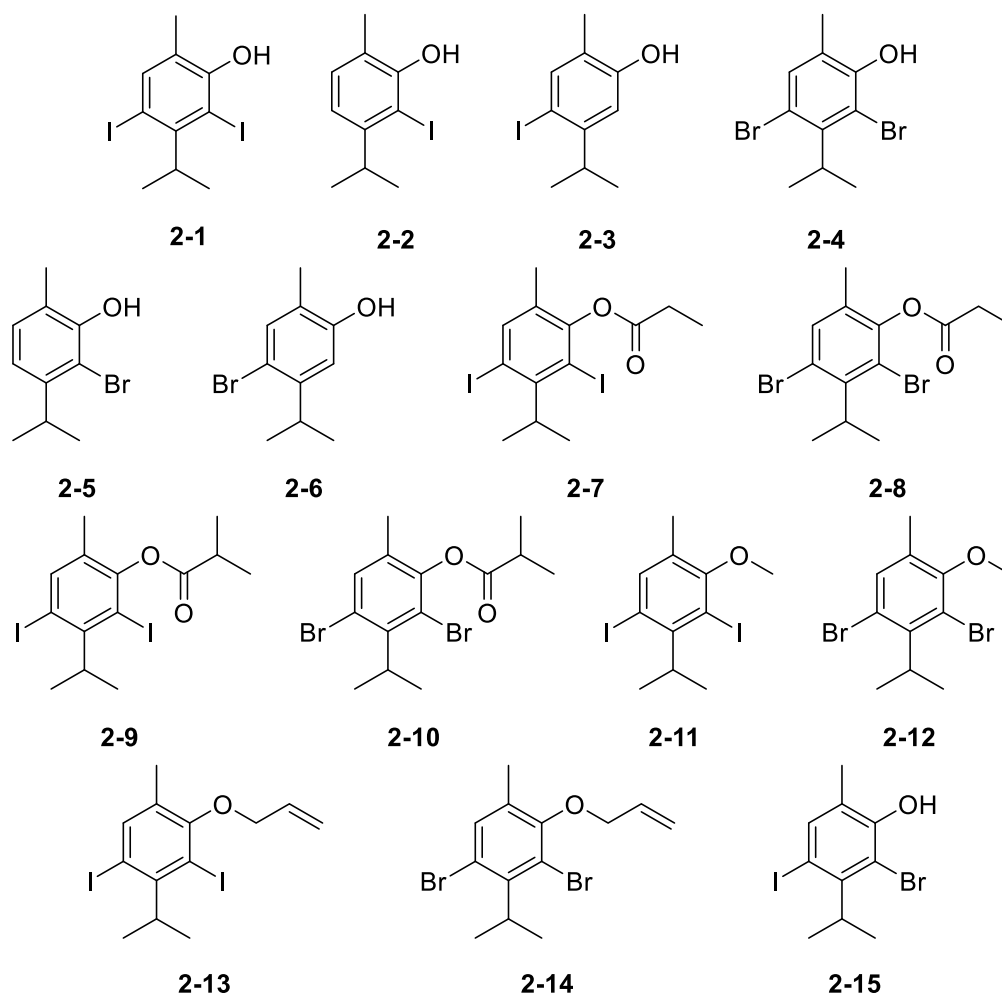
Uz trimere, čini se da pod ovim uslovima jodovanja nastaje i nekoliko regioizomernih monojodtrimeri (molekulski joni na m/z 572; 5,8% od ukupne površine TIC). Nažalost, izvedeni QSPR model nije bio primenljiv na ove proizvode kuplovanja (zbog nedostatka početnih model-jedinjenja) tako da za sada njihov identitet ostaje nepoznat.

4.2. SINTEZA HALOGENOVANIH DERIVATA KARVAKROLA

4.2.1. SINTEZA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA MONOJOD- I DIJOD-DERIVATA KARVAKROLA

Motivisani rezultatima koji su dobijeni proučavanjem reakcije jodovanja timola (opisano u odeljku 4.1), odnosno izolovanjem i identifikacijom novih, neočekivanih derivata timola, reakciji halogenovanja (inicijalno jodovanja) podvrgnut je karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol), regioizomer timola. U literaturi ne postoje eksperimentalni podaci o monojod- i dijod-derivatima karvakrola, odnosno, pretraživanjem CAS baze utvrđeno je da ovi derivati nisu u nju zavedeni. Reakciona smeša, dobijena jodovanjem karvakrola u prisustvu baze, pomoću KI_3 , analizirana je pomoću GC–MS-a, pri čemu je uočeno da uzorak sadrži smešu većeg broja jodovanih derivata karvakrola i neizreagovani karvakrol. Smeša je najpre grubo razdvojena gradijentnom *dry-flash* hromatografijom na koloni silika-gela (kao eluent korišćene su smeše *n*-heksana i dietil-etera), a dobijeno je 6 frakcija koje su spojene na osnovu TLC hromatografije (kao eluent za razvijanje pločica je korišćen 1% (v/v) dietil-etar u *n*-heksanu). Prva frakcija je bila smeša 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenola (**2-1**, šema 4.2.1) i 3-izopropil-2-jod-6-metilfenola (*o*-jodkarvakrola, **2-2**), dok je frakcija 5 sadržala 5-izopropil-4-jod-2-metilfenol (*p*-jodkarvakrol, **2-3**) (oko 90% na osnovu GC–MS-a) i neizreagovani karvakrol. Budući da su jedinjenja **2-1** i **2-2** skoro iste polarnosti (R_f vrednosti iznose 0,7 za *orto*-derivat i 0,8 za dijod-derivat, ukoliko se pločica razvija 1% (v/v) dietil-etrom u *n*-heksanu; razvijanjem pločice u *n*-heksanu ova jedinjenja koeluiraju na R_f oko 0,5), pokušano je razdvajanje gravitacionom hromatografijom na koloni silika-gela eluiranjem *n*-heksanom, međutim, oba jedinjenja su silazila sa kolone u istim frakcijama. Jedino je bilo moguće razdvojiti ova jedinjenja hromatografijom na sefadesku LH-20, pri čemu je bio neophodan veći broj rehromatografija. Samo nekoliko početnih frakcija su predstavljale čist *o*-jodkarvakrol, a nekoliko krajnjih čisto jedinjenje **2-1**. Frakcije su analizirane pomoću GC–MS-a, a u hromatogramima se uočavao samo jedan pik očekivanih jedinjenja, a čiji su maseni spektri odgovarali *o*-jodkarvakrolu i dijod-derivatu. Nakon toga, snimljeni su IR spektri u kojima se uočavaju karakteristične trake koje odgovaraju ispitivanim supstancama (trake na 3451 cm^{-1} OH, 2956 cm^{-1} C-H i 1585 cm^{-1} C=C).

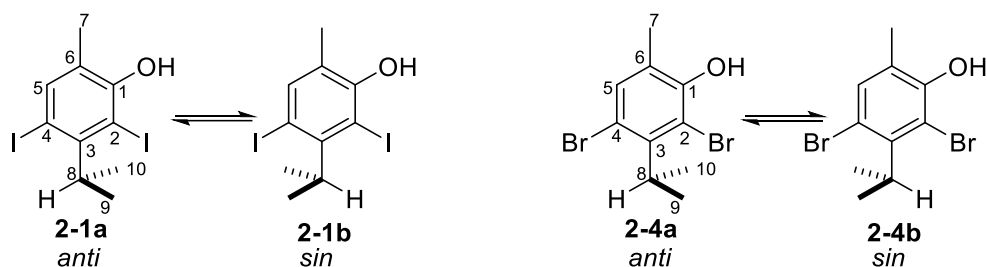
Potvrda struktura sintetisanih jedinjenja je dobijena analizom NMR spektara (1D: 1H i ^{13}C NMR, i eksperimenata selektivnog 1H homonuklearnog dekuplovanja; 2D: grHSQC, grHMBC, gr 1H - 1H -COSY, ROESY i NOESY eksperimenata). Za jedinjenje **2-2**, u 1H NMR spektru je



Šema 4.2.1. Sintetisani jod- i brom-derivati karvakrola

utvrđeno prisustvo svih očekivanih signala: dva protona sa aromatičnog jezgra u *orto* položaju jedan u odnosu na drugi (δ_{H} 6,71 i 7,02, $J = 7,7$ Hz, d ; δ_{C} 117,63 i 130,84), metil- i izopropil-grupa direktno vezanih za aromatično jezgro i fenolne OH grupe (δ_{H} 5,53) (spektralni podaci su dati u poglavlju 3.3.2.1).

Broj signala koji potiču od ^1H (protona direktno vezanih za aromatično jezgro Ar-H, i signala Ar-CH₃, izopropil- i fenolne (OH) grupe) i ^{13}C jezgara vidljivih u odgovarajućim NMR spektrima sugerisao je da snimljeni uzorak **2-1** ne sadrži samo jedno jedinjenje. U ^1H NMR spektru su uočena dva skupa parova signala slične zastupljenosti (tabela 4.2.1): singleti Ar-H protona (δ_{H} 7,62 i 7,63), fenolnih protona (δ_{H} 5,88 i 5,63) i ArCH₃ protona, zatim i signali izopropil-grupe (*septet* za metinsku grupu, i d za metil-grupe).



Šema 4.2.2. Ravnoteža između rotamera kod jedinjenja **2-1** i **2-4**. Dijastereomer **2-1a**, u kome je H8 antiperiplanaran sa C2 ovde će biti nazivan *anti*-izomer, a **2-1b** gde je H8 sinperiplanaran sa C2 nazivaćemo *sin*-izomer.

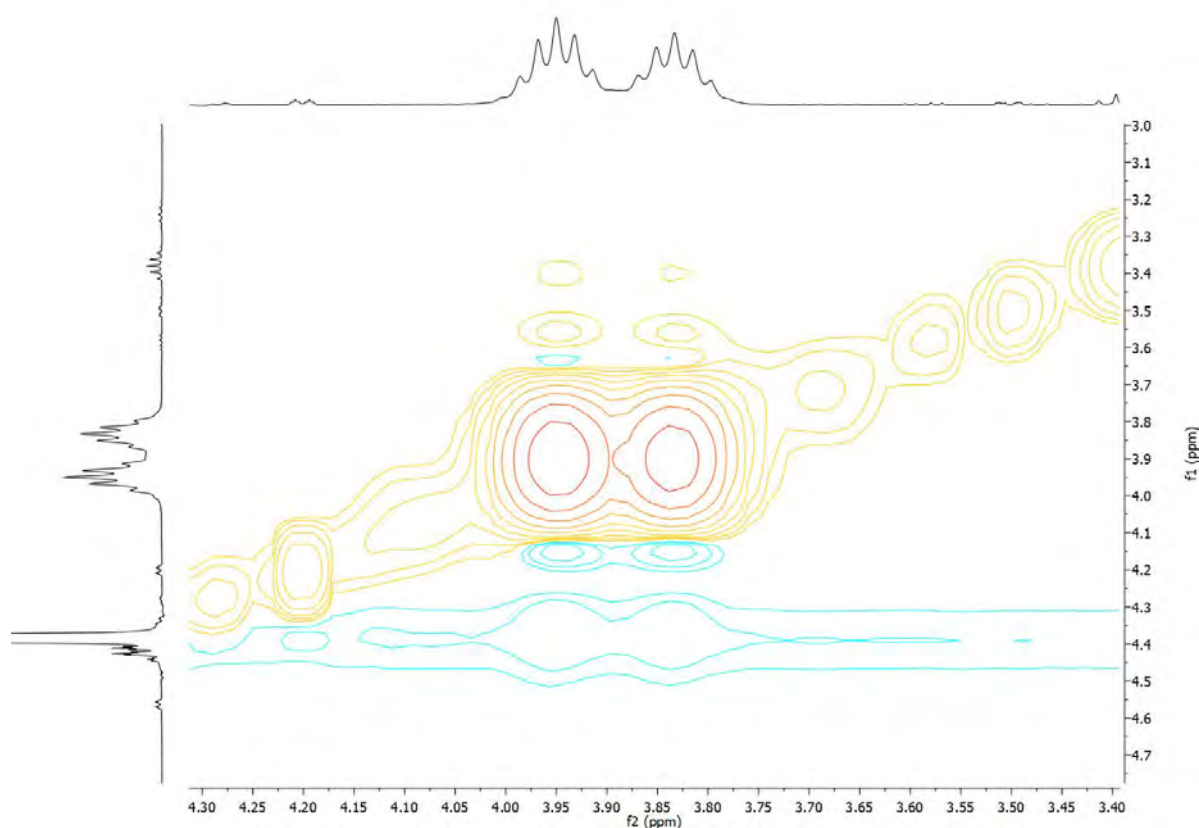
Tabela 4.2.1. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-1** u CDCl_3 i C_6D_6

Položaj	CDCl_3				C_6D_6			
	2-1a		2-1b		2-1a		2-1b	
	δ_{H}		δ_{C}		δ_{H}		δ_{C}	
1 C			153,81	153,11			153,52	154,23
2 C			86,77	98,21			80,86	92,66
3 C			146,40	146,22				146,31
4 C			92,41	80,57			98,49	87,04
5 CH	7,62, s	7,63, s	142,17	144,50	7,46, s	7,44, s	142,70	144,34
6 C				124,50				124,75
7 CH ₃	2,222, s	2,217, s	16,68*	16,39	1,92, s	1,95, s	16,32	16,66
8 CH	3,66, sept (7,3) ^a	3,61, sept (7,3)	43,27*	43,40*	3,59, sept (7,3)	3,77, sept (7,3)	43,75	43,68
9, 10 CH ₃	1,39, d (7,3)	1,40, d (7,2)	19,73	19,78	1,38, d (7,3)	1,30, d (7,3)	19,91	19,79
C1-OH	5,88	5,63			5,96	5,79		

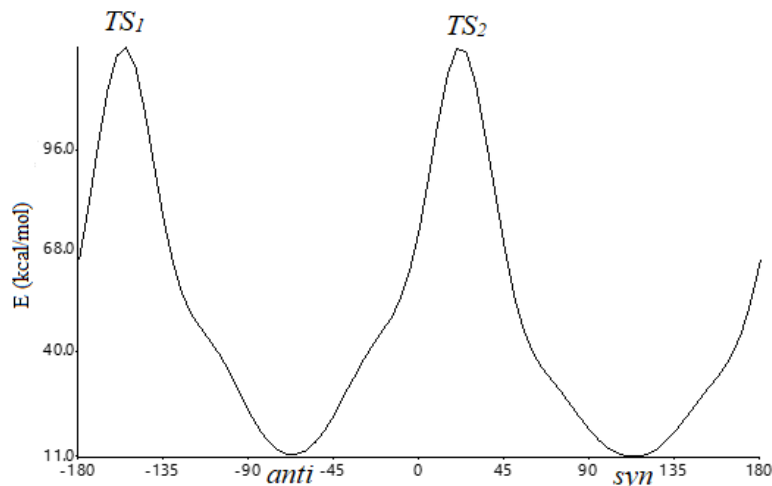
*Zbog bliskih hemijskih pomeranja signala različitih atropizomera, pripisivanje signala određenom izomeru je izvršeno na osnovu njihove zastupljenosti u smeši. ^a Konstante kuplovanja *J* izražene su u Hz.

Pomeranja Ar–H i Ar–OH protona ukazivala su da se oni nalaze u blizini joda. Atomi vodonika H5 i H8 (šema 4.2.2) korelišu se sa oba atoma ugljenika (C2 i C4), ovim i drugim činjenicama čije je tumačenje opisano u odeljku 4.1, potvrđeno je da su atomi joda u *orto* i *para* položajima u odnosu na fenolnu OH grupu. Asignacija ovih ^{13}C NMR signala je izvršena na osnovu interakcije OH protona sa samo jednim C–I iz oba izomera (δ_{C} 86,77, odnosno 98,21). Vodonik H5 koreliše sa atomom ugljenika za koji je vezan atom joda kroz 4 veze. Ovaj efekat je primećen i kod drugih jodarenskih jedinjenja, a opisan je u odeljku 4.1. Takođe, uočena je i daljinska korelacija (kroz 4 veze) između protona Ar–CH₃ grupe i C2 ugljenika (za koji je vezan atom joda), a koji je *orto* u odnosu na fenolnu OH grupu; ova korelacija je vidljiva ukoliko put kuplovanja uključuje veze između atoma za koje je vezan elektronegativni atom (u ovom slučaju je to atom kiseonika iz OH

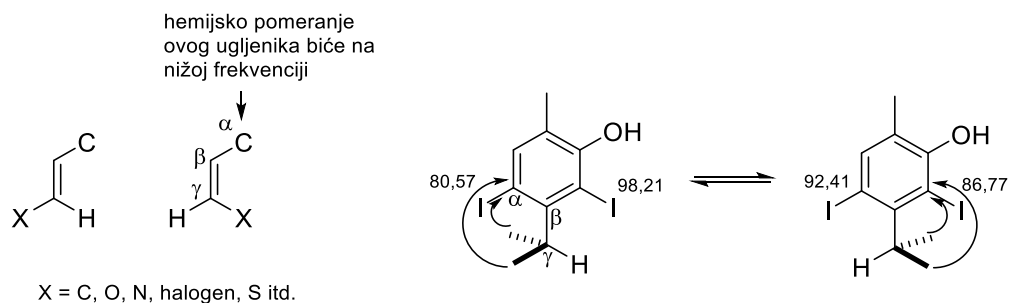
grupe). Zanimljivo je pomenuti da su u grHMBC spektru uočene korelacije između metil-grupe direktno vezane za jezgro i metil-grupa iz izopropil-grupe. Ovde je sprežanje ostvareno kroz 7 veza, a verovatno preko π -sistema aromata i rigidne konformacije. Potpuna asignacija svih signala oba izomera je bila moguća isključivo analizom većeg broja dvodimenzionalnih spektara, npr. hemijska pomeranja vodonika metil-grupa (H9 i H10) dodeljena su određenom rotameru na osnovu interakcija sa protonima H8 u gr¹H-¹H-COSY spektru. U NOESY spektru su uočeni ukršteni signali koji odgovaraju signalima izmene (koji imaju suprotnu fazu u odnosu na fazu signala koja potiče od dipolarnog sprežanja) tj. interkonverzije dva rotamera, npr. hemijska izmena između signala H8 iz dva rotamera (slika 4.2.1).



Slika 4.2.1. Uvećanje NOESY spektra sa signalima izmene (H8) kod smeše atropizomera jedinjenja **2-14**



Slika 4.2.2. Zavisnost energije od torzionog ugla između C3 i C8 izračunato na MM+ nivou (*Chem3DUltra*) dva konformera sa minimumom energije, a gotovo su iste energije tj. stabilnosti.



Šema 4.2.3. Uticaj grupa na hemijsko pomeranje prostorno bliskog atoma ugljenika (γ -efekat).

Prikaz ovog efekta kod jedinjenja **2-1**.

Detaljnou analizom 2D-NMR spektara potvrđeno je da se u smeši nalaze diastereomerni rotameri u deuterohloroformu na sobnoj temperaturi. Nakon ove analize, pokušano je da se ovi diastereomeri preparativno razdvoje (hromatografijom na sefadeksu LH-20 i silika-gelu) ali neuspešno. Interkonverzija ovih diastereomera je najverovatnije brza na temperaturi pri kojoj oni eluiraju sa kolone GC-a, pa se javlja samo jedan pik.

Ako su metil-grupe iz izopropil-grupe orijentisane ka OH grupi (*anti*-izomer), odnosno na suprotnu stranu (*sin*-izomer) (slika 4.2.2), one značajno utiču na hemijska pomeranja C-I, tj. one utiču na hemijska pomeranja atoma u svojoj blizini (šema 4.2.3). Ovo bi predstavljalo γ -efekat. γ -Efekat se može definisati kao zamena vodonika atomom X na drugom atomu ($*C-C-C-H \rightarrow *C-C-C-X$) i poznat je za veliki broj (C, N, O, halogen, S itd) supstituenata X kao što je na šemi

prikazano (šema 4.2.2). Postoji jaka zavisnost ovog efekta od rastojanja (*sin* γ -efekat, γ -goš efekat), pa se on može iskoristiti za određivanje stereochemije. Usled *sin* γ -efekta dolazi do pomeranja ka nižim frekvencijama ($\Delta\delta$ je negativno). Ovaj efekat je uglavnom nezavisan od prirode grupa koje se nalaze na putu između atoma, γ -supstituent. Ukoliko je $X = CH_3$ dolazi do smanjenja hemijskih pomeranja za oko 6 ppm, a ako su X i C^* prostorno bliski, za aciklične sisteme γ_C -efekat iznosi oko -2 ppm. Ukoliko je γ -atom blizu ugljenika kod jednog izomera, a dalje kod drugog, hemijsko pomeranje ugljenika kod prvog izomera biće niže (šema 4.2.3, Kleinpeter i Seidl, 2005).

Posmatrajući hemijska pomeranja atoma ugljenika za koje je vezan jod kod oba rotamera (sp^2 - sp^3 atropizomera), može se uočiti ovakav uticaj metil-grupa. Razlika u hemijskim pomeranjima za C-I u jednom i drugom atropizomeru iznosi 11,44 ppm, odnosno 11,84 ppm (šema 4.2.3) u zavisnosti od položaja metil-grupa, što je u skladu sa predviđenim uticajem iz literature. Ove vrednosti su u skladu sa vrednošću uticaja metil-grupa na smanjenje hemijskog pomeranja od 6 ppm po jednoj metil-grupi. Navedeni uticaji za smanjenje hemijskih pomeranja ugljenika kod različitih izomera su bili od velike koristi prilikom određivanja o kom izomeru je reč. Na osnovu izloženog, zaključeno je da par signala C-I (C2 i C4) sa najmanjim i najvećim pomeranjem pripadaju *sin* izomeru, a dva signala koja su preostala pripadaju *anti* izomeru (šema 4.2.2).

Potvrda o postojanju atropizomera je izvršena na sledeći način:

- derivatizacijom 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenola, sintezom etara i estara, kao i sintezom bromovanih analoga (2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenola, i takođe njegovih estara i etara), i mešoviti dihalogenovani karvakrola koji sadrže i atom broma i joda; pri čemu je uočena ista pojava
- snimanjem spektara smeše atropizomera u različitim NMR rastvaračima (pored $CDCl_3$ korišćeni su $DMSO-d_6$ i $benzen-d_6$); došlo je do promene i njihovih pomeranja i promene u relativnoj zastupljenosti (tabele 4.2.1 i 4.2.2)
- određivanjem temperature koalescencije
- izračunavanjem aktivacionih parametara za rotacionu barijeru na osnovu kvantnomehaničkih proračuna na B3LYP/6-311G(d,p) nivou teorije za 298 K.

4.2.2. DERIVATI 3-IZOPROPIL-2,4-DIJOD-6-METILFENOLA I DRUGIH HALOGENOVANIH KARVAKROLA

Određivanje strukture i analiza NMR spektara derivata 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenola i bromovanih karvakrola, vršena je analogno kao za atropizomere jedinjenja **2-1**. Najpre je izvršeno bromovanje karvakrola, da bismo ispitali kako smanjenje voluminoznosti atoma oko izopropil-grupe, menja vrednost rotacione barijere između atropizomera. 2,4-Dibrom-3-izopropil-6-metilfenol (**2-4**) je takođe pokazao dva atropizomera u NMR spektrima na sobnoj temperaturi u CDCl₃ (šema 4.2.2, tabela 4.2.2). Ovoga puta razlika u hemijskim pomeranjima ugljenika za koji je vezan brom u jednom i drugom atropizomeru, a takav je slučaj i kod drugih bromovanih derivata, bila je manja i iznosila je 3,96, odnosno 3,74 ppm. Na osnovu integrala ¹H NMR spektra odnos ovih atropizomera je bio 52,38:47,62 (tabela 4.2.3).

Izvršena je derivatizacija jedinjenja **2-1** i **2-4**. Na ovaj način se menja *meta*-potporna grupa, i u svim slučajevima veća je nego kod samih fenola, tako da je veće guranje sa atomom joda/broma.

Sintetisani su estri propanske i izobuterne kiseline **2-7–2-10** (šeme 4.2.4 i 4.2.5, tabele 4.2.4 i 4.2.5). Na osnovu NMR spektara utvrđeno prisustvo dva atropizomera kod svih derivata u međusobnim odnosima datim u tabeli 4.2.3.

Tabela 4.2.2. ¹H (400 MHz) i ¹³C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-3** u CDCl₃ i DMSO-*d*₆

Položaj	CDCl ₃				DMSO- <i>d</i> ₆			
	2-4a	2-4b	2-4a	2-4b	2-4a	2-4b	2-4a	2-4b
	δ_H		δ_C		δ_H		δ_C	
1 C			150,59	149,78			152,40	151,54
2 C			111,20	114,94			112,15	116,06
3 C			141,59	141,50			141,26	
4 C			115,49	111,49			114,49	110,70
5 CH	7,31, s	7,27, s	134,09	135,79	7,38, s	7,33, s	135,09	135,09
6 C			124,52				126,15	126,02
7 CH ₃	2,23, s		16,25		2,18/2,17, s		16,47	16,39
8 CH	3,84, sept (7,3)	3,75, sept (7,3)	35,88	36,24	3,84, sept (7,3)	3,75, sept (7,3)	35,51	35,04
9, 10 CH ₃	1,41, m	1,41, m	19,51		1,41, m		19,37	
C1-OH	5,96, s	5,79, s			5,96, s	5,79, s		

Tabela 4.2.3. Zastupljenost *sin* i *anti* atropizomera: vrednosti dobijene na osnovu integrala signala u ^1H NMR spektru i vrednosti dobijene kvantnomehaničkim izračunavanjem

Jedinjenja	% sadržaj atropizomera u smeši <i>sin/anti</i> , eksperimentalno određene vrednosti	% sadržaj atropizomera u smeši <i>sin/anti</i> , izračunate vrednosti
2-1	52,16/47,84	51,68/48,32
2-4	52,38/47,62	48,98/51,02
2-7	53,05/46,95	/
2-8	52,15/47,85	/
2-9	55,14/44,86	56,10/43,90
2-10	53,05/46,95	52,85/47,14
2-11	56,71/43,29	57,24/42,75
2-12	45,66/54,34	53,14/46,86
2-13	56,14/43,86	/
2-14	52,38/47,62	/
2-15	18,18/81,82*	15,63/84,37

*Pogledati šemu 4.2.8, koji je atropizomer *sin* a koji *anti*

Kod jodovanih derivata u grHMBC spektrima javljaju se korelacije H5 vodonika sa oba atoma ugljenika za koji je vezan jod, a zbog čega se ne može izvršiti asignacija pomenutih ugljenika. Asignacija signala smeše atropizomera sintetisanih etara **2-11–2-14** izvršena je kao i u prethodnim primerima (šeme 4.2.6 i 4.2.7). Zastupljenost ovih atropizomera data je u tabeli (tabela 4.2.3).

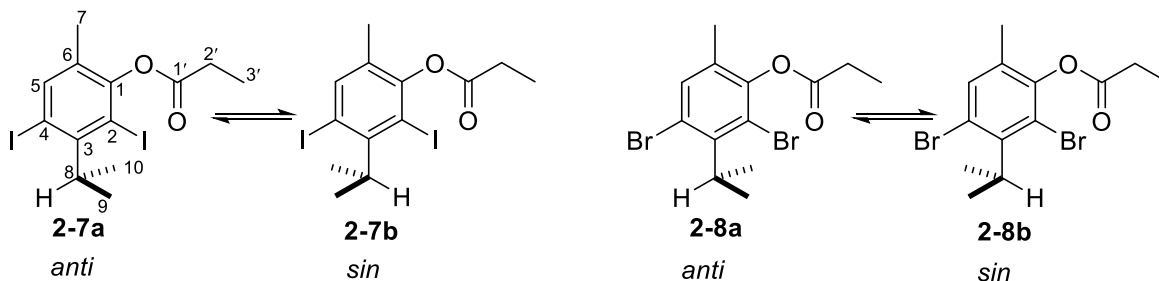
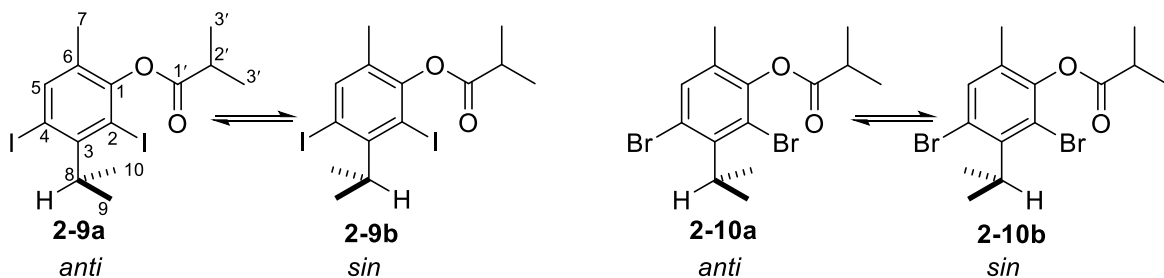


Tabela 4.2.4. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-7** i **2-8** u CDCl_3

Položaj	2-7a	2-7b	2-7a	2-7b	2-8a	2-8b	2-8a	2-8b
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
1 C			151,14	151,21			147,35	146,44
2 C			91,63	103,21			117,85	121,37
3 C			148,21	148,06*			143,30	143,30
4 C			100,89	88,59			122,84	119,02
5 CH	7,776, s	7,781, s	142,25	144,81	7,44, s	7,39, s	134,00	135,85
6 C			130,82*	130,94*			130,99	130,99
7 CH ₃	2,10, s	2,10, s	16,80*	16,56*	2,12, s	2,12, s	16,34*	16,29*
8 CH	3,67, sept (7,3) ^a	3,79, sept (7,2)	43,87	42,96	3,87, sept (7,2)	3,91, sept (7,2)	36,23	35,72
9, 10 CH ₃	1,42, d (7,0)	1,40, d (7,2)	19,86	19,81	1,42, d (7,3)	1,42, d (7,3)	19,41	19,41
1' C			171,47	171,43*			147,37	147,37
2' CH ₂	2,69, q (7,6)	2,68, q (7,6)	28,07	28,14*	2,67, q (7,6)	2,67, q (7,6)	27,46	27,46
3' CH ₃	1,32, t (7,6)	1,32, t (7,6)	9,22	9,22	1,32, t (7,6)	1,32, t (7,6)	9,13	9,13

*Zbog bliskih hemijskih pomeranja signala različitih atropizomera, pripisivanje signala određenom izomeru je izvršeno na osnovu njihove zastupljenosti u smeši. ^aKonstante kuplovanja *J* izražene su u Hz.

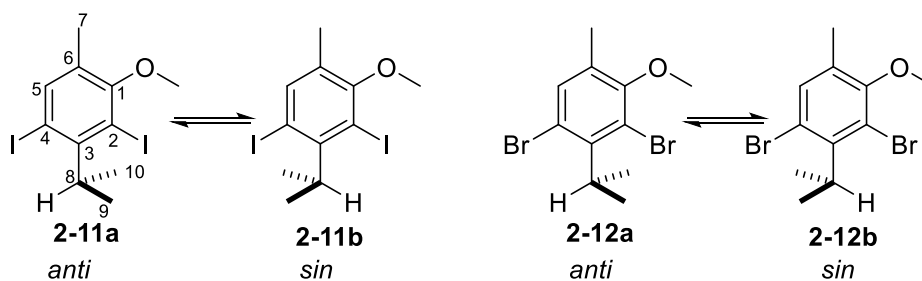


Šema 4.2.5. Ravnoteža između rotamera kod jedinjenja **2-9** i **2-10**.

Tabela 4.2.5. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-9** i **2-10** u CDCl_3

Položaj	2-9a	2-9b	2-9a	2-9b	2-10a	2-10b	2-10a	2-10b
	δ_{H}		δ_{C}		δ_{H}		δ_{C}	
1 C			150,89	149,97*			147,27	146,37
2 C			91,47	103,04			117,87	121,38
3 C			147,99	147,85			143,30	143,30
4 C			100,61	88,34			122,76	118,96
5 CH	7,766, s	7,772, s	144,61	142,06	7,43, s	7,39, s	134,0	135,84
6 C			130,52	130,65*			130,94	130,94
7 CH ₃	2,08, s	2,08, s	16,62	16,38*	2,11, s	2,12, s	16,32	16,26
8 CH	3,67, sept (7,3)	3,80, sept (7,3)	43,69	42,73	3,87, sept (7,2)	3,91, sept (7,2)	36,25	35,69
9, 10 CH ₃	1,42, d (7,0)	1,39, d (7,0)	19,69	19,65	1,42, d (7,3)	1,42, d (7,3)	19,41	19,41
1' C			173,65	173,62*			173,79	173,79
2' CH	2,92, sept (6,8)	2,92, sept (6,8)	34,47	34,47	2,90, sept (7,0)	2,90, sept (7,0)	34,24	34,24
3' CH ₃	1,38, d (7,0)	1,38, d (7,0)	18,98	18,98	1,38, d (7,0)	1,38, d (7,0)	19,00	19,00

*Zbog bliskih hemijskih pomeranja signala različitih atropizomera, pripisivanje signala određenom izomeru je izvršeno na osnovu njihove zastupljenosti u smeši. ^aKonstante kuplovanja *J* izražene su u Hz

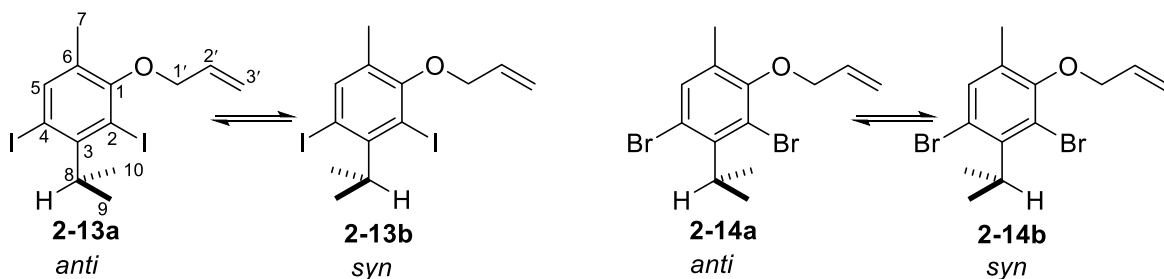


Šema 4.2.6. Ravnoteža između rotamera kod jedinjenja **2-11** i **2-12**

Tabela 4.2.6. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-11** i **2-12** u CDCl_3

Položaj	2-11a	2-11b	2-11a	2-11b	2-12a	2-12b	2-12a	2-12b
	δ_{H}		δ_{C}		δ_{H}		δ_{C}	
1 C			159,18	157,80*			154,86	155,71
2 C			93,23	104,81			119,16**	122,59**
3 C			148,05	147,84*			143,24	143,24
4 C			98,59	86,23			120,70**	116,91**
5 CH	7,72, s	7,72, s	142,62	144,98*	7,33, s	7,33, s	136,09	134,22
6 C			130,92	16,27*			131,44	131,44
7 CH ₃	2,26, s	2,26, s	16,58		2,26, s	2,27, s	16,03	
8 CH	3,63, sept (7,3) ^a	3,85, sept (7,3)	43,91	42,70*	3,84/3,95		36,30/35,57	
9, 10 CH ₃	1,43, d (7,3)	1,39, d (7,3)	119,94	19,72	1,42, m		19,49	
C(1)- OCH ₃	3,74, s	3,74, s	60,19	59,99	3,77, s	3,77, s	59,95	

*Zbog bliskih hemijskih pomeranja signala različitih atropizomera, pripisivanje signala određenom izomeru je izvršeno na osnovu njihove zastupljenosti u smeši. ^aKonstante kuplovanja *J* izražene su u Hz. **Asigniranje signala je izvršeno na osnovu daljinskih konstanti kuplovanja.



Šema 4.2.7. Ravnoteža između rotamera kod jedinjenja **2-13** i **2-14**.

Interesantno, spektralni podaci za većinu sintetisanih jodovanih ili bromovanih derivata karvakrola ne postoje u literaturi, osim za jedinjenja **2-4**, **2-6** i **2-12**. U radu *Miller-a* i *Haggerty-ja* (1986) prikazan je ^1H NMR spektar jedinjenja **2-4**, pri čemu se ne pominje prisustvo atropizomera, dati su podaci samo za jedno jedinjenje. ^1H i ^{13}C NMR, IR i HRMS spektri za jedinjenje **2-12** su navedeni u radu *Majetich-a* i *Grove-a* (2009), ali u tom radu nije prepoznato postojanje atropizomera. Veći broj signala od očekivanog autori su objasnili „efektom“ otvorenih orbitala teških atoma. U protonskom NMR spektru signali su opisani kao odgovarajući dubleti koji potiču od jednog jedinjenja, pa je tako npr. signal H8 opisan kao dublet septeta sa dodatnom konstantom

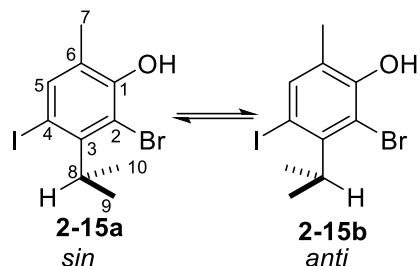
Tabela 4.2.7. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-13** i **2-14** u CDCl_3

Položaj	2-13a	2-13b	2-13a	2-13b	2-14a	2-14b	2-14a	2-14b
	δ_{H}		δ_{C}		δ_{H}		δ_{C}	
1 C			157,30	157,80*			154,64	153,76
2 C			93,38	104,81			119,34	122,81
3 C			147,93	147,84*			143,18	143,18
4 C			98,50	86,23			120,74	116,93
5 CH	7,72, s	7,72, s	142,42	144,98*	7,38, s	7,33, s	134,15	136,03
6 C			130,98	131,15			136,03	131,67*
7 CH ₃	2,24, s	2,24, s	16,50	16,27*	2,25, s	2,25, s	16,33	16,26*
8 CH	3,64, sept (7,3)	3,85, sept (7,3)	43,78	42,70*	3,83, sept (7,3)	3,95, sept (7,2)	36,28	35,59
9, 10 CH ₃	1,43, d (7,2)	1,39, d (7,3)	19,82	19,72	1,42, d (7,0)	1,41, d (7,0)	19,46	19,46
1' CH ₂	4,35, dt (5,6, 1,5)	4,35, dt (5,6, 1,5)	73,22	73,12*	4,38, dt (5,6, 1,4)	4,38, dt (5,6, 1,4)	73,29	73,29
	6,15, ddt	6,15, ddt			6,13, ddt	6,13, ddt		
2' CH	(17,2, 10,8, 5,6)	(17,2, 10,8, 5,6)	133,21	133,21	(17,1, 10,5, 5,6)	(17,1, 10,5, 5,6)	133,30	133,30
3' pro- <i>Z</i> CH	5,47, dq (17,2, 1,6)	5,47, dq (17,2, 1,6)	117,94	117,94	5,45, dq (17,2, 1,6)	5,45, dq (17,2, 1,6)	117,90	117,90
3' pro- <i>E</i> CH	5,29, dq (10,4, 1,4)	5,29, dq (10,4, 1,4)	117,94	117,94	5,29, ddd (10,4, 2,7, 1,3)	5,29, ddd (10,4, 2,7, 1,3)	117,90	117,90

*Zbog bliskih hemijskih pomeranja signala različitih atropizomera, pripisivanje signala određenom izomeru je izvršeno na osnovu njihove zastupljenosti u smeši. ^aKonstante kuplovanja *J* izražene su u Hz

kuplovanja $J = 46,8$ Hz, a što odgovara razlici od 0,117 ppm (na 400 MHz), odnosno razlici u pomeranju dva atropizomera koji smo mi uočili. Poređenjem snimljenih spektara sa spektrima iz literature uočeni su svi signali koji se očekuju za oba atropizomera 1,3-dibrom-2-izopropil-5-metil-4-metoksibenzena (**2-12**), pa je u pitanju greška u postojećoj literaturi.

Halogenovani derivati koji sadrže atom broma i atom joda (šema 4.2.1), takođe su smeše atropizomera, međutim sa drugačijim sadržajem rotamera u ravnoteži, u ovim slučajevima po jedan izomer je zastupljeniji, više od 80% (tabela 4.2.3). Bromovanjem *o*- ili *p*-jodkarvakrola, dobijene su smeše proizvoda. Bromovanjem *o*-jodkarvakrola (**2-2**), pored očekivanog proizvoda 4-brom-3-izopropil-2-jod-6-metilfenol, u smeši je uočeno (najpre GC-MS analizom, a potvrđeno i NMR-om) prisustvo 2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenola, 3-izopropil-2,4-dijod-6-metilfenola i 2-brom-3-izopropil-4-jod-6-metilfenola. Bromovanjem jodovanih derivata došlo je do građenja halogenovanih proizvoda koji verovatno nastaju u tim reakcijama halogenovanja i dehalogenovanja. Zbog slične polarnosti sa dijod- i dibrom-derivatima, čisti 4-brom-3-izopropil-2-jod-6-metilfenol nije bilo moguće izolovati iz smeše. Međutim, bromovanjem *p*-jodkarvakrola,



Šema 4.2.8. Ravnoteža između rotamera kod jedinjenja **2-15**.

Tabela 4.2.8. ^1H (400 MHz) i ^{13}C (100 MHz) NMR spektroskopski podaci za *anti* (a) i *sin* (b) atropizomere jedinjenja **2-15**

Položaj	2-15a	2-15b	2-15a	2-15b
	δ_{H}		δ_{C}	
1 C			151,59	149,77
2 C			109,72	115,23
3 C			144,07	143,48
4 C			91,04	81,17
5 CH	7,60, s	7,62, s	140,71	143,09
6 C			125,34	125,51
7 CH ₃	2,21, s	2,21, s	16,03	15,89
8 CH	3,61, sept (7,3) ^a	3,78, sept (7,3)	42,68	36,41
9, 10 CH ₃	1,39, d (7,2)	1,41, m*	19,56	19,62
C1-OH	6,00	5,84		

*Preklopljen signal sa signalom jedinjenja **2-4**. ^aKonstante kuplovanja J izražene su u Hz.

dobijena je manje kompleksna smeša. Zajedno sa 2-brom-3-izopropil-4-jod-6-metilfenol (**2-15**) koeluirao se i 2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenol (**2-4**). Međutim, bilo je moguća izvršiti potpunu asignaciju signala mešovito dihalogenovanog jedinjenja. Smeša je sadržala oko 60% jedinjenja **2-15** i oko 40% jedinjenja **2-4**. U smeši je zastupljeniji *sin* rotamer gde su metil-grupe okrenute ka manje voluminoznom atomu (bromu). Detaljnom analizom 1D- i 2D-NMR spektara moguća je asignacija svih signala koji potiču od *sin* i *anti* atropizomera jedinjenja **2-15**. Položaj broma je potvrđen interakcijom u HMBC spektru između protona fenolne OH grupe i C2, dok je položaj joda utvrđen interakcijom H5 i C4.

4.2.3. ODREĐIVANJE KINETIČKIH PARAMETARA DINAMIČKIM NMR EKSPERIMENTIMA

Najčešća metoda koja se koristi za određivanje parametara energije aktivacije je određivanje temperature na kojoj NMR rezonancije dve izmenljive vrste koalesciraju. Metoda se zasniva na praćenju promene izgleda i položaja signala sa povećanjem temperature u ^1H NMR spektru (metoda se obeležava i kao VT (*variable-temperature*) ^1H NMR). Izmerena temperatura

koalescencije se, zatim, koristi zajedno sa najvećom razlikom u hemijskim pomeranjima signala na nižim temperaturama (tj. kada je spora izmena).

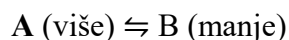
Konstanta brzine na temperaturi koalescencije (k_c) može se izračunati primenom *Gutowsky-Holm*-ove (ili nekih drugih jednačina):

$$k_c = \frac{\pi \sqrt{2} \sqrt{(\Delta\nu)^2 + 6J^2}}{2}$$

gde je $\Delta\nu$ (u Hz) razlika u hemijskim pomeranjima dva posmatrana signala na temperaturi kada nema izmene, a J je njihova zajednička konstanta sprežanja, a oba stanja su jednako zatupljena. Kada je $J = 0$ Hz, izraz postaje:

$$k_c = 2,22 \Delta\nu \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

Za slučaj različite zastupljenosti (P_A i P_B) stanja A i B za nekuplovana jezgara, i ako je konstanta ravnoteže, $K = P_A/P_B \leq 2$:



$$k_{A \rightarrow B} = P_B K k_c \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

$$k_{B \rightarrow A} = P_A K k_c \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

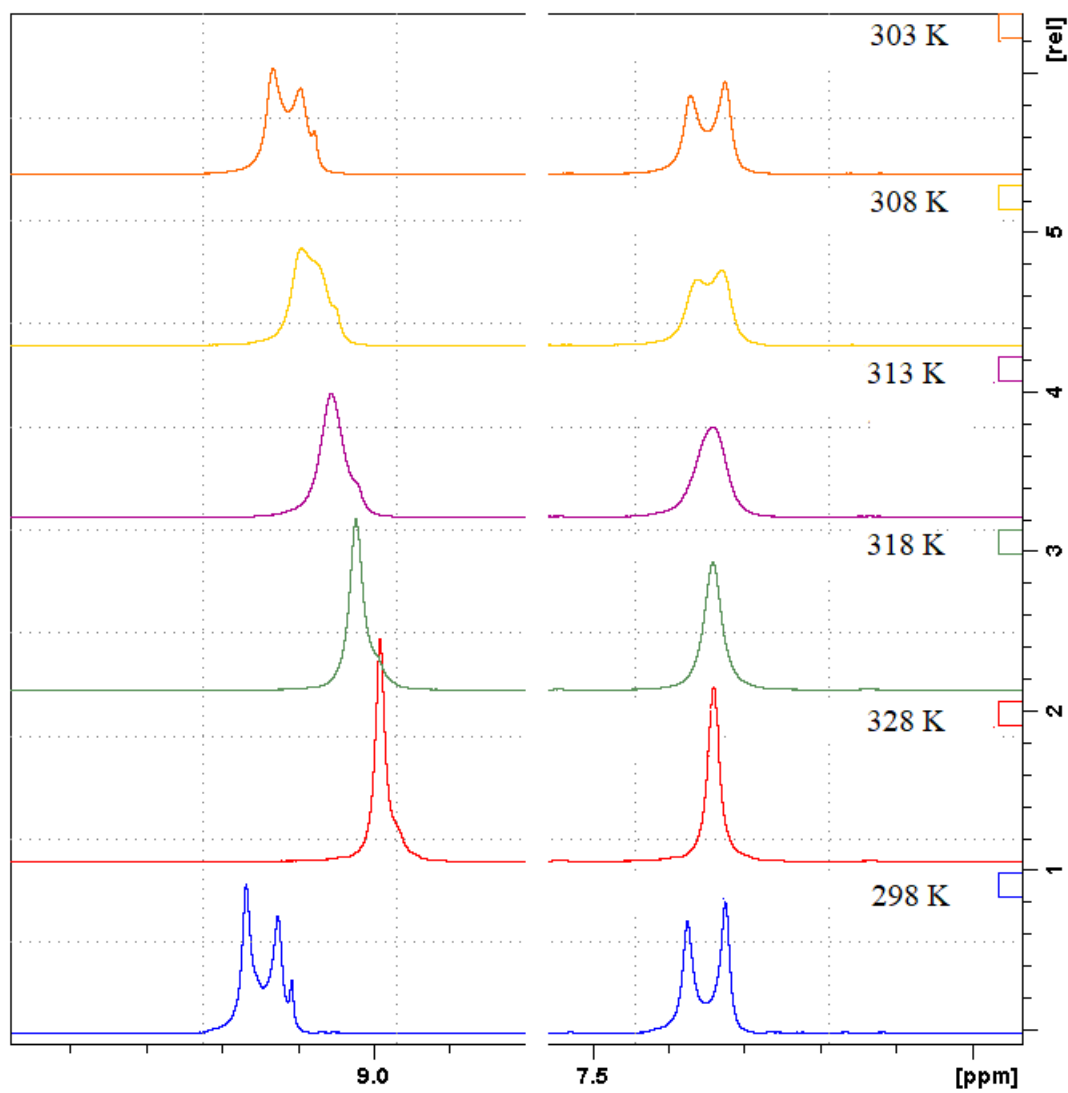
Kada je $K = P_A/P_B \geq 2$ može se primeniti grafička metoda *Shanan-Atidi*-ja i *Bar-Eli*-ja.

Slobodna Gibsova energija aktivacije dinamičkog procesa $\Delta G^\ddagger$ se može izračunati primenom *Eyring*-ove jednačine:

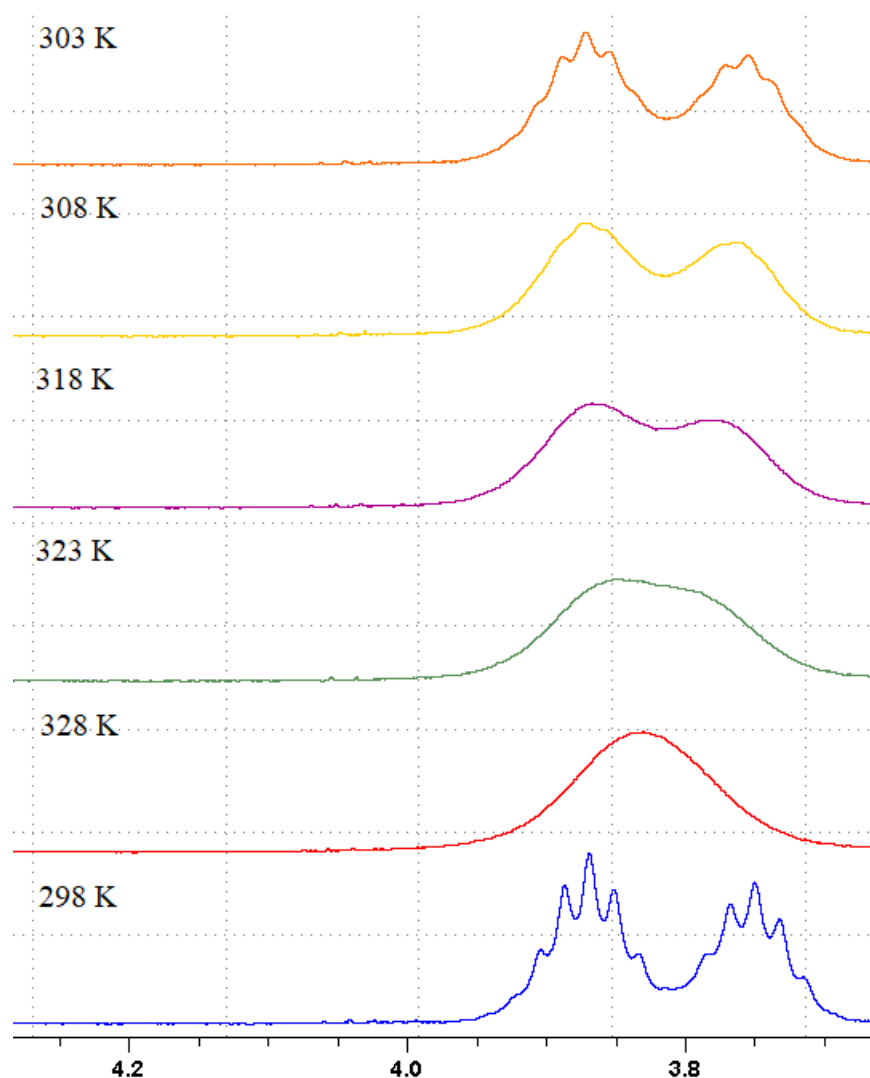
$$\Delta G^\ddagger = 4,575 \times 10^{-3} T_c (9,972 + \log(T_c/k_c)) \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)} \quad (2),$$

gde je T_c (u K) temperatura koalescencije.

Temperatura koalescencije je određena za jedinjenje **2-4** u DMSO- d_6 . Razlika u hemijskim pomeranjima između H8 signala, $\Delta\nu$, na sobnoj temperaturi je iznosila 47,7 Hz. ^1H NMR spektri ovog jedinjenja su snimani počevši od sobne temperature (298 K), i na svakih 5 °C do postizanja koalescencije na temperaturi od 328 K (slike 4.2.3 i 4.2.4). Ukoliko se vrednosti uvrste u jednačinu 2, dobija se za $\Delta G^\ddagger = 15,70$ kcal/mol.



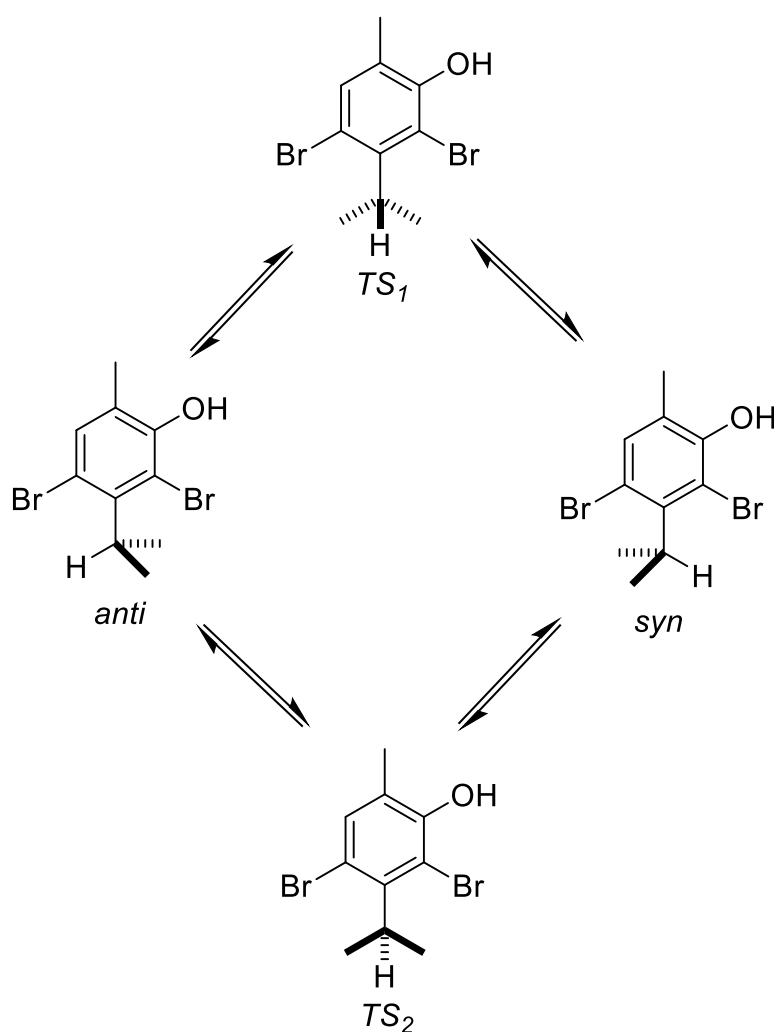
Slika 4.2.3. Uvećani delovi ^1H NMR spektra snimljeni u $\text{DMSO}-d_6$ na povišenim temperaturama do postizanja temperature koalescencije



Slika 4.2.4. Uvećanje (H8) dela ^1H NMR spektra snimljenog u $\text{DMSO}-d_6$ na povišenim temperaturama

Kvantnomehanička izračunavanja sprovedena na jedinjenjima **2-1**, **2-4**, **2-7**, **2-8**, **2-13**, **2-14** i **2-15** uz optimizaciju geometrije na B3LYP/6-311G(d,p) nivou teorije dala su procene energije, termodinamičkih i geometrijskih parametara konformera i njihovih prelaznih stanja. Izračunati aktivacioni parametri za rotacionu barijeru na temperaturi od 298 K, između *sin* i *anti* konformera preko prelaznih stanja TS_1 i TS_2 (šema 4.2.8) jedinjenja **2-1**, **2-4**, **2-7**, **2-8**, **2-13**, **2-14** i **2-16** prikazani su u tabeli 4.2.9. Vrednosti entropije aktivacije ($\Delta S^\ddagger$) su male (2,74–5,46 J mol $^{-1}$ K $^{-1}$), sa negativnim znakom, što ukazuje na uređenije prelazno stanje u odnosu na osnovno stanje. Za jedinjenje **2-4**, promena slobodne Gibsove energije aktivacije je izračunata da iznosi

20,63 kcal mol⁻¹. Razlika između teorijske i eksperimentalno određene vrednosti $\Delta G^\ddagger$ verovatno potiče od pogrešno određenih vrednosti Δv i temperature koalescencije. Vrednost Δv očitana je na sobnoj temepraturi kada je bilo izmene između rotamera, i ona je manja od one na kojoj nema izmene. Razlika potiče i zbog toga što prilikom izračunavanja nije uzet u obzir rastvarač, već je energija izračunata za molekul u vakuumu. Međutim, ova eksperimentalno određena energija aktivacije je uporediva sa prethodno objavljenim rezultatima za atopizomere sp^2 - sp^3 tipa (Flos i sar., 2016).



Šema 4.2.8. Ravnoteža između *sin* i *anti* konformera preko prelaznih stanja TS_1 i TS_2 za jedinjenje 2-4

Tabela 4.2.9. Aktivacioni parametri za rotacionu barijeru jedinjenja **2-1**, **2-4**, **2-7**, **2-8**, **2-13**, **2-14** i **2-15**

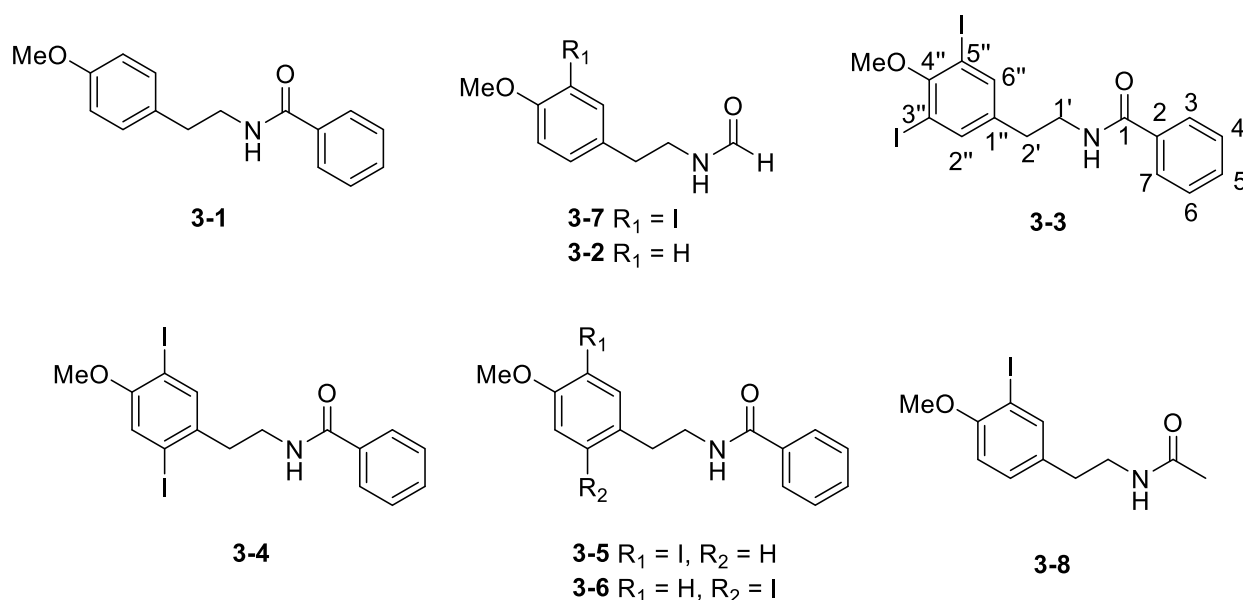
Jedinjenje	Metoda	$\Delta H^\ddagger(298K)$	$\Delta S^\ddagger(298K)$	$\Delta G^\ddagger(298K)$
2-1	TS1 – <i>sp</i> -GS	20,34	-3,54	21,40
	TS2 – <i>sp</i> -GS	20,34	-3,54	21,40
	TS1 – <i>ap</i> -GS	20,36	-3,38	21,37
	TS2 – <i>ap</i> -GS	20,36	-3,38	21,37
2-4	TS1 – <i>sp</i> -GS	19,81	-2,74	20,63
	TS2 – <i>sp</i> -GS	19,82	-2,76	20,64
	TS1 – <i>ap</i> -GS	19,93	-3,01	20,83
	TS2 – <i>ap</i> -GS	19,93	-3,04	20,84
2-15	TS1 – <i>sp</i> -GS	20,07	-3,78	21,19
	TS2 – <i>sp</i> -GS	19,91	-5,46	21,54
	TS1 – <i>ap</i> -GS	20,97	-3,37	21,97
	TS2 – <i>ap</i> -GS	20,81	-5,05	22,32
2-7	TS1 – <i>sp</i> -GS	17,19	-3,43	18,21
	TS2 – <i>sp</i> -GS	16,53	-4,28	17,80
	TS1 – <i>ap</i> -GS	17,05	-3,52	18,10
	TS2 – <i>ap</i> -GS	16,39	-4,36	17,69
2-8	TS1 – <i>sp</i> -GS	16,05	-3,43	17,07
	TS2 – <i>sp</i> -GS	15,76	-4,42	17,08
	TS1 – <i>ap</i> -GS	15,96	-3,27	16,93
	TS2 – <i>ap</i> -GS	15,66	-4,26	16,93
2-13	TS1 – <i>sp</i> -GS	17,00	-4,37	18,00
	TS2 – <i>sp</i> -GS	17,35	-5,44	18,97
	TS1 – <i>ap</i> -GS	16,43	-3,84	17,58
	TS2 – <i>ap</i> -GS	17,08	-4,91	18,55
2-14	TS1 – <i>sp</i> -GS	15,84	-4,35	17,13
	TS2 – <i>sp</i> -GS	16,28	-4,88	17,73
	TS1 – <i>ap</i> -GS	15,72	-4,18	16,97
	TS2 – <i>ap</i> -GS	16,17	-4,71	17,57

Energija nulte tačke (*zero point energy*, ZPE), termičke i entropijske korekcije su izračunate na B3LYP/6-311G(d,p) nivou teorije za 298K.

4.3. SINTEZA I TOKSIKOLOŠKA/FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST JODOVANIH *N*-ACILTIRAMINA

4.3.1. SINTEZA I SPEKTRALNA KARAKTERIZACIJA PRIRODNOG PROIZVODA IZ *D. RUBEUM* I ANALOGNIH SINTETIČKIH JODOVANIH *N*-ACILTIRAMINA

U ovoj tezi je predstavljena sinteza prirodnog jedinjenja **3-3** iz *D. rubeum* i njegovih analoga **3-1**, **3-2**, **3-4–3-7** (šema 4.3.1). Pretragom baze CAS (SciFinder, oktobra 2018) ustanovljeno je da su jedinjenja **3-4–3-7** nova jedinjenja. U literaturi za jedinjenje **3-2** nedostaju kompletni spektralni podaci (NMR, IR i MS). Naš plan sinteze za *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-3**) i srodne jodovane *N*-aciltiramine, ilustrovan je na šemi 4.3.2.

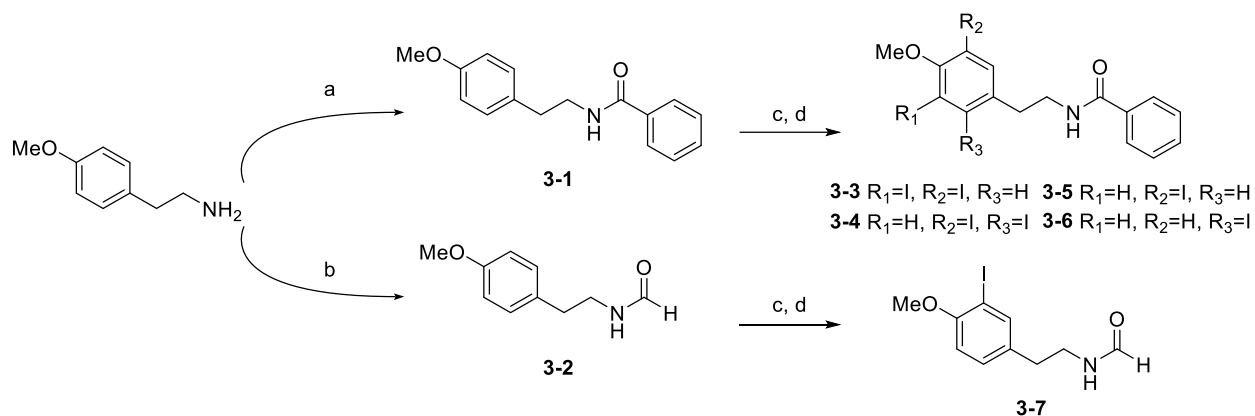


Šema 4.3.1. Strukture jedinjenja **3-1–3-8**: *N*-[2-(4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-1**), *N*-[2-(4-metoksifenil)etil]formamid (**3-2**), *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-3**), *N*-[2-(2,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-4**), *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-5**), *N*-[2-(2-jod-4-metoksifenil)etil]benzamid (**3-6**), *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]formamid (**3-7**) i *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]acetamid (**3-8**)

Sinteza **3-3** i njegovih analoga (benzamida i formamida) započinje kuplovanjem dostupnog 2-(4-metoksifenil)etanamina i odgovarajuće karboksilne kiseline (benzoeve ili mravlje) uz korišćenje karbodiimida (Pfaffenbach i Gaich, 2015). Dobijeni amidi **3-1** i **3-2** jodovani su u dva koraka. U prvom koraku, merkurovanjem jedinjenja **3-1** i **3-2** živa(II)-acetatom dobijaju se intermedijerna organoživina jedinjenja. Nakon zamene acetatnog liganda hloridnim, u drugom

koraku dejstvom elementarnog joda, dolazi do kidanja veze Hg–C i zamene grupe -HgCl atomom joda. U početku su sve reakcione smeše analizirane pomoću GC–MS-a, a TIC hromatogrami su sadržavali 4 pika: dva od monojodovanog *N*-aciltiramina i dva od diiodovanih derivata. U slučaju jodovanja benzamida, dobijena smeša je jednostavno razdvojena pomoću hromatografije na silika-gelu. Glavni proizvod bio je monojodovani derivat **3-5** sa atomom joda u *orto* položaju u odnosu na metoksi-grupu, pri čemu je prinos bio 43%. Formiran je i drugi mogući monojodovani regioizomer **3-6** gde je jod *orto* u odnosu na CH₂, ali u vrlo maloj količini (oko 1%) što je bilo dovoljno da potvrdimo njegov identitet na osnovu analize NMR spektara, ali ne i da izvršimo biološka testiranja. Dijodovani proizvodi, regioizomeri **3-3** i **3-4**, dobijeni su u približno istom prinosu (oko 15%). Kod jednog izomera jod je bio *orto* u odnosu na metoksi-grupu, dok je drugi u *orto* ili *para* položaju u odnosu na već postojeći jod, jedinjenje **3-4**.

U reakciji 2-(4-metoksifenil)etanamina sa anhidridom sirćetne kiseline u rastvoru hlorovodonične kiseline dobijen je derivat acetamida, koji dalje podleže prethodno opisanoj reakciji jodovanja kroz dva koraka. Dobijen je *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]acetamid (**3-8**) u prinosu od 1,9% (4 mg) koja je bila dovoljna jedino da se potvrdi njegov identitet na osnovu MS i NMR spektara.



Šema 4.3.2. Sinteza jedinjenja **3-1–3-7**. Reagensi i uslovi: (a) benzoeva kiselina (1,5 ekv.), DCC (1,5 ekv.), DMAP 3–10 mol%, CH₂Cl₂, s.t., 5 h; (b) mravlja kiselina (1,0 ekv.), DCC (1,1 ekv.), DMAP 3–10 mol%, CH₂Cl₂, s.t., 5 h; (c) Hg(OAc)₂, 70% HClO₄, glacijalna CH₃COOH, s.t., 48 h; (d) NaCl, H₂O, 30 min; I₂, CH₂Cl₂, 16 h.

U hromatogramu smeše dobijene jodovanjem formamida uočen je jedan dominantan pik monojodovanog proizvoda i još tri pika koji su odgovarali diiodovanim formamidima. Nakon

hromatografije na koloni silika-gela, izolovano je jedino jedinjenje **3-7**, a nisu dobijeni diiodovani derivati što može biti posledica raspadanja diiod-derivata na koloni silika-gela.

Položaj atoma joda u **3-3-3-7** može biti jednoznačno određen iz njihovih NMR podataka (tabele 4.3.1 i 4.3.2). Jedinjenja **3-3-3-5** i **3-7** su dodatno okarakterisana i IR i UV spektrima. Kompletne asignacije NMR signala ^1H i ^{13}C je izvršena detaljnom analizom 1D- i 2D-NMR spektara: serija selektivnih ^1H homonuklearnih dekoplovanja, grHSQC, grHMBC, gr ^1H - ^1H COSY, ROESY i NOESY. Svi podaci iz ^1H i ^{13}C NMR spektara ukazuju na postojanje ravnoteže dve rotamerne forme jedinjenja **3-7** usled spore rotacije (na NMR vremenskoj skali) oko amidne N-CO veze (pikovi izmene vidljivi u NOESY/ROESY spektrima). Ove rotamerne vrste mogu biti kompletno okarakterisane NMR podacima, dok je njihov odnos u CDCl_3 na 25°C , zasnovan na integraljenju dobro razdvojenih signala u protonskom spektru, bio 1:5,56 u korist *Z*-rotamera (antiperiplanarni konformer, slika 4.3.1). Kod više zastupljenog konformera uočava se široki singlet za formilproton, dok manje zastupljeni (sinperiplanarni) konformer ima dublet sa $J = 9,4\text{ Hz}$ koji potiče od istog protona u skladu sa očekivano većom konstantom kuplovanja za antiperiplanarnu orijentaciju HN-CH fragmenta. Spektri nejodovanog formamida **3-2** bili su slični spektrima jedinjenja **3-7**. Takvo ponašanje (postojanje dva rotamera) može biti značajno zbog postojanja dve raspoložive konfiguracije (*E*, *Z*) koje mogu da imaju različite interakcije sa ciljnim biološkim molekulom. Signali C1-H1(karbonil) u grHSQC spektru *Z*-rotamera jedinjenja **3-7** (slika 4.3.1) i **3-2** javljaju se kao „multipleti“ (liči na kvartet), pri čemu dva najudaljenija pika odgovaraju dubletu sa konstantom $^1J_{\text{CH}}$ od 192,8 Hz, odnosno 192,5 Hz (precizne vrednosti konstanti kuplovanja su određene iz ^1H kuplovanog ^{13}C NMR spektara), dok kod *E*-rotamera nije bilo takvog artefakta. Ova kuplovanja su verovatno artefakti koji potiču od značajne neusklađenosti d2 i/ili d4 vremena, a koja su optimizovana za $^1J_{\text{CH}} = 145\text{ Hz}$ za kuplovanje $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ kroz jednu vezu. Vrednost direktnih konstanti kuplovanja je proporcionalna redu veze (elektronska gustina elektrona između dva atoma) pa se mogu očekivati različite vrednosti $^1J_{\text{CH}}$ za dva rotamera.

Tabela 4.3.1. ¹H NMR podaci (snimljeni na 400 MHz u CDCl₃) za jedinjenja **3-1–3-7**

Položaj	3-3 δ_H (J u Hz)	3-4 δ_H (J u Hz)	3-5 δ_H (J u Hz)	3-1 δ_H (J u Hz)	(Z)-3-7a δ_H (J u Hz)	(E)-3-7b δ_H (J u Hz)	(Z)-3-2a δ_H (J u Hz)	(E)-3-2b δ_H (J u Hz)	3-6 δ_H (J u Hz)
1					8,12, s	7,89, d (9,4)	8,08, s	7,84, d (11,9)	
2									
3, 7	7,72, m	7,74, m	7,71, m	7,70, m					7,72, m
4, 6	7,43, m	7,43, m	7,41, m	7,40, m					7,42, m
5	7,50, m	7,50, m	7,49, m	7,48, m					7,51, m
1'	3,63, td (7,1, 6,0)	3,65, td (7,0, 6,0)	3,65, td (6,9, 5,9)	3,67, td (6,9, 5,9)	3,51, td (7,0, 6,2)	3,43, td (7,0, 6,3)	3,51, td (7,0, 5,9)	3,41, td (6,8, 6,4)	3,68, td (7,0, 6,2)
2'	2,82, t (7,0)	2,99, t (7,0)	2,84, t (6,9)	2,87, t (6,9)	2,75, t (7,0)	2,73, t (7,0)	2,77, t (7,0)	2,74, t (6,8)	3,02, t (7,0)
1''									
2''	7,64, br s		7,66, d (2,1)	7,15, m	7,62, d (1,9)	7,60, d (1,7)	7,11, m	7,08, m	
3''		7,20, s		6,86, m			6,84, m		7,38, d (2,6)
4''									
5''			6,77, d (8,3)	6,86, m	6,77, d (8,3)	6,85, d (8,5)	6,84, m		6,86, dd (8,4, 2,6)
6''	7,64, br s	7,54, br s	7,17, dd (8,3, 2,1)	7,15, m	7,15, dd (8,3, 1,9)	7,12, dd (8,2, 1,7)	7,11, m	7,08, m	7,14, d (8,4)
NH	6,31, br t (5,2)	6,23, br t (5,3)	6,27, br t (5,3)	6,28, br t (5,3)	5,95, br s	6,02, br s	6,0, br s	6,07, br s	6,26, br t (6,3)
OCH ₃	3,84, s	3,86, s	3,86, s	3,79, s	3,86, s		3,78, s		3,77, s

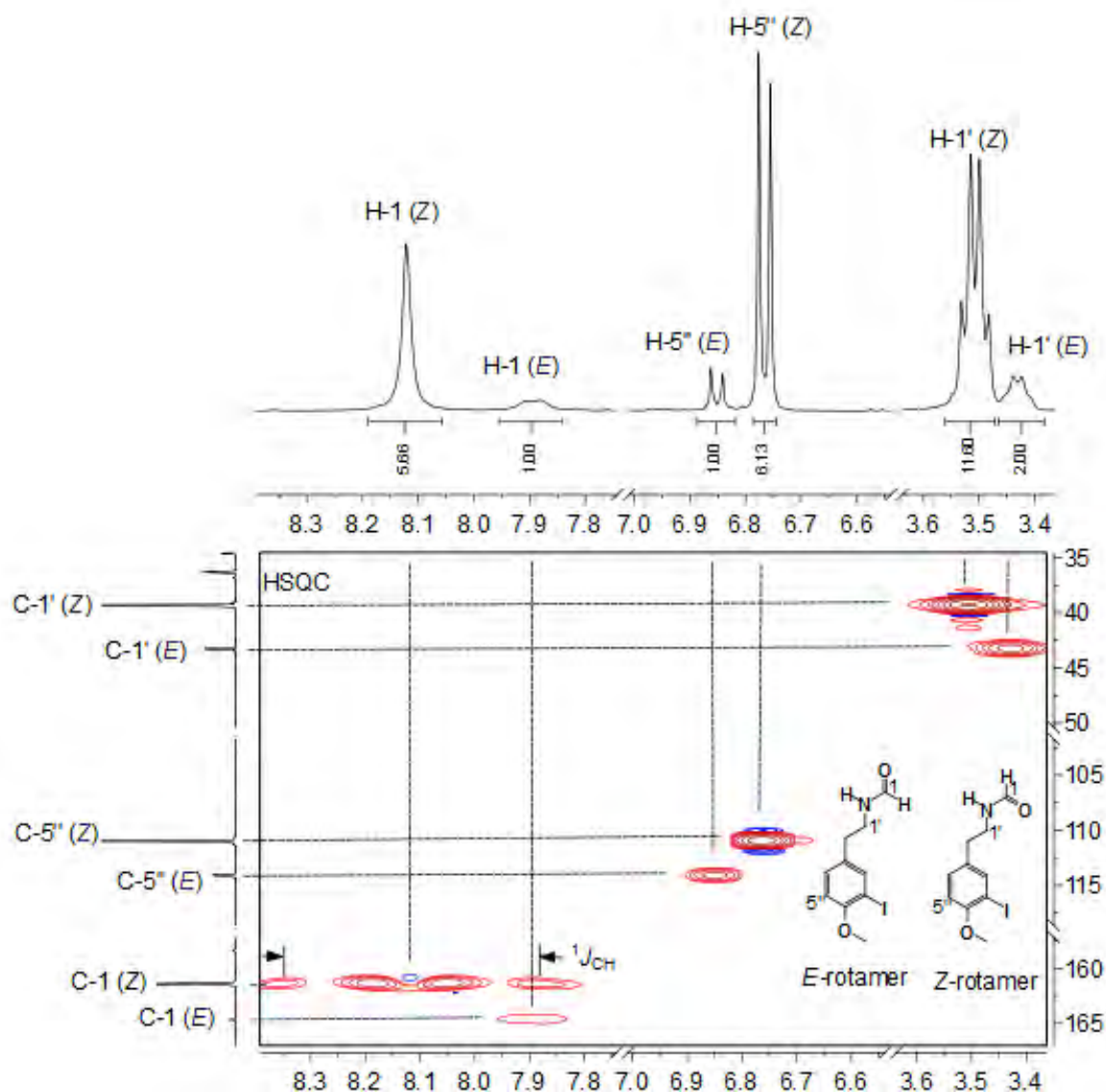
Tabela 4.3.2. ^{13}C NMR podaci (snimljeni na 100,6 MHz u CDCl_3) za jedinjenja **3-1-3-7**

Položaj	3-3 δ_{C} (J u Hz)	3-4 δ_{C} (J u Hz)	3-5 δ_{C} (J u Hz)	3-1 δ_{C} (J u Hz)	(Z)-3-7 δ_{C} (J u Hz)	(E)-3-7 δ_{C} (J u Hz)	(Z)-3-2 δ_{C} (J u Hz)	(E)-3-2 δ_{C} (J u Hz)	3-6* δ_{C} (J u Hz)
1	167,81, m	167,81, m	167,66, m	167,57, m	161,34, br d (192,8)	164,59, br d (189,3)	161,35, d ps q (192,5, 3,7)	164,71, dt (188,7, 5,0)	167,71
2	134,48, t (7,5)	134,61, t (7,4)	134,61, t (7,3)	134,70, t (7,2)					134,61
3, 7	126,97, dt (158,38, 7,8)	127,02, br d ps t (159,7, 7,4)	126,93, br d ps t (159,5, 7,1)	126,91, br d ps t (158,5, 6,8)					126,98
4, 6	128,78, dd (161,1, 7,7)	128,75, br dd (161,2, 7,5)	128,71, br dd (161,2, 7,5)	128,65, dd (161,3, 7,7)					128,70
5	131,73, dt (161,2, 7,7)	131,64, dt (161,1, 7,2)	131,60, dt (161,1, 7,4)	131,50, dt (161,1, 7,5)					131,60
1'	41,11, tm (140,3)	40,20, tm (138,8)	41,31, br tm (139,8)	41,43, br tm (140,1)	39,26, tm (140,1)	43,21, tm (139,1)	39,41, tm (139,5)	43,43, tm (138,3)	40,39
2'	34,12, t ps kvintet (129,5, 3,2)	38,95, tm (129,5)	34,40, tm (128,8)	34,85, tm (128,1)	34,04, t ps kvintet (128,8, 3,2)	36,24, tm (128,4)	34,56, t ps kvintet (128,1, 3,3)	36,77, tm (128,4)	39,14
1''	139,05, m	136,03, m	133,16, m	130,93, m	132,63, m	131,71, m	130,49, m	129,61, m	133,65
2''	140,20, ddt (164,7, 7,8, 5,3)	100,07, m	139,73, ddt (162,1, 7,5, 5,4)	129,86, ddt (156,37, 7,5, 5,2)	139,47, ddt (162,2, 7,9, 5,0)	139,51, m	129,68, ddt (156,1, 7,5, 5,1)	129,84, ddt (155,2, 7,2, 5,1)	100,52
3''	90,76, ps t (2,2)	121,66, d (165,0)	86,21, ddd (7,7, 2,9, 1,8)	114,16, dm (158,4)	86,06, ddd (7,7, 2,7, 1,7)	86,26, br d (7,7)	114,07, dm (158,3)	114,21, dm (158,1)	124,70
4''	157,60, m	157,34, m	156,93, m	158,34, m	156,82, m	158,25, m	158,31, m	158,47, m	158,62
5''	90,76, ps t (2,2)	86,22, dd (7,8, 3,2)	111,07, br d (159,4)	114,16, dm (158,4)	110,94, br d (159,4)	114,03, dm (163,2)	114,07, dm (158,3)	114,21, dm (158,1)	114,75
6''	140,20, ddt (164,7, 7,8, 5,3)	139,76, dt (164,8, 5,5)	129,95, ddt (160,8, 7,5, 5,0)	129,86, ddt (156,4, 7,5, 5,2)	129,80, ddt (158,1, 7,3, 5,0)	130,03, ddt (158,5, 6,9, 5,1)	129,68, ddt (156,1, 7,5, 5,1)	129,84, ddt (155,2, 7,2, 5,1)	130,33
OCH_3	60,86, q (145,6)	56,80, q (145,2)	56,50, q (144,7)	55,37, q (143,7)	56,39, q (144,6)		55,26, q (143,6)		55,64

^aZa jedinjenje **3-6** nisu prikazani podaci iz ^1H kuplovanog ^{13}C NMR spektra zbog male količine supstance.

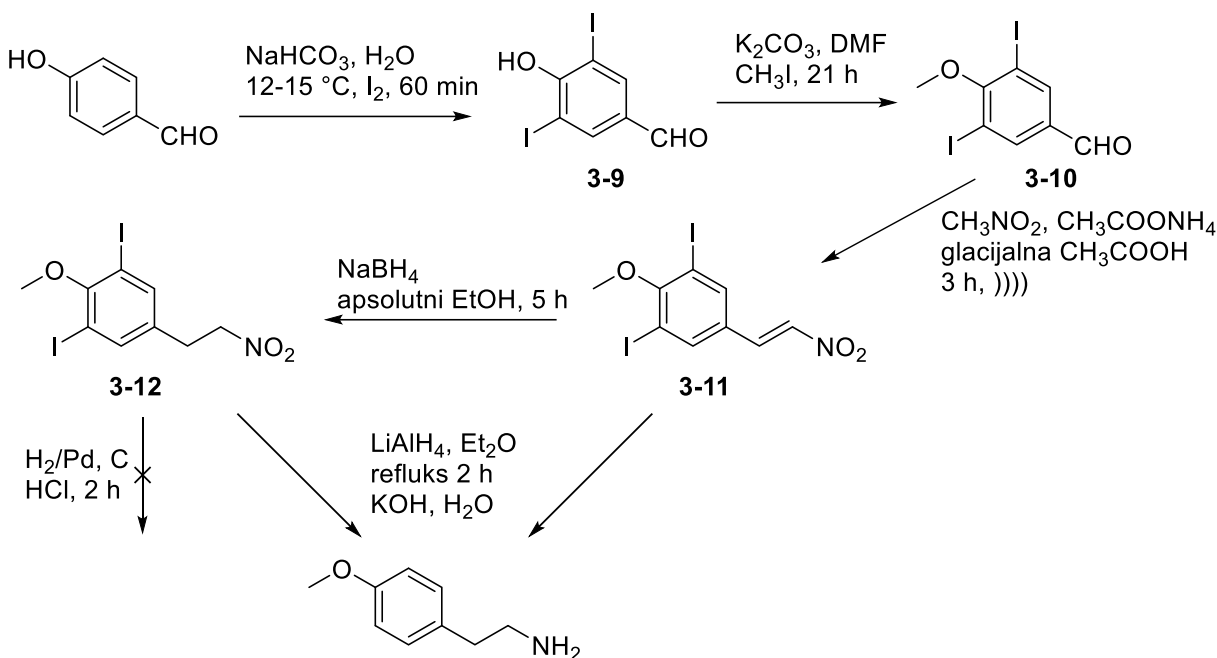
grHMBC spektar jedinjenja **3-3**, **3-5** i **3-7** sadrži korelacije koje su odgovarale kuplovanju preko 4 veze između Ar–H protona i ArC–I ugljenika koji je *para* u odnosu na taj vodonik. Ovo je takođe uočeno u ^1H kuplovanom ^{13}C NMR spektru, gde u slučaju monojodovanih derivata **3-5** i **3-7**, ugljenik koji je direktno vezan za jod ima oblik *ddd* sa $^3J = 7,7$ Hz, dok 2J i 4J imaju vrednosti 2,6–2,9 Hz (2J) i 1,4–1,7 Hz (4J), a kod jedinjenja **3-3** odgovarajući signal je pseudo *t* sa sličnim vrednostima za 2J i 4J ($\approx 2,2$ Hz). Kuplovanja kroz 4 veze su uočena i kod jodovanih dehidroditimola i jodovanih timola, što je opisano u odeljku 4.1 (Radulović i sar., 2016a).

Pokušana je i alternativna sinteza prirodnog proizvoda **3-3** kojom bi se izbegla reakcija merkurovanja. Ključni koraci ove sinteze su *Henry*-jeva reakcija između odgovarajućeg supstituisanog derivata benzaldehida **3-10** i nitrometana, i redukcija nastalog nitrostirena **3-11** (šema 4.3.3). Međutim, direktna redukcija nastalog nitrostirena do diiodovanog-*O*-metiltiramina upotrebom LiAlH_4 ili katalitičkom hidrogenizacijom je bila neuspešna. Nije bila uspešna čak ni redukcija iz dve faze preko zasićenog nitro-jedinjenja **3-12** pomoću NaBH_4 .



Slika 4.3.1. Uvećanja ^1H NMR i grHSQC spektara jedinjenja **3-7** pokazuju prisustvo dva rotamera (označenih kao *E* i *Z*) oko N–CHO veze

Litijum-aluminijum-hidrid redukuje nitrostiren do fenetilamina, ali takođe, vrši dehalogenovanje jezgra. Sličan ishod je primećen i u slučaju redukcije jedinjenja **3-12** pomoću LiAlH_4 ; dok Pd/C ne katalizuje hidrogenizaciju, pri čemu je početno jedinjenje ponovo izolovano iz reakcione smeše (šema 4.3.3).



Šema 4.3.3. Neuspešni alternativni sintetički put

4.3.2. TOKSIKOLOŠKA I FARMAKOLOŠKA SVOJSTVA SINTETISANIH JEDINJENJA

4.3.2.1. TOKSIČNOST SINTETISANIH JEDINJENJA NA RAČICE *A. SALINA*

Za prirodno jedinjenje **3-3** i srodne jodovane (**3-4**, **3-5** i **3-7**) i nejodovane (**3-1**) *N*-aciltiramine određivana je akutna toksičnost za račice *Artemia salina* (Radulović i sar., 2013a), u koncentracijama od 1 do $200\ \mu\text{mol dm}^{-3}$. Na osnovu preživljavanja nauplija nakon inkubacije od 24 h sa ovim supstancama, moguće je zaključiti da jedinjenja **3-1** i **3-5** imaju jak toksični efekat, veći nego jedinjenje koje se nalazi u prirodi **3-3** (tabela 4.3.3). Toksičnost (nakon 24 h) opada sledećim redosledom: **3-5**>**3-1**>**3-3**>**3-4**>**3-7**, dok se ovaj redosled menja ukoliko se inkubacioni period produži (48 h): **3-3**>**3-5**>**3-1**>**3-4**>**3-7**, pri čemu je jedinjenje **3-3** najtoksičnije ($\text{LD}_{50}(\text{nakon } 48\ \text{h}) = 20\ \mu\text{mol dm}^{-3}$). Benzamidi (**3-1**, **3-3**–**3-5**) imaju toksičniji efekat nego jedini testirani formamid **3-7** (koji u datim koncentracijama nije pokazao značajan toksični efekat ni nakon 48 h). Čini se da su prisustvo i položaj atoma joda na jezgru tiramina važni za toksičnost. Ako su potrebna dva atoma joda u molekulu za izraženiju toksičnost, tada bi jedinjenje **3-4** trebalo da bude toksičnije od **3-1** i **3-5**, ali to nije slučaj. Odsustvo joda u jedinjenju **3-1** nije rezultovalo bilo kakvim značajnim padom toksičnosti, jer je ovo jedinjenje među najtoksičnijim. Kada se poredi sa pozitivnom kontrolom ($\text{LD}_{50}(\text{nakon } 24\ \text{h}) = 147,5\ \mu\text{mol dm}^{-3}$ za SDS; literaturne vrednosti

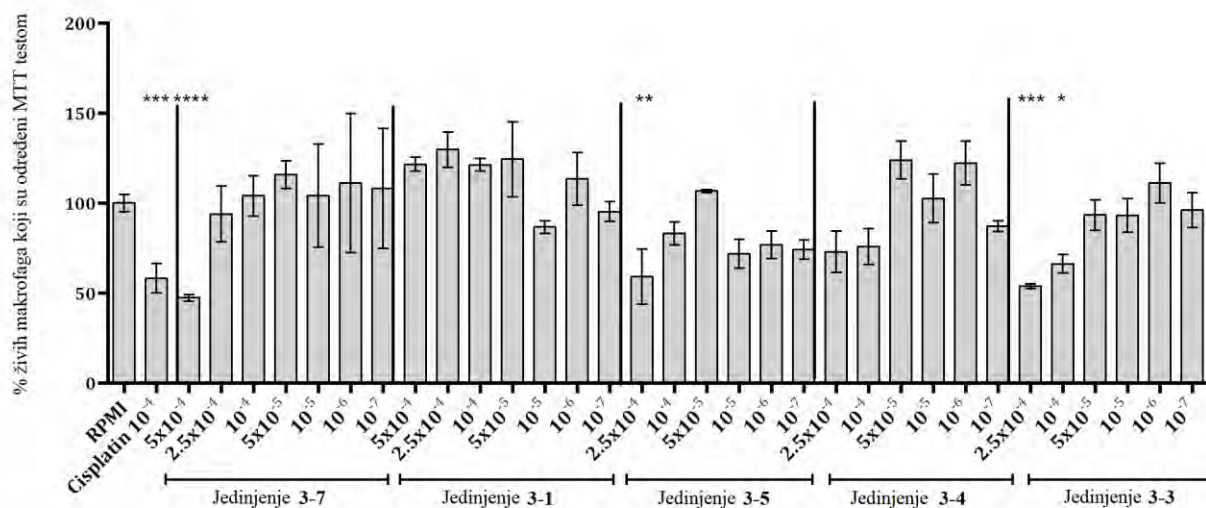
su u opsegu 49–122 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ (Toğulga, 1998)), jedinjenja **3-1**, **3-3–3-5** i **3-7** pokazuju izraženiju toksičnost nakon tretmana od 24 h i toksičnija su u odnosu na SDS nakon 48 h inkubacije. Vredi napomenuti da su svi benzamidi toksičniji od strihnin-sulfata ($\text{LD}_{50(\text{nakon } 24 \text{ h})}$ oko 100 $\mu\text{mol dm}^{-3}$, Meyer i sar., 1982) u ovom testu. Nađeno je za efedrin-sulfat, jedinjenje strukturno sličano sa derivatima feniletilamina, da ima $\text{LD}_{50(\text{nakon } 24 \text{ h})}$ oko 500 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ (Meyer i sar., 1982) što je za oko red veličine manje od toksičnog dejstva jedinjenja **3-5** ($\text{LD}_{50(\text{nakon } 24 \text{ h})} = 50 \mu\text{mol dm}^{-3}$). *Ananthan* (2011) je odredio toksičnost sirovog ekstrakta ascidije *Didemnum psammatoedes* u modelu račića *A. salina*, koji su u skladu sa našim rezultatima što sugeriše njihov sličan hemijski sastav.

Tabela 4.3.3. Akutna toksičnost *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**3-3**), *N*-[2-(2,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**3-4**), *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**3-5**), *N*-[2-(4-metoksifenil)etil]benzamida (**3-1**), i SDS-a (pozitivna kontrola) na račiće *Artemia salina*

Jedinjenja	LD_{50} ($\mu\text{mol dm}^{-3}$, nakon 24 h)	LD_{50} ($\mu\text{mol dm}^{-3}$, nakon 48 h)
<i>N</i> -[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (3-3)	100,0	20,0
<i>N</i> -[2-(2,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (3-4)	145,0	100,0
<i>N</i> -[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]benzamida (3-5)	50,0	36,6
<i>N</i> -[2-(4-metoksifenil)etil]benzamida (3-1)	83,5	56,5
Natrijum-dodecil-sulfat (SDS)	147,5	92,2

4.3.2.2. EFEKAT JEDINJENJA **3-1**, **3-3–3-5** I **3-7** NA VIJABILNOST MAKROFAGA

In vitro citotoksična aktivnost jedinjenja **3-1**, **3-3–3-5** i **3-7** je ispitana za peritonealne makrofage pacova nakon tretiranja ovim jedinjenjima 24 h, pri čemu je vijabilnost ćelija određena MTT testom. Testirana u širokom opsegu koncentracija (1×10^{-7} – $5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$), jedinjenja **3-3**, **3-5** i **3-7** (u koncentracijama 1×10^{-4} i $5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) izazivaju statistički značajno smanjene vijabilnosti makrofaga (slika 4.3.4). Jedinjenja **3-1** i **3-4** statistički nisu menjala vijabilnost u opsegu testiranih koncentracija. Najveća testirana koncentracija jedinjenja **3-7**, $5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, izaziva smanjenje vijabilnosti makrofaga za oko 50%, dok je cisplatin, u koncentraciji od $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ uzrokovao smanjenje vijabilnosti za oko 40%. Interesantno je da svi testirani *N*-aciltiraminu pokazuju svoj efekat u relativno uskom opsegu koncentracija (1×10^{-4} – $5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$), dok citotoksični efekat nije zabeležen za niže ispitivane koncentracije.



Slika 4.3.4. Efekat jedinjenja **3-1**, **3-3**–**3-5** i **3-7** na vijabilnost makrofaga (MTT test). Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost $\pm$ SD. Statistički značajne razlike su određene jednofaktorskom analizom varijanse (*One-Way ANOVA*) i *Dunnnett*-ovim *post-hoc* testom $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$ i $****p<0,0001$ prema ćelijama tretiranim medijumom RPMI

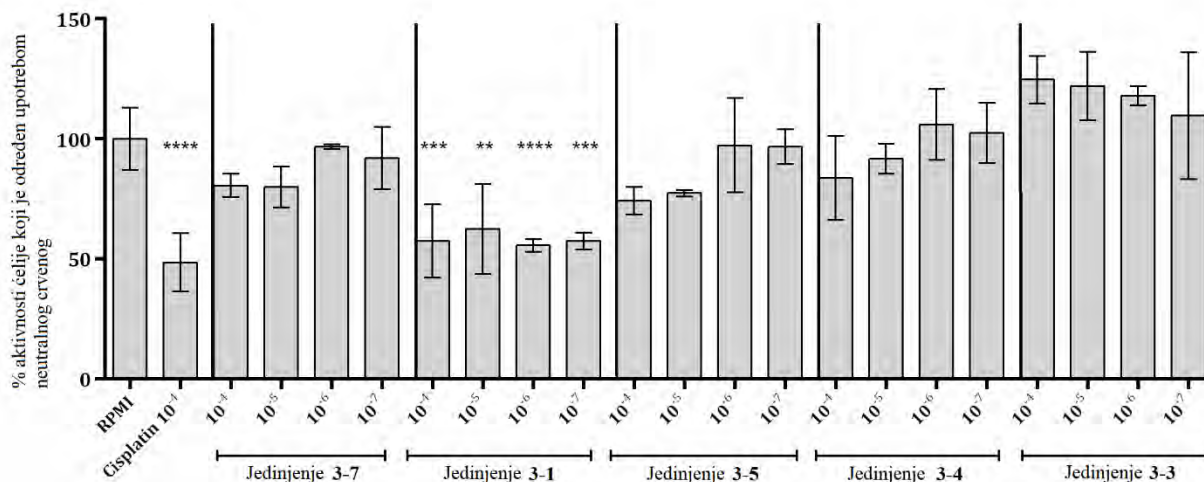
Kada se poredi sa prethodno utvrđenim LC_{50} jedinjenja **3-3** ($65 \mu\text{mol dm}^{-3}$), u slučaju humanih makrofaga (Restrepo i sar., 2019), čini se da su makrofagi pacova manje osetljivi na delovanje jedinjenja **3-3**, vrednost LC_{50} iz opisanih testova je bila oko $250 \mu\text{mol dm}^{-3}$. U tom radu, ostali testirani sintetički derivati koji imaju metil-, metoksi- ili nitro-supstituente vezane u *para* položaju jezgra benzoeeve kiseline, uporedive su citotoksičnosti sa nesupstituisanim (Restrepo i sar., 2019).

Razmatranje veze strukture u ovom radu testiranih *N*-aciltiramina i onih dostupnih iz literature (Restrepo i sar., 2019) sugerise da je prisustvo joda neophodno za izrazito smanjenje ćelijskog redukcionog kapaciteta merenog MTT testom (jedinjenje **3-1** nije pokazalo toksičnost u testiranim koncentracijama); međutim, položaj atoma joda na aromatičnom jezgru *N*-aciltiramina je takođe bitan: svi derivati koji imaju atom(e) joda u *orto* položaju u odnosu na MeO-grupu pokazuju efekat na redukciju ćelijskog kapaciteta, koji je često povezan i sa funkcijom mitohondrija makrofaga, osim za derivate koji imaju jedan atom joda u *orto* položaju u odnosu na CH_2CH_2 lanac. Formamid i benzamidi su bili gotovo jednako toksični. Možemo da špekulišemo da je uočena aktivnost ispitivanih jedinjenja posledica dejstva metabolita koji nastaju iz ovih derivata *N*-aciltiramina; naša pretpostavka je da se, nakon početne hidrolize (stoga je i identitet amida nebitan), nastali

fenetilamini metabolišu u hidroksilamine ili oksime (Irsfeld i sar., 2013), a koji deluju kao mogući toksini mitohondrija ili se konvertuju u odgovarajući aldehid (Suzuki i sar., 1981). Stoga bi voluminozna grupa koja je u *orto* položaju u odnosu na mesto ovih oksidacija ometala stvaranje ovih, možda toksičnijih metabolita.

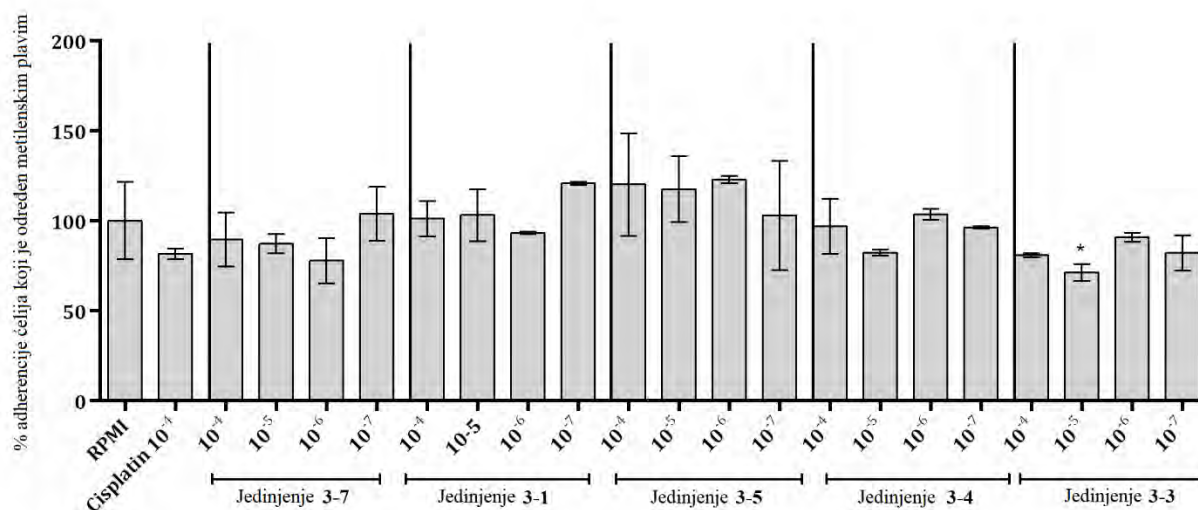
4.3.2.3. UTICAJ JEDINJENJA **3-1**, **3-3-3-5** I **3-7** NA FUNKCIONALNA SVOJSTVA MAKROFAGA

Takođe smo odredili efekat jedinjenja **3-1**, **3-3-3-5** i **3-7** na sposobnost makrofaga da akumuliraju neutralno crveno. Vijabilne ćelije apsorbuju i nakupljaju slabo baznu boju neutralno crveno u lizozomima, a svaka destabilizacija membrane lizozoma rezultuje smanjenim zadržavanjem ove boje unutar lizozoma (Radulović i sar., 2016b). Nakon inkubacije od 24 h, makrofagi nisu pokazali statistički značajne promene u akumulaciji neutralnog crvenog sa povećanjem testirane koncentracije jedinjenja **3-3-3-5** i **3-7**. Međutim, jedinjenje **3-1** dovodi do statistički značajnog smanjenja unosa neutralnog crvenog u svim ispitivanim koncentracijama (slika 4.3.5). Na osnovu rezultata testova MTT i neutralno crveno, možemo videti da jedinjenje **3-1** nije uticalo na aktivnost mitohondrija makrofaga, tj. na smanjenje ćelijskog redukcionog kapaciteta, dok je značajno smanjilo unos neutralnog crvenog. Dakle, primećeno smanjenje funkcije ovih fagocita nije rezultat smanjenja broja makrofaga, već određeni uticaj na njihove lizosome. Stoga, kako ovo jedinjenje ima uticaj na procese fagocitoze i/ili fagolizosome, u svim testiranim koncentracijama koje ne utiču na vijabilnost makrofaga, jedinjenje **3-1** se može klasifikovati kao imunomodulator, i takva aktivnost može biti korisna kod prekomerne aktivacije imunog sistema. Takođe, primećeno je da postoji očigledan porast zadržavanja neutralnog crvenog od strane makrofaga ako su oni tretirani prirodnim proizvodom **3-3**, koji je pokazao smanjenje redukcionog kapaciteta (MTT test) pri najvećoj testiranoj koncentraciji. Dakle, moguće je da aktivniji derivati *N*-aciltiramina dodatno povećavaju sposobnost lizozoma da zadrže neutralno crveno.



Slika 4.3.5. Uticaj jedinjenja **3-1**, **3-3-3-5** i **3-7** (u mol dm⁻³) na sposobnost preživljavanja makrofaga procenjena testom neutralnog crvenog. Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost $\pm$ S.D. Statistički značajne razlike su određene jednofaktorskom analizom varijanse i *Dunnnett*-ovim *post-hoc* testom za višestruka poređenja. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ i **** $p < 0,0001$ prema ćelijama tretiranim medijumom RPMI

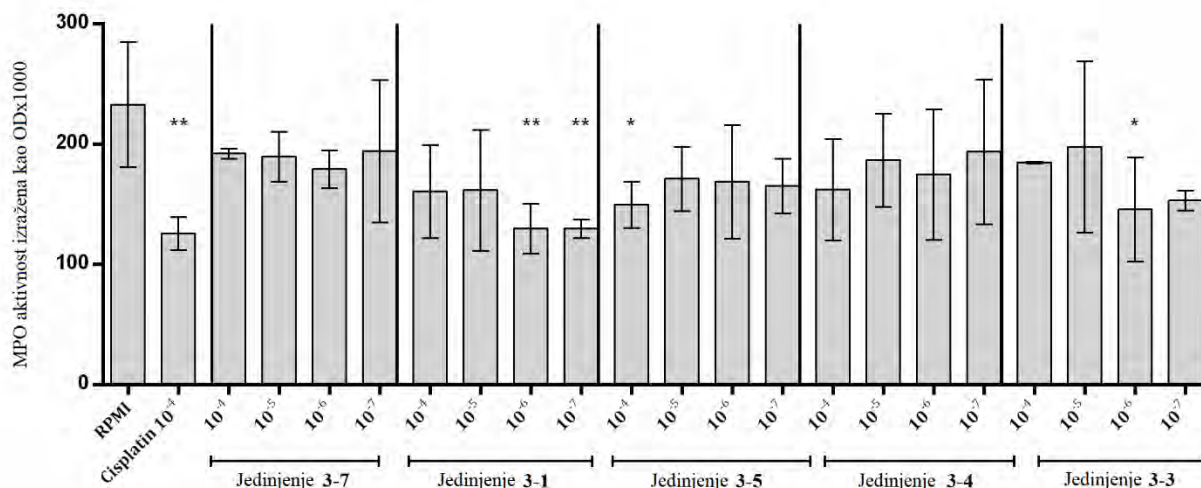
Da bismo ispitali uticaj jedinjenja **3-1**, **3-3-3-5** i **3-7** na sposobnost adheriranja makrofaga, izvršen je test metilenskog plavog (Radulović i sar., 2017). Adheriranje makrofaga predstavlja jednu od njihovih glavnih funkcija u obezbeđivanju odbrambene uloge u organizmu. Stoga bi svaki poremećaj u ovoj osobini rezultovao slabljenjem funkcije makrofaga i celog imunološkog sistema (Abbas i sar., 2015). Samo jedinjenje **3-3**, u jednoj, ne najvišoj koncentraciji (1×10^{-5} mol dm⁻³) izazvalo je značajno smanjenje sposobnosti adheriranja ćelija (slika 4.3.6). Pozitivna kontrola koja se koristi u testovima vijabilnosti, cisplatin, ne menja ovu sposobnost makrofaga, što je u skladu sa prethodno objavljenim rezultatima (Radulović i sar., 2017). Već smo primetili da jedinjenje **3-3** pokazuje potencijalni efekat na uzimanje/zadržavanje neutralnog crvenog, što je direktno povezano sa funkcijom membrane lizozoma. Adheriranje ćelija je takođe povezano sa funkcijom ćelijske membrane, i može se očekivati da se slični efekti mogu ispoljiti i na ćelijskoj membrani i na membrani lizozoma, tj. da su stabilnost ćelijske membrane i sposobnost ka adheriranju povećane. Pri koncentraciji od 1×10^{-5} mol dm⁻³ jedinjenje **3-3** nije pokazalo toksičnost u MTT testu. Čini se da jedinjenje **3-3** pri povećanoj koncentraciji od 1×10^{-4} mol dm⁻³ nema efekta na



Slika 4.3.6. Efekat jedinjenja **3-1**, **3-3–3-5** i **3-7** (u mol dm⁻³) na adherenciju makrofaga (test metilensko plavo). Statistički značajne razlike su određene jednofaktorskom analizom varijanse i *Dunnnett*-ovim *post-hoc* testom za višestruka poređenja. Razlike u vrednostima za koje je *p* manje od 0,05 smatrane su statistički značajnim **p*<0,05 prema ćelijama tretiranim medijumom RPMI.

adheriranje makrofaga, ali je moguće da je to rezultat dva suprotstavljena efekta – smanjenja vijabilnosti ćelija i pojačanog efekta na membranu.

Glavna funkcija mijeloperoksidaze (MPO), enzima prisutnog u fagocitima, jeste stvaranje mikrobicidne HOCl. Visoke količine MPO su prisutne u granulama azurofilnih neutrofila, koje se tokom fagocitoze mobilisu u fagolizozomnim vakuolama. MPO je takođe prisutan u monocitima i makrofagima, mada u manjoj meri nego u neutrofilima (de Araujo i sar., 2013). Jedinjenja **3-1**, **3-3** i **3-5** smanjuju enzimsku aktivnost MPO u peritonealnih makrofaga pacova na statistički značajan način (slika 4.3.7). Naime, aktivnost MPO je smanjena u prisustvu najnižih koncentracija jedinjenja **3-1** i **3-3**, ili kod jedinjenja **3-5** u istoj koncentraciji kao kod cisplatina. Međutim, jedinjenja **3-4** i **3-7** ne pokazuju značajni uticaj na MPO aktivnost ni u jednoj od testiranih koncentracija. Ranije je pokazan imunomodulatorni efekat većih koncentracija sirovog etanolnog ekstrakta vrste *Didemnum albidum* na makrofagima ljudi (Ananthan i Iyappan, 2014). Međutim, ovaj ekstrakt je pokazao stimulativni efekat na aktivnost enzima lizozoma (Ananthan i Iyappan, 2014), što je suprotno našim rezultatima koji su dobijeni za aktivnost MPO (protein lizozoma).



Slika 4.3.7. Efekat jedinjenja **3-1**, **3-3-3-5** i **3-7** (u mol dm⁻³) na MPO aktivnost makrofaga.

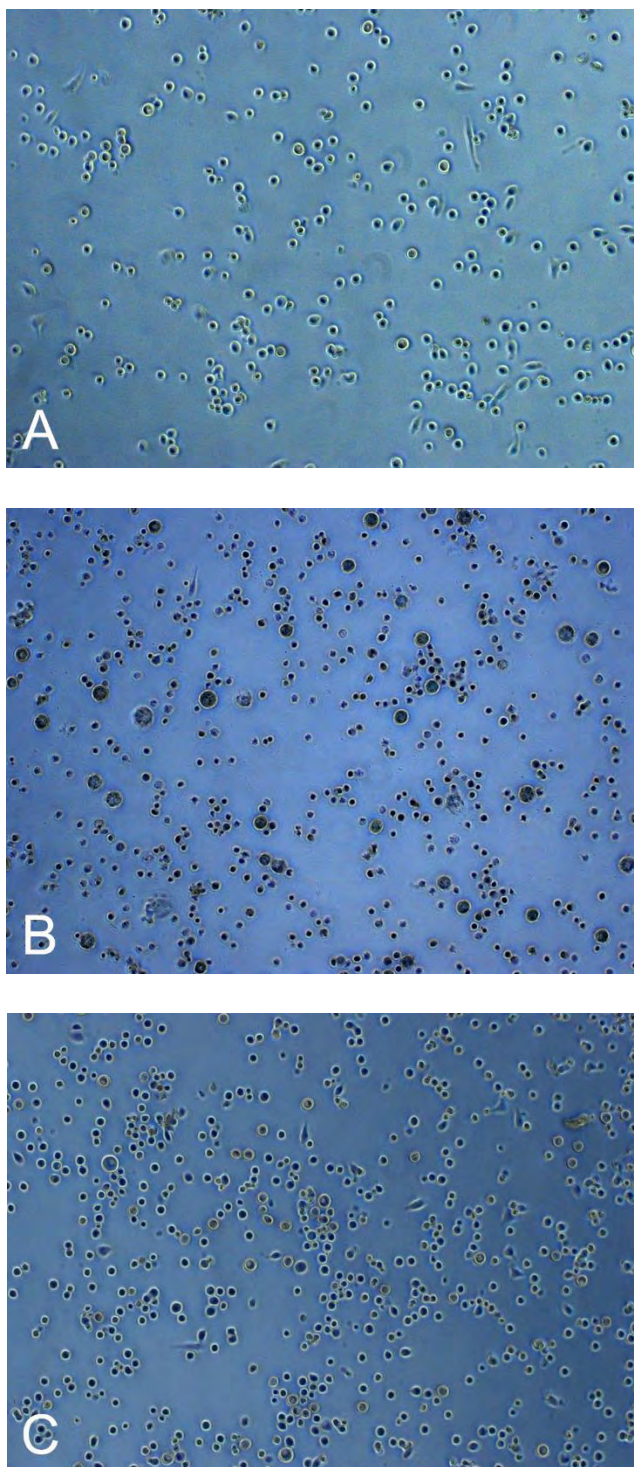
Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost $\pm$ S.D. Statistički značajne razlike su određene jednofaktorskom analizom varijanse i *Dunnett*-ovim *post-hoc* testom za višestruka poređenja.

* $p < 0,05$ i ** $p < 0,01$ prema ćelijama tretiranim medijumom RPMI.

Međutim, uočena odstupanja mogu biti posledica poređenja rezultata različitih metoda, s obzirom na to da je ukupna enzimska aktivnost ćelijskih lizozoma određena na osnovu aktivnosti kisele fosfataze, dok je u našem radu selektivno merena aktivnost MPO. Takođe, uticaj sirovog ekstrakta može biti različit od izolovanih jedinjenja i direktno poređenje rezultata može biti pogrešno, posebno kada nema hemijske analize koja prati biološke testove, kao što je slučaj sa radom *Ananthan* i sar. (2011).

4.3.2.4. IZGLED MAKROFAGA POD UTICAJEM ISPITIVANIH JEDINJENJA

Na kraju, da bismo potvrdili prethodno pretpostavljeni uticaj ispitivanih jedinjenja, proučen je mikroskopski izgled tretiranih makrofaga. Pod invertnim mikroskopom, u kulturama u RPMI medijumu makrofagi su se uglavnom pojavljivali kao okrugle ćelije, sa po nekom vretenastom ćelijom (slika 4.3.8A). Ukoliko se tretiraju jedinjenjem **3-3**, u najvećoj koncentraciji, dolazi do bubrenja ćelija (slika 4.3.8B), verovatno usled delovanja na ćelijske membrane i/ili ćelijske nekroze, i povećanja broja ostataka mrtvih ćelija. Do sličnih nalaza se došlo ali sa prisutnim određenim brojem ćelija u apoptozi kod makrofaga koji su bili izloženi cisplatinu (slika 4.3.8C).



Slika 4.3.8. Izgled makrofaga u RPMI medijumu (A), nakon delovanja jedinjenjem **3-3** (B) i cisplatinu (C), u koncentraciji od $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, sa uvećanjem $\times 100$

Liberio i sar. (2014) su testirali 143 ekstrakta ascidija na ćelijsku liniju kancera dojke MDA-MB-231 i pronašli su da 21 ekstrakt poseduje citotoksičnu aktivnost. Veliki broj testiranih ekstrakata izazvao je promene koje su mogle biti primećene tek posle više dana inkubacije sa ćelijama, a autori su objasnili takav odložen efekat metaboličkom aktivacijom, akumulacijom u ćelijama, toksičnim intermedijerima itd. (*Liberio i sar.*, 2014). Treba imati na umu da je pomenuto istraživanje rađeno sa ćelijama raka sa visokim proliferativnim indeksom, gde je citotoksičnost poželjan efekat. U ovom radu, testirali smo odabrane metabolite ascidija i srodna jedinjenja na normalne ćelije imunog sistema, gde se citotoksičnost može posmatrati kao nedostatak. Stoga, potencijalna antitumorska jedinjenja bi trebalo da poseduju citotoksični efekat za maligne ćelije, a da istovremeno nemaju nikakav ili imaju minimalan efekat na normalne zdrave ćelije, kao što su makrofagi. U našoj studiji, zasnovanoj na rezultatima MTT testa, pokazano je da su jedinjenja **3-1**, **3-3**–**3-5** i **3-7** bezbedna za makrofage u koncentracijama nižim od 5×10^{-5} mol dm⁻³. Međutim, dobijene rezultate treba uzimati sa oprezom, jer je citotoksičnost ekstrakata ascidija primećena čak i nakon 48 h ili više, a svi naši testovi sa makrofagima su trajali samo 24 h (*Liberio i sar.*, 2014).

Može se zaključiti da testirani *N*-aciltiramini ispoljavaju različit stepen toksičnosti za račiće (*A. salina*), a u nekim slučajevima su određene LD₅₀ koncentracije bile čak i niže od koncentracija poznatih toksina (npr. strihnin-sulfat, SDS). U ovom radu je utvrđeno da je toksičnost u velikoj meri zavisna od strukture ovih međusobno povezanih jedinjenja, a prirodno jedinjenje, koje je izolovano iz ascidije *D. rubeum*, pokazalo je najveću toksičnost. Prisustvo i položaj atoma joda u molekulu se može dovesti u vezu sa uočenim efektima. U slučaju kultura makrofaga, testirani *N*-aciltiramini su bili mnogo manje toksični, ali je otkriveno da utiču na funkcionalne osobine ovih normalnih ćelija, najverovatnije dejstvom na ćelijsku membranu i promenom redukcionog kapaciteta ćelije. Za sada, bez saznanja o aktivnosti ostalih sastojaka, može se samo nagađati da li prirodni metabolit **3-3** doprinosi prethodno utvrđenoj citotoksičnosti vodenog ekstrakta ascidije za koju se zna da sadrži ovo jedinjenje (*Solano i sar.*, 2009).

4.4. „ZELENA“ SINTEZA *N*-[2-(3,5-DIJOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA (3-3)

U prethodnom odeljku opisana je sinteza prirodnog proizvoda **3-3**. Jedinjenje **3-3** je dobijeno u malom prinosu, uz upotrebu toksičnih reagenasa, a procedura je obuhvatala neke korake sinteze koji su dugo trajali (npr. 48 h za reakciju sa živa(II)-acetatom, šema 4.3.2). Pokušano je da se pronađe kraći sintetski put, uz maksimalni prinos i blage reakcione uslove. Najviše pažnje je posvećeno ključnim koracima ove sinteze: reakcijama jodovanja i građenja amida. U slučaju reakcije građenja amida iskorišćena je mogućnost „zelene“ sinteze koja ne koristi organski rastvarač, odnosno jodovanje se vrši u vodenoj sredini.

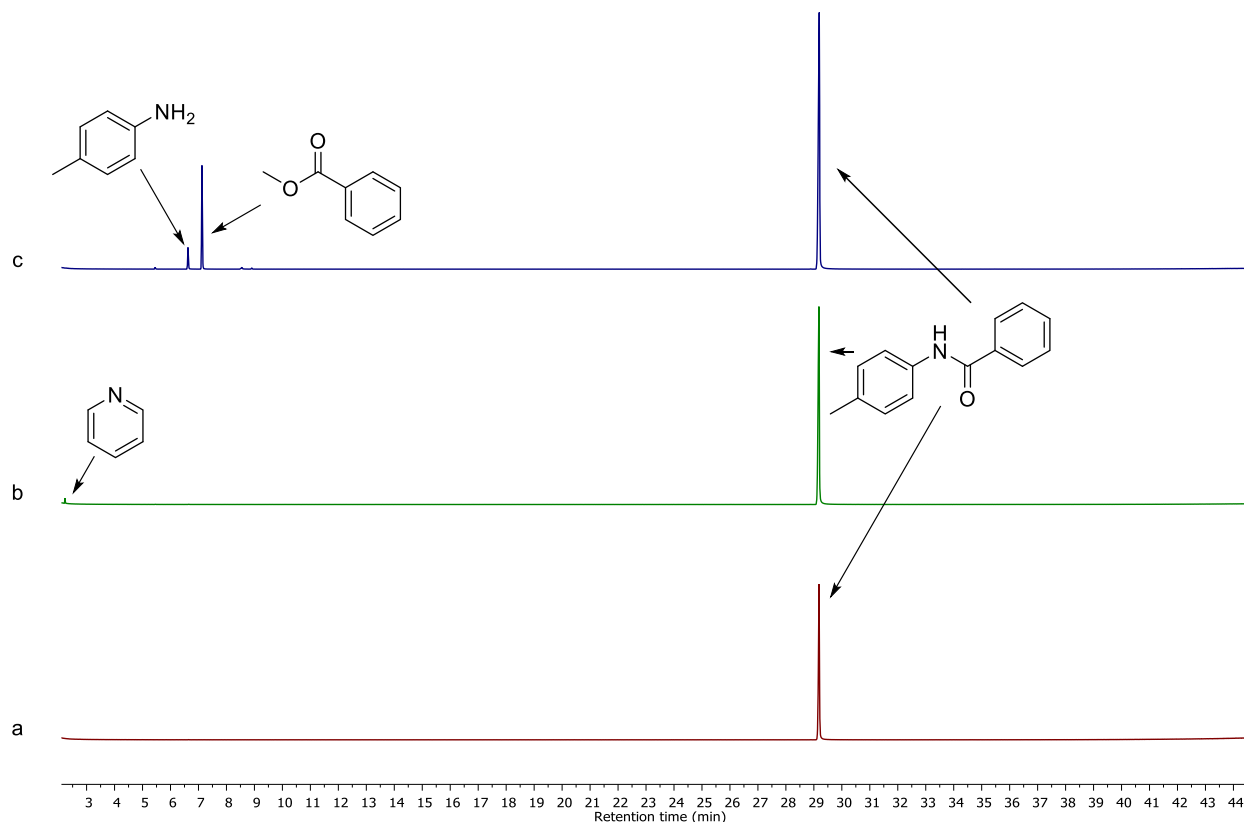
4.4.1. METODA BEZ UPOTREBE RASTVARAČA GRAĐENJA AMIDA

Budući da je reakcija acilovanja ključni korak sinteze *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida (**3-3**), prvo je razvijana metoda kojom se brzo, uz dobar prinos, bez upotrebe organskih rastvarača i uz postupak koji daje ekološki prihvatljive sporedne proizvode, u skladu sa principima zelene hemije, mogu dobiti strukturno različiti amidi.

Za acilovanje pod uslovima bez rastvarača opredelili smo se za hloride kiseline zbog njihove reaktivnosti, a imajući u vidu lošu ekonomiju atoma kada bi se koristili anhidridi (samo jedan ostatak kiseline se ugrađuje u konačni proizvod). Ohrabreni našim prethodnim rezultatima u slučaju sinteze imina bez rastvarača (Radulović i sar., 2013b), prvo je pokušano da se direktno homogenizuju amin, hlorid kiseline i neka pogodna baza. Usled egzotermne reakcije, u homogenizovanu smešu 1 ekv. amina i 1 ekv. NaHCO₃, u kapima je uz mešanje tučkom, u digestoru, dodavan hlorid kiseline. Reakcija se završava nakon potpunog dodatka hlorida kiseline tj. za veoma kratko vreme. Očekivani proizvodi su bili čisti nakon jednostavnog izolovanja, bez daljeg prečišćavanja. Osim što je reakcija brza, ne zahteva dodatnu hromatografiju za prečišćavanje nastale smeše, jer se proizvodi reakcije jednostavno izoluju i dobijaju se čisti amidi. Ukoliko su proizvodi čvrsti, istalože se dodatkom vode, a zatim centrifugiranjem i dekantovanjem odvoje od vode, dok se tečnosti mogu razdvojiti od nastalog vodenog rastvora u levku za odvajanje.

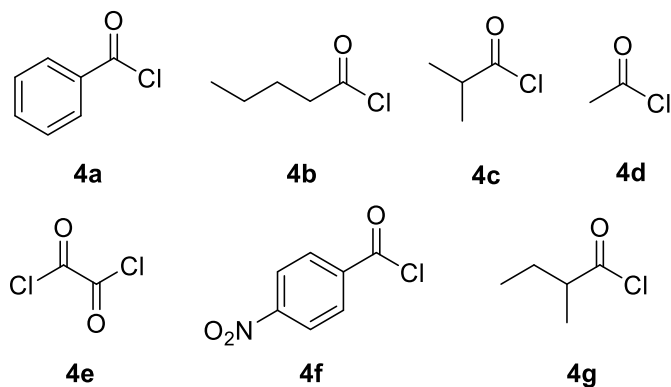
Reakcija benzoil-hlorida, butilamina i natrijum-hidrogenkarbonata (u molskom odnosu 1:1:1), pri jednostavnoj homogenizaciji reaktanata sa tučkom u avanu u toku dodavanja benzoil-hlorida, dala je željeni amid u prinosu od 94%. Ispitivana je mogućnost uticaja drugih baza na brzinu i

kvantitativnost acilovanja bez rastvarača. Upotreba drugih baza, kao što su natrijum-hidroksid, kalijum-karbonat i trietilamin, u reakciji anilina sa benzoil-hloridom, dala je, čiste proizvode, u dobrom prinosu, pri čemu je prinos reakcije sa NaHCO_3 iznosio 97%, sa NaOH je 85%, a sa K_2CO_3 94%, dok je za trietilamin prinos bio 80%. Dakle, dobijen je amid u odličnom prinosu i korišćenjem kalijum-karbonata umesto natrijum-hidrogenkarbonata. I ovaj reaktant bi se mogao koristiti za reakciju sa sličnim učinkom jer bi se za 1 mol reaktanata trošio 84 g NaHCO_3 , a 69 g K_2CO_3 , a njihove tržišne cene su približno 1:2 (sajt *Merck-a*: 1 kg K_2CO_3 košta 94,5 €, dok NaHCO_3 košta 55 €). Primenjujući gore opisan postupak, u hromatogramu reakcione smeše nakon acilovanja *p*-toluidina benzoil-hloridom sa NaHCO_3 kao bazom, uočen je samo jedan pik koji potiče od amida (a, slika 4.4.1), hromatogram reakcione smeše gde je kao baza korišćen piridin sadrži i pik koji potiče od piridina (b), dok hromatogram smeše pomenutog amina i hlorida i 4-(dimetilamino)piridina (DMAP), sadrži pikove koji potiču od neizreagovanog *p*-toluidina, očekivanog amida i drugih (neočekivanih) derivata benzojeve kiseline. Piridin katalizuje reakciju podjednako dobro kao i NaHCO_3 , međutim, toksičan je za životnu sredinu, a sirov proizvod, koji je u slučaju NaHCO_3 čist, treba da se dodatno prečisti od piridina. Pokušano je i acilovanje butil-amina bez prisustva baze, pri čemu se u hromatogramu uočavaju, sem amida u znatno manjem prinosu i drugi proizvodi koji nastaju kao produkti sporednih reakcija benzoil-hlorida (npr. anhidrid benzojeve kiseline i sl.). Zbog dostupnosti i manje higroskopsnosti u odnosu na K_2CO_3 u daljim reakcijama je korišćen NaHCO_3 .



Slika 4.4.1. TIC hromatogrami reakcionih smeša dobijenih acilovanjem *p*-toluidina sa hloridom benzojeve kiseline i: a) natrijum-hidrogenkarbonata; b) piridina; c) 4-(dimetilamino)piridina kao baze

Da bismo proučili obim reakcije, veći broj amina i hlorida je podvrgnut pomenutim reakcionim uslovima. Alifatični amini su sličnom brzinom reagovali sa benzoil- i drugim hloridima (šema 4.4.1), pri čemu nastaju amidi u dobrim prinosima (80-94%). Međutim, u reakciji sa račvastim aminima sa malim brojem C-atoma (butan-2-amin, *terc*-butil-amin i 2-metil-1-propanamin), pod istim uslovima, nije u potpunosti izreagovao acil-hlorid, odnosno u hromatogramima je moguće videti da je jedan od glavnih sastojaka neizreagovani benzoil-hlorid. Moguće je da je došlo do gubitka ovih isparljivih amina usled egzotermnosti reakcije.



Šema 4.4.1. Acil-hloridi korišćeni za acilovanje amina bez rastvarača

Anilin i njegovi derivati (metil-, metoksi-, nitro-, hlor- i acetil-anilini) reaguju sa acil-hloridima, uz nastajanje čistih amida u dobrim do visokim prinosima (74–97%). 1-Naftilamin je takođe pokazao dobru reaktivnost sa benzoil-hloridom (89%), dok se u hromatogramu 2-aminopiridina mogu uočiti proizvodi mono- i diacilovanja, što je karakteristično za amino grupu koja je vezana za α -C-atom u odnosu na atom azota u heterociklusima (Suzuki i sar., 1978). Benzilamin, furfurilamin, derivati 2-feniletan-1-amina, takođe reaguju kvantitativno sa hloridima kiselina u dobrom prinosu. Nije uočena razlika u reaktivnosti koja bi bila posledica uticaja supstituenata sa elektron-donorskim ili elektron-akceptorskim efektom na reakciju acilovanja kod supstituisanih anilina. Takođe, na ishod reakcije ne utiču ni voluminozni supstituenti koji se nalaze u *orto* položaju u odnosu na amino grupu koja reaguje.

Reakcija je isprobana sa sekundarnim aminima, a na osnovu hromatograma se vidi da su nastali amidi čisti i da nastaju u zadovoljavajućim prinosima. Zanimljivo je da se kod diamina, bez obzira na to da li se acilovanje vrši sa 1 ekvivalentom ili 2 ekvivalenta benzoil-hlorida, aciluju oba položaja, što je i potvrđeno na osnovu analize NMR spektara smeše dobijene acilovanjem 1,2-etandiamina sa 1 ekv. benzoil-hlorida.

Dobijeni rezultati su nas motivisali da ispitamo reakciju acilovanja amina i sa hloridima alifatičnih kiselina i *p*-nitrobenzoil-hloridom (šema 4.4.1). Svi ispitivani hloridi kiselina daju čiste amide, koje nije bilo potrebno prečišćavati dodatno hromatografijom, međutim u nižim prinosima, koji su se kretali od oko 50% do 82%, u odnosu na benzoil-hlorid. Primećeno je da reakcija acilovanja sa *p*-nitrobenzoil-hloridom teče sporije (manje egzotermno), ali to je najverovatnije posledica agregatnog stanja hlorida (čvrst je) pri čemu se on istovremeno usitnjava u toku reakcije. Ukoliko

se uporede prinosi acilovanja istih amina sa benzoil- i acetil-hloridom, uočeno je da je prinos u reakciji sa acetil-hloridom manji (npr. kod amida anilina niži je za oko 50%). Međutim, ako uporedimo prinose amida drugih hlorida alifatičnih kiselina i benzoil-hlorida u reakcijama sa istim aminima, prinos proizvoda se ne razlikuje značajno (do najviše 10%). Moguće je da pri upotrebi acetil-hlorida dolazi brže do eliminacije HCl iz hlorida i dobijanja isparljivog ketena $\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$. Napuštanje reakcione smeše ovog jedinjenja bi objasnilo niže prinose sa AcCl. Zanimljivo je napomenuti da je prinos proizvoda dobijenih acilovanjem furfuril-amina sa hloridima alifatičnih kiselina sa različitom sternom smetnjom u α -položaju (pentanoil- i 2-metilpentanoil-hloridom) sličan (45 i 49%, tabela 4.4.1).

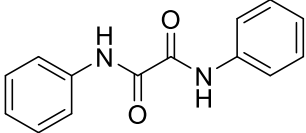
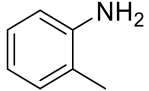
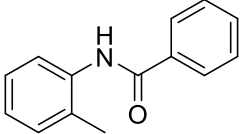
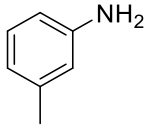
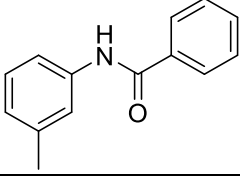
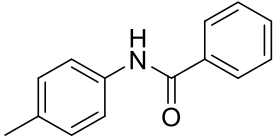
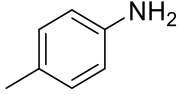
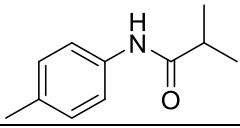
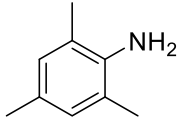
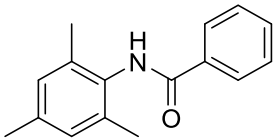
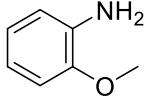
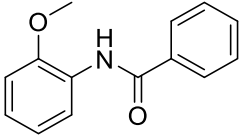
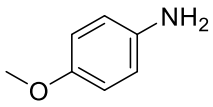
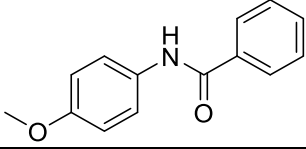
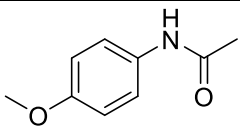
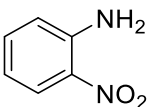
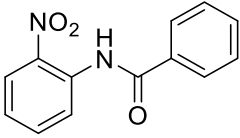
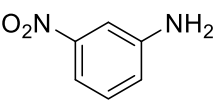
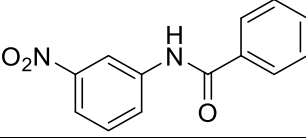
Hemoselektivnost reakcije acilovanja je jedna od važnih osobina ove metode bez rastvarača za sintezu amida. Selektivnost je ispitana reakcijom smeše anilina i fenola (1:1) sa benzoil-hloridom. Sa 1 ekvivalentom benzoil-hlorida nastaje samo jedan proizvod, *N*-fenilbenzamid. Glavni proizvod acilovanja aminokiseline L-prolina je *N*-benzoil-L-prolin, a u hromatogramu se mogu uočiti i pikovi benzojeve kiseline i neizreagovanog benzoil-hlorida (<10%). Na osnovu masenog i NMR spektara potvrđeno je da je dominantni proizvod amid. Zanimljivo je da je u hromatogramu reakcione smeše glicina i benzoil-hlorida glavni pik neizreagovani benzoil-hlorid, dok hipurne kiseline ima vrlo malo (15% na osnovu GC–MS analize). Glavni proizvodi acilovanja 2-aminoetan-1-ola i 3-aminopropan-1-ola su proizvodi *N*-monoacilovanja. Međutim, mogu se uočiti i minorni proizvodi diacilovanja (najverovatnije *N,O*-diacilovanje). Interesantno je pomenuti da je reakcija acilovanja 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiola (0,75 mmol) bila neuspešna, tj. u hromatogramu reakcione smeše uočeni su samo pikovi reaktanata.

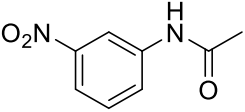
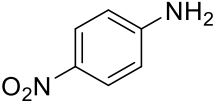
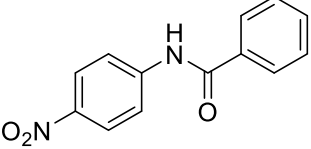
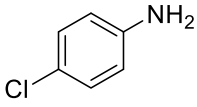
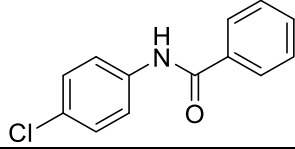
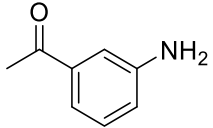
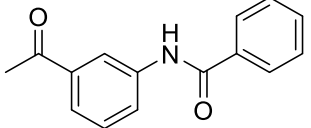
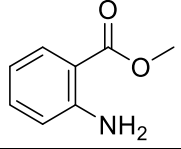
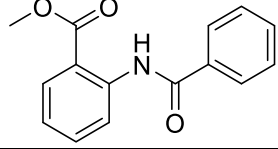
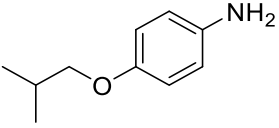
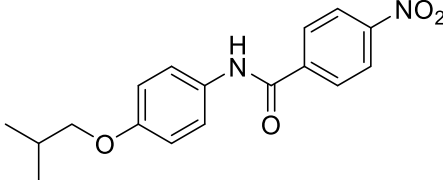
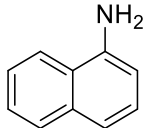
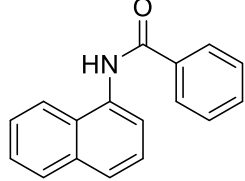
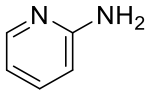
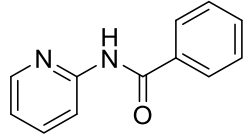
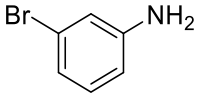
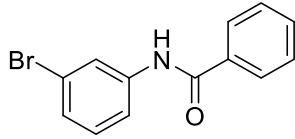
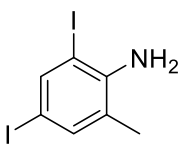
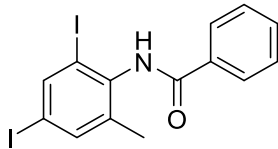
Prateći opisani postupak, sintetisan je od 42 strukturno različita amina i 7 acil-hlorida ukupno 51 amid, od toga je na osnovu pretrage CAS baze utvrđeno da sedam njih predstavljaju nova jedinjenja (**4-27**, **4-31**, **4-43–4-47**), Njihove strukture su u potpunosti spektralno okarakterisane (^1H i ^{13}C NMR spektrima, MS, IR i UV).

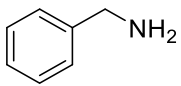
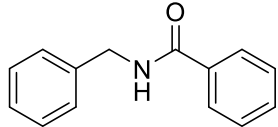
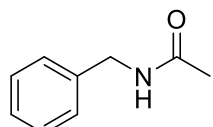
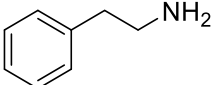
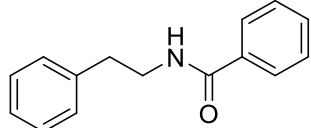
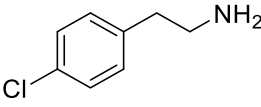
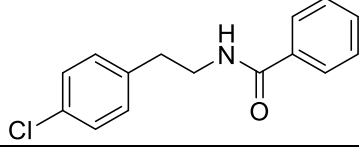
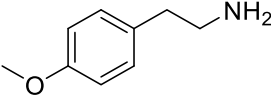
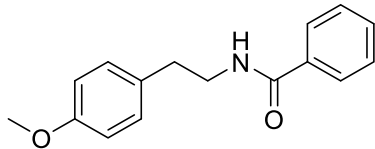
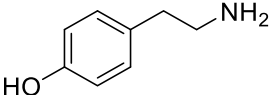
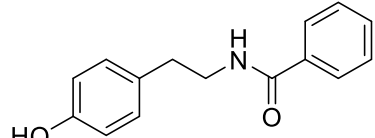
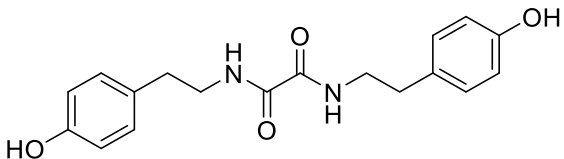
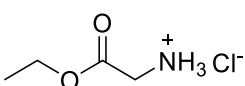
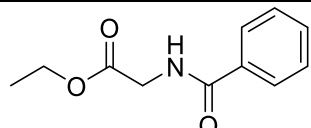
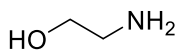
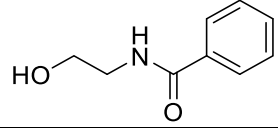
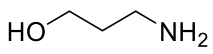
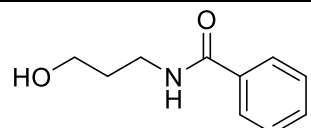
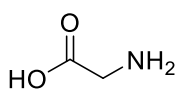
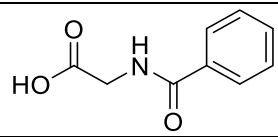
Da bismo proverili preparativni značaj ove metode, sprovedena je reakcija sa gramskim količinama reaktanata. Anilin (5,00 g, 53,7 mmol) sa benzoil-hloridom (7,52 g, 53,7 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonatom (4,51 g, 53,7 mmol) dao je 10,27 g *N*-fenilbenzamida u prinosu od 97%. Sintetisani amid, na osnovu GC–MS analize nije zahtevao dodatno prečišćavanje.

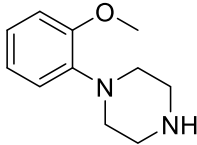
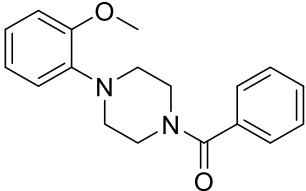
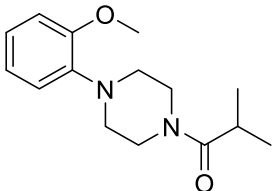
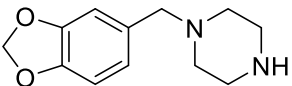
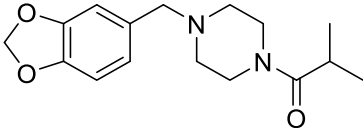
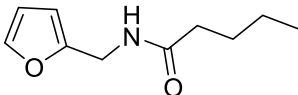
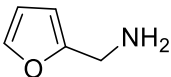
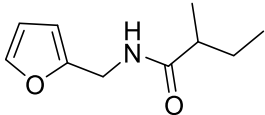
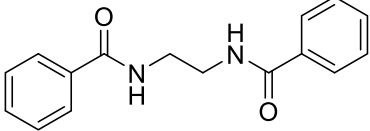
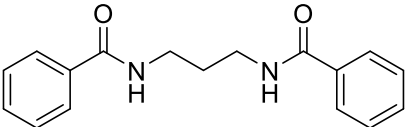
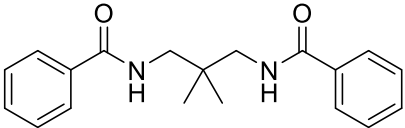
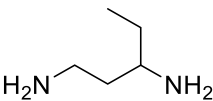
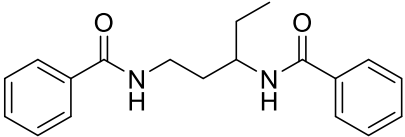
Tabela 4.4.1 Sintetisani amidi (odnos amin: acil-hlorid: baza = 1:1:1, sem gde to nije naznačeno)

Šifra amida	Struktura amina	Acil-hlorid	Struktura amida	Prinos reakcije %
4-1		4a		94
4-2		4a		84
4-3		4a		94
4-4		4a		91
4-5		4a		82
4-6		4a		57
4-7		3a		45
4-8		4a		38
4-9		4a		97
4-10		4d		50

4-11		4e		48
4-12		4a		85
4-13		4a		92
4-14		4a		88
4-15		4c		17
4-16		4a		91
4-17		4a		74
4-18		4a		96
4-19		4d		65
4-20		4a		96
4-21		4a		76

4-22		4d		65
4-23		4a		86
4-24		4a		92
4-25		4a		66
4-26		4a		87
4-27		4f		50
4-28		4a		89
4-29		4a		50 ^a
4-30		4a		51
4-31		4a		60

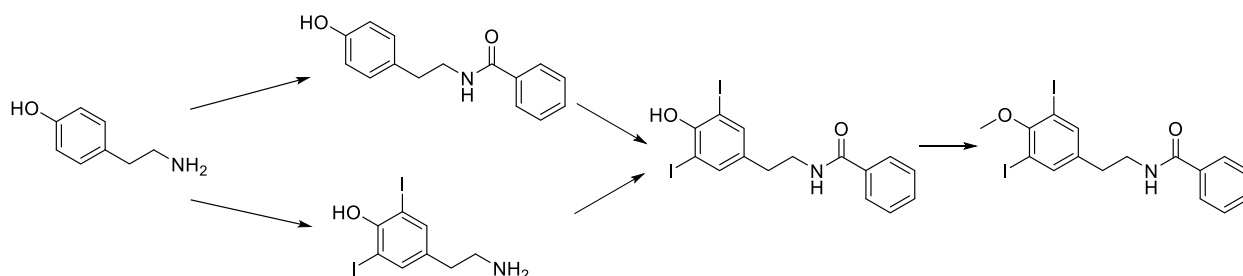
4-32		4a		84
4-33		4d		62
4-34		4a		89
4-35		4a		91
4-36		4a		90
4-37		4a		74
4-38		4e		51
4-39		4a		13 ^a
4-40		4a		68
4-41		4a		77
4-42		4a		28

4-43		4a		56
4-44		4c		54
4-45		4c		25
4-46		4b		45
4-47		4g		49
4-48	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	4a		51 ^b
4-49	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	4a		95 ^b
4-50		4a		96 ^b
4-51		4a		98 ^b

^bodnos reagenasa za acilovanje je 1:2:1 (amin:NaHCO₃:acil-hlorid), ^codnos reagenasa je 1:2:2 (amin:NaHCO₃:acil-hlorid)

4.4.2. SINTEZA *N*-[2-(3,5-DIJOD-4-METOKSIFENIL)ETIL]BENZAMIDA (**3-3**) I OPTIMIZACIJA REAKCIJE JODOVANJA

Osmišljena su dva redosleda izvođenja sintetskih koraka „zelene“ sinteze prirodnog *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida **3-3** (šema 4.4.2): put kod koga je prvi korak acilovanje bez rastvarača komercijalno dostupnog tiramina benzoil-hloridom, i put kod koga je, jodovanje tiramina prva reakcija, pa zatim acilovanje. Kod oba puta metilovanje fenolne OH-grupe je poslednji korak sinteze. Fenolna OH-grupa pod baznim uslovima (fenolat) u reakcijama elektrofilne aromatične supstitucije je jako aktivirajuća i ovde *orto* dirigujuća, tako da je ova njena osobina iskorišćena za reakciju uvođenja joda na jezgro. Ukoliko bi prva reakcija bila metilovanje, pa tek onda jodovanje, reakcija jodovanja ne bi mogla da se izvrši pod blagim, netoksičnim uslovima (videti odeljak 4.3), kako je opisano u ranijoj sintezi.



Šema 4.4.2. „Zelena“ sinteza jedinjenja **3-3**: dva redosleda izvođenja sintetskih koraka

U prvom redosledu koraka, prvo je izvršeno acilovanje bez rastvarača (po prethodno opisanoj metodi za građenje amida) tiramina benzoil-hloridom i natrijum-hidrogenkarbonatom (u molskom odnosu 1:1:1), pri čemu je dobijen čist amid u prinosu od 74%. Na osnovu hromatograma je utvrđeno da je došlo do monoacilovanja, a nakon analize NMR spektara da je to bilo (*N*-acilovanje), pri čemu je dobijena čista supstanca koja se mogla dalje koristiti u sintezi. Sledeći korak sinteze je jodovanje dobijenog amida. Ovom reakcijom su dobijane smeše proizvoda mono- i diiodovanja, tako da je bilo potrebno optimizovati uslove reakcije kako bi se proizvod diiodovanja dobio u maksimalnom prinosu.

Najpre je vršena reakcija sa 2 ekvivalenta elementarnog joda, a tom prilikom je jod u porcijama dodavan u bazni vodeni rastvor amida (4 ekv. KOH), uz intenzivno mešanje reakcione smeše na sobnoj temperaturi. Reakcija je vođena do gubitka tamne boje koja potiče od joda. Međutim, u hromatogramu reakcione smeše su bili prisutni pikovi neizreagovanog amida i monojodovanog

derivata. Reakcija je ponavljana nekoliko puta, uz povećanje broja ekvivalenata joda, i vremena odigravanja, ali proizvod dijodovanja nije dobijan u zadovoljavajućem prinosu. Međutim, jod u vodenom rastvoru KI je dao u reakciji jodovanja amida tiramina (u baznom vodenom rastvoru) dijodovani derivat u većem procentu, a neizreagovanog amida je bilo vrlo malo.

Zbog ovih problema pokušao je i drugi redosled izvođenja redosleda reakcija: najpre je jodovan tiramin, pa je onda acilovan proizvod jodovanja. Baznom rastvoru tiramina je dodavan jod u porcijama, a reakcija je vođena do obezbojavanja smeše. U toku izolovanja proizvoda, budući da je tiramin i amin i fenol, dobijeni dijod-derivat je izgleda u obliku cviter-jona na podešenoj pH vrednosti rastvora. Konačan jodovanje je izvršeno tako što je u amonijačni rastvor tiramina ukapavan etanolni rastvor joda na 5 °C. Nakon izolovanja željenog proizvoda, on je podvrgnut acilovanju bez rastvarača benzoil-hloridom na prethodno opisan način, a nakon toga i amid metilovanju dimetil-karbonatom. „Zelena“ reakcija metilovanja dimetil-karbonatom, nažalost nije dala značajne prinose. Za izvođenje ove reakcije je bila potrebna visoka temperatura, a reakcija se odvija u dimetil-karbonatu i kao rastvaraču, uz refluks tokom 30 h, u prisustvu kalijum-karbonata. Dobijen je prirodni proizvod **3-3** u prinosu od 25%.

5. IZVOD

Ciljevi ove doktorske disertacije bili su: sinteza, identifikacija i spektralna karakterizacija odabranih jodovanih derivata aromatičnih jedinjenja, koja su prirodnog porekla ili nastala jodovanjem prirodnih proizvoda. Sintetisana jedinjenja su okarakterisana spektroskopskim metodama (uključujući jednodimenzionalnu i dvodimenzionalnu ^1H i ^{13}C NMR spektroskopiju). Predmet istraživanja bila su biološki aktivna jedinjenja dobijena reakcijom jodovanja monoterpenskih fenola: timola (2-izopropil-5-metilfenol) i karvakrola (5-izopropil-2-metilfenol), i sinteza toksičnih jodovanih derivata tiramina (4-(2-aminoetil)fenol). Dobijeni su sledeći rezultati:

Upotrebom savremenih hromatografskih i spektralnih tehnika (NMR/FTIR/MS/UV) u kombinaciji sa hemijskim transformacijama i kvantnomehničkim izračunavanjima, utvrđen je sastav i struktura sastojaka aristola, dobijenog jodovanjem timola u alkalnim uslovima. Utvrđeno je da je aristol kompleksna smeša velikog broja strukturno bliskih molekula jodovanog dehidroditimola, zajedno sa jodtimolima i neizreagovanim timolom. Izolovano je i potpuno spektralno okarakterisano pet proizvoda oksidativnog kuplovanja ($\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}$, $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{O}-\text{C}_{\text{Ar}}$ and $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{Ar}}$): 5,5'-diizopropil-3,3'-dijod-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-4,4'-diol, 3,3'-diizopropil-5,5'-dijod-6,6'-dimetil-[1,1'-bifenil]-2,2'-diol, 6-izopropil-4-(2-izopropil-4-jod-5-metilfenoksi)-2-jod-3-metilfenol, 4-(5-hidroksi-4-izopropil-2-jodbenzil)-2-izopropil-5-metilfenol i 3-(4-hidroksi-5-izopropil-2-metilbenzil)-6-izopropil-2,4-dijodfenol. Dva identifikovana sastojaka aristola nastala su bočnim *meta*-kuplovanjem ($\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{Ar}}$) koje nije ranije primećeno kod fenola, a verovatno uključuje benzil-radikale za koje nije poznato da se formiraju u datoj reakciji. Dodatno je identifikovano 16 sastojaka aristola pomoću QSPR modela u kombinaciji sa analizom masenih spektara, direktno iz „sirovog“ aristola bez prethodnog razdvajanja, npr. hromatografije.

Jodovanjem karvakrola dobijeni su mono- i diiod-derivati, pri čemu je na osnovu NMR podataka za diiod-derivat utvrđeno da predstavlja smešu atropizomera, koji se javljaju usled otežane rotacije oko sp^2-sp^3 veze. Ovaj tip atropizomerije je redak u prirodi. Prisustvo atropizomernih diastereomera primećeno je i kod drugih srodnih derivata, a dobijenih ili zamenom voluminoznih supstituenata (joda) drugim supstituentom (bromom), odnosno sintezom mešovitih halogenovanih derivata karvakrola, ili sintezom etara i estara diiod- i dibrom-derivata. Tom prilikom sintetisani su estri propanske i 2-metilbutanske kiseline, metil- i alil-etri. Svi atropizomeri su u potpunosti spektralno okarakterisani 1D- i 2D-NMR spektrima, pri čemu su u NOESY spektrima uočeni ukršteni signali (*cross-peaks*) koji odgovaraju signalima izmene, tj. spore (uporedive sa brzinom

snimanja spektara) interkonverzije dva rotamera. Na sobnoj temperaturi u deuterochloroformu zastupljenost *sin* i *anti* atropizomera je bila približna—nekoliko procenata više ima *anti*-izomera, a na osnovu integraljenja ^1H NMR spektara. Kod mešovutih dihalogenovanih karvakrola (2-brom-4-jod-3-izopropil-6-metilfenola), zastupljeniji je *sin*-izomer (gde je vodonik iz izopropil-grupe *sin* u odnosu na jod). Povezivanje signala i *anti*, odnosno *sin*, konfiguracije izomera je ostvareno na osnovu analize uticaja prostorno bliskih grupa na hemijska pomeranja (γ -efekta). Dinamičkim NMR-om određena je temperatura koalescencije za 2,4-dibrom-3-izopropil-6-metilfenol u DMSO- d_6 . Na osnovu ove temperature izračunata je slobodna energija aktivacije ($\Delta G^\ddagger = 15,70 \text{ kcal mol}^{-1}$), i ona je zatim upoređena sa vrednostima dobijenim kvantnomehničkim izračunavanjima ($\Delta G^\ddagger = 20,63 \text{ kcal mol}^{-1}$).

Ostvarena je nova sinteza prirodnog proizvoda *N*-[2-(3,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamida, prethodno izolovanog iz ascidije *Didemnum rubeum*, i njegovih analoga, koji su u potpunosti spektralno okarakterisani: *N*-[2-(2,5-dijod-4-metoksifenil)etil]benzamid, *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]benzamid, *N*-[2-(3-jod-4-metoksifenil)etil]formamid i *N*-[2-(4-metoksifenil)etil]benzamid. Sintaza *N*-aciltiramina je ostvarena u niskom ukupnom prinosu, pri čemu je ključni korak reakcija bio jodovanje. Najpre je izvršena sinteza amida iz komercijalno dostupnog 2-(4-metoksifenil)etanamina i odgovarajućih kiselina, a dobijeni amidi su zatim podvrgnuti reakciji jodovanja u dva koraka. U prvom koraku, u reakciji sa živa(II)-acetatom (nakon 48 h) nastaje intermedijer—organoživino jedinjenje, koje nakon zamene liganada (acetata hlorigidima) reaguje sa elementarnim jodom (reakcija je vođena 16 h). Merkurovanje nije bilo jako selektivno već je dobijena smeša mono- i diiod-derivata. Ispitan je efekat sintetisanih *N*-aciltiramina na makrofage pacova, kao i akutna toksičnost prema račićima *Artemia salina*. Testirani *N*-aciltiramini pokazali su različit nivo toksičnosti prema račićima, a u nekim slučajevima letalna koncentracija je bila čak i manja u odnosu na poznate otrovne supstance (npr. strihnin-sulfat). Toksičnost je bila direktno u vezi sa strukturom ovih *N*-aciltiramina, pri čemu je prirodni proizvod bio najtoksičniji. Kod kultura makrofaga utvrđeno je da oni utiču na funkciju (aktivnost mijeloperoksidaze) ovih normalnih ćelija imunog sistema, a ne na njihovu vijabilnost.

U cilju da se ostvari ekološki prihvatljiva sintaza *N*-aciltiramina, uz bolji prinos i blaže reakcione uslove, a u skladu sa principima „zelene“ hemije, razvijena je metoda acilovanja amina bez rastvarača, kao jednog od ključnih koraka sinteze *N*-aciltiramina. Ovom metodom sintetisan je 51

amid (od toga sedam novih amida) uz korišćenje 42 strukturno različitih amina i 7 hlorida kiselina. Metoda je jednostavna-omogućava vrlo efikasnu sintezu različitih amida bez rastvarača, sa dobrim do odličnim prinosom, a za kratko reakciono vreme, uz nastajanje čistih proizvoda. Metoda za dobijanje amida bez rastvarača je primenljiva na primarne i sekundarne amine, kao i funkcionalizovane amine, vrlo često sa visokom hemoselektivnošću.

„Zelena“ sinteza prirodnog proizvoda iz *D. rubeum* je ostvarena benzoilovanjem tiramina korišćenjem razvijene metode *solvent-free* acilovanja ili dijodovanog tiramina. Jodovanje tiramina ili *N*-benzoiltiramina je izvedeno u vodenoj sredini u prisustvu baze. Poslednji korak sinteze je bilo metilovanje zelenim reagensom, dimetil-karbonatom, a ukupni prinos „zelene“ sinteze je bio 25%.

6. SUMMARY

The aims of this PhD thesis were the synthesis, identification and spectral characterization of selected iodinated aromatic compounds which are either of natural origin or prepared by the iodination of natural compounds. The synthesized compounds were fully characterized by spectroscopic methods, including ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, 1D- and 2D-experiments. The focus of our research was on the biologically active compounds obtained by iodination of monoterpene phenols: thymol (2-isopropyl-5-methylphenol) and carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol), as well as the synthesis of iodinated tyramine, 4-(2-aminoethyl)phenol, derivatives. The results were as follows:

The structure of aristol, prepared by iodination of thymol under alkaline condition, was elucidated using modern chromatographic and extensive spectral techniques (NMR/FTIR/MS/UV), combined with chemical transformations and quantum mechanical calculations. Our findings showed that aristol does not represent a single chemical entity but a complex mixture of a large number of structurally closely related iodinated dehydrodithymol molecules together with (di)iodothymols and unreacted thymol. Five products of oxidative coupling ($\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}$, $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{O}-\text{C}_{\text{Ar}}$ and $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{Ar}}$) were successfully isolated in pure state and fully spectrally characterized: 3,3'-diiodo-5,5'-diisopropyl-2,2'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4,4'-diol, 5,5'-diiodo-3,3'-diisopropyl-6,6'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-2,2'-diol, 2-iodo-4-(4-iodo-2-isopropyl-5-methylphenoxy)-6-isopropyl-3-methylphenol, 4-(5-hydroxy-2-iodo-4-isopropylbenzyl)-2-isopropyl-5-methylphenol, and 3-(4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylbenzyl)-2,4-diiodo-6-isopropylphenol. A lateral *meta*-coupling (with respect to the phenoxy radical), $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}_2-\text{C}_{\text{Ar}}$, previously never reported for oxidative coupling of phenols, was firmly established in two aristol constituents. This provides evidence for a mechanism that involves benzyl radicals unknown to form under these conditions. An additional 16 aristol constituents were identified by the use of a QSPR model (readily available structure-derived descriptors used to predict gas chromatographic retention data), in combination with mass spectrometry, directly from the aristol matrix without preparative chromatography.

Iodination of carvacrol yielded mono- and diiodo-derivatives while NMR analysis revealed that the latter is a mixture of atropisomers - this is the result of a hindered rotation around sp^2-sp^3 bond (this type of atropisomers is very rare). The presence of atropisomeric diastereomers was additionally seen by the replacement of an iodine atom with a bromine atom through the synthesis of mixed halogen derivatives of carvacrol and by preparation of ethers and esters of diiodo and

dibromoderivatives. In the course of the study, esters of propionic and isobutyric acids, as well as methyl and allyl ethers were synthesized. All atropisomers were fully characterized by 1D- and 2D-NMR, and cross-peaks in the NOESY spectra corresponding to exchange signals were observed. At room temperature in deuterated chloroform, the abundances of *syn* and *anti* atropisomers were approximately even (there was slightly more of the *anti* isomer, based on the integration of ^1H NMR spectra). In the case of mixed dihalogenated derivative, 2-bromo-4-iodo-3-isopropyl-6-methylphenol, the *syn* isomer (i.e. the isomer in which H8 from the isopropyl group is *syn* to iodine) was more abundant. Differentiation of *syn* and *anti* isomers was performed based on the γ -effect on chemical shifts, i.e. the effect of neighbouring groups. Coalescence temperature for 2,4-dibromo-3-isopropyl-6-methylphenol in deuterated DMSO was determined by temperature-dependent dynamic NMR studies, and this allowed us to calculate the free energy of activation ($\Delta G^\ddagger = 15.70$ kcal/mol) which was then compared with the theoretically calculated values ($\Delta G^\ddagger = 20.63$ kcal/mol).

A new synthesis of the natural product *N*-[2-(3,5-diiodo-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamide, isolated from the ascidian *Didemnum rubeum*, and its analogs *N*-[2-(2,5-diiodo-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamide, *N*-[2-(3-iodo-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamide, *N*-[2-(3-iodo-4-methoxyphenyl)ethyl]formamide, and *N*-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]benzamide was developed; all compounds were fully characterized by spectral methods. The overall yield of *N*-acyl tyramine synthesis was generally low, and the problematic step turned out to be the iodination reaction. The first step in the synthesis was the preparation of amides using the commercially available 2-(4-methoxyphenyl)ethanamine and the corresponding carboxylic acids coupled by a Steglich approach; the obtained amides were then iodinated in a two-step process. The reaction with mercury(II) acetate (48 h) led to the formation of an intermediate organomercury compound. This intermediate reacted with elemental iodine (16 h), following a metathesis of ligands (acetates to chloride ions). The chemo/regioselectivity of mercuration was low and mixtures of mono- and diiodo-products were obtained. The tested *N*-acyl tyramines exerted a varying degree of toxicity towards brine shrimps, but in certain cases, the determined lethal concentrations were even lower than those of known toxicants (e.g. strychnine sulfate). The toxicity was highly dependent on the structure of these mutually related compounds, while the natural one was shown to be the most toxic one. In the case of macrophage cultures, the tested *N*-

acyl tyramines exerted much less toxicity but were found to have an effect on the functioning of these normal immune cells.

In order to perform an eco-friendly synthesis of *N*-acyl tyramines, with better yields and under milder reaction conditions, and in accordance with the principles of green chemistry, initially, a solvent-free method for amine acylation was developed. This method was employed to prepare 51 amides (7 new amides) by using 42 structurally different amines and seven acyl chlorides. This method allows for a fast and efficient solvent free synthesis of different amides, with good yields, short reaction times and preparation of pure products. The method can also be applied to primary and secondary amines (including functionalized amines), often with excellent chemoselectivity.

The solvent-free method was developed to be applied in the „green“ synthesis of the natural product from *D. rubeum*, and benzylation of tyramine or diiodinated tyramine was accomplished in this way. Iodination of *N*-benzoyl tyramine or tyramine was performed in aqueous medium in the presence of a base. Dimethyl carbonate, a green reagent, was utilized for the methylation in the last step of the synthesis, and the overall yield of the „green“ synthesis was 25%.

7. LITERATURA

Abaee, M.S., Akbarzadeh, E., Sharifi, R., Mojtahedi, M.M., 2010. *Monatsh. Chem.*, 141, 757.

Abbas, A., Lichtman, A.H., Pillai, S., 2015. *Cellular and Molecular Immunology*, Eighth Ed. Elsevier/Saunders, Philadelphia.

Adimurthy, S., Ramachandraiah, G., Ghosh, P.K., Bedekar, A.V., 2003. *Tetrahedron Lett.*, 44, 5099.

AIST: Integrated Spectral Database System of Organic Compounds. (Data were obtained from the National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Japan))

Albrecht, M., Zauner, J., Eisele, T., Weis, P., 2003. *Synthesis*, 7, 1105.

Alexander, V.M., Khandekar, A.C., Samant, S.D., 2003. *Synlett*, 1895.

Allport, D.C. Bu'Lock, J.D., 1960. *J. Chem. Soc.*, 654.

Alonso, F., Beletskaya, I.P., Yus, M., 2005. *Tetrahedron*, 61, 11771.

Ananthan, G., Iyappan, K., 2014. *World J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 3, 745.

Ananthan, G., Sivaperumal, P., Hussain, S.M., 2011. *Arch. Appl. Sci. Res.* 3, 139.

Anastas, P.T., Warner, J.C., 1998 *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York,

Anderson, A., Dagleish, D.T., Nonhebel, D.C., Pauson, P.L., 1977. *J. Chem. Res. (S)*, 12-13, (M) 0201.

Anderson, J.E., Franck, R.W., Mandella, W.L., 1972. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 4608.

Andrews, I., Cui, J., DaSilva, J., Dudin, L., Dunn, P., Hayler, J., Hinkley, B., Hughes, D., Kaptein, B., Lorenz K., Mathew S., Rammeloo, T., Wang, L., Wells, A., White, T., Zhang, F., 2010a. *Org. Process Res. Dev.*, 14, 19.

Andrews, I., Cui, J., Dudin, L., Hayler, J., Hinkley, B., Hughes, D., Kaptein, B., Lorenz, K., Mathew, S., Rammeloo, T., Wang, L., Wells, A., White, T.D., 2010b. *Org. Process Res. Dev.*, 14, 770.

Ankisetty, S., Khan, S.I., Avula, B., Gochfeld, D., Khan, I.A., Slattery, M., 2013. *Mar. Drugs*, 11, 4478.

Antony Muthu Prabhu, A., Sankaranarayanan, R.K., Siva, S., Rajendiran, N., 2009. *Spectrochim. Acta, Part A*, 74A, 484.

Arotsky, J., Butler, R., Darby, A.C., 1970. *J. Chem. Soc. C*, 1480.

Ashenhurst, J.A., 2010. *Chem. Soc. Rev.*, 39, 540.

Bachky, A., Foubelo, F., Yus, M., 1994. *Tetrahedron*, 50, 5139.

Bacon, R.G.R., Izzat, A.R., 1966. *J. Chem. Soc. C*, 791.

Balalaie, S., Mahdidoust, M., Eshaghi-Najafabadi, R., 2007. *J. Iran. Chem. Soc.*, 4, 364.

Balogh, V., Fétizon, M., Golfier, M., 1971. *J. Org. Chem.*, 36, 1339.

Baran, P.S., Maimone, T.J., Richter, J.M., 2007. *Nature*, 446, 404.

Barton, D.H.R., Blazejewski, J.-C., Charpiot, B., Motherwell, W.B., 1981. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 503.

Barton, D.H.R., Cohen, T., 1957. *Festschrift Prof. Dr. Arthur Stoll zum siebzigsten Geburtstag*, 8. Januar 1957: arbeiten aus dem Gebiet der Naturstoffchemie, Birkhäuser, Basel.

Battersby, A.R., 1967. Phenol oxidations in the alkaloid field, in Taylor, W.I., Battersby, A.R., (Eds.), *Oxidative Coupling of Phenols*. Dekker, New York, p. 119.

Baxendale, I.R., Deeley, J., Griffiths-Jones, C.M, Ley, S.V., Saabya, S., Tranmera, G.K., 2006. *Chem. Commun.*, 2566.

Beckman, E.J., 2003. *Environ. Sci. Technol.*, 37, 5289.

Beckwith, A.L.J., 1970. Synthesis of amides, in Zabicky, J., (Ed.), *The Chemistry of Amides*, Wiley, NY, p. 131.

Bell, N.V., Bowman, W.R., Coe, P.F., Turner, A.T., Whybrow, D., 1997. *Can. J. Chem.*, 75, 873.

Bengtsson, U., 1990. *Dental Materials in Endodontic Therapy*, LiTHIKP-I-137, Linköping, Sweden.

Berlin, J.M., Goldberg, S.D., Grubbs, R.H., 2006. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 7591.

Berlinck, R.G.S., Britton, R., Piers, E., Lim, L., Roberge, M., da Rocha, R.M., Andersen, R.J., 1998. *J. Org. Chem.*, 63, 9850.

Bi, N.-M., Ren, M.-G., Song, Q.-H., 2010. *Synth. Commun.*, 40, 2617.

Biard, J.-F., Malochet-Grivois, C., Roussakis, C., Cotellet, P., Hénichart, J.-P., Débitus, C., Verbist, J.-F., 1994. *Nat. Prod. Lett.*, 4, 43.

Bio-Rad: Infrared spectral data from the Bio-Rad/Sadtler IR Data Collection was obtained from Bio-Rad Laboratories, Philadelphia, PA (US).

Blanksby, S.J., Ellison, B.G., 2003. *Acc. Chem. Res.*, 36, 255.

Bloor, S.J., Schmitz, F.J., 1987. *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 6134.

Blunt, J.W., Copp, B.R., Hu, W.P., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R., 2007. *Nat. Prod. Rep.*, 24, 31.

Blunt, J.W., Copp, B.R., Hu, W.P., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R., 2009. *Nat. Prod. Rep.*, 26, 170.

Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G., Prinsep, M.R., 2015. *Nat. Prod. Rep.*, 32, 116.

Boehner, C.M., Marsden, D.M., Sore, H.F., Norton, D., Spring, D.R., 2010. *Tetrahedron Lett.*, 51, 5930.

Bonesi, S.M., Erra-Balsells, R., 2001. *J. Heterocycl. Chem.*, 38, 77.

Bougault, J., 1918. *J. Pharm. Chim.*, 17, 221.

Bourquelot, E., 1896. *Comp. Rend. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser. C*, 123, 317.

Bracher, F., 1990. *Liebigs Ann. Chem.*, 205.

Britton, R., de Oliveira, J.H.H.L, Andersen, R.J., Berlinck, R.G.S., 2001. *J. Nat. Prod.*, 64, 254.

Brockmann, H., 1957. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.*, 14, 141.

Bromley, C.L., Raab, A., Parker-Nance, S., Beukes, D.R., Jaspars, M., Davies-Coleman, M.T., 2018. *S. Afr. J. Chem.*, 71, 111.

Brown, T.L., 1966. *Adv. Organomet. Chem.*, 3, 365.

Butler, A., Sandy, M., 2009. *Nature*, 460, 848.

Butler, A.R., 1971. *J. Chem. Educ.*, 48, 508.

Cambie, R.C., Larsen, D.S., Rutledge, P.S., Woodgate, P.D., 1997. *Aust. J. Chem.*, 50, 767.

Cambie, R.C., Rutledge, P.S., Smith-Palmer, T., Woodgate, P.D., 1976. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 11, 1161.

Cameron, D.W., Todd, L., 1967. Aphid pigments, in Taylor, W.I., Battersby, A.R., (Eds.), *Oxidative Coupling of Phenols*. Dekker, New York, pp. 203.

Carpino, L.A., Beyermann, M., Wenschuh, H., Bienert, M., 1996. *Acc. Chem. Res.*, 29, 268.

Carreno, M.C., Ruano, J.L.G., Sanz, G., Toledo, M.A., Urbano, A., 1996. *Tetrahedron Lett.*, 37, 4081.

Carrick, W.L., Karapinka, G.L., Kwiatkowski, G.T., 1969. *J. Org. Chem.*, 34, 2388.

Carroll, A.R., Avery, V.M., 2009. *J. Nat. Prod.*, 72, 696.

Casarini, D., Lunazzi, L., Mancinelli, M., Mazzanti, A., 2007. *J. Org. Chem.*, 72, 998.

Castanet, A.-S., Colobert, F., Broutin, P.-E., 2002. *Tetrahedron Lett.*, 43, 5047.

Chaikovskii, V.K., Shorokhodov, V.I., Filimonov, V.D., 2001. *Russ. J. Org. Chem.*, 37, 1503.

Challenger, S., Dudin, L., DaSilva, J., Dunn, P., Govaerts, T., Hayler, J., Hinkley, B., Houpis, Y., Hunter, T., Jellet, L., Leazer, J.L.Jr., Lorenz, K., Mathew, S., Rammeloo, T., Sudini, R., Wan, Z., Welch, C., Wells, A., Vance, J., Xie, C., Zhang, F., 2008. *Org. Process Res. Dev.*, 12, 807.

Chandross, E.A., Sheley, C.F., 1968. *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 4345.

Chattopadhyay, G., Chakraborty, S., Saha, C., 2008. *Synth. Commun.*, 38, 4068.

Chen, C.-T., Kuo, J.-H., Pawar, V.D., Munot, Y.S., Weng, S.-S., Ku, C.-H., Liu, C.-Y., 2005. *J. Org. Chem.*, 70, 1188.

Chen, L., Fu, C.M., Wang, G.Y., 2017. *Symbiosis*, 71, 19.

Chen, L., Hu, J.S., Xu, J.L., Shao, C.L., Wang, G.Y., 2018. *Mar. Drugs*, 16, 362.

Chen, Y., Xie, H., Xu, S., Zhou, X., 1988. *Huaxue Tongbao* 6, 40.

Christie, G.H., Kenner, J., 1922. *J. Chem. Soc., Trans.*, 121, 614.

Constabel, F., Ugi, I., 2001. *Tetrahedron*, 57, 5785.

Constable, D.J.C., Curzons, A.D., Cunningham, V.L., 2002. *Green Chem.*, 4, 521.

Cooray, N.M., Scheuer, P.J., Parkanyi, L., Clardy, J., 1988. *J. Org. Chem.*, 53, 4619.

Costa, A., Mestres, R., Riego, J.M., 1982. *Synth. Commun.*, 12, 1003.

Covello, M., Abignente, E., De Simone, F., 1968. *Rc. Accad. Sci. fis. mat. Napoli*, 35, 156.

da Silva Oliveira, F.A., Michonneau, F., da Cruz Lotufo, T.M., 2017. *Zool. J. Linn. Soc.*, 180, 603.

Dallinger, D., Kappe, C.O., 2007. *Chem. Rev.*, 107, 2563.

Dannenberg, P., 1903. *Monatsh. Chem.*, 24, 67.

Darvesh, S., McDonald, R.S., Darvesh, K.V., Mataija, D., Mothana, S., Cook, H., Carneiro, K.M., Richard, N., Walsh, R., Martin, E., 2006. *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 4586.

Das Sharma, S., Gogoi, P., Boruah, M., Konwar, D., 2007. *Synth. Commun.*, 37, 2473.

Das, B., Krishnaiah, M., Venkateswarlu, K., Reddy, V.S., 2007. *Tetrahedron Lett.*, 48, 81.

Datta, R.L., Chatterjee, N.R., 1917. *J. Am. Chem. Soc.*, 39, 435.

Davidson, B.S., 1993. *Chem. Rev.*, 93, 1771.

Davies, L.P., Baird-Lambert, J., Marwood, J.F., 1986. *Biochem. Pharmacol.*, 35, 3021.

de Araujo, T.H., Okada, S.S., Ghosn, E.E., Taniwaki, N.N., Rodrigues, M.R., de Almeida, S.R., Mortara, R.A., Russo, M., Campa, A., Albuquerque, R.C., 2013. *Cell. Immunol.* 281, 27.

de Guzman, F.S., Schmitz, F.J., 1989. *Tetrahedron Lett.*, 30, 1069.

De, S.K., 2004. *Synth. Commun.*, 34, 3431.

Denmark, S.E., 2003. Topics in Stereochemistry, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Denmark, S.E., Fan, Y., 2005. J. Org. Chem., 70, 9667.

Dewar, M.J.S., Nakaya, T., 1968. J. Am. Chem. Soc., 90, 7134.

Dianin, H., 1873. Chem. Ber., 6, 1252.

Donohoe, T.J., Harris, R.M., Butterworth, S., Burrows, J.N., Cowley, A., Parker, J.S., 2006. J. Org. Chem., 71, 4481.

Doucet, H., Hierso, J.-C., 2007. Angew. Chem. Int. Ed., 46, 834.

Dunn, P.J., Wells, A.S., Williams, M.T., 2010. Future trends for green chemistry in the pharmaceutical industry, in Dunn, P.J., Wells, A.S., Williams, M.T., (Eds), Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry, Wiley-VCH, Weinheim, p. 333.

Edgar, K.J., Falling, S.N., 1990. J. Org. Chem., 55, 5287.

Efremov, D.A., Oberlander, E.A., Tebby, J.C., Zavlin, P.M., Griбанov, A.V., 1994. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 17, 2443.

El Kaïm, L., Grimaud, L., Schiltz, A., 2009. Org. Biomol. Chem., 7, 3024.

Eliel, E.L., Wilen, S.H., 1994. Stereochemistry of Organic Compounds, Wiley-Blackwell, New York.

Emmanuvel, L., Shukla, R.K., Sudalai, A., Gurunath, S., Sivaram, S., 2006. Tetrahedron Lett., 47, 4793.

Erdtman, H., Wachtmeister, C.A., 1957. Festschrift Prof. Dr. Arthur Stoll zum siebzigsten Geburtstag, 8. Januar 1957 : arbeiten aus dem Gebiet der Naturstoffchemie, Birkhäuser, Basel.

Ernst, P., Zwenger, C., 1871. Justus Liebigs Ann. Chem., 159, 32.

Fahy, E., Potts, B.C.M., Faulkner, D.J., Smith, K., 1991. J. Nat. Prod., 54, 564.

Faler, C.A., Joullie, M.M., 2006. Tetrahedron Lett., 47, 7229.

Fan, X., Li, Y., Zhang, X., Qu, G., Wang, J., 2006. Can. J. Chem., 84, 794.

Fenical, W., 1981. Natural halogenated organics, in: Duursma, E.K., Dawson, R. (Eds.), Marine organic chemistry: evolution, composition, interactions, and chemistry of organic matter in seawater. New York: Elsevier Scientific Pub, Amsterdam, p. 375.

Finlayson, R., Pearce, A.N., Page, M.J., Kaiser, M., Bourguet-Kondracki, M.L., Harper, J.L., Webb, V.L., Copp, B.R., 2011. J. Nat. Prod., 74, 888.

Firouzabadi, H., Iranpoor, N., Shiri, M., 2003. Tetrahedron Lett., 44, 8781.

Flamm-Ter Meer, M.A., Beckhaus, H.D., Rüchardt, C., 1984. Thermochem. Acta 80, 81.

Ford, P.W., Davidson, B.S., 1997. J. Nat. Prod., 60, 1051.

Ford, W.T., Thompson, T.B., Snoble, K.A.J., Timko, J.M., 1975. J. Am. Chem. Soc., 97, 95.

Friedman, L., Chlebowski, J.F., 1968. J. Org. Chem., 33, 1636.

Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery J.A.Jr, Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Keith, T., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J., Fox D.J., 2013. Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc, Wallingford CT.

Froeyen, P., 1995. Synth. Commun., 25, 959.

Ganguly, N.C., Barik, S.K., Dutta, S. 2010a. Synthesis, 1467.

Ganguly, N.C., Mondal, P., 2010b. Synthesis, 3705.

García, A., Vázquez, M.J., Quiñoá, E., Rigüera, R., Debitus, C., 1996. J. Nat. Prod., 59, 782.

Garkani-Nejad, Z., Poshteh-Shirani, M., 2011. Can. J. Chem. 89, 598.

Gawley, R.E., 1988. *Org. React.*, 35, 1.

Ghose, A.K., Viswanadhan, V.N., Wendoloski, J.J., 1999. *J. Comb. Chem.*, 1, 55.

Godovikova, T.I., Rakitin, O.A., Khmel'nitskii, L.I., 1983. *Russ. Chem. Rev.*, 52, 440.

Goodner, K.L., 2008. *LWT–Food Sci. Technol.*, 41, 951.

Gorgas, F.J.S., 1895. *Dental Medicine: A Manual of Dental Materia Medica and Therapeutics*, P. Blakiston Son & Co, Philadelphia.

Gowda, B. T. Usha, K. M., Jayalakshmi, K. L., 2003. *Z. Naturforsch., A: Phys. Sci.*, 58, 801.

Gribble, G.W., 2003. *Chemosphere*, 52, 289.

Gribble, G.W., 2004. *J. Chem. Educ.*, 81, 1441.

Griessmayer, V., 1871. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 160, 55.

Gu, Y., Snider, B.B., 2003. *Org. Lett.*, 5, 4385.

Guillena, G., Hita, M.d.C., Najera, C., Viozquez, S.F., 2007. *Tetrahedron: Asymmetry*, 18, 2300.

Bruckmann, A., Rodriguez, B., Bolm, C., 2009. *Cryst. Eng. Comm.*, 11, 404.

Gutierrez, M., Capson, T.L., Guzman, H.M., Gonzalez, J., Ortega-Barria, E., Quinoa, E., Riguera, R., 2006. *J. Nat. Prod.*, 69, 1379.

Hahn, D., Kim, G.J., Choi, H., Kang, H., 2015. *Nat. Prod. Sci.*, 21, 278.

Hajipour, A.R., Ruoho, A.E., 2002. *Org. Prep. Proceed. Int.*, 34, 647.

Han, K.-J., Tae, B.S., Kim, M., 2005. *Org. Prep. Proceed. Int.*, 37, 198.

Harkin, J.M., 1967. Lignin: a natural product of phenol oxidation, in Taylor, W.I., Battersby, A.R., (Eds.), *Oxidative Coupling of Phenols*. Dekker, New York, p. 243.

Hart, H., Reilly, J.L., 1978. *J. Chem. Educ.*, 55, 120.

Harvey, G.R., 1980. *Mar. Chem.*, 8, 327.

Hayakawa, I., Okamura, M., Suzuki, K., Shimanuki, M., Kimura, K., Yamada, T., Ohyoshi, T., Kigoshi, H., 2017a. *Synthesis*, 49, A–M.

Hayakawa, I., Suzuki, K., Okamura, M., Funakubo, S., Onozaki, Y., Kawamura, D., Ohyoshi, T., Kigoshi, H., 2017b. *Org. Lett.*, 19, 5713.

Hayakawa, I., Ueda, M., Yamaura, M., Ikeda, Y., Suzuki, Y., Yoshizato, K., Kigoshi, H., 2008. *Org. Lett.*, 10, 1859.

Hernandez, J.G., Juaristi, E., 2011. *J. Org. Chem.*, 76, 1464.

Herrero, M.A., Kreamsner, J.M., Kappe, C.O., 2008. *J. Org. Chem.*, 73, 36.

Hine, J., Hahn, S., Miles, D.E., Ahn, K., 1985. *J. Org. Chem.*, 50, 5092.

Hioe, J., Zipse, H., 2012. in Chatgililoglu, C., Studer, A., (Eds.), *Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, ch. 18, p. 449.

Hofmann, A.W., 1878. *Chem. Ber.*, 11, 335.

Hoye, T.R., Wang, J., 2005. *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 6950.

Hsieh, J.C., Cheng, C.H., 2005. *Chem. Comm.* 36, 4554.

Hu, P., Ben-David, Y., Milstein, D., 2016. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 55, 1061.

Hughes, T.V., Cava, M.P., 1998. *Tetrahedron Lett.*, 39, 9629.

Humphries, S.G., 1963. *The Biosynthesis of Tannins*, in Bernfeld, P., (Ed.), *Biogenesis of Natural Products*. Pergamon Press, New York, p. 801.

Infrared spectral data from the Bio-Rad/Sadtler IR Data Collection was obtained from Bio-Rad Laboratories, Philadelphia, PA (US)

Irsfeld, M., Spadafore, M., Prüß, B.M., 2013. *Webmedcentral* 4, 4409

Jain, R., Bally, T., Rablen, P.R. 2009. *J. Org. Chem.*, **74**, 4017.

Jayarama, A., Ravindra, H. J., Dharmaprakash, S.M., 2009. *Mater. Chem. Phys.*, 113, 91.

Johnsson, R., Meijer, A., Ellervik, U., 2005. *Tetrahedron*, 61, 11657.

Kammerer, H., Benzinger, E., 1878. *Chem. Ber.*, 11, 557.

Katritzky, A.R., Cai, C., Singh, S.K., 2006. *J. Org. Chem.*, 71, 3375.

Katritzky, A.R., Chen, K., Maran, U. i Carlson, D.A., *Anal.Chem.*, 2000, 72, 101.

Kawasaki, T., Ohno, K., Enoki, H., Umemoto, Y., Sakamoto, M., 2002. *Tetrahedron Lett.*, 43, 4245.

Keun, H.C., Beckonert, O., Griffin, J.L., Richter, C., Moskau, D., Lindon, J.C., Nicholson, J.K., 2002. *Anal. Chem.* 74, 4588.

Khalafi-Nezhad, A., Foroughi, H.O., Doroodmand, M.M., Panahi, F., 2011. *J. Mater. Chem.*, 21, 12842.

Khan, Md. W., Reza, A.F.G.M., 2005. *Tetrahedron*, 61, 11204.

Kigoshi, H., Kita, M., Ogawa, S., Itoh, M., Uemura, D., 2003. *Org. Lett.*, 5, 957.

Kincl, F.A., Romo, J., Rosenkranz, G., Sondheimer, F., 1956. *J. Chem. Soc.*, 0, 4163.

Kiran, Y.B., Konakahara, T., Sakai, N., 2006. *Synthesis*, 15, 2327.

Kleinpeter, E.P., Seidl, R., 2004. *J. Phys. Org. Chem.*, 17, 680.

Kobayashi, H., Miyata, Y., Okada, K., Fujita, T., Iwashita, T., Nakao, Y., Fusetani, N., Matsunaga, S., 2007a. *Tetrahedron*, 63, 6748.

Kobayashi, H., Ohashi, J., Fujita, T., Iwashita, T., Nakao, Y., Matsunaga, S., Fusetani, N., 2007b. *J. Org. Chem.*, 72, 1218.

Kobayashi, J., Cheng, J., Nakamura, H., Ohizumi, Y., Hirata, Y., Sasaki, T., Ohta, T., Nozoe, S., 1988. *Tetrahedron Lett.*, 29, 1177.

Kometani, T., Watt, D.S., Ji, T., Fitz, T., 1985. *J. Org. Chem.*, 50, 5384.

Koszelewski, D., Szymanski, W., Krysiak, J., Ostaszewski, R., 2008. *Synth. Commun.*, 38, 1120.

Krasnokutskaya, E., Semenischeva, N., Filimonov, V., Knochel, P., 2007. *Synthesis*, 81.

Kuang, L., Zhou, J., Chen, S., Ding, K., 2007. *Synthesis*, 20, 3129.

Kuhn, R., 1933. *Molekulare Asymmetrie*. In: Freudenberg, H., (Ed.), *Stereochemie*. Franz Deutike, Leipzig, p. 803.

Kuzmich, A.S., Fedorov, S.N., Shastina, V.V., Shubina, L.K., Radchenko, O.S., Balaneva, N.N., Zhidkov, M.E., Park, J.-I., Kwak, J.Y., Stonik, V.A., 2010. *Bioorg. Med. Chem.*, 18, 3834.

Lambert, G., 2005. *Can. J. Zool.*, 83, 34.

Lancaster, M., 2002. *Green Chemistry: An Introductory Text*, Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Lee, C.K., Yu, J.S., Ji, Y.R., 2002. *J. Heterocycl. Chem.*, 39, 1219.

Lee, Y.M., Moon, M.E., Vajpayee, V., Filimonov, V.D., Chi, K.-W., 2010. *Tetrahedron*, 66, 7418.

Leitner, W., 2002. *Acc. Chem. Res.*, 35, 746.

Lew, A., Krutzik, P.O., Hart, M.E., Chamberlin, A.R., 2002. *J. Comb. Chem.*, 4, 95.

Li, C.-J., 2005. *Chem. Rev.*, 105, 3095.

Li, C.-J., Chan, T.-H., 2007. *Comprehensive Organic Reactions in Aqueous Media*, Wiley, New York.

Li, C.-J., Trost, B.M., 2008. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 105, 13197.

Liao, L., Li, G., Li, J., Yang, C., Zhou, J., 1988. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 10, 445.

Liberio, M.S., Sadowski, M.C., Nelson, C.C., Davis, R.A., 2014. *Mar. Drugs* 12, 5222.

Liberio, M.S., Sooraj, D., Williams, E.D., Feng, Y., Davis, R.A., 2011. *Tetrahedron Lett.*, 52, 6729.

Lindsay, B.S., Oliver, A.G., Rickard, C.E.F., Copp, B.R., 1998. *J. Chem. Crystallogr.*, 28, 645.

Lindström, U.M., 2007. *Organic Reactions in Water: principles, strategies and applications*, Blackwell, Oxford, UK.

Liu, H., Wang, X., Gu, Y., 2011. *Org. Biomol. Chem.* 9, 1614.

Lomas, J.S., Dubois, J.E., 1976. *J. Org. Chem.*, 41, 3033.

Lu, Z., Ding, Y., Li, X.-C., Djigbenou, D.R., Grimberg, B.T., Ferreira, D., Ireland, C.M., Van Wagoner, R.M., 2011. *Bioorg. Med. Chem.*, 19, 6604.

Lulinski, P., Skulski, L., 2000. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 73, 951.

Lyakhova, I.A., Bryukhovetsky, I.S., Kudryavtsev, I.V., Khotimchenko, Y.S., Zhidkov, M.E., Kantemirov, A.V., 2018. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 164, 666.

Macherla, V.R., Mitchell, S.S., Manam, R.R., Reed, K.A., Chao, T.H., Nicholson, B., Deyanat-Yazdi, G., Mai, B., Jensen, P.R., Fenical, W.F., Neuteboom, S.T., Lam, K.S., Palladino, M.A., Potts, B.C., 2005. *J. Med. Chem.*, 48, 3684.

Malochet-Grivois, C., Cotellet, P., Biard, J.F., Hénichart, J.P., Debitus, C., Roussakis, C., Verbist, J.F., 1991. *Tetrahedron Lett.*, 32, 6701.

Manfroni, G., Meschini, F., Costantino, F., Tabarrini, O., Cecchetti, V., 2011. *ARKIVOC* (Gainesville, FL, U. S.), 165.

Margiastuti, P., Ogi, T., Teruya, T., Taira, J., Suenaga, K., Ueda, K., 2008. *Chem. Lett.*, 37, 448.

Matsumoto, K., Hashimoto, S., Uchida, T., Okamoto, T., 1989. *Chem. Ber.*, 122, 1357.

McDonald, D., Hamilton, G.A., 1973. Mechanisms of Phenolic Oxidative Coupling Reactions, in, Trahanovsky, W.S., (Ed.), *Oxidation in Organic Chemistry*, Academic Press, New York, p. 97.

McKillop, A., Hunt, J.D., Zelesko, M.J., Fowler, J.S., Taylor, E.C., McGillivray, G., Kienzle, F., 1971. *J. Am. Chem. Soc.*, 93, 4841.

Merkushev, E.B., 1988. *Synthesis*, 923.

Meshram, H.M., Reddy, G.S., Reddy, M.M., Yadav, J.S., 1998. *Tetrahedron Lett.*, 39, 4103.

Messinger, J., Vortmann, G., 1889. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 22, 2312.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982. *Planta Med.* 45, 31.

Mikolajczyk, M., Kielbasinski, P., 1981. *Tetrahedron*, 37, 233.

Miller, B., Haggerty, J.G., 1986. *J. Org. Chem.*, 51, 174.

- Miltojević, A.B., 2016. Sekundarni metaboliti biljne vrste *Choisya ternata* Kunth (Rutaceae): izolovanje, sinteza, spektralna karakterizacija i biološka aktivnost. Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu.
- Mishra, S., Singh, A., 2005. Transition Met. Chem., 30, 163.
- Mitchell, S.S., Pomerantz, S.C., Concepcion, G.P., Ireland, C.M., 1996. J. Nat. Prod., 59, 1000.
- Mohamed, M.A., Yamada, K., Tomioka, K., 2009. Tetrahedron Lett., 50, 3436.
- Moles, E., Marquina, M., 1919. An. R. Soc. Esp. Fis. Quim., 17, 59.
- Monnereau, C., Blart, E., Odobel, F., 2005. Tetrahedron Lett., 46, 5421.
- Montalbetti, C.A.G.N., Falque, V., 2005. Tetrahedron, 61, 10827.
- Movassaghi, M., Schmidt, M.A., 2005. Org. Lett. 7, 2453.
- Muathen, H.A., 1994. J. Chem. Res. (S), (M), 2201, 405.
- Mukaiyama, T., Kitagawa, H., Matsuo, J.-i., 2000. Tetrahedron Lett., 41, 9383.
- Müller, E., Eggensperger, H., Rieker, A., Scheffler, K., Rieker, A., Scheffler, K., Spanagel, H.-D., Stegmann, H.B., Teissier, B., 1965. Tetrahedron, 21, 227.
- Müller, E., Ley, K., Kiedaisch, W., 1954. Chem. Ber., 87, 1605.
- Müller, E., Rieker, A., Scheffler, K., Moosmayer, A., 1966. Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 5, 6.
- Musso, H., Gizycki, U.V., Zahorszky, U.I., Bormann, D., 1964. Justus Liebigs Ann. Chem., 676, 10.
- Nadimpally, K.C., Thalluri, K., Palakurthy, N.B., Saha, A., Mandal, B., 2011. Tetrahedron Lett., 52, 2579.
- Nakamura, M., Ōki, M., 1974. Tetrahedron Lett., 15, 505.
- Narender, N., Reddy, K.S.R., Krishna Mohan, K.V.V., Kulkarni, S.J., 2007. Tetrahedron Lett., 48, 6124.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., 2006. Curr. Drug Targets, 7, 279.

Nordstrom, L.U., Vogt, H., Madsen, R., 2008. *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 17672.

Oae, S., Kitao, T., Kawamura, S., Kitaoka, Y., 1963. *Tetrahedron*, 19, 817.

Ogata, Y., Urasaki, I., 1970. *J. Chem. Soc. C*, 1689.

Ogi, T., Margiastuti, P., Teruya, T., Taira, J., Suenaga, K., Ueda, K., 2009. *Mar. Drugs*, 7, 816.

Ohmura, T., Awano, T., Suginome, M., 2010. *J. Am. Chem. Soc.* 2010., 132, 13191.

Ohshima, T., Iwasaki, T., Maegawa, Y., Yoshiyama, A., Mashima, K., 2008. *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 2944.

Ōki, M., 1993. *The Chemistry of Rotational Isomers*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Ōki, M., Yamamoto, G., 1972. *Chem. Lett.*, 1, 45.

Omura, K., 1984. *J. Org. Chem.*, 49, 3046.

Orlic-Nuber, M., Karminski-Zamola, G., Fiser-Jakic, L., Jakopcic, K., 1983. *Glas. Hem. Drus. Beograd*, 48, 409.

Palanisamy, S.K., Rajendran, N.M., Marino, A., 2017. *Nat. Prod. Bioprospect.*, 7, 1.

Panunzi, B., Rotiroli, L., Tingoli, M., 2003. *Tetrahedron Lett.*, 44, 8753.

Park, Y.-T., Song, M.-G., Kim, M.-S., Kwon, J.-H., 2002. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 23, 1208.

Patai, S., 1978. *The Chemistry of Diazonium and Diazo Groups*, Wiley, New York.

Pauletti, P.M., Cintra, L.S., Braguine, C.G., da Silva Filho, A.A., Andrade e Silva, M.L., Cunha, W.R., Januário, A.H., 2010. *Mar. Drugs*, 8, 1526.

Pfaffenbach, M., Gaich, T., 2015. *Chem. Eur J.*, 21, 6355.

Pouchus, Y.F., Benslimane, A.F., Verbist, J.-F., 1989. *Tetrahedron Comput. Meth.*, 2, 55.

Pryor, K.E., Shipps, G.W.Jr., Skyler, D.A., Rebek, J.Jr., 1998. *Tetrahedron*, 54, 4107.

Radulović, N.S., Đorđević, M.R., Blagojević, P.D., 2016a. *RSC Adv.* 6, 69067.

Radulović, N.S., Filipović, S.I., Zlatković, D.B., Đorđević, M.R., Stojanović, N.M., Randelović, P.J., Mitić, K.V., Jevtović-Stoimenov, T.M., Randelović, V.N., 2016b. *RSC Adv.* 6, 41847.

Radulović, N.S., Miltojević, A.B., Stojković, M.B., Blagojević, P.D., 2015. *Food Res. Int.*, 78, 1.

Radulović, N.S., Miltojević, A.B., Vukućević, R.D., 2013b. *C. R. Chim.*, 16, 257.

Radulović, N.S., Mladenović, M.Z., Blagojević, P.D., Stojanović-Radić, Z.Z., Ilić-Tomić, T., Senerović, L., Nikodinović-Runić, J., 2013a. *Food Chem. Toxicol.* 62, 554.

Radulović, N.S., Todorovska, M.M., Zlatković, D.B., Stojanović, N.M., Randelović, P.J., 2017. *Food Chem. Toxicol.* 110, 94.

Radulović, N.S., Zlatković, D.B., Ilić-Tomić, T., Senerović, L., Nikodinović-Runić, J., 2014. *J. Ethnopharmacol.*, 153, 125.

Ragnarsson, U., Grehn, L., 1998. *Acc. Chem. Res.*, 31, 494.

Ramalingan, C., Park, Y.-T., 2007. *J. Org. Chem.*, 72, 4536.

Ranu, B.C., Dey, S.S., Hajra, A., 2003. *Green Chem.*, 5, 44.

Razzaq, T., Kremsner, J.M., Kappe, C.O., 2008. *J. Org. Chem.*, 73, 6321.

Reddy, K.S.K., Narender, N., Rohitha, C.N., Kulkarni, S.J., 2008. *Synth. Commun.*, 38, 3894.

Restrepo, M.P., Surmay, V.S., Jaramillo, E.G., Restrepo, S.R., 2019. *J. Braz. Chem. Soc.*, 30, 116.

Rideout, D.C., Breslow, R., 1980. *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 7816.

Rieker, A., Kessler, H., 1969. *Tetrahedron Lett.*, 10, 1227.

Rinehart, K.L., Kobayashi, J., Harbour, G.C., Hughes, R.G., Mizesak, S.A., Scahill, T.A., 1984. *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 1524.

Rob, T., Ogi, T., Maarisit, W., Taira, J., Ueda, K., 2011. *Molecules*, 16, 9972.

Rodriguez, B., Bruckmann, A., Bolm, C., 2007. *Chem. Eur. J.*, 13, 4710.

Roice, M., Christensen, S.F., Meldal, M., 2004. *Chem. - Eur. J.*, 10, 4407.

Romines, K.R., Freeman, G.A., Schaller, L.T., Cowan, J.R., Gonzales, S.S., Tidwell, J.H., Andrews, C.W., Stammers, D.K., Hazen, R.J., Ferris, R.G. et al, 2006. *J. Med. Chem.*, 49, 727.

Roulland, E., 2008. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, 3762.

- Roychowdhury, A., Kumar, V., Bhaduri, A. 2006. *Synth. Commun.*, 36, 715.
- Rudolph, K.E., Liberio, M.S., Davis, R.A., Carroll, A.R., 2013. *Org. Biomol. Chem.*, 11, 261.
- Sánchez-Sancho, F., Mann, E., Herradón, B., 2000. *Synlett*, 509.
- Sanna, G., Zucca, T., 1951. *Rend. Semin. Fac. Sci. Univ. Cagliari*, 19, 155.
- Satoh, Y., Kawamura, D., Yamaura, M., Ikeda, Y., Ochiai, Y., Hayakawa, I., Kigoshi, H., 2012a. *Tetrahedron Lett.*, 53, 1390.
- Satoh, Y., Kawamura, D., Yamaura, M., Ikeda, Y., Ochiai, Y., Hayakawa, I., Kigoshi, H., 2012b. *Tetrahedron Lett.*, 53, 1393.
- Schumacher, R.W., Davidson, B.S., 1995. *Tetrahedron*, 51, 10125.
- Schumacher, R.W., Davidson, B.S., 1999. *Tetrahedron*, 55, 935.
- Scott, A.I., 1967. Some natural products derived by phenol oxidation, in Taylor, W.I., Battersby, A.R., (Eds.), *Oxidative Coupling of Phenols*. Dekker, New York, p. 95.
- Searle, P.A., Molinski, T.F., 1994. *J. Org. Chem.*, 59, 6600.
- Segraves, N.L., Lopez, S., Johnson, T.A., Said, S.A., Fu, X., Schmitz, F.J., Pietraszkiewicz, H., Valeriotec, F.A., Crews, P., 2003. *Tetrahedron Lett.*, 44, 3471.
- Segraves, N.L., Robinson, S.J., Garcia, D., Said, S.A., Fu, X., Schmitz, F.J., Pietraszkiewicz, H., Valeriotec, F.A., Crews, P., 2004. *J. Nat. Prod.*, 67, 783.
- Sesin, D.F., Ireland, C.M., 1984. *Tetrahedron Lett.*, 25, 403.
- Shaabani, A., Soleimani, E., Rezayan, A.H., 2007. *Tetrahedron Lett.*, 48, 6137.
- Sharma, D., Kumar, S., Makrandi, J.K., 2009. *Green Chem. Lett. Rev.*, 2, 53.
- Sheldon, R.A., Arends, I., Hanefeld, U., 2007. *Green Chemistry and Catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Shenkar, N., Swalla, B.J., 2011. *PLoS One*, 6, e20657.
- Shoemaker, J.V., 1893. *A Practical Treatise on Materia Medica and Therapeutics: With Especial Reference to the Clinical Application of drugs*, F. A. Davis Co, Philadelphia.

Siddiqi, Z.A., Khan, M.M., 2004. *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* 34, 897.

Smith, C.J., Venables, D.A., Hopmann, C., Salomon, C.E., Jompa, J., Tahir, A., Faulkner, D.J., Ireland, C.M., 1997. *J. Nat. Prod.*, 60, 1048.

Smith, W.B., Ho, O.C., 1990. *J. Org. Chem.*, 55, 2543.

Solano, G., Motti, C.A., Jaspars, M., 2009. *Tetrahedron*, 65, 7482.

Sorek, H., Rudi, A., Goldberg, I., Akin, M., Kashman, Y., 2009. *J. Nat. Prod.*, 72, 784.

Staab, H.A., 1957. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 609, 75.

Staab, H.A., Lueking, M., Duerr, F.H., 1962. *Chem. Ber.*, 95, 1275.

Stone, T.J., Waters, W.A., 1964. *J. Chem. Soc.*, 213, 4302.

Su, W.K., Zhang, Y., Li, J.J., Li, P., 2008. *Org. Prep. Proced. Int.*, 40, 543.

Sudharsanam, R., Chandrasekaran, S., Das, P.K., 2003. *J. Mol. Struct.*, 645, 51.

Sun, J., Dou, Y., Ding, H., Yang, R., Sun, Q., Xiao, Q., 2012. *Mar. Drugs*, 10, 881.

Suzuki, T., Katou, N., Mitsuhashi, K., 1979. *J. Heterocyclic Chem.*, 16, 645.

Suzuki, O., Katsumata, Y., Oya, M., 1981. *J. Neurochem.* 36, 1298.

Škrbić B., Onjia, A., 2006. *Match Commun. Math. Comput. Chem.*, 55, 287.

Taimr, L., Pospíšil, J., 1971. *Tetrahedron Lett.*, 12, 2809.

Tajik, H., Esmaili, A.A., Mohammadpoor-Baltork, I., Ershadi, A., Tajmehri, H., 2003. *Synth. Commun.*, 33, 1319.

Takada, N., Sato, H., Suenaga, K., Arimoto, H., Yamada, K., Ueda, K., Uemura, D., 1999. *Tetrahedron Lett.*, 40, 6309.

Taurog, A., 1967. in Bloomfield, R.A., Senhauser, D.A., (Eds.), *Proceedings of Second Midwest Conference on the Thyroid*. Univ. of Missouri Press, Columbia, p. 87.

Taylor, E.C., Kienzle, F., Robey, R.L., McKillop, A., Hunt, J.D., 1971. *J. Am. Chem. Soc.*, 93, 4845.

Taylor, I., Battersby, A.R., 1967. *Oxidative Coupling of Phenols*, Arnold, London.

Teruya, T., Shimogawa, H., Suenaga, K., Kigoshi, H., 2004. *Chem. Lett.*, 33, 1184.

Teruya, T., Suenaga, K., Maruyama, S., Kurotakib, M., Kigoshi, H., 2005. *Tetrahedron*, 61, 6561.

Toğulga, M., 1998. *Tr. J. Zool.* 22, 259.

Torborg, C., Beller, M., 2009. *Adv. Synth. Catal.*, 351, 3027.

Toupet, L., Biard, J.-F., Verbist, J.-F., 1996. *J. Nat. Prod.*, 59, 1203.

Tronov, B.V., Novikov A.N., 1953. *Zhur. Obsrch. Khim.*, 23, 1022.

Trost, B.M., 1991. *Science*, 254, 1471.

Trost, B.M., Shi, Y., 1992. *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 791.

Truesdale, V.W., Luther III, G.W., Canosamas, C., 1995. *Mar. Chem.*, 48, 143.

Tsukamoto, H., Suzuki, R., Kondo, Y., 2006. *J. Comb. Chem.*, 8, 289.

Uddin, J., Kokubo, S., Ueda, K., Suenaga, K., Uemura, D., 2001b. *J. Nat. Prod.*, 64, 1169.

Uddin, J., Kokubo, S., Ueda, K., Suenaga, K., Uemura, D., 2002. *Chem. Lett.*, 31, 1028.

Uddin, M.J., Kokubo, S., Suenaga, K., Ueda, K., Uemura, D., 2001a. *Heterocycles*, 54, 1039.

Uddin, M.J., Ueda, K., Siwu, E.R.O., Kita, M., Uemura, D., 2006. *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 6954.

Ueda, K., Hu, Y., 1999. *Tetrahedron Lett.*, 40, 6305.

Ueda, M., Yamaura, M., Ikeda, Y., Suzuki, Y., Yoshizato, K., Hayakawa, I., Kigoshi, H., 2009. *J. Org. Chem.*, 74, 3370.

Ueda, S., Nagasawa, H., 2009. *J. Org. Chem.*, 74, 4272.

Urban, L.C., 1896, *Pharma Rev.*, 14, 58.

Uscumlic, G.S., Petrovic, S.D., 2002. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.*, 41B, 206.

Vera, M.D., Joullié, M.M., 2002. *Med. Res. Rev.*, 22, 102.

- Vervoort, H.C., Fenical, W., Keifer, P.A., 1999. *J. Nat. Prod.*, 62, 389.
- Vervoort, H.C., Pawlik, J.R., Fenical, W., 1998. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 164, 221.
- Vervoort, H.C., Richards-Gross, S.E., Fenical, W., Lee A.Y., Clardy, J., 1997. *J. Org. Chem.*, 62, 1486.
- Viciu, M.S., Nolan, S.P., 2009. Arylation reactions of alkynes: the Sonogashira reaction, in Ackermann L., (Ed.), *Modern Arylation Methods*, Wiley-VCH, Weinheim, p. 183.
- Vilotijevic, I., Jamison, T.F., 2007. *Science*, 317, 1189.
- Volkert, W.A., Hoffman, T.J., 1999. *Chem. Rev.*, 99, 2269.
- Vovk, M.V., Dorokhov, V.I., Samarai, L.I., 1987. *Zh. Org. Khim.*, 23, 1339.
- Waldvogel, S.R., Mirk, D., 2005. in Dyker, G., *Handbook of CH Transformations*. Wiley-VCH, Weinheim, , p. 251.
- Wang, J., Kaiser, M., Copp, B.R., 2014. *Mar. Drugs*, 12, 3138.
- Wang, W., Namikoshi, M., 2007. *Heterocycles*, 74, 53.
- Wang, Y., Zhu, D.-P., Tang, L., Wang, S.-J., Wang, Z.-Y. 2011. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 8917.
- Wasserscheid, P., Welton, T., 2002. *Ionic Liquids in Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Wei, C., Li, C.-J., 2002. *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 5638.
- Weinges, K., Spänig, R., 1967. Lignans and cyclolignans, in Taylor, W.I., Battersby, A.R., (Eds.), *Oxidative Coupling of Phenols*. Dekker, New York, p. 323.
- Whiting, D.A., 1991. in Trost, B.M, Fleming, I., Pattenden, G., *Comprehensive Organic Synthesis*. Pergamon, Oxford, p. 659.
- Wittig, G., Koenig, G., Clauss, K., 1955. *Liebigs Ann. Chem.*, 593, 127.
- Woollett, G.H., 1921. *J. Am. Chem. Soc.*, 43, 553.
- WSS: Spectral data were obtained from Wiley Subscription Services, Inc. (US)
- Wu, W., Zhang, Z., Liebeskind, L.S., 2011. *J. Am. Chem. Soc.*, 133, 14256.

Wu, Y., Wang, S., Zhang, L., Yang, G., Zhu, X., Zhou, Z., Zhu, H., Wu, S., 2010. *Eur. J. Org. Chem.*, 326.

Xu, Q., Li, Z., 2009. *Tetrahedron Lett.*, 50, 6838.

Yadav, L.D.S., Patel, R., Srivastava, V.P., 2010. *Synthesis*, 1771.

Yamashina, T., Higuchi, K., Hirata, H., 1988. *Yukagaku*, 37, 349.

Yao, Z., Wei, X., 2010. *Chin. J. Chem.*, 28, 2260.

Yoo, W.-J., Li, C.-J., 2006. *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 13064.

Yousif, E., Farina, Y., Khadum, S., Graisa, A., 2009. *Int. J. ChemTech Res.*, 1, 789.

Yusubov, M.S., Tveryakova, E.N., Krasnokutskaya, E.A., Perederyna, I.A., Zhdankin, V.V., 2007. *Synth. Commun.*, 37, 1259.

Zaffalon, P.-L., Stalder, E., Fedotenko, I.A., Favarger, F., Zumbuehl, A., 2011. *Tetrahedron Lett.*, 52, 4215.

Zenkevich, I.G., Marinichev, A.N., 2001. *J. Struct. Chem.*, 42, 747.

Zhang, L., Su, S., Wu, H., Wang, S., 2009. *Tetrahedron*, 65, 10022.

Zhang, X., Liu, C.-H., Liu, L.-H., Wu, F.-Y., Guo, L., Sun, X.-Y., Wang, C.-J., Jiang, Yun-Bao, 2003. *Org. Biomol. Chem.*, 1, 728.

Zhang, Y., Shibatomi, K., Yamamoto, H., 2005. *Synlett*, 2837.

Zhidkov, M.E., Baranova, O.V., Balaneva, N.N., Fedorov, S.N., Radchenkob, O.S., Dubovitskii, S.V., 2007. *Tetrahedron Lett.*, 48, 7998.

Zhidkov, M.E., Sidorova, M.A., Lyakhova, I.A., 2018. *Tetrahedron Lett.*, 59, 1417.

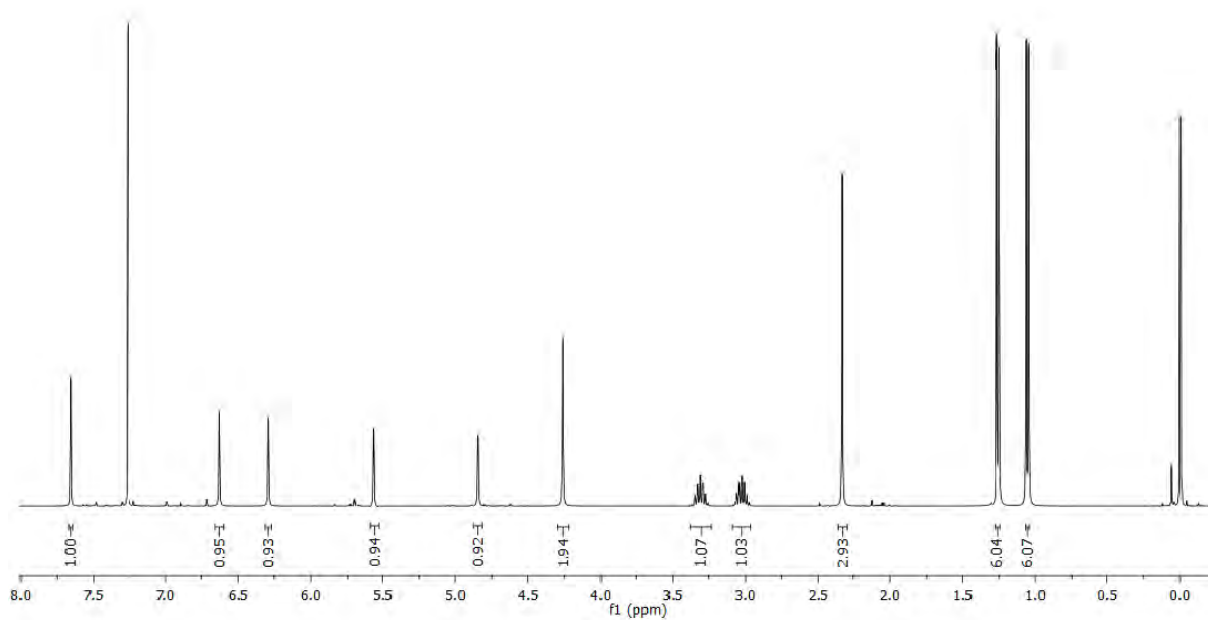
Zhu, Y., Chuanzhao, L., Biying, A.O., Sudarmadji, M., Chen, A., Tuan, D.T., Seayad, A.M., 2011. *Dalton Trans.*, 40, 9320.

8. PRILOZI

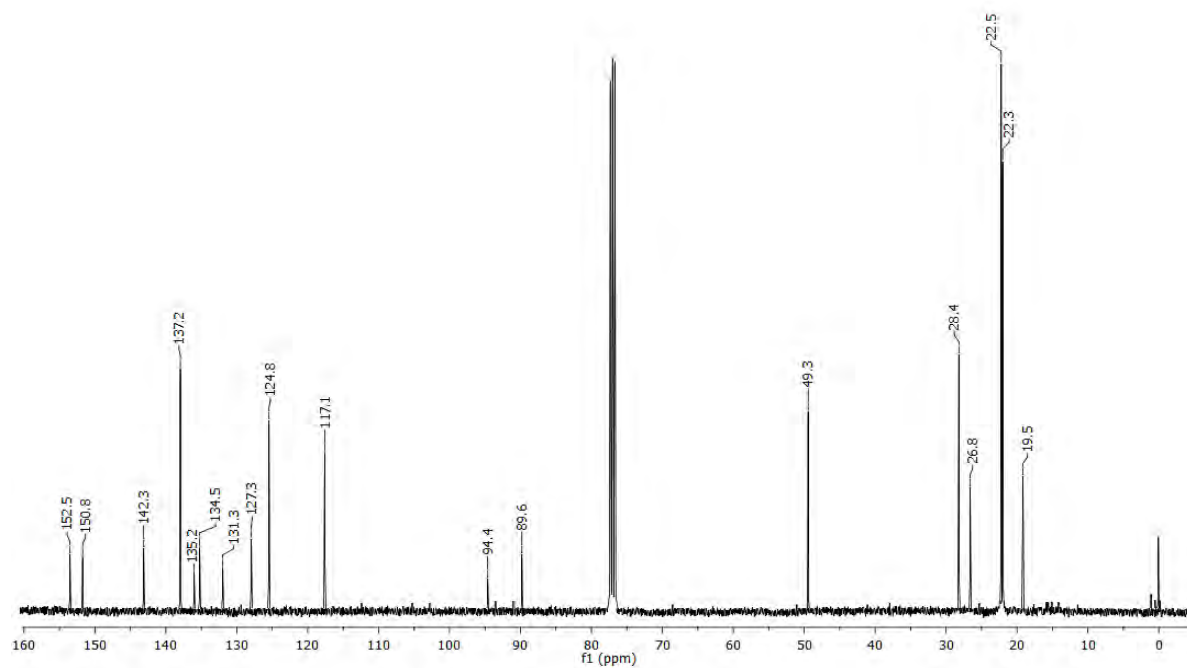
Sadržaj¹

Prilog 1.	¹ H NMR spektar jedinjenja 1-1 u CDCl ₃
Prilog 2.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 1-1 u CDCl ₃
Prilog 3.	¹ H NMR spektar jedinjenja 1-2 u CDCl ₃
Prilog 4.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 1-2 u CDCl ₃
Prilog 5.	¹ H NMR spektar jedinjenja 1-5 u CDCl ₃
Prilog 6.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 1-5 u CDCl ₃
Prilog 7.	¹ H NMR spektar jedinjenja 1-6 u CDCl ₃
Prilog 8.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 1-6 u CDCl ₃
Prilog 9.	¹ H NMR spektar jedinjenja 1-7 u CDCl ₃
Prilog 10.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 1-7 u CDCl ₃
Prilog 11.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-1 u CDCl ₃
Prilog 12.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-1 u CDCl ₃
Prilog 13.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-2 u CDCl ₃
Prilog 14.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-2 u CDCl ₃
Prilog 15.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-3 u CDCl ₃
Prilog 16.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-3 u CDCl ₃
Prilog 17.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-4 u CDCl ₃
Prilog 18.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-4 u CDCl ₃
Prilog 19.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-5 u CDCl ₃
Prilog 20.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-5 u CDCl ₃
Prilog 21.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-6 u CDCl ₃
Prilog 22.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-6 u CDCl ₃
Prilog 23.	¹ H NMR spektar jedinjenja 3-7 u CDCl ₃
Prilog 24.	¹³ C NMR spektar jedinjenja 3-7 u CDCl ₃

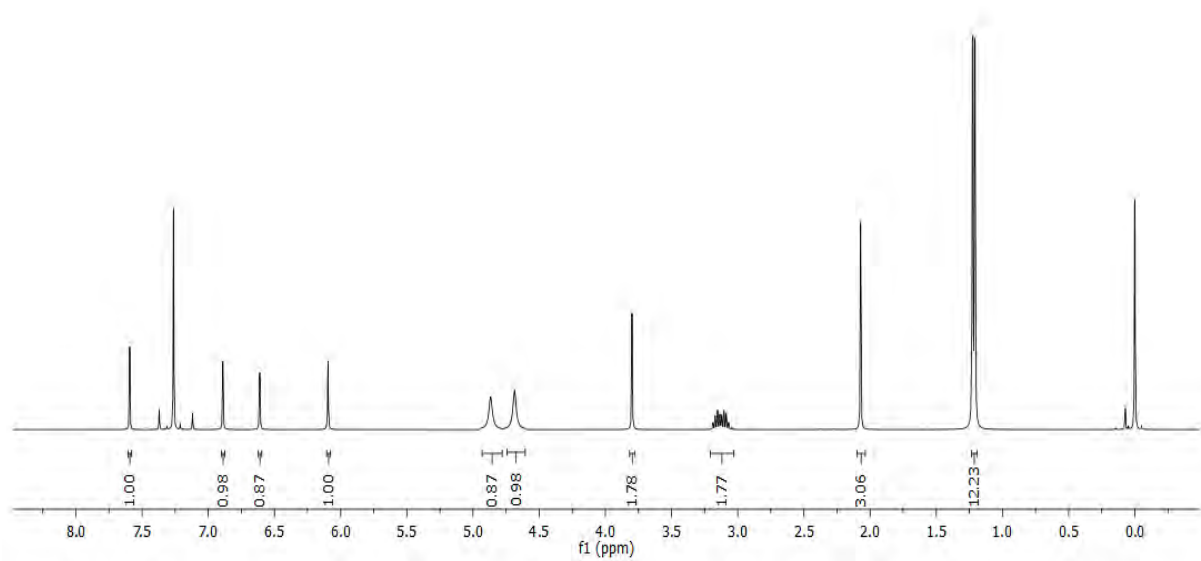
¹ Prikazani su spektri odabranih jedinjenja



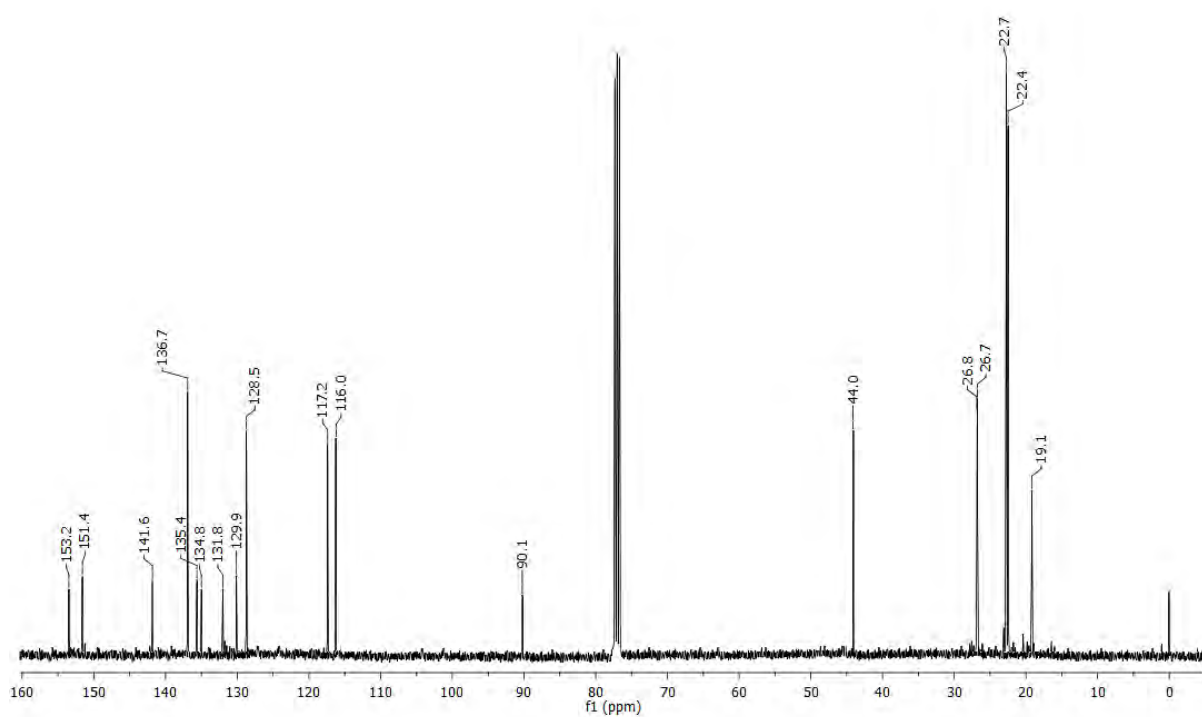
Prilog 1. ^1H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **1-1** u CDCl_3



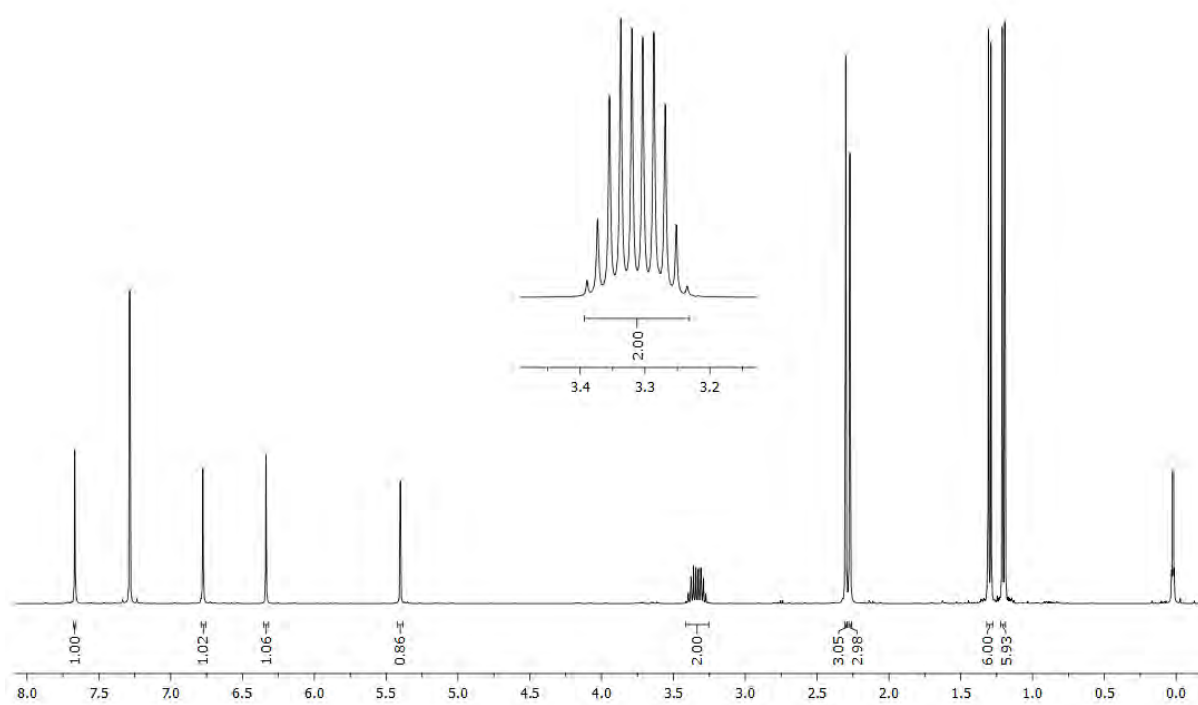
Prilog 2. ^{13}C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **1-1** u CDCl_3



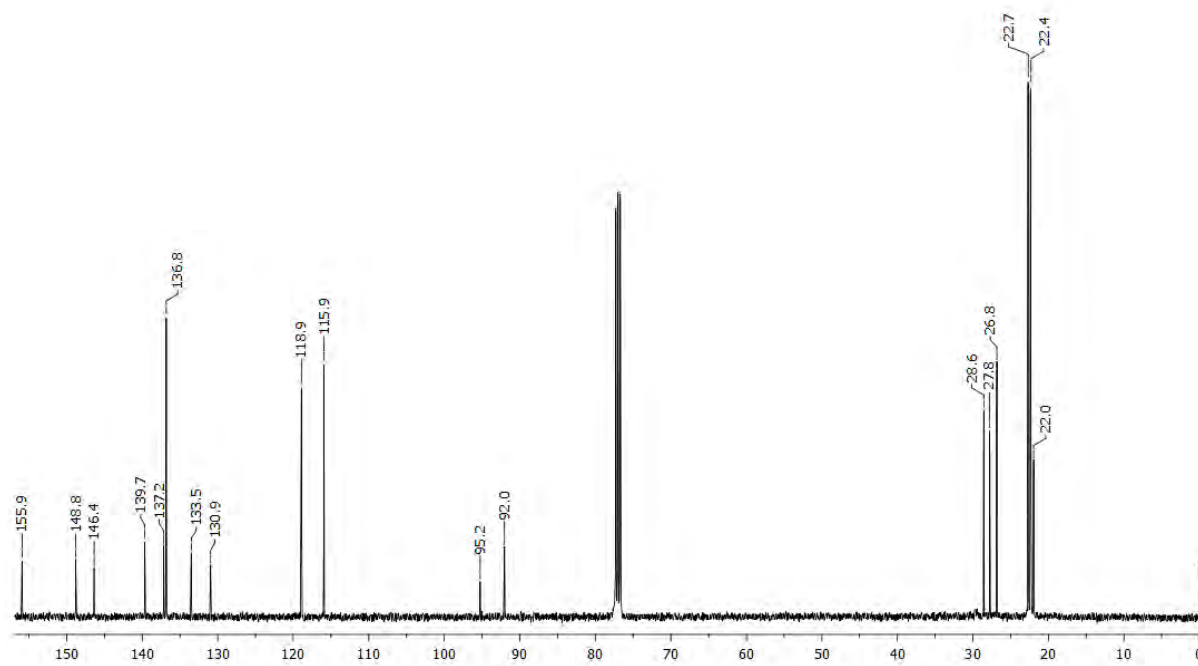
Prilog 3. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **1-2** u CDCl₃



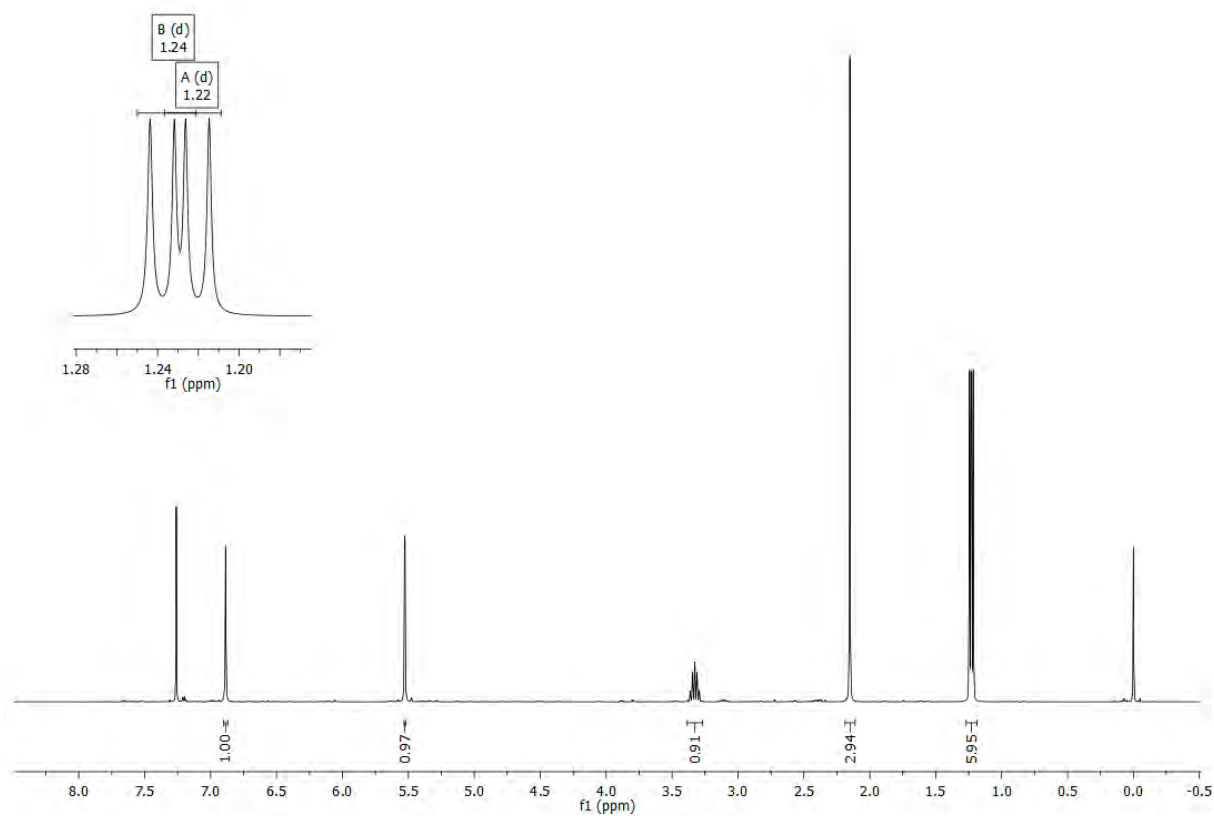
Prilog 4. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **1-2** u CDCl₃



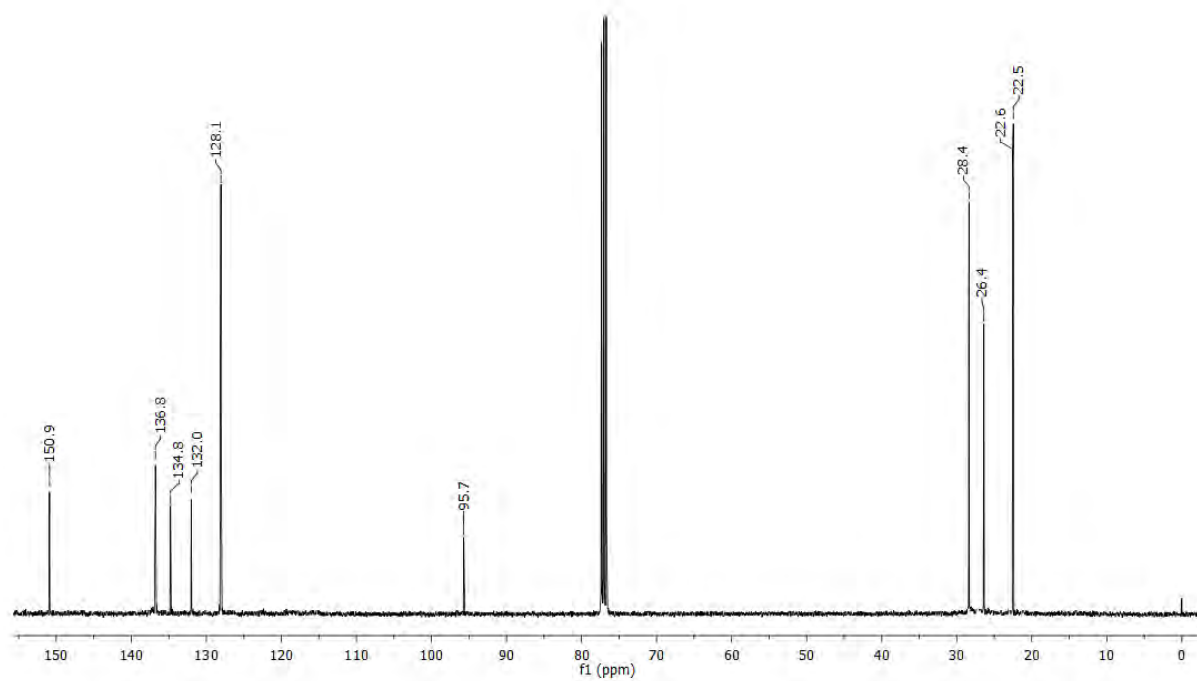
Prilog 5. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **1-5** u CDCl₃



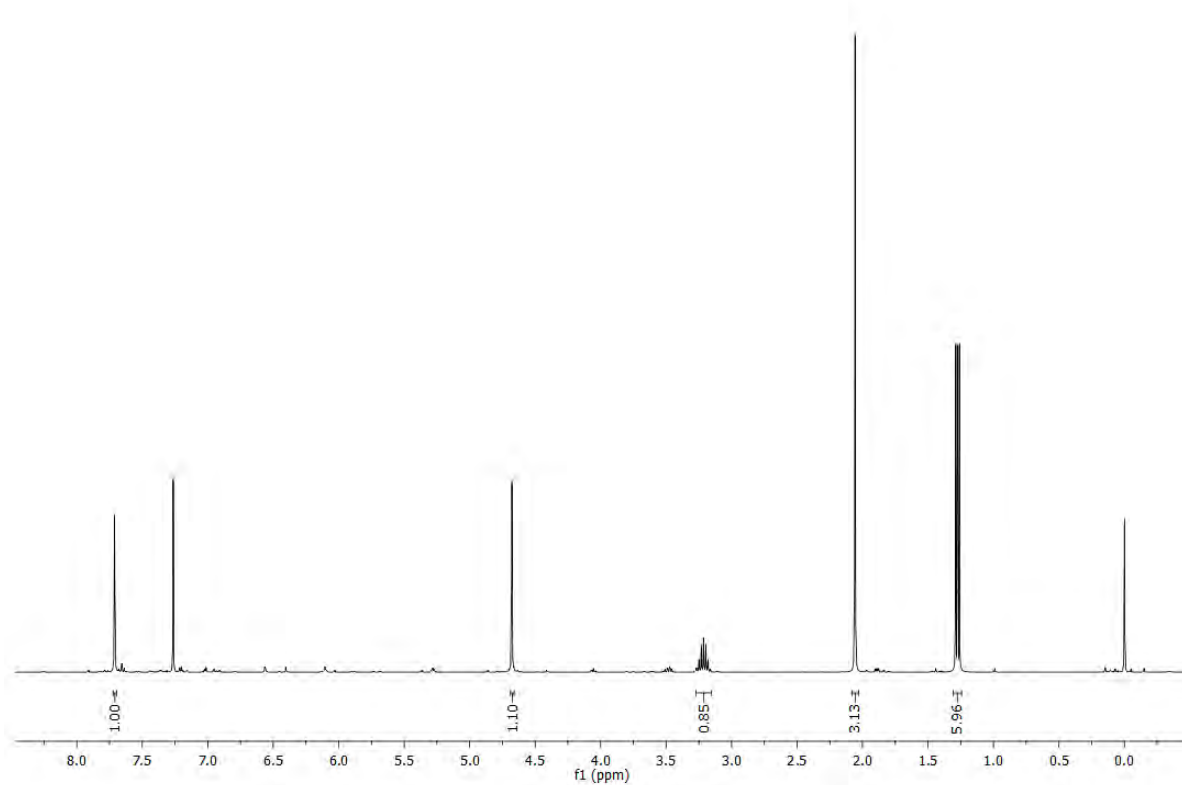
Prilog 6. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **1-5** u CDCl₃



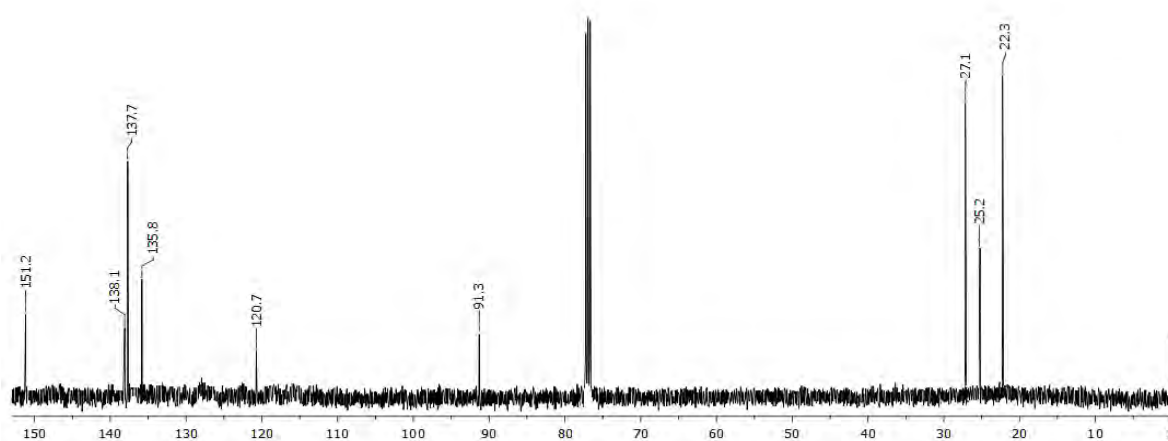
Prilog 7. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **1-6** u CDCl₃



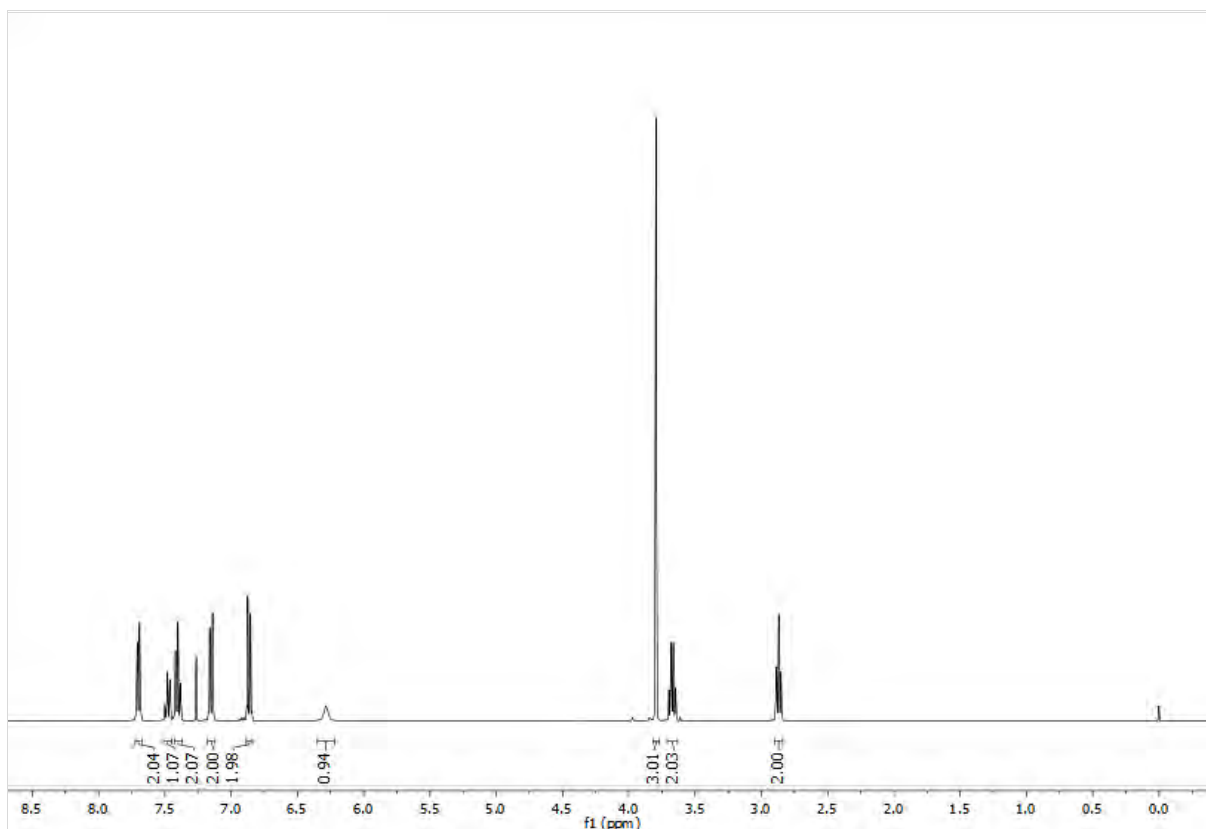
Prilog 8. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **1-6** u CDCl₃



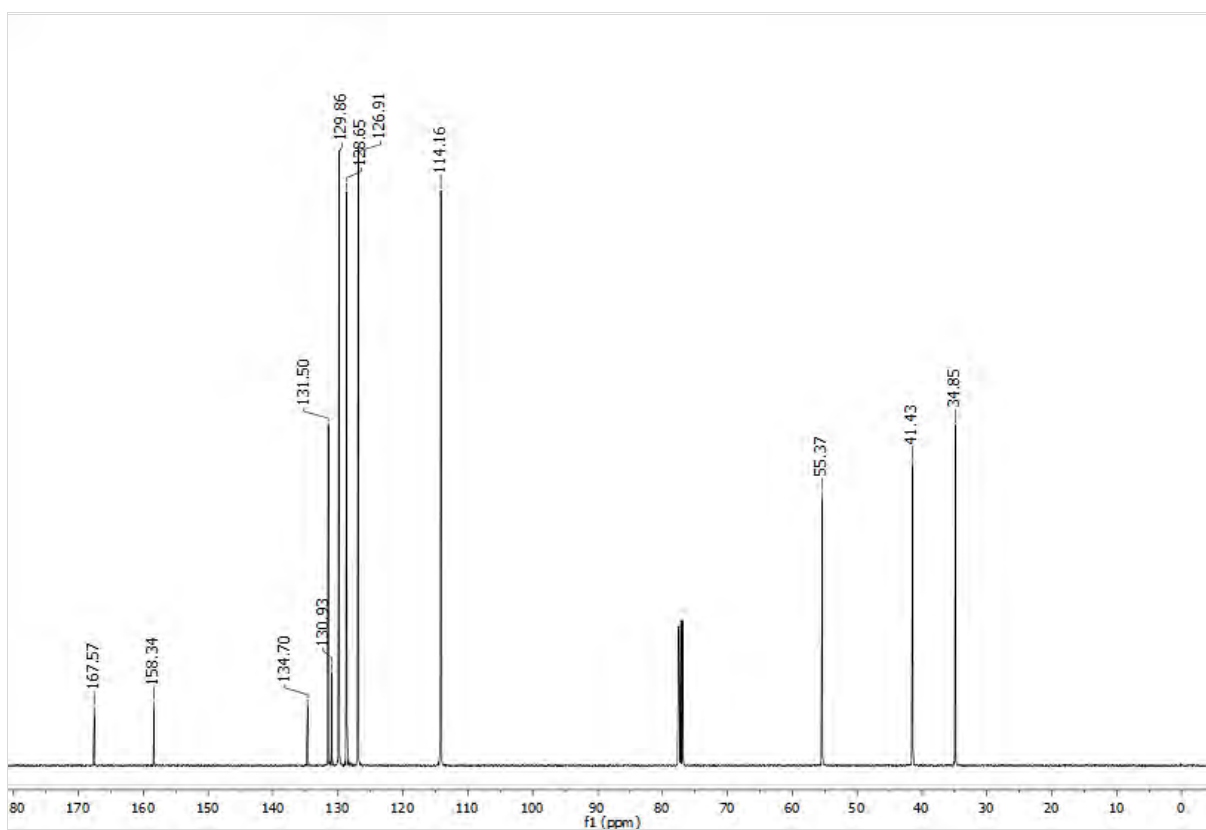
Prilog 9. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **1-7** u CDCl₃



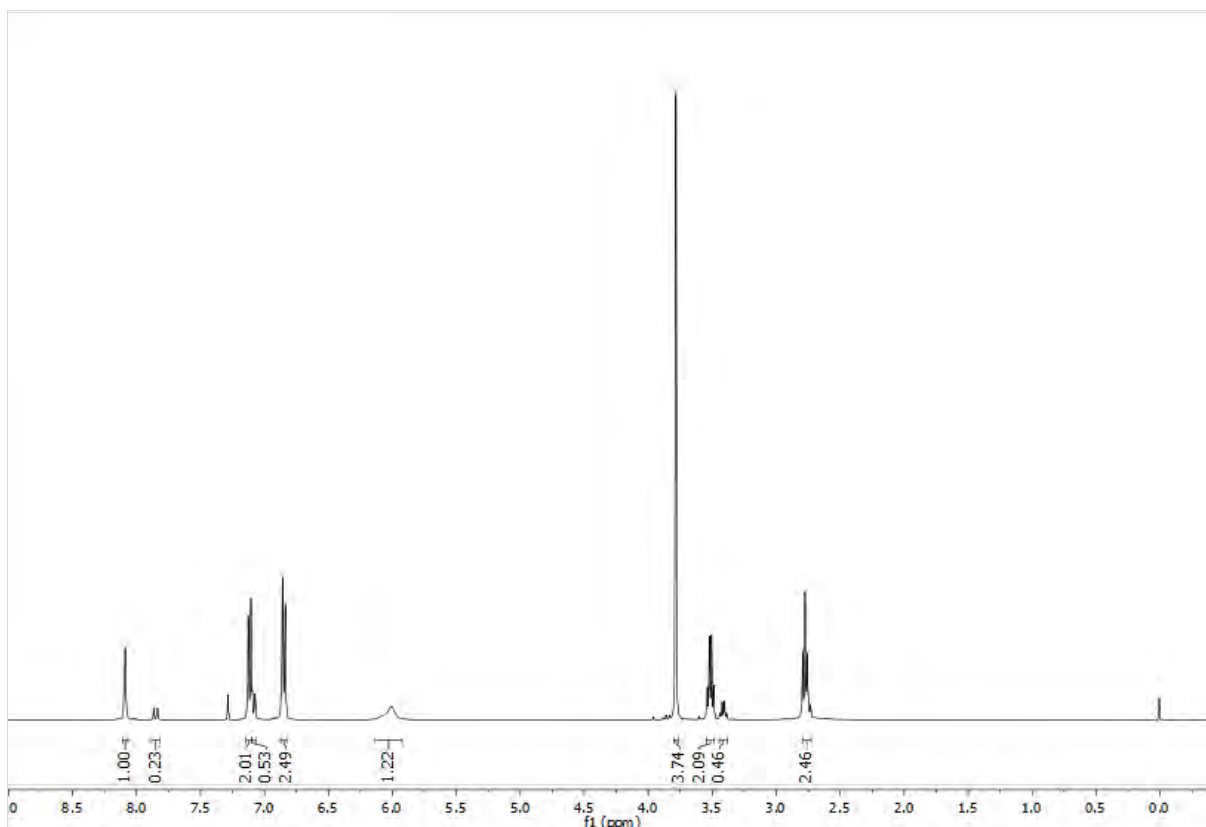
Prilog 10. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **1-7** u CDCl₃



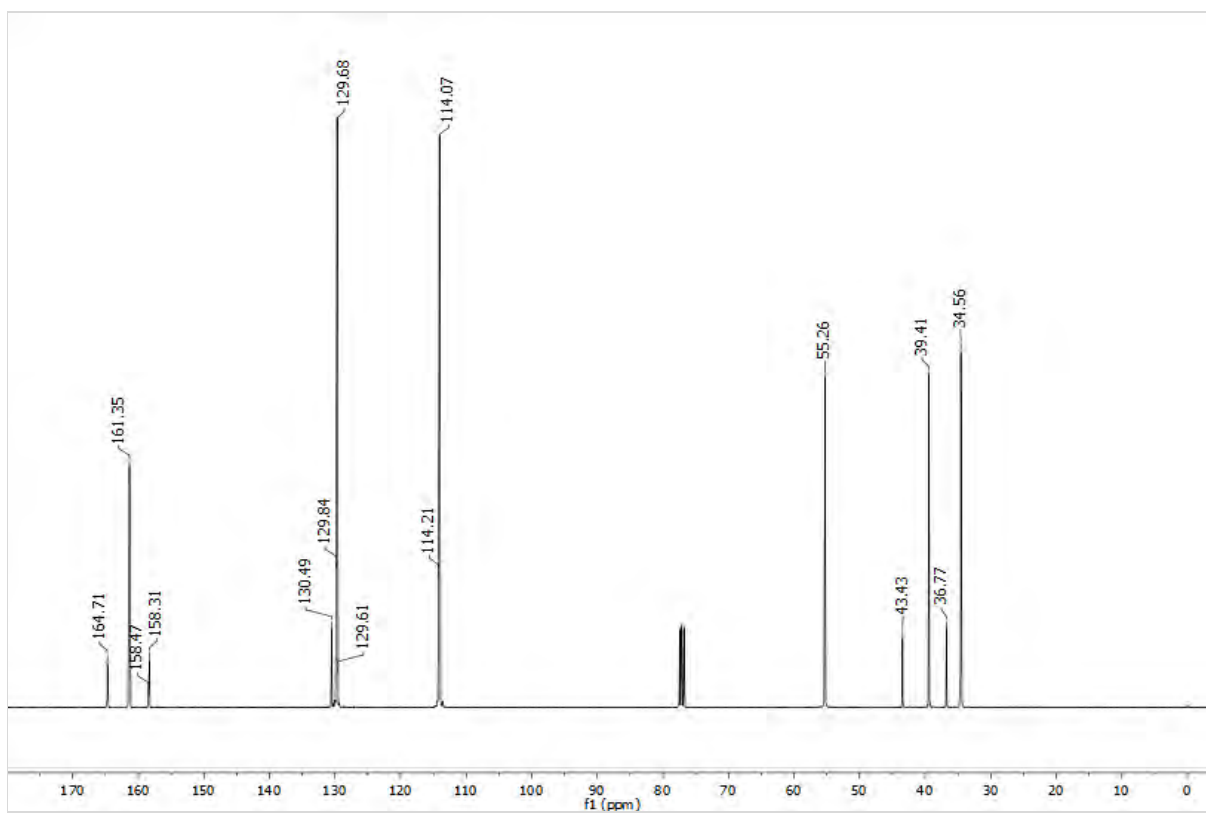
Prilog 11. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-1** u CDCl₃



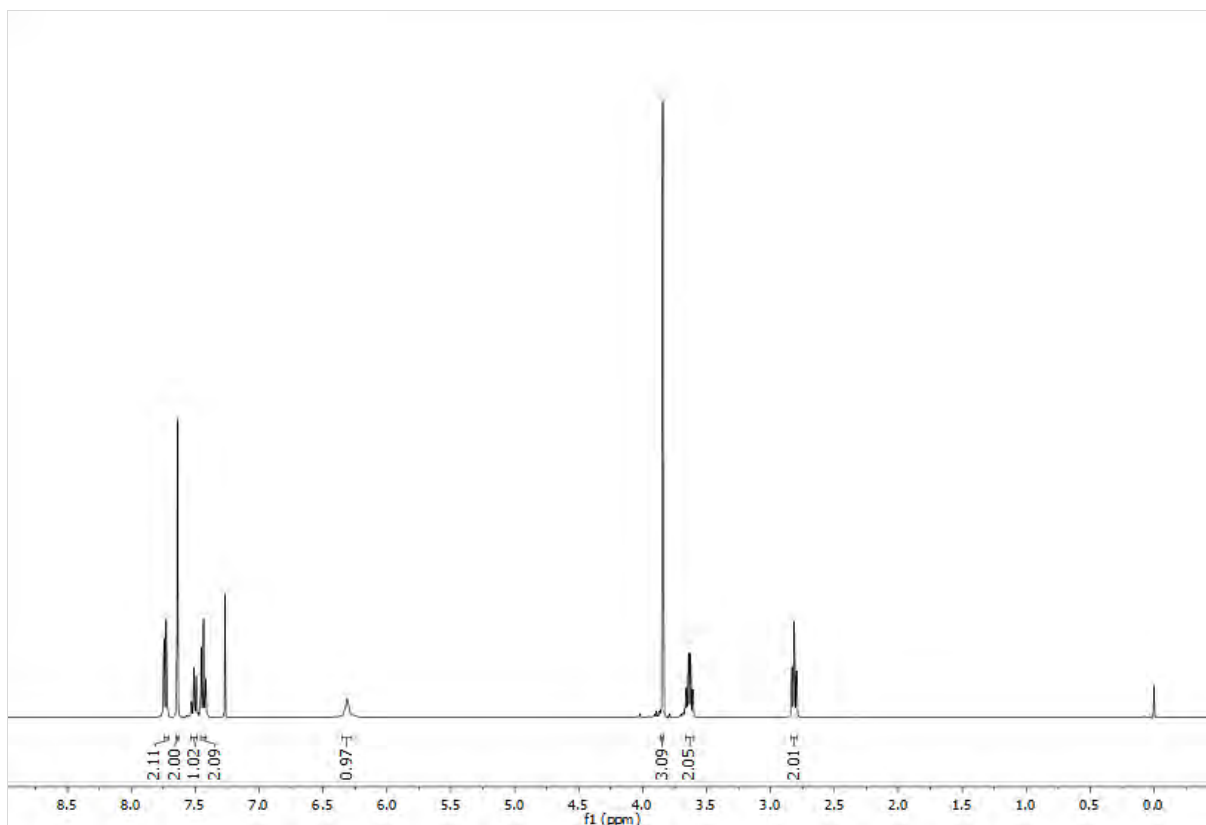
Prilog 12. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-1** u CDCl₃



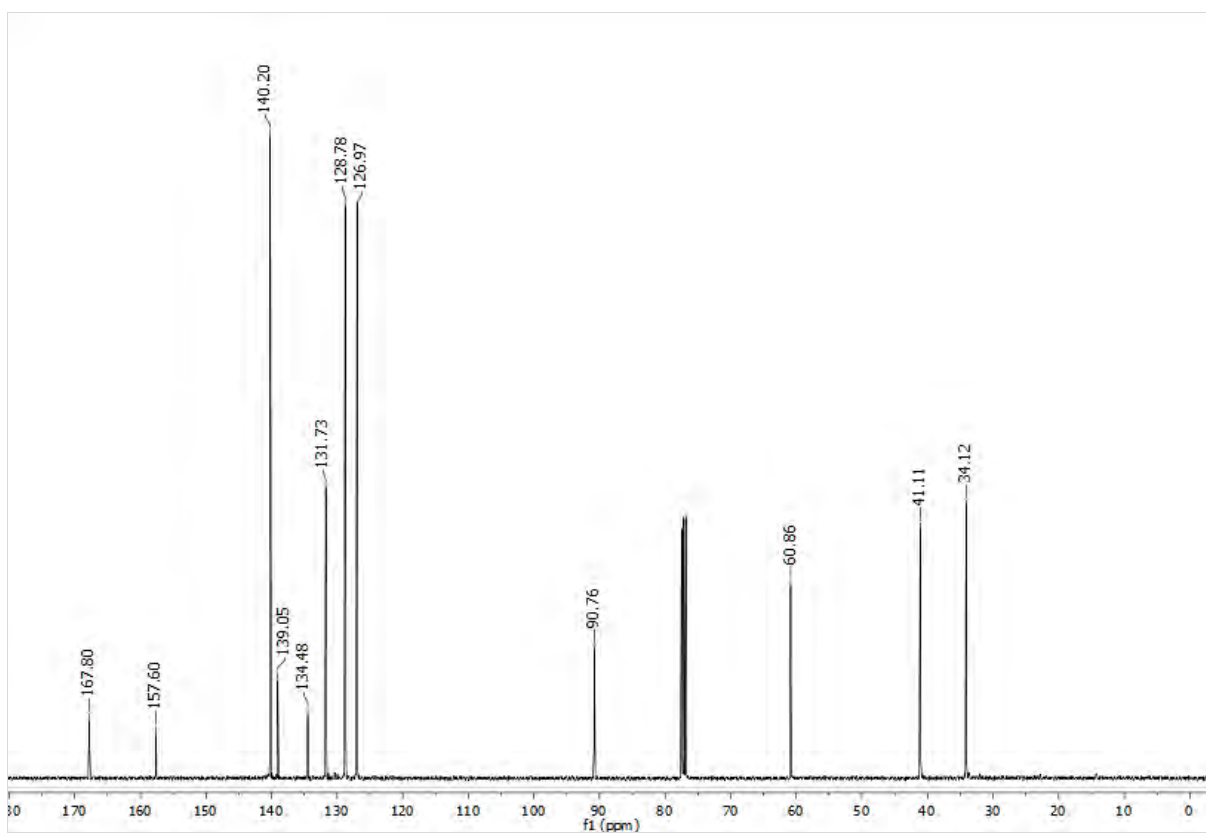
Prilog 13. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-2** u CDCl₃



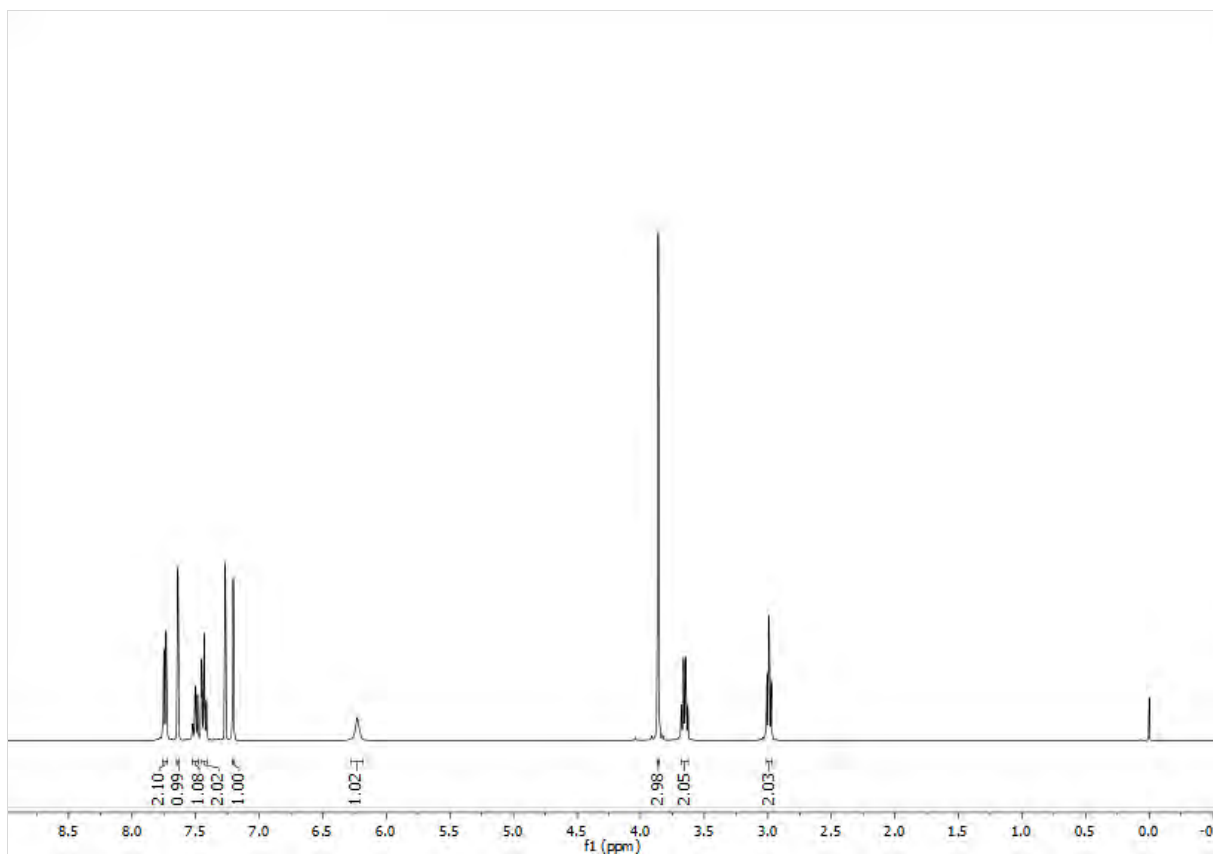
Prilog 14. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-2** u CDCl₃



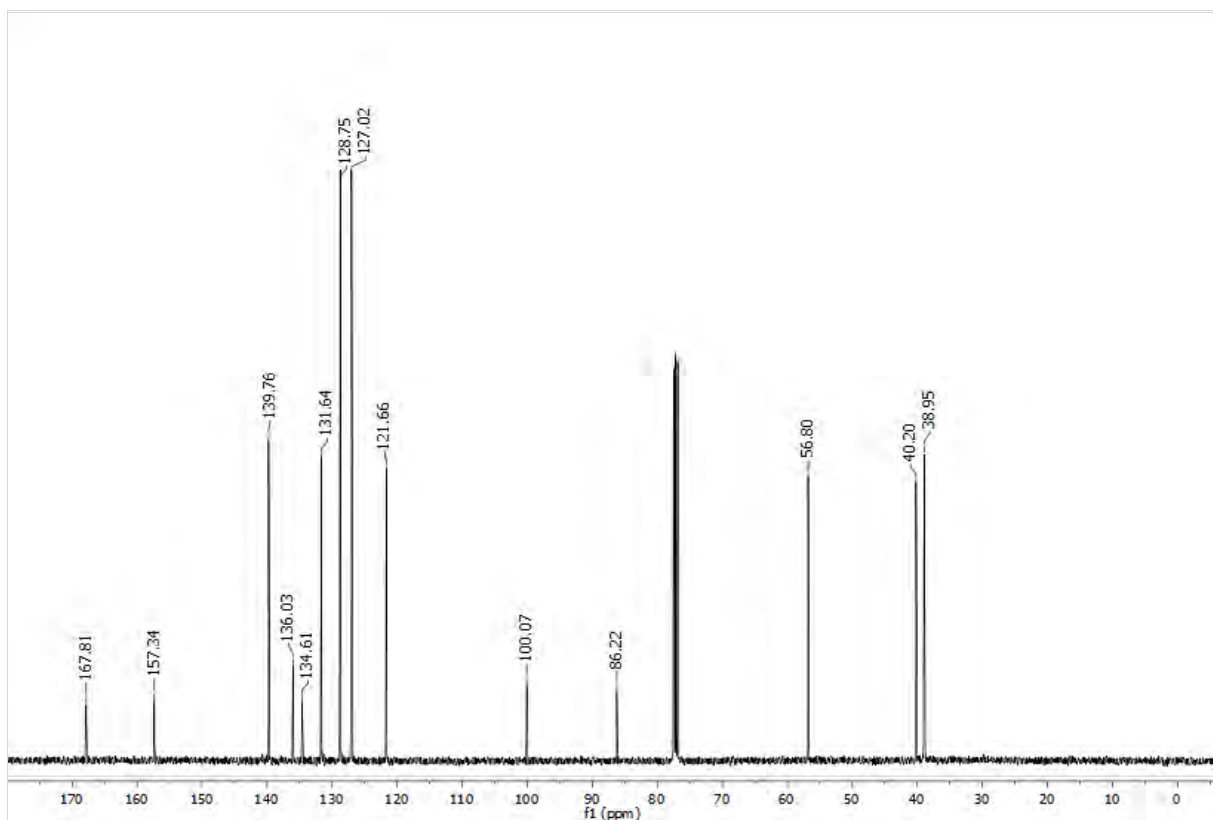
Prilog 15. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-3** u CDCl₃



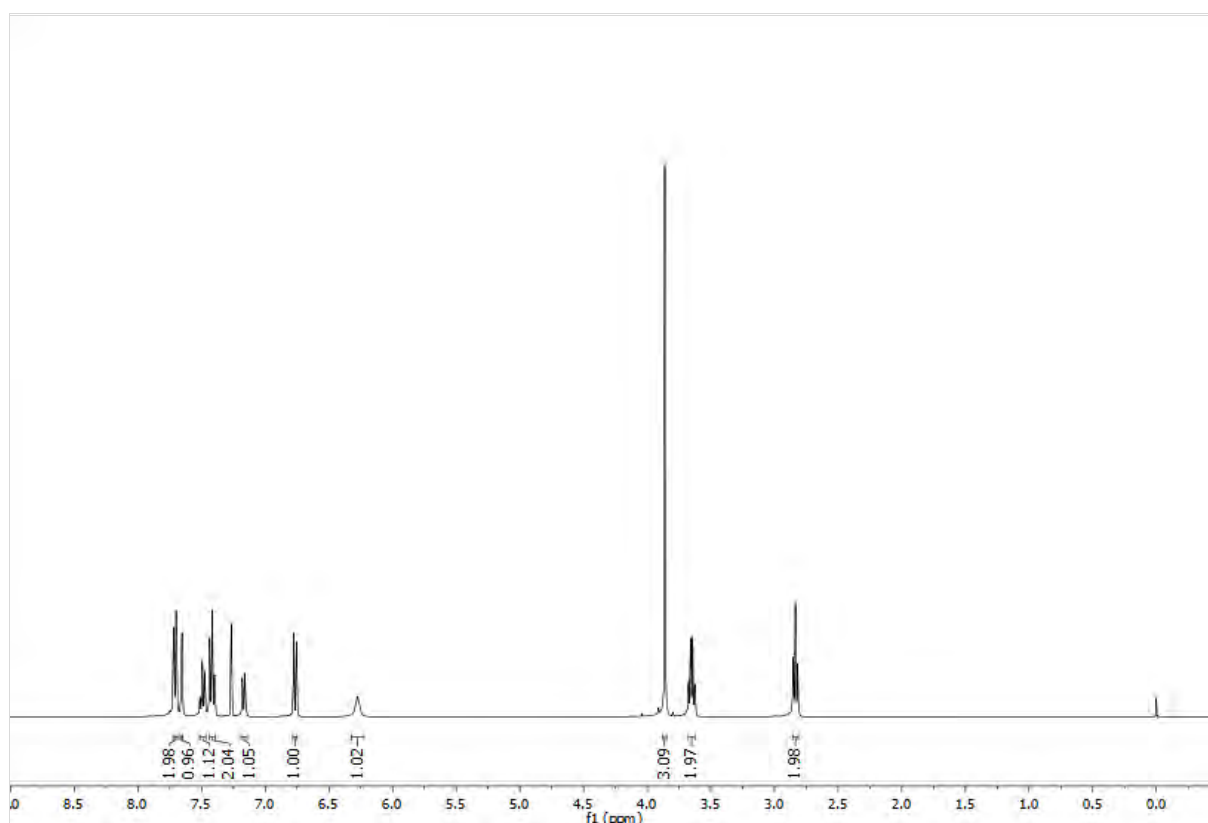
Prilog 16. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-3** u CDCl₃



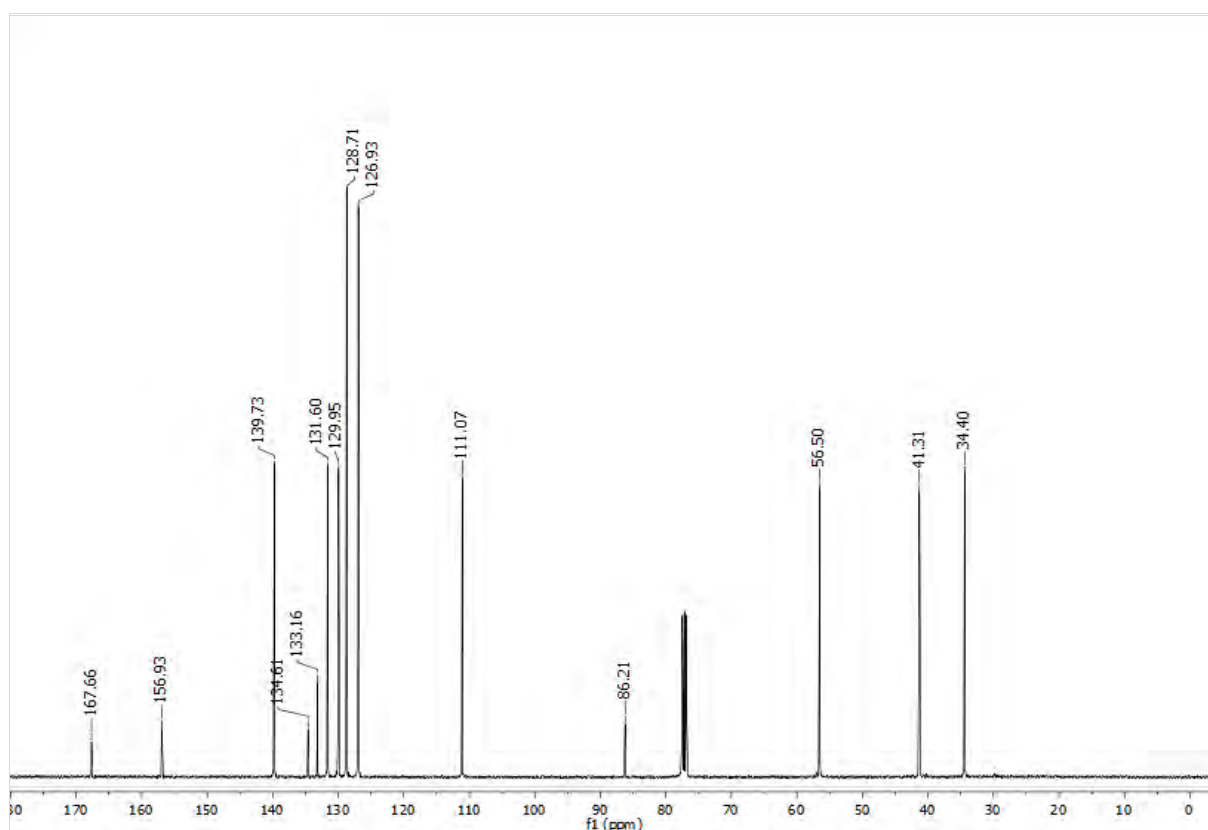
Prilog 17. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-4** u CDCl₃



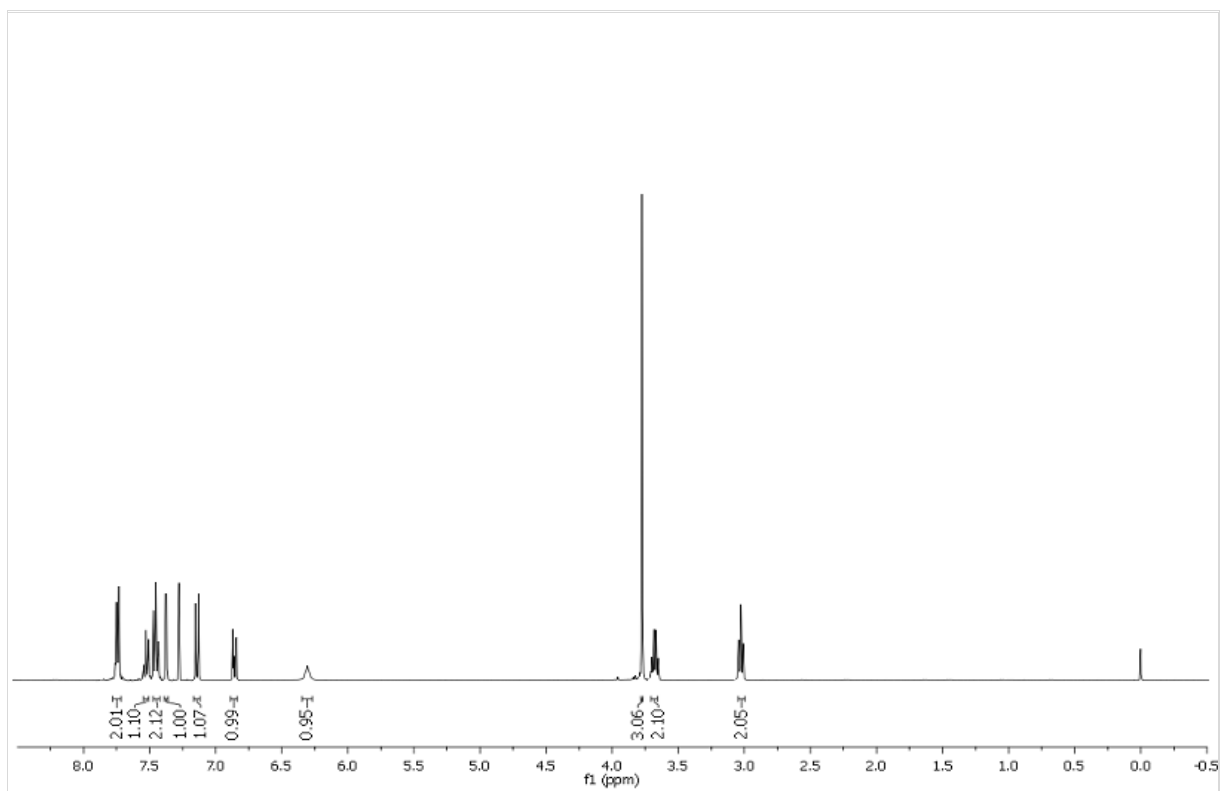
Prilog 18. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-4** u CDCl₃



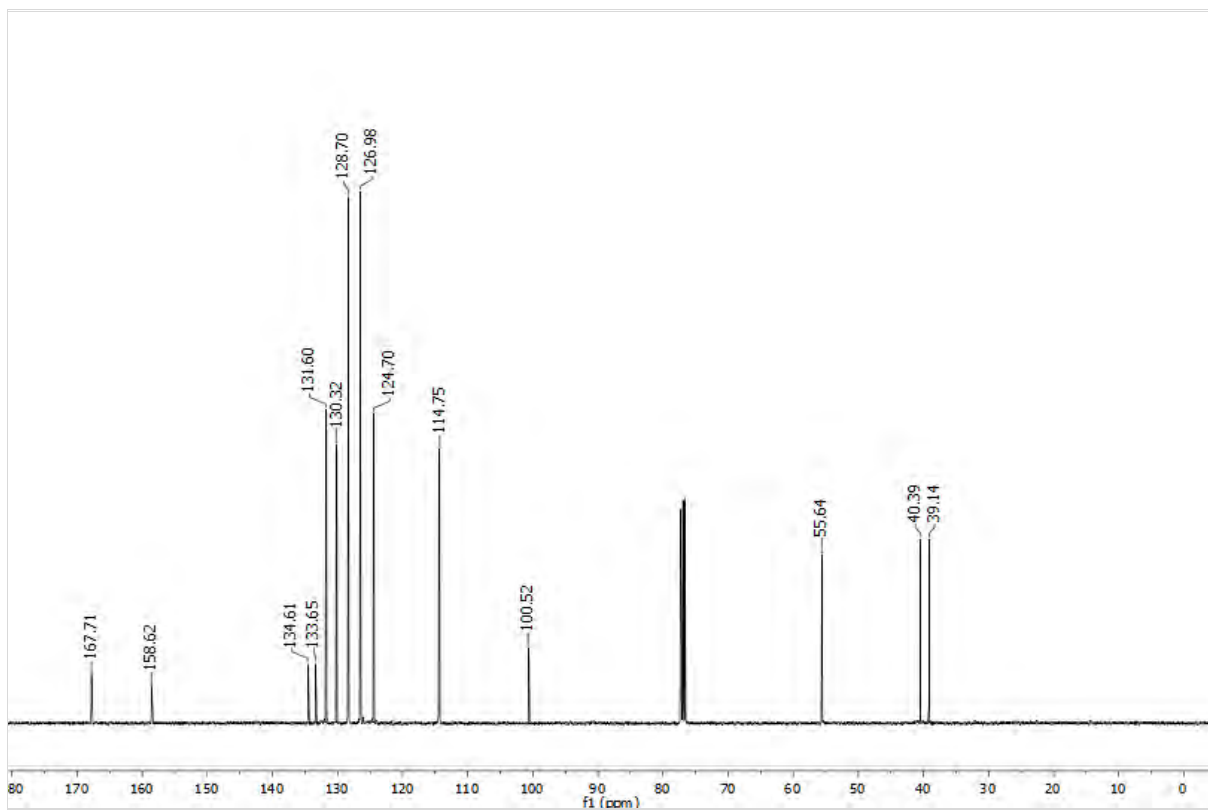
Prilog 19. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-5** u CDCl₃



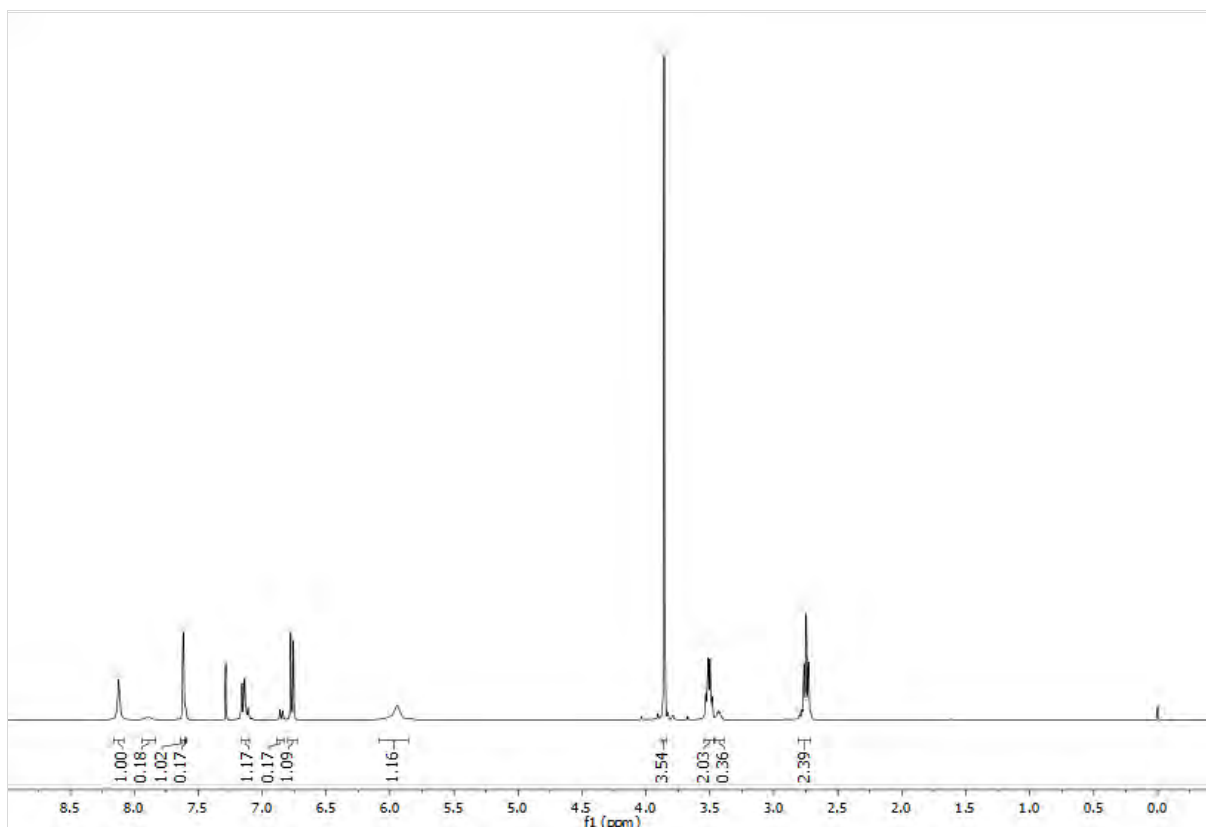
Prilog 20. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-5** u CDCl₃



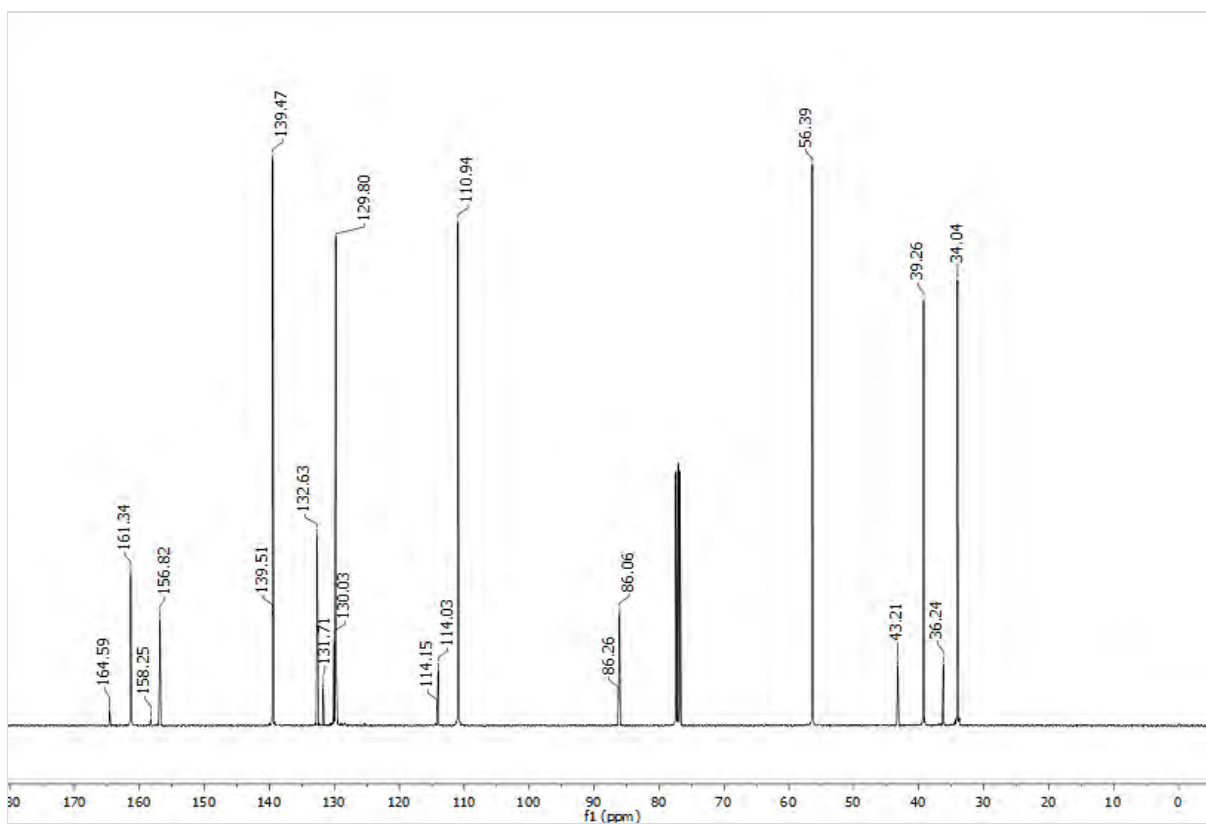
Prilog 21. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-6** u CDCl₃



Prilog 22. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-6** u CDCl₃



Prilog 23. ¹H NMR (400 MHz) spektar jedinjenja **3-7** u CDCl₃



Prilog 24. ¹³C NMR (100,6 MHz) spektar jedinjenja **3-7** u CDCl₃

10. BIOGRAFIJA

Miljana Đorđević, diplomirani hemičar, je rođena 04.08.1987. godine u Nišu. Završila je osnovnu školu u Brestovcu, kao Đak generacije, a srednju Medicinsku školu u Leskovcu, smer farmaceutski tehničar. Nosilac je „Vukove diplome“ u srednjoj i osnovnoj školi i učesnik Republičkih takmičenja iz hemije od 2001-2004. godine.

Prirodno-matematički fakultet u Nišu, Odsek za hemiju, upisala je školske 2006/2007. godine. Studije je završila 2011. godine sa prosečnom ocenom 9,32 i ocenom 10 za izradu i odbranu diplomskog rada pod nazivom: „Sinteza mono- i dijud-derivata N-(4-metoksifenetil)amida kao model jedinjenja tiraminskih metabolita morskih organizama roda *Didemnum*“. Školske 2009/2010. proglašena je Najboljim studentom generacije na Departmanu za hemiju.

Doktorske akademske studije upisala je školske 2011/2012. godine na Departmanu za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu, pod mentorstvom redovnog profesora dr Nika Radulovića. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih akademskih studija sa ocenom 10. Od 2011. godine je angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja broj 172061 „Kombinatorne biblioteke heterogenih katalizatora, prirodnih proizvoda, modifikovanih prirodnih proizvoda i njihovih analoga: put ka novim biološki aktivnim agensima“, od 2011-2014. kao istraživač-pripravnik, a od 2014. do danas kao istraživač-saradnik.

RADOVI OBJAVLJENI U VRHUNSKIM MEĐUNARODNIM ČASOPISIMA (M₂₁)

1. Đorđević, Miljana R., Radulović, Niko S., Stojanović, Nikola M., Randelović, Pavle J. (2019) Immunomodulatory activity of marine natural products: Synthesis, spectral characterization and toxicity assessment of natural and related synthetic iodinated tyramides, *Food and Chemical Toxicology*, 125, 150-160. doi:10.1016/j.fct.2018.12.039. ISSN: 0278-6915. IF (2017)=3.977 (M_{21a})
2. Radulović, Niko S., Đorđević, Miljana R., Blagojević, Polina D. (2016) Structural revision of aristol: a fresh look at the oxidative coupling of thymol under iodination conditions, *RSC Advances*, 6(73), 69067-69082. doi: 10.1039/C6RA11296J. ISSN: 2046-2069. IF(2014)=3.840 (M₂₁)
3. Radulović, Niko S., Filipović, Sonja I., Zlatković, Dragan B., Đorđević, Miljana R., Stojanović, Nikola M., Randelović, Pavle J., Mitić, Katarina V., Jevtović-Stoimenov, Tatjana M., Randelović, Vladimir N. (2016) Immunomodulatory pinguisane-type sesquiterpenes from the liverwort *Porella cordeana* (Porellaceae): the "new old" furanopinguisanol and its oxidation product exert mutually different effects on rat splenocytes, *RSC Advances*, 6(48), 41847-41860. doi: 10.1039/C6RA04308A ISSN: 2046-2069. IF(2014)=3.840 (M₂₁)

RADOVI OBJAVLJENI U ISTAKNUTIM MEĐUNARODNIM ČASOPISIMA (M₂₂)

1. 4. Radulović, Niko S., Đorđević, Miljana R., Dekić, Milan S., Blagojević, Polina D. (2016) Chemical composition of the essential oil and diethyl ether extract of *Trinia glauca* (L.) Dumort. (Apiaceae) and the chemotaxonomic significance of 5-*O*-methylvisamminol; *Chemistry & Biodiversity*, 13(4), 403-415. doi: 10.1002/cbdv.201500111.
2. Radulović, Niko S., Đorđević, Miljana R. (2014) Chemical Composition of the Tuber Essential Oil from *Helianthus tuberosus* L. (Asteraceae); *Chemistry & Biodiversity*, 11(3), 427-437. doi: 10.1002/cbdv.201300323.

RAD OBJAVLJEN U ČASOPISU NACIONALNOG ZNAČAJA (M₅₂)

1. Đorđević, Miljana R., Radulović, Niko S., (2019) Ascidian halogen-containing secondary metabolites from the family Didemnidae, *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology*, (accepted manuscript)

RAD OBJAVLJEN U NACIONALNOM ČASOPISU (M₅₃)

1. Cvetković, Vladimir J., Mitrović, Tatjana Lj., Jovanović, Boris, Stamenković, Slaviša S., Todorović, Miljana, Đorđević, Miljana, Radulović, Niko (2015) Toxicity of dimethyl sulfoxide against *Drosophila melanogaster*; *Biologica Nyssana*, 6(2), 91-95.

1. Dorđević, M. R.; Zlatković, D. B.; Radulović, N. S. Essential-oil composition of *Cnidium silaifolium*(Jacq.) Simonk. from Serbia. In *Book of Abstracts of 50th International Symposium on Essential oils (ISEO2019)*, September 13 – 16, 2018, pp 158. (M34)
2. Dorđević, M. R.; Radulović, N. S. Lily of the valley flower volatiles: the chemical composition of the flower diethyl ether extract. In: *Facta Universitatis: Series Physics, chemistry and technology, 49th International Symposium on Essential oils (ISEO2018) Book of Abstracts, Volume 16, Issue 1*, Vienna (Austria), September 09 – 12, 2019, pp 87. (M34)
3. Stevanović, M.; Nešić, M.; Dorđević, M.; Radulović, N. The content of α - and β -thujones in essential oils: the qNMR approach. In: *Facta Universitatis: Series Physics, chemistry and technology, 49th International Symposium on Essential oils (ISEO2018) Book of Abstracts, Volume 16, Issue 1*, Niš (Serbia), September 13 – 16, 2018, pp 153. (M34)
4. Genčić, M. S.; Aksić, J. M.; Živković, M. Z.; Dorđević, M. R.; Mladenović, M. Z.; Radulović, N. S. New neryl esters from *Helichrysum italicum* essential oil. In: *Facta Universitatis: Series Physics, chemistry and technology, 49th International Symposium on Essential oils (ISEO2018) Book of Abstracts, Volume 16, Issue 1*. Niš (Serbia), September 13 – 16, 2018, pp 72. (M34)
5. Dorđević, M. R.; Radulović, N. S. Synthesis and spectral characterization of natural and related synthetic iodinated tyramides. In: *Kratki izvodi radova Šeste konferencije mladih hemičara Srbije*, Belgrade (Serbia), October 27, 2018, pp. 52. (M64)
6. Dorđević, M. R.; Radulović, N. S.; Blagojević, P. D.; Pešić, M. S.; Akhlaghi, H. The essential oil of *Zosima absinthifolia* Link (Apiaceae) from Iran: a rich source of lavandulyl esters. In: *Natural Volatiles and Essential Oils, Volume 2, Issue 3*, Pécs (Hungary), September 10 – 13, 2017, pp.110. (M34)
7. Dorđević, M. R.; Radulović, N. S. Chemical composition of the root essential oil from *Conium maculatum* L. (Apiaceae). In: *Natural Volatiles and Essential Oils, Volume 2, Issue 3*, Pécs (Hungary), September 10 – 13, 2017, pp.111. (M34)
8. Dorđević, M. R.; Radulović, N. S.; Blagojević, P. D. NMR-based structural elucidation of aristol constituents. In: *Book of Abstracts of the 19th Central and Eastern European NMR Symposium & Bruker Users' Meeting*, Timișoara, (Romania), September 5 – 8, 2017, pp. 47. (M34)
9. Dorđević, M. R.; Radulović, N. S.; Blagojević, P. D.; Zlatković, D. B. Structural revision of aristol: a fresh look at the oxidative coupling of thymol under iodination conditions. In: *Book of abstracts of the XII students' congress of Society of Chemists and Technologists of Macedonia*, Skopje (Macedonia), October 12 – 14, 2017, pp. 7. (M64)

10. Zlatković, D. B.; Radulović, N. S.; Đorđević, M. R. Reduction of Biginelli compounds by LiAlH_4 : a rapid access to molecular diversity. In: *Book of abstracts of the XII students' congress of Society of Chemists and Technologists of Macedonia*, Skopje (Macedonia), October 12 – 14, 2017, pp. 8. (M64)
11. Filipović, S. I.; Radulović, N. S.; Zlatković, D. B.; Đorđević, M. R.; Randelović V. N. The “new old” α -furanopinguisanol and its oxidation product from the essential oil of the liverwort *Porella cordaena* (Hub.) Moore (Porellaceae). In: *Programme, Book of Abstracts and Participants List of the 47rd International Symposium on Essential Oils*, Nice (France), September 11 – 14, 2016, pp. 77. (M34)
12. Stojanović, N. M.; Radulović, N. S.; Filipović, S. I.; Zlatković, D. B.; Đorđević, M. R.; Randelović, P. J.; Mitić, K. V.; Jevtović-Stoimenov T. M.; Randelović, V. N. Immunomodulatory activity of pinguisane-type sesquiterpenes from the essential oil of the liverwort *Porella cordaena* (Hub.) Moore (Porellaceae). In: *Programme, Book of Abstracts and Participants List of the 47rd International Symposium on Essential Oils*, Nice (France), September 11 – 14, 2016, pp. 139. (M34)
13. Radulović, N. S.; Filipović, S. I.; Zlatković, D. B.; Đorđević, M. R.; Stojanović, N. M.; Randjelović, P. J.; Mitić, K. V.; Jevtović-Stoimenov T. M.; Randelović, V. M. Structural revision of α -furanopinguisanol. In: *Programme and Book of Abstracts of the 18th Central and Eastern European NMR Symposium & Bruker Users' Meeting*, Sofia (Bulgaria), September 18 – 20, 2016, , pp. 49. (M34)
14. Đorđević, M. R.; Radulović, N. S.; Dekić, M. S.; Blagojević, P. D. Identifying secondary metabolites of *Trinia glauca* (L.) Dumort. (Apiaceae) by a direct NMR analysis of a crude solvent extract. In: *Programme and Book of Abstracts of the 18th Central and Eastern European NMR Symposium & Bruker Users' Meeting*, Sofia (Bulgaria), September 18 – 20, 2016, pp. 50. (M34)
15. Đorđević, M. R.; Radulović, N.S. Chemical composition of the Root Essential Oil from *Conium maculatum* L. (Apiaceae). In: *Book of abstracts of the 12th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions*, Kopaonik (Serbia), June 16 – 19, 2016, pp. 114. (M34)
16. Đorđević, M. R.; Radulović, N.S.; Stojanović, N. M.; Stojanović-Radić, Z. Chemical composition of the essential oil of *Heracleum sphondylium* L. (Apiaceae) from the settings of the city of Niš (SE Serbia). In: *Book of abstracts of the 12th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions*, Kopaonik (Serbia), June 16 – 19, 2016, pp. 121. (M34)
17. Radulović, N. S.; Filipović, S. I.; Zlatković, D. B.; Đorđević, M. R. Revizija stereohemije furanopingvizanola, In: *Kratki izvodi radova Četvrte konferencije mladih hemičara Srbije*, Belgrade (Serbia), November 5, 2016, pp. 31. (M64)
18. Đorđević, M. R.; Radulović, N. S. Isparljiva jedinjenja korena biljne vrste *Conium maculatum* L. In: *Kratki izvodi radova Četvrte konferencije mladih hemičara Srbije*, Belgrade (Serbia), November 5, 2016, pp. 68. (M64)

19. Đorđević, M. R.; Radulović, N. S.; Stojanović, N. M.; Randelović, P. J. Antinociceptivna aktivnost etarskog ulja biljne vrste *Amorpha fruticosa* L. (Fabaceae).), In: *Program i kratki izvodi radova Treće konferencije mladih hemičara Srbije*, Belgrade (Serbia), October 24, 2015, pp. 62. (M64)
20. Đorđević, M. R.; Radulović, N. S.; Blagojević, P. D. Structural revision of aristol: a new lateral oxidative coupling of thymol. In: *Program and Book of Abstracts of the 52th Meeting of the Serbian Chemical Society*. Novi Sad (Serbia), May 29 – 30, 2015, pp. 118. (M64)
21. Stojanović, N. M.; Radulović, N. S.; Randelović, P. J.; Đorđević, M. R. Antinociceptive activity of *Amorpha fruticosa* L. (Fabaceae). In: *Natural Volatiles and Essential Oils, Volume 2, Issue 3*, Lublin (Poland), September 13 – 16, 2015, pp.134. (M34)
22. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R.; Vukićević, M. D.; Vukićević, R. D. Volatiles of *Trinia glauca* L. Dumort. (Apiaceae). In: *Natural Volatiles and Essential Oils, Special Issue 2014*, Istanbul (Turkey), September 7 – 10, 2014, pp. 201. (M34)
23. Radulović, N.; Stojanović-Radić, Z.; Stojanović, N.; Đorđević, M. Antimicrobial activity of the essential oil of *Heracleum sphondylium* L. (Apiaceae): synergistic interactions of individual constituents, cell membrane damaging and antibiofilm activities. In: *Natural Volatiles and Essential Oils, Special Issue 2014*, Istanbul (Turkey), September 7 – 10, 2014, pp. 260. (M34)
24. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R. Long chain 5-alkylresorcinols from *Scilla bifolia* L. In: *Book of Abstracts of the 23rd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid (Republic of Macedonia), October 8 – 11, 2014, pp. 53. (M64)
25. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R.; Blagojević, P. D. Volatile alkamides from the roots of *Achillea serbica* Nym. (Asteraceae). In: *Book of Abstracts of the 23rd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid (Republic of Macedonia), October 8 – 11, 2014, pp. 54. (M64)
26. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R. Chemical composition of tuber essential oil from *Helianthus tuberosus* L. (Asteraceae). In: *Program, Book of Abstracts and Participants List of the 43rd International Symposium on Essential Oils*, Lisboa (Portugal), September 5 – 8, 2012, pp. 66. (M34)
27. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R.; Blagojević, P. D. Alkamides from *Achillea serbica* Nym. (Asteraceae) root essential oil. In: *Program, Book of Abstracts and Participants List of the 43rd International Symposium on Essential Oils*, Lisboa (Portugal), September 5 – 8, 2012, pp. 96. (M34)
28. Đorđević, M. R.; Radulović, N. S. Chemoselective bioreduction of ferrocenyl chalcones by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Program and Book of Abstracts of the 51th Meeting of the Serbian Chemical Society*, Niš (Serbia), June 5 – 7, 2014, pp. 61. (M64)
29. Radulović, N.; Đorđević, M. Long chain 5-alkylresorcinols from *Scilla bifolia* L. In: *Book of abstracts of the 11th Symposium on the Flora of Southerneastern Serbia and Neighboring Regions*, Vlasina (Serbia), June 13 – 16, 2013, pp. 101. (M34)

30. Cvetković, V.; Mitrović, T.; Stamenković, S.; Stojadinović, B.; Jovanović, B.; Đorđević, M.; Radulović, N. Toxicity of a commonly used solvent dimethyl sulfoxide against *Drosophila melanogaster* larvae: Determination of LC50, LOEC and NOEC values. In: *Book of abstracts of the 11th Symposium on the Flora of Southerneastern Serbia and Neighboring Regions*, Vlasina (Serbia), June 13 – 16, 2013, pp. 71. (M34)
31. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R. Hemijski sastav etarskog ulja gomolja biljne vrste *Helianthus tuberosus* L. (Asteraceae). In: *Program i kratki izvodi radova Prve konferencije mladih hemičara Srbije*, Belgrade (Serbia), October 19 – 20, 2012, pp. 20. (M64)
32. Radulović, N. S.; Đorđević, M. R. Synthesis of mono- and diiodo-derivatives of *N*-(4-methoxyphenethyl)amide as model compounds of tyramine metabolites of marine organisms of the genus *Didemnum*. In: *Program and Book of Abstracts of the 50th Meeting of the Serbian Chemical Society*, Belgrade (Serbia). June 14 – 15, 2012, pp. 158. (M64)

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

„Синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата природних производа“

која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивала на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредила ауторска права, нити злоупотребила интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 30.10. 2019.

Потпис аутора дисертације:

Мирјана Р. Ђорђевић
(Име, средње слово и презиме)

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

„Синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата природних производа“

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, 30.10.2019.

Потпис аутора дисертације:

Милана Р. Јожевић
(Име, средње слово и презиме)

ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов дисертације: Синтеза, идентификација и спектрална карактеризација одабраних јодованих деривата природних производа

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предала за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истоветан штампаном облику.

У Нишу, 30.10.2019.

Потпис аутора дисертације:

Милош Р. Јончић
(Име, средње слово и презиме)