

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA ŠKOF

DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA ŠKOF

**SELEKTIVNA SINTEZA AMFIFILNIH DERIVATOV
DIHIDROKSIBENZOJSKE KISLINE IN
DIHIDROKSIBENZALDEHIDA Z ANTIOKSIDATIVNIM
DELOVANJEM**

**SELECTIVE SYNTHESIS OF AMPHIPHYLIC
DERIVATIVES OF DIHYDROBENZOIC ACID AND
DIHYDROBENZALDEHYDE WITH ANTIOXIDANT
ACTIVITY**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Aleša Obreze, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Roka Frlana, mag. farm. NMR, IR in HPLC analize smo opravili na Fakulteti za farmacijo, elementne analize na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo, masne analize pa na Inštitutu Jožef Stefan v Ljubljani.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem mentorju izr. prof. dr. Alešu Obrezi, mag. farm. in somentorju asist. dr. Roku Frlanu, mag. farm. za strokovno vodenje in vsestransko pomoč pri opravljanju diplomskega dela, prav tako tudi vsem ostalim zaposlenim na Katedri za farmacevtsko kemijo. Zahvaljujem se tudi staršem in Igorju, ki so me podpirali in verjeli vame.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Aleša Obreze, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Roka Frlana, mag. farm.

Katarina Škof

Ljubljana, 2012

Predsednica komisije: prof. dr. Mirjana Gašperlin

Član komisije: doc. dr. Bojan Doljak, mag. farm.

VSEBINA

1. POVZETEK	III
2. ABSTRACT.....	IV
3. SEZNAM OKRAJŠAV	V
4. UVOD.....	1
4.1 BIOLOŠKE MEMBRANE	1
4.2 POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI.....	2
4.3 RADIKALI	4
4.4 ANTIOKSIDANTI	8
5. NAČRT DELA	11
5.1 REAKCIJSKE SCHEME.....	14
6. MATERIALI IN METODE.....	17
6.1 MATERIALI	17
6.2 METODE	17
7. EKSPERIMENTALNI DEL.....	19
7.1 Sinteza metil 4-hidroksibenzoata (2).....	19
7.2 Sinteza metil-4-(oksiran-2-ilmetil)benzoata (6)	19
7.3 Sinteza etrov metil 4-hidroksibenzoata	21
7.4 Hidroliza metilnih estrov	25
7.5 Sinteza hidroksamskih kislin z benzilno zaščito	29
7.6 Odstranitev benzilne zaščite	33
7.7 Sinteza metil 2,4-dihidroksibenzoata (4).....	37
7.8 Sinteza metil 2-hidroksi-4-(oksiran-2-ilmetoksi)benzoata (7)	38
7.9 Odpiranje epoksidnega obroča in podaljševanje verige	39
7.10 Sinteza 2-hidroksi-4-(oksiran-2-ilmetoksi)benzaldehida (13)	43
7.11 Sinteza imina	44

8. REZULTATI IN RAZPRAVA	49
8.1 REZULTATI	49
8.2 RAZPRAVA.....	54
9. SKLEP	62
10. VIRI IN LITERATURA	63

1. POVZETEK

Površinsko aktivne snovi se uporabljajo v vsakdanjem življenju, prav tako pa so nepogrešljive v farmacevtski in drugih industrijah, kjer se uporabljajo kot detergenti, močljivci, emulgatorji. Zaradi svoje značilne strukture se v dvofaznih sistemih te snovi porazdelijo na stični površini med oljno in vodno fazo.

Antioksidanti so poleg vsesplošne uporabnosti zelo pomembni v farmaciji, saj preprečujejo in upočasnjujejo oksidativne procese učinkovin in pomožnih snovi, ki so tako zaščitene pred staranjem, oksidativnimi pretvorbami, zmanjšanjem ali spremembo učinka in drugimi neželenimi posledicami, ki nastanejo zaradi reakcij oksidacije.

Pri predhodnih eksperimentih so strukturno podobne amfifilne molekule in nekateri derivati oksimov izkazovali antioksidativne lastnosti, kar je bil tudi povod za to diplomsko delo, kjer smo se lotili sinteze treh različnih serij spojin z antioksidativnim delovanjem. Izhajali smo iz parahidroksibenzojske kisline, dihidroksibenzojske kisline in dihidroksibenzaldehida. Za vse končne spojine je značilna amfifilna struktura, ki vsebuje polarno hidroksamsko funkcionalno skupino in lipofilni del, ki ga sestavljajo različno dolge alkilne verige, ki so s polarnim delom povezane preko fenilnega obroča. Končne spojine bodo kot potencialne antioksidante ovrednotili na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, nekateri sintetizirani intermedii pa bodo zaradi velike zahtevnosti osnova za nadaljnje delo.

Sintezne produkte vseh stopenj smo ustrezno očistili in ovrednotili z več metodami in tehnikami: NMR, IR, HPLC, masna in elementna analiza.

Tovrstni antioksidanti so zaradi svojih fizikalno-kemijskih lastnosti potencialno uporabni v farmacevtski tehnologiji v dvofaznih sistemih, kot so na primer emulzije in mikroemulzije.

2. ABSTRACT

Surfactants have a variety of uses in everyday life, but they are also indispensable in the pharmaceutical and other industries, where they are used as detergents, wetting agents, emulsifiers. Due to their characteristic structure, in the two-phase systems these substances are distributed on the surface between the oil and aqueous phase.

In addition to the overall usefulness antioxidants are very important in pharmacy, because they prevent and retard the oxidation processes of substances and excipients thus protecting them from aging, oxidative degradation, reducing or changing the effect and other adverse consequences of oxidation reactions.

In previous experiments structurally similar amphiphilic molecules and some oximes showed antioxidant properties, which were also the basis for this thesis, where we have undertaken a synthesis of three different batches of compounds with the potential antioxidant activity. We started our synthesis from parahydroxybenzoic acid, dihydroxybenzoic acid and dihydroxybenzaldehyde. All final compounds have a specific amphiphilic structure: the polar hydroxamic functional group and a lipophilic part, which consists of a variable length alkyl chains with the phenyl ring linked to the polar part. Final compounds will be further evaluated at the Department of Pharmaceutical Technology, some of the synthesized intermediates will, however, due to their high complexity provide the basis for further work.

Synthetic products of all levels were cleaned and evaluated using multiple methods and techniques: NMR, IR, HPLC, mass and element analysis.

Due to their physico-chemical properties such antioxidants are potentially useful in the pharmaceutical technology in two-phase systems, such as emulsions and microemulsions.

3. SEZNAM OKRAJŠAV

ATR	tehnika oslabljenega popolnega odboja (IR)
br	širok signal (NMR)
d	dublet (NMR)
DMF	dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
DNA	deoksiribonukleinska kislina
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid
EI	elektronska ionizacija (MS)
ekv.	ekvivalent
ESI	elektrosprej ionizacija (MS)
HOBT	hidroksi benzotriazol
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
IR	infrardeča spektroskopija
<i>J</i>	sklopitvena konstanta (NMR)
KMK	kritična micelarna koncentracija
m	multiplet
M	molarna koncentracija
MF	mobilna faza
Mr	molekulska masa
MS	masna spektrometrija
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (reducirana oblika)

NMM	<i>N</i> -metilmorfolin
NMR	jedrska magnetna resonanca
NSAID	nesteroidne protivnetne učinkovine
Nu ⁻	nukleofil
PAS	površinsko aktivne snovi
Ph	fenolni derivat
ppm	en del na milijon delov
R _f	retencijski faktor (TLC)
RNS	reaktivne dušikove zvrsti
ROS	reaktivne kisikove zvrsti
RSS	reaktivne žveplove zvrsti
s	singlet (NMR)
SOD	superoksid-dismutaza
t	triplet (NMR)
THF	tetrahidro furan
TLC	tankoplastna kromatografija
T _R	retencijski čas (HPLC)
T _t	temperatura tališča
UV	ultravijolično sevanje
η	izkoristek reakcije
λ	valovna dolžina
δ	kemijski premik (NMR)

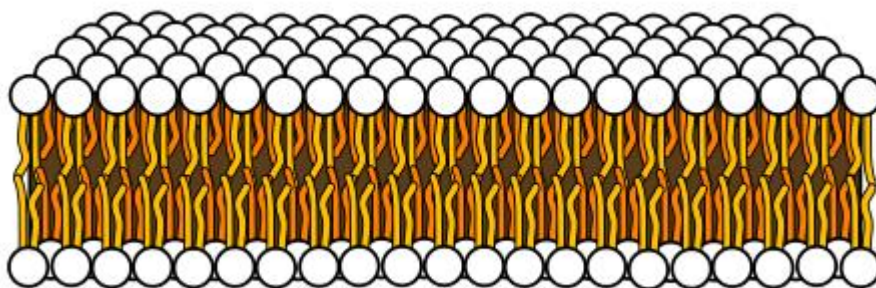
4. UVOD

4.1 BIOLOŠKE MEMBRANE

4.1.1 ZGRADBA BIOLOŠKIH MEMBRAN

Membrane ločujejo celico od okolja in delijo notranjost celice na različne celične predele. Membrane sestavljajo predvsem lipidi, ki tvorijo lipidni dvosloj (Slika 1), in membranski proteini, ki na različne načine omogočajo komunikacijo med celicami. Slednji prenašajo organske molekule in ione skozi celično membrano, receptorji na celični površini zaznajo ekstracelularne signale in sprožijo specifične poti v celici, adhezijske molekule pa skrbijo za stik med celicami. Strukturne lastnosti membranskih proteinov pogojujejo njihovo funkcijo in omogočajo aktivni oziroma pasivni transport topljencev skozi biološko membrano. (1)

Lipidni dvosloj deluje kot selektivno prepustna pregrada. Preko lipidnega dvosloja lahko prehajajo majhne, nepolarne molekule, npr. ogljikov dioksid in ogljikovodiki, medtem ko polarne molekule, npr. aminokisliline in sladkorji, z navadno difuzijo ne morejo prehajati. Pomembna lastnost za delovanje bioloških membran je tudi njihova fluidnost. (2)



Slika 1: Lipidni dvosloj

Membranski lipidi imajo skupno strukturno značilnost, amfifilnost, ki omogoča njihovo spontano združevanje v vodnem okolju v stabilno dvoslojno razporeditev, vzdrževano z nekovalentnimi hidrofobnimi interakcijami in van der Waalsovimi silami. (4, 5)

V evkariontskih celicah prevladujejo fosfolipidi kot membranski lipidi in so zgrajeni iz hidrofilne glave, na katero so pripete hidrofobne acilne verige. Te acilne verige so lahko nasičene, nenasičene ali večkrat nenasičene verige ogljikovodikov, običajno dolgih 14 do

22 ogljikovih atomov. Za normalno funkcijo morajo biti membranski dvosloji fluidni in dopuščati gibanje membranskih molekul v lateralni smeri. Nenasičene acilne verige so ključne za fluidnost membrane v temperaturnem območju značilnem za današnje življenje.

(3)

4.1.2 FUNKCIJE BIOLOŠKIH MEMBRAN

Funkcije bioloških membran so različne. Predstavljajo selektivni filter, ki dopušča vstop potrebnih hranilnih snovi in izstop odpadnih produktov, po drugi strani pa delujejo kot bariera za preostale molekule. Preko membrane poteka sporazumevanje z okolico (prenos kemijskih signalov) in posredovanje pri medceličnih interakcijah, nekatere specializirane membrane pa vsebujejo komplekse proteinov, ki delujejo kot sistem za prenos energije. Delujejo tudi kot energijska zaloga celic in skrbijo za porazdelitev ter akumulacijo metabolitov, sodelujejo pri delitvi celic, itn. Membrane poleg tega predstavljajo tudi zaščitni ovoj, ki ločuje občutljivo vsebino organelov od celične vsebine in omogočajo organizacijo in lokalno porazdelitev biokemijskih procesov v različnih delih celice. (2, 4,

5)

4.2 POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI

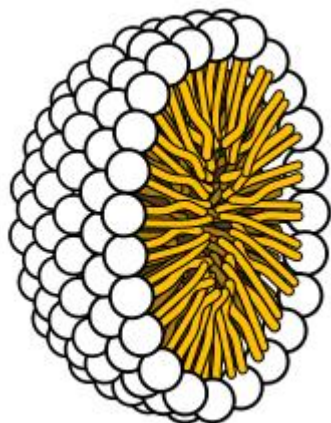
4.2.1 LASTNOSTI IN UPORABA V FARMACIJI

Glede na njihovo topnost v vodi delimo molekule na vodotopne (hidrofilne), v vodi netopne (hidrofobne), nekatere pa imajo dvojni značaj (amfifilne).

Površinsko aktivne snovi (PAS) oziroma amfifilne snovi imenujemo tiste snovi, ki se zaradi svoje kemijske strukture porazdeljujejo na meji med dvema fazama, kar izkoriščamo tudi v farmaciji. Molekula PAS ima značilno zgradbo. V svoji strukturi vsebuje tako hidrofilni kot tudi hidrofobni del. Hidrofilni del molekule je lahko kationski, anionski ali neionski, hidrofobni del pa je sestavljen iz nenasičene verige ogljikovodikov (največkrat), včasih pa tudi iz heterocikličnega ali aromatskega obroča.

Tipični predstavniki tega razreda spojin so alkalijeve soli karboksilnih kislin z dolgo verigo, npr. natrijev stearat. Ionski del pri teh spojinah predstavlja karboksilatni anion asociiran z natrijevim kationom, nepolarni del pa dolga alkilna veriga. V vodi te molekule ne tvorijo pravih raztopin, ampak se združujejo v skupke imenovane miceli (Slika 2). Amfifilne molekule se s hidrofobnim delom izognejo stiku z vodo, tako da alkilne verige

oziroma repe premaknejo v notranjost agregatov, kjer ni vode, in tvorijo hidrofobne interakcije med posameznimi verigami. Površino micela tvorijo ionske glave, ki so stabilizirane z elektrostatskimi interakcijami z ioni alkalijskih kovin in vodo. Taka orientacija PAS je energetsko ugodna, saj je za nastanek micela potrebno manj energije, kot bi bilo potrebno za prenos alkilne verige v vodo in rušenje mreže vodikovih vezi med njimi. Vodna raztopina PAS ima zato nižjo prosto energijo in nižjo površinsko napetost. Micelarne raztopine takih spojin uporabljamo kot mila, saj jim njihov dvojni kemijski značaj omogoča, da ujamejo olja in masti v nepolarna območja micelov in istočasno ostanejo razpršena v vodni raztopini zaradi hidratacije ionskih skupin. Oblikovanje micelov ima ključen pomen pri nastanku bioloških membran. Ta pojav je pomemben tudi zato, ker so največkrat tako strukturno urejene biomolekule biološko aktivne. (2)



Slika 2: Zgradba micela

Površinska napetost se manjša z večanjem koncentracije PAS v vodni raztopini. To velja, dokler molekule ne zapolnijo mejne površine med obema fazama. Pri določeni koncentraciji pa se te površine nasitijo in PAS se začnejo združevati v micle. Omenjeno koncentracijo imenujemo kritična micelarna koncentracija (KMK). KMK in velikost micela se pri ionskih PAS znižuje s podaljševanjem hidrofobne verige in dodatkom elektrolitov.

PAS vplivajo na raztapljanje učinkovine preko različnih mehanizmov, predvsem je pomembno izboljšanje močenja, poleg tega pa tudi pri koncentracijah nad KMK solubilizirajo učinkovino v micelu in tako povečajo navidezno topnost. Učinkovina se v odvisnosti od kemijske strukture lahko vključi v strukturo micela v različnih področjih.

Najpogosteje se nepolarne učinkovine vključujejo v sredico micela, delno polarne učinkovine se porazdelijo z molekulami PAS, v neionskih sistemih so polarne molekule solubilizirane v hidratiranem območju skorje micela, v posebnih primerih ionskih PAS pa je lahko učinkovina vezana v električni dvosloj na površini micela. (6)

4.3 RADIKALI

4.3.1 VIRI RADIKALOV

Celice kontinuirano proizvajajo reaktivne kisikove zvrsti, npr. radikale kot del metabolnih procesov. Organizem se pred njimi brani s pomočjo vzpostavljenega antioksidativnega obrambnega sistema, ki ga sestavljajo encimi, kot so katalaza, superoksid-dismutaza, glutation-peroksidaza in številni neencimski antioksidanti, vključno z vitamini A, E in C, glutationom, ubikinonom in flavonoidi. (7, 8)

Reaktivne zvrsti so radikali in neradikali, ki lahko nekontrolirano oksidirajo gradnike celic. Porušeno ravnotežje zaradi povečane tvorbe reaktivnih zvrsti ali znižanega nivoja antioksidantov vodi do možnih poškodb celice. Viri reaktivnih zvrsti v telesu so lahko energetski (celično dihanje, transport kisika s hemoglobinom), reaktivni (oksidativni izbruh kot del obrambe imunskega sistema) ali metabolni (metabolizem telesu lastnih snovi in ksenobiotiki). V okolju so lahko vir reaktivnih zvrsti različna sevanja (ionizirajoče, ultravijolično), ultrazvok, kemikalije, tobačni dim in drugi. Radikali lahko povzročijo poškodbe membran, proteinov in DNA. Vrsta in obseg okvare sta določena tudi s tem, kje nastajanje radikalov prevladuje (v celici ali zunaj nje). (9, 10, 11, 12)

4.3.2 REAKTIVNE ZVRSTI

REAKTIVNE KISI KOVE ZVRSTI (ROS)

- Radikali: superoksid ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($\cdot OH$), peroksil (ROO^{\cdot}), alkoksil (RO^{\cdot}), hidroperoksil (HOO^{\cdot})
- Neradikali: vodikov peroksid (H_2O_2), hipoklorna kislina ($HOCl$), ozon (O_3), singletni kisik (1O_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)

REAKTIVNE DUŠIKOVE ZVRSTI (RNS)

- Radikali: dušikov oksid (NO^{\cdot}), dušikov dioksid (NO_2^{\cdot})

- Neradikali: peroksinitrit (ONOO^-), alkil peroksinitrit (ROONO), didušikov trioksid (N_2O_3), didušikov tetraoksid (N_2O_4), dušikova(III) kislina (HNO_2), nitronijev kation (NO_2^+), nitrozil anion (NO^-), nitrozil kation (NO^+)

REAKTIVNE ŽVEPLOVE ZVRSTI (RSS)

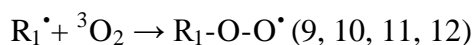
- Radikali: til (RS^\bullet), sulfinil (RSO^\bullet), sulfonil (RSO_2^\bullet), sulfonil peroksil ($\text{RSO}_2\text{OO}^\bullet$)
- Neradikali: vodikov sulfid (H_2S), sulfenska kislina (RSOH), sulfonska kislina (RSO_3H) (9, 10, 11, 12)

4.3.3 RADIKALSKE REAKCIJE

Radikali so atomi, ioni ali molekule, ki imajo v svoji strukturi najmanj en nesparjen elektron. Nastanejo lahko na več načinov: pri enoelektronskih redukcijah, enoelektronskih oksidacijah in s homolitsko cepitvijo kovalentne vezi pod vplivom toplote, svetlobe ali sevanja. Vzrok za njihovo kemično reaktivnost je težnja elektrona po pritegnitvi partnerskega elektrona.

Radikalske reakcije so na splošno zelo hitre, razvejane, stalno prisotne in neodvisne od okoliških pogojev. Pogosto so te reakcije verižne in vodijo do nastanka novih radikalov. Radikali reagirajo na več načinov:

- Pritegnitev vodikovega atoma $\text{R}_1^\bullet + \text{R}_2\text{-H} \rightarrow \text{R}_1\text{-H} + \text{R}_2^\bullet$
- Pritegnitev elektrona $\text{R}^\bullet + \text{ArNH}_2 \rightarrow \text{R}^- + \text{ArNH}_2^{\bullet+}$
- Adicija na dvojno vez $\text{R}_1^\bullet + \text{CH}_2=\text{CH-R}_2 \rightarrow \text{R}_1\text{-CH}_2\text{-CH}^\bullet\text{-R}$
- Reakcija dveh radikalov $\text{R}_1^\bullet + \text{R}_2^\bullet \rightarrow \text{R}_1\text{-R}_2$



4.3.4 POSLEDICE RADIKALSKIH REAKCIJ IN LIPIDNA PEROKSIDACIJA

RADIKALSKE OKVARE LIPIDOV, PROTEINOV IN DNA

- Lipidna peroksidacija: posledica je spremenjena funkcija in struktura membran in lipidov
- Peptidna veriga, stranske skupine: spremenjena struktura in funkcija proteinov
- Nukleinske baze, sladkor: spremenjena struktura in funkcija DNA (mutacije, teratogenost, kancerogenost) (9, 10, 11, 12)

POSLEDICE LIPIDNE PEROKSIDACIJE

- Malonilaldehid prizadene normalne funkcije membranskih proteinov s tem, da jih prečno poveže ali pa zavira njihove funkcionalne skupine
- Močno se zmanjša antioksidantna zaščita celic, kar vodi v pozitivno povratno zvezo
- Nastajajo tudi bioaktivne spojine, ki imajo lahko škodljive (npr. kancerogene) ali pa pogojno koristne (npr. trombogene) učinke.

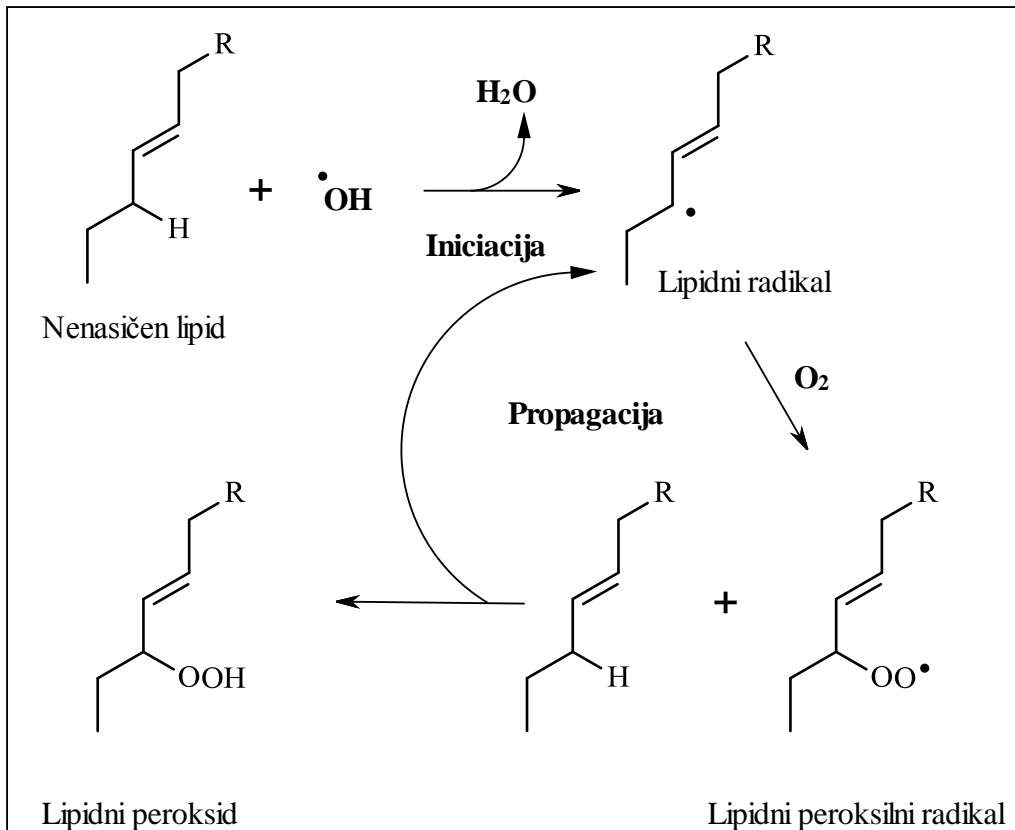
S časom se v celicah nabirajo »starostni pigmenti«, kot sta ceroid in lipofuscin. (13)

LIPIDNA PEROKSIDACIJA (Slika 3)

Začetek peroksidacije lipidov in nenasičenih maščobnih kislin je odvzem atoma vodika iz npr. verige maščobne kisline, najverjetneje v reakciji z OH^\bullet . Nastanejo lahko heteroradikali z nesparjenim elektronom na C atomu. (Slika 3)

Po preureditvi atomov nastanejo konjugirani dieni. Reakcija se ustavi, če npr. na nasprotni strani lipidnega sloja pride v stik z drugim C^\bullet radikalom. To poveže molekule fosfolipidov na obeh straneh membrane, kar zmanjša fluidnost membran in njihovo prožnost. Druga možnost je reakcija z membranskimi proteini, kar tudi vpliva na njihovo funkcijo. Najugodnejša možnost je prekinitev reakcije ob stiku z vitaminom E, v aerobnih razmerah pa so verjetnejše reakcije C^\bullet radikala z O_2 in nastanek peroksilnega radikala ROO^\bullet . Nastanek peroksilnega radikala je začetek verižne reakcije oksidacije lipidov.

V reakciji z drugimi lipidi nastaneta lipidni hidroperoksid in nov peroksilni radikal.



Slika 3: Lipidna peroksidacija

Iz lipidnega hidroperoksida nastajajo ciklični peroksidi in ciklični endoperoksidi, sledi fragmentacija do aldehydov (malonolaldehid) in/ali polimerizacija v druge toksične presnovke.

Peroksidacijo večkrat nenasičene kisline (LH) lahko sprožijo poleg OH^\bullet tudi alkoksidni radikali (LO^\bullet) in peroksidni radikali (LO_2^\bullet). (13)

4.3.5 OKSIDATIVNI STRES IN OBRAMBA PRED NJIM

Oksidativni stres je posledica porušanja ravnotežja med prooksidativnimi in antioksidativnimi procesi v celici. Radikali in reaktivni intermediati, ki pri tem prekomerno nastajajo, pomembno prispevajo k začetku bolezenskega procesa. Sam začetek procesa je največkrat posledica nekontrolirane in prekomerne tvorbe superoksidnega radikala. Na opisano situacijo je organizem v omejenem obsegu pripravljen, ker ima encime, sposobne pretvorbe superoksidnega radikala v manj nevarne kemijske zvrsti. V primeru prekomernega nastajanja ROS pa se omenjena obramba zasiti; nastajati začno drugi reaktivni radikali in intermediati (npr.: hidroksilni radikal in peroksinitritni anion), ki delujejo toksično na celico. (14, 15, 16)

Celični obrambni mehanizmi pred oksidativnim stresom so torej različni, od izolacije področij tvorbe reaktivnih zvrsti, zaviranja propagacijske faze radikalske reakcije do odstranjevanja reaktivnih zvrsti in popravljanja poškodb povzročenih z njimi. Pri obrambi pred poškodbami z reaktivnimi zvrstmi sodelujejo različni dejavniki:

- kot popravljalni sistemi so prisotni DNA popravljalni encimi, glutation-transferaza,
- pri izločanju in skladiščenju ionov prehodnih kovin sodelujejo transferin, laktoferin, feritin, metalotionin,
- pred lipidno peroksidacijo ščitijo glutation-peroksidaza, vitamin E, β -karoten,
- kot nespecifični redukcijski sistem delujeta glutation, vitamin C,
- neposredno obrambo pred reaktivnimi zvrstmi pa predstavljajo npr. superoksid-dismutaza, glutation-peroksidaza, katalaza. (9, 10, 11, 12)

4.4 ANTIOKSIDANTI

4.4.1 VLOGA ANTIOKSIDANTOV

Temeljna zaščita celice pred radikali je v prvi vrsti njena strukturna in funkcijska integriteta. Zaščito nudijo predvsem naslednji sistemi:

- Reparacijski sistemi poškodovane DNA
- Sposobnost posameznih encimov, da odstranjujejo radikale in druge reaktivne kisikove zvrsti
- Delovanje antioksidantov, ki niso encimi, vendar preprečujejo, zmanjšujejo ali ustavljajo verižne oksidacije, sprožene z radikali. (13)

Antioksidant je vsaka snov, ki že v zelo nizki koncentraciji zmanjša oksidacijo drugih snovi v celici največkrat tako, da prepreči nastajanje radikalov. Pojav antioksidantov je posledica nujne evolucijske prilagoditve organizmov na pojav kisika v zemeljski atmosferi. Največ antioksidantov najdemo v rastlinah, te pa so vir antioksidantov tudi za živali in človeka. (14)

Antioksidanti so v telesu locirani:

- V celicah: superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-peroksidaza
- V celičnih membranah: alfa-tokoferol, karotenoidi, estri askorbinske kisline

- Zunaj celic: ceruloplazmin, transferin in laktoferin, hemopeksin in haptoglobin, ekstracelularna superoksid-dizmutaza, askorbinska kislina, alfa-tokoferol, mukus (13, 15)

Dejstvo, da so antioksidanti vpleteni v preprečevanje razvoja patoloških procesov in zaviranje procesov staranja, daje še večji pomen razvoju antioksidantov kot zdravilnih učinkovin. Z njihovo pravilno uporabo bi lahko razvoj mnogih bolezni preprečili ali upočasnili že na samem začetku.

Boleznska stanja, povezana z nastankom reaktivnih kisikovih in dušikovih spojin:

- Vnetna obolenja: modulacija bolečine, Chronova bolezen, osteoartritis, revmatoidni artritis, dermatitis/psoriaza
- Kardiovaskularni sistem/centralni živčni sistem/respiratorni sistem: ishemija, motnje perfuzije, šok, presaditev organov, srčna kap, astma
- Onkologija: zaviranje rasti tumorja, zmanjšanje neželenih učinkov povezanih z radiacijsko terapijo in kemoterapijo (14)

4.4.2 DELITEV ANTIOKSIDANTOV

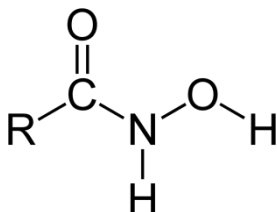
Glede na mehanizem delovanja lahko ločimo antioksidante v več skupin:

- Preventivni antioksidanti vežejo nase ione prehodnih kovin (železo, baker). S tem preprečijo njihovo interakcijo z vodikovim peroksidom in superoksidnim radikalom, ki vodi do nastanka nevarnih hidroksilnih radikalov. Sem spadajo železo-vezoči protein (transferin, feritin) in proteini, ki vežejo baker (ceruloplazmin, albumin).
- Encimski antioksidanti: superoksid-dizmutaza (SOD), glutation-peroksidaza in katalaza, ki se nahajajo v celicah. Ti encimi katalizirajo pretvorbo radikalov in reaktivnih kisikovih in dušikovih zvrsti v manj reaktivne produkte.
- »Žrtveni« antioksidanti so donorji elektronov, ki reagirajo z radikali, preden le-ti reagirajo z drugimi molekulami. Tak antioksidant se oksidira v relativno stabilen in nereaktiven radikal, ki se regenerira ali pa izloči iz organizma. Predstavniki so: vitamin C, vitamin E, ubikinol 10, različni beta-karoteni, bilirubin, tiolne spojine, organske kisline, flavoni, polifenoli itd. (14)

4.4.3. HIDROKSAMSKE KISLINE KOT ANTIOKSIDANTI

HIDROKSAMSKE KISLINE

Hidroksamske kisline prepoznamo po značilni funkcionalni skupini (Slika 4).



Slika 4: Splošna struktura hidroksamskih kislin

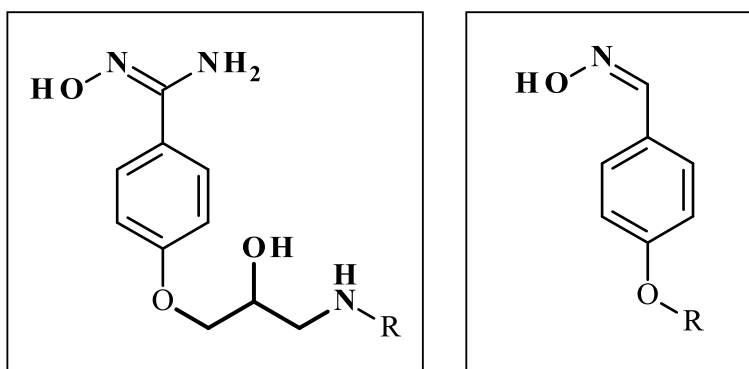
Hidroksamske kisline so šibke kisline, ki so lahko sintezne, pojavljajo pa se tudi v naravi v rastlinskih tkivih in metabolitih bakterij in gliv. Hidroksamske kisline in njihovi derivati imajo vrsto pomembnih vlog v biologiji in medicini, so namreč zaviralci mnogih encimov in delujejo protitumorno, insekticidno, protiglivično ter protibakterijsko. Poleg tega so hidroksamske kisline dobro znani kelatorji kovin in lovci radikalov. (17, 18, 19)

Hidroksamske kisline z izraženim antioksidativnim delovanjem so naprimer nekateri derivati NSAID in derivati galakturonske kisline (GalA-NHOH). Številni derivati hidroksamskih kislin so biološko aktivni proti raku, kardiovaskularnim boleznim, Alzheimerjevi bolezni in tuberkulozi. (20, 21, 22, 23)

5. NAČRT DELA

Antioksidanti imajo v sestavi zdravil zelo pomembno vlogo, saj ščitijo učinkovine ali pomožne snovi pred oksidativnim kvarjenjem in sicer tako, da vstopajo v oksidativne procese hitreje kot sama učinkovina ali pomožna snov. Namen te diplomske naloge je sinteza in načrtovanje amfifilnih derivatov 4-hidroksibenzojske, 2,4-dihidroksibenzojske kisline in 2,4-dihidroksibenzaldehida z antioksidativnim delovanjem. Ti antioksidanti se bodo lahko uporabljali v dvofaznih sistemih, kot so emulzije, saj bodo delovali na površini med oljno in vodno fazo. Polarni del molekule bo predstavljala hidroksamska skupina, nepolarni del molekule pa bo predstavljala dolga alkilna veriga, ki bo preko kisikovega atoma vezana na para mesto fenilnega obroča.

Pretekla raziskovanja amfifilnih spojin so pokazala, da amidoksimski in oksimski derivati, ki imajo na para mestu (preko distančnika ali brez) vezano dolgo alkilno verigo (R), izkazujejo antioksidativno delovanje (Slika 5).

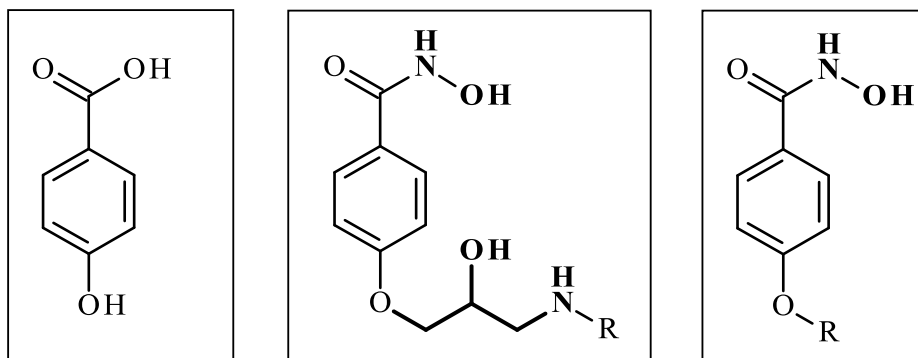


Slika 5: Amfifilni amidoksimski (levo) in oksimski antioksidanti (desno)

Sintetizirali bomo več fenolnih derivatov z različnimi polarnimi funkcionalnimi skupinami, ki bodo imeli na para mestu fenilnega obroča (preko distančnika ali brez) vezane dolge (nepolarne) alkilne verige. Na koncu bomo spojine ustrezno ovrednotili, primerjali in ugotavljali, kateri deli teh molekul sodelujejo in kateri so najpomembnejši pri antioksidativnem delovanju.

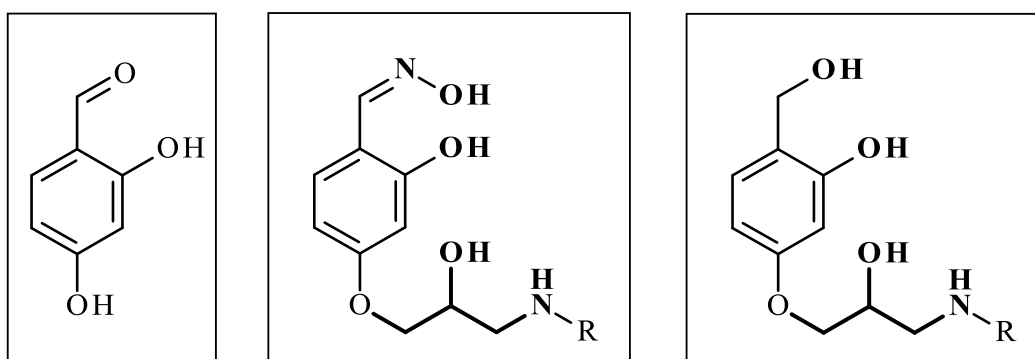
V prvi seriji bomo izhajali iz 4-hidroksibenzojske kisline in sintetizirali dve vrsti spojin. Polarni del molekule bo v obeh primerih predstavljala hidroksamska funkcionalna skupina, razlikovali pa se bosta po substituentih na fenolni OH skupini. Na tem mestu bomo pri eni

vrsti spojin na OH skupino direktno pripeli dolgoverižne alkilne verige, pri drugi pa bomo vmes vezali še dodatni distančnik (Slika 6).



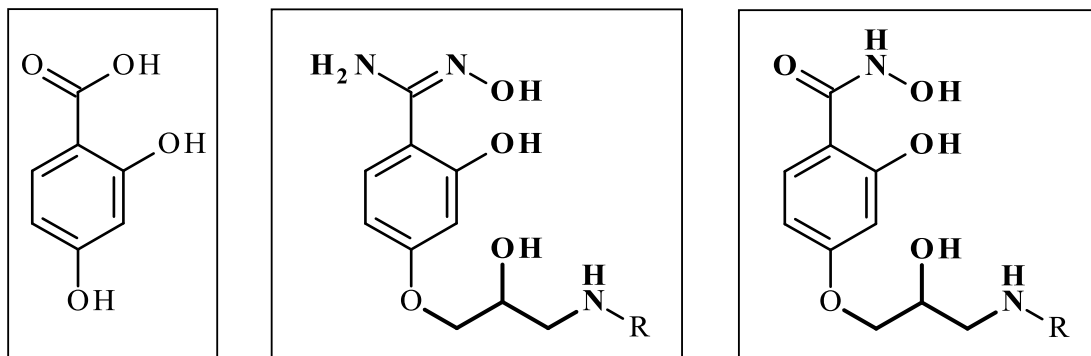
Slika 6: 4-hidroksibenzojska kislina (levo), hidroksamski derivat z vgrajenim distančnikom (v sredini) in brez distančnika (desno)

V drugi seriji bomo izhajali iz 2,4-dihidroksibenzaldehida in ponovno sintetizirali dve vrsti spojin, kjer bomo v obeh primerih na fenolno OH skupino na para mestu preko distančnika vezali dolgo alkilno verigo. Kot polarni del bo (poleg OH skupine na mestu 2) v enem primeru služila oksimska skupina, v drugem pa primarna alkoholna skupina (Slika 7).



Slika 7: 2,4-dihidroksibenzaldehid (levo), oksimski derivat (v sredini) in primarni alkoholni derivat (desno)

V tretji seriji spojin bomo izhajali iz 2,4-dihidroksibenzojske kisline. Prva vrsta spojin bo imela za polarni del molekule (poleg OH skupine na mestu 2) hidroksamsko skupino, druga vrsta spojin pa amidoksimsko skupino. Pri obeh vrstah spojin bo nepolarni del sestavljala dolga alkilna veriga, ki bo preko distančnika vezana na fenolno OH skupino na para mestu (Slika 8).

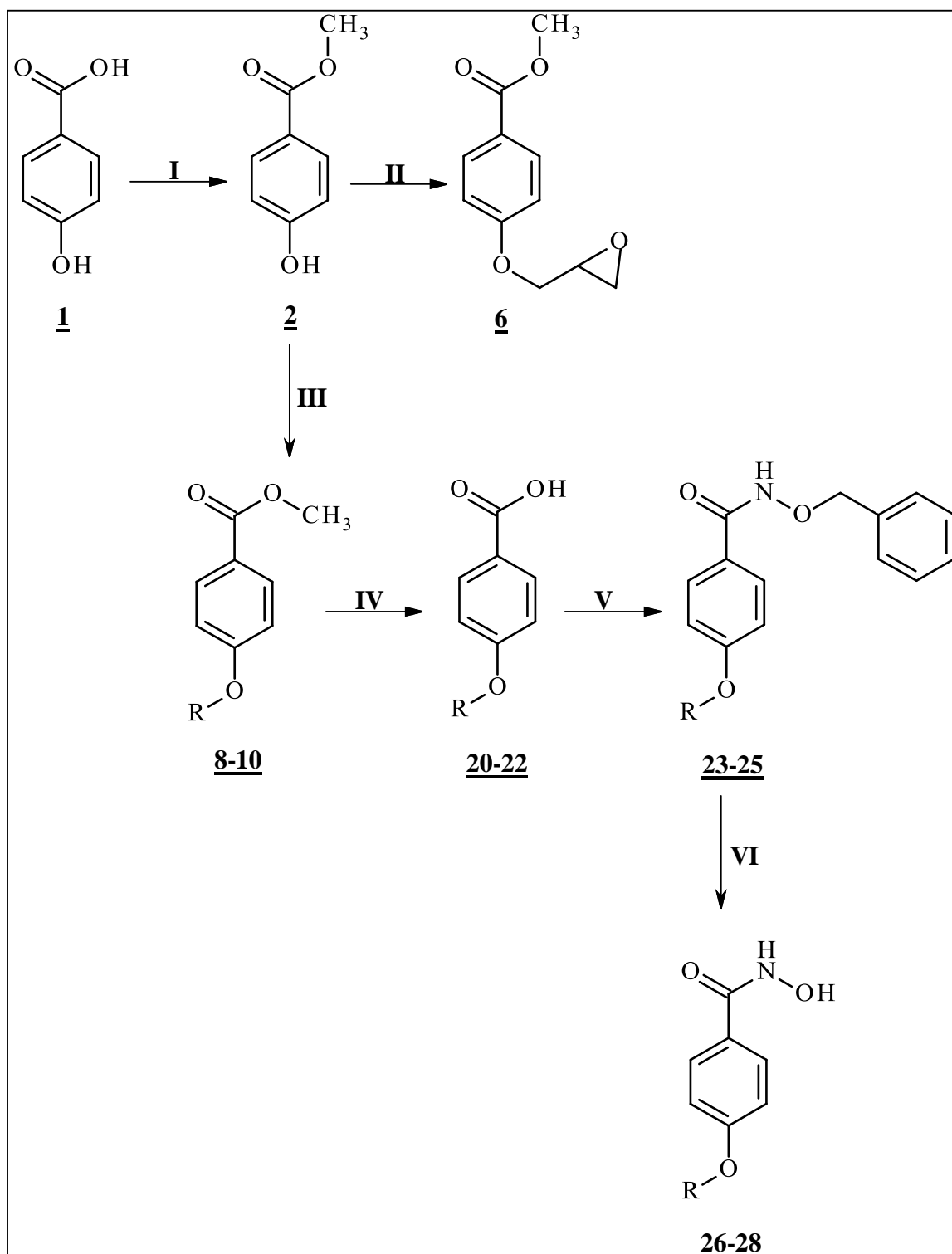


Slika 8: 2,4-dihidroksibenzojska kislina (levo), amidoksimski derivat (v sredini) in hidroksamski derivat (desno)

Produkte vseh sinteznih stopenj bomo ustrezno očistili in analizirali z ¹H NMR, ¹³C NMR, MS, IR, HPLC ter elementno analizo.

5.1 REAKCIJSKE SCHEME

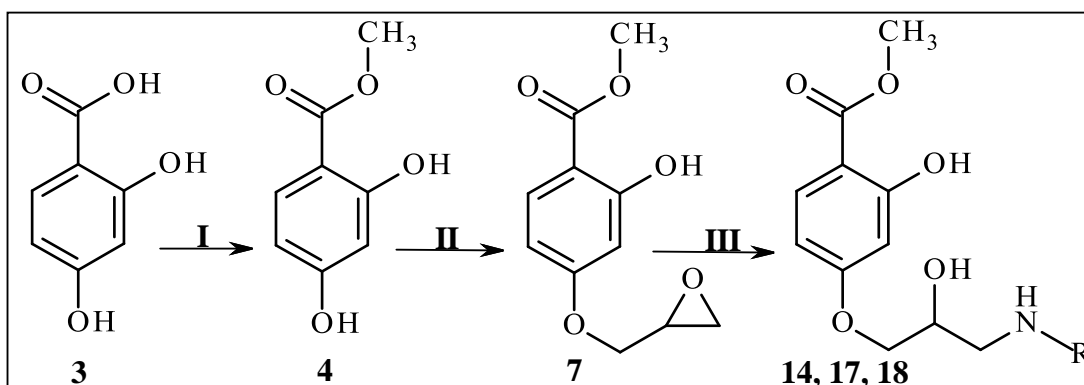
5.1.1 REAKCIJSKA SCHEMA I



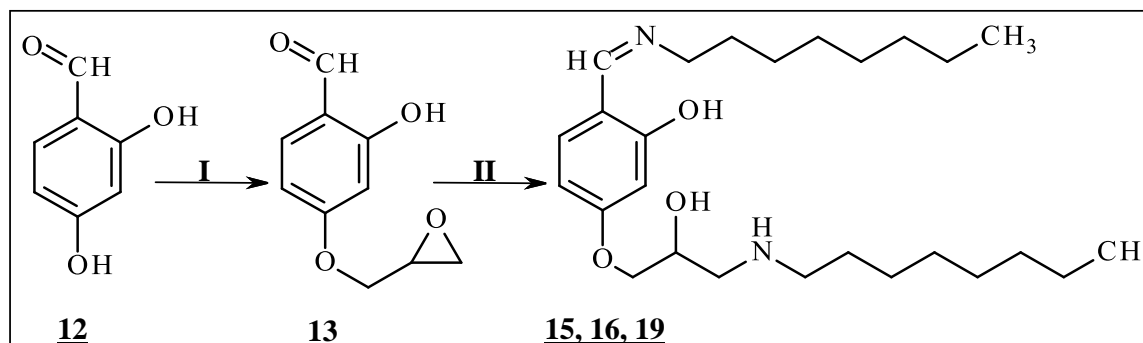
R= CH₃(CH₂)₇- (**8, 20, 23, 26**)

R= CH₃(CH₂)₉- (9, 21, 24, 27)R= CH₃(CH₂)₁₁- (10, 22, 25, 28)

I: H₂SO₄, MeOH; **II:** epiklorhidrin, NaH, DMF, T; **III:** R-Br, K₂CO₃, (CH₃(CH₂)₆CH₂)₃N⁺Br⁻CH₃; **IV:** NaOH_{aq}/THF; **V:** O-benzilhidroksilaminijev klorid, THF/CH₂Cl₂; **VI:** H₂/Pd/C, THF.

5.1.2 REAKCIJSKA SHEMA IIR= CH₃(CH₂)₇- (14)R= CH₃(CH₂)₅- (17)R= CH₃(CH₂)₉- (18)

I: H₂SO₄, MeOH, T; **II:** epiklorhidrin, NaH, DMF, T; **III:** R-NH₂, Ca(OTf)₂, THF.

5.1.3 REAKCIJSKA SHEMA IIIR= CH₃(CH₂)₇- (15)R= CH₃(CH₂)₅- (16)

R= CH₃(CH₂)₉- (**19**)

I: epiklorhidrin, NaOH, voda/dioksan, T; **II:** R-NH₂, Ca(OTf)₂, K₂CO₃, THF.

6. MATERIALI IN METODE

6.1 MATERIALI

6.1.1 KEMIKALIJE IN TOPILA

Pri sinteznem delu smo uporabljali reagente in topila različnih proizvajalcev: Acros Organics, Sigma- Aldrich Fluka in Merck.

6.1.2 APARATURE

Uporabljali smo standardno laboratorijsko opremo: rotavapor, laboratorijsko tehtnico, UV- lučko, magnetni mešalnik, eksikator, mikrovalovno pečico,...

6.2 METODE

- TANKOPLASTNA KROMATOGRAFIJA (TLC)

Uporabljali smo plošče Merck DC Fertigplatten Kieselgel 60 GF₂₅₄ z nanosom silikagela debeline 0,25 mm na aluminijastem nosilcu. Spojine smo detektirali s pomočjo UV svetilke z valovno dolžino $\lambda = 254$ nm in z orositvenimi reagenti: ninhidrin, bromkrezolno zeleno, FeCl₃ in fosfomolibdenska kislina.

- KOLONSKA KROMATOGRAFIJA POD POVIŠANIM TLAKOM (FLASH)

Nekatere spojine smo očistili s pomočjo separacijske tehnike imenovane kolonska kromatografija. Za stacionarno fazo smo uporabili silikagel proizvajalca Merck z velikostjo delcev 0,04- 0,063 mm ali 0,063- 0,200 mm. Kot mobilne faze smo uporabili naslednja topila in mešanice topil:

Mobilna faza	Oznaka
etilacetat	MF(1)
heksan/acetone 5:1	MF(2)
heksan/dietileter 20:1	MF(3)
heksan/etilacetat 3:1	MF(4)
heksan/etilacetat 10:1	MF(5)
diklorometan/metanol 30:1 + 0,5% trifluoroocetne kisline	MF(6)
diklorometan/metanol 30:1 + 0,3% trietilamina	MF(7)

diklorometan/metanol 20:1 + 0,3% trietilamina	MF(8)
heksan/etilacetat 1:1	MF(9)

- INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA (IR)

IR spektre smo posneli na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani s pomočjo spektrometra proizvajalca Thermo Nicolet, model Nexus.

- MASNA SPEKTROMETRIJA (MS)

Masne spektre so nam posneli na Inštitutu Jožef Stefan v Ljubljani s pomočjo spektrometra Varian- MAT 311 A z EI, ESI tehniko.

- JEDRSKA MAGNETNA REZONANCA (NMR)

NMR spektre smo posneli na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani s pomočjo spektrometra Bruker Avance III pri 400 MHz (^1H) in 100 MHz (^{13}C). Uporabljali smo devterirana topila: DMSO- d_6 , CDCl_3 .

- ELEMENTNA ANALIZA

Elementne analize ogljika, vodika in dušika so opravili na Katedri za organsko kemijo Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo v Ljubljani s pomočjo analizatorja Perkin Elmer 240 CHN.

- DOLOČEVANJE TALIŠČ

Tališča smo določili s pomočjo Kofflerjevega mikroskopa z ogrevalno mizico znamke Leica.

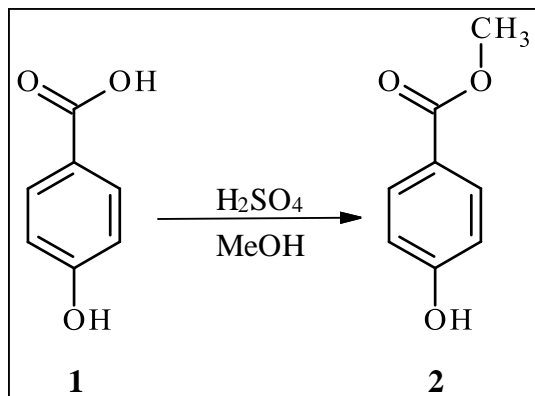
- TEKOČINSKA KROMATOGRAFIJA VISOKE LOČLJIVOSTI (HPLC)

Spojine smo analizirali tudi z metodo HPLC na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani s pomočjo HPLC sistema Agilent Series 1100 (kolona Agilent EclipsePlus C18, 150x4.6 mm, pretok 1.0 ml/min, Vinj 5 ul, 25 °C, 220 in 254 nm).

Reakcijske sheme in posamezne strukture so narisane s pomočjo računalniškega programa Symyx Draw 4.0.

7. EKSPERIMENTALNI DEL

7.1 Sinteza metil 4-hidroksibenzoata (2)

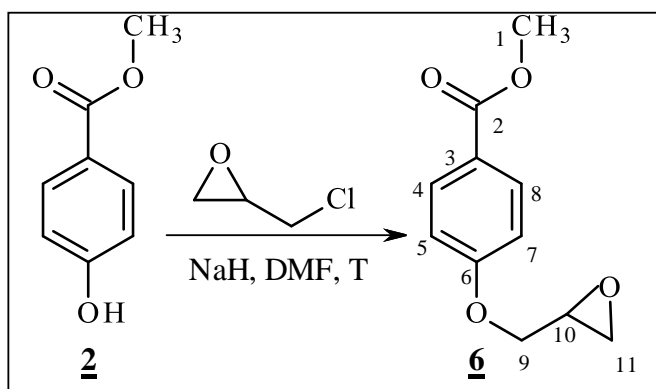


Postopek:

39,71 g (288 mmol) p-hidroksibenzojske kisline (**1**) smo raztopili v 800 mL metanola in dodali 5 mL H₂SO₄. Reakcijsko zmes smo segrevali in mešali pod refluxom 48 ur pri 90 °C. Po končani reakciji smo na rotavaporju odparili topilo do približno 100mL, preostanek pa zlili na led in prekristalizirali iz vode. Kristale smo odfiltrirali s presesavanjem in posušili. Dobili smo 42,86 g (282 mmol) belega praška.

- η (**2**) = 98 %
- Mr = 152,0 g/mol
- Elementna sestava = C₈H₈O₃
- R_f = 0,68 (silikagel, MF(1))

7.2 Sinteza metil-4-(oksiran-2-ilmetil)benzoata (**6**)



Postopek:

V bučko, ki smo jo predhodno prepihali z argonom, smo natehtali 2,42 g (1,1 ekv.) NaH, dodali 50 mL DMF in zmes ohladili na ledu. Ohlajeni zmesi smo dodali 8,353 g metil 4-hidroksibenzoata (**2**) in mešali na sobni T. Po dveh urah smo dodali 6,27 mL (1,5 ekv.) epiklorhidrina, zmes segreli na 50 °C in v atmosferi argona pustili mešati 20 ur. Nato smo zmes ekstrahirali s 3-krat 25 mL citronske kisline in 3-krat 100 mL etilacetata, organsko fazo sprali z nasičeno raztopino NaCl, sušili nad brezvodnim natrijevim sulfatom, prefiltrirali in odparili topilo na rotavaporju. Zmes smo očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in uporabili mobilno fazo MF(2).

- $T_t = 65-67$ °C
- η (**6**) = 24,5 %
- $M_r = 208.21$ g/mol
- Elementna sestava: $C_{11}H_{12}O_4$
- $R_f = 0,18$ (silikage1, MF(2))

Analize:

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 2.78 (dd, $J=4.8$ Hz, 2.6 Hz, 1H, $CH_2(11a)$), 2.93 (dd, $J=4.8$ Hz, 4.0 Hz, 1H, $CH_2(11b)$), 3.36-3.40 (m, 1H, $CH(10)$), 3.89 (s, 3H, $CH_3(1)$), 4.00 (dd, $J=11.1$ Hz, 5.7 Hz, 1H, $CH_2(9a)$), 4.30 (dd, $J=11.1$ Hz, 3.1 Hz, 1H, $CH_2(9b)$), 6.94 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, Ar-H_(7, 5)), 8.0 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, Ar-H_(4, 8))

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 44.53 ($CH_2(11)$), 49.90 ($CH(10)$), 51.89 ($CH_3(1)$), 68.83 ($CH_2(9)$), 114.17 (Ar_(5, 7)), 123.03 (Ar₍₃₎), 131.59 (Ar_(4, 8)), 162.13 (Ar₍₆₎), 166.72 (C₍₂₎) ppm

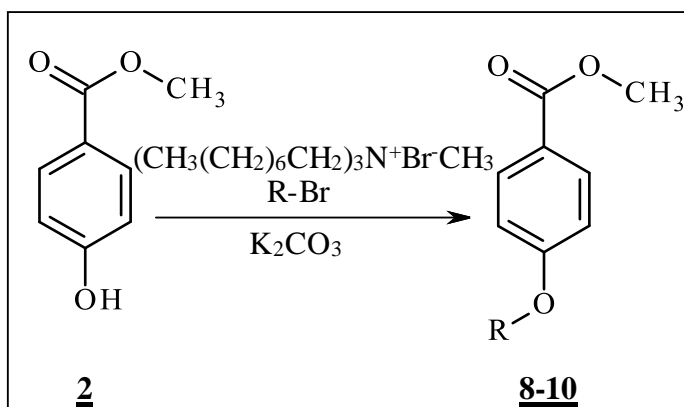
MS (ESI): m/z (%) 209 (100, M+1)

IR (ATR): 2950, 1702, 1600, 1435, 1253, 1105, 1024, 845, 770, 644 cm^{-1}

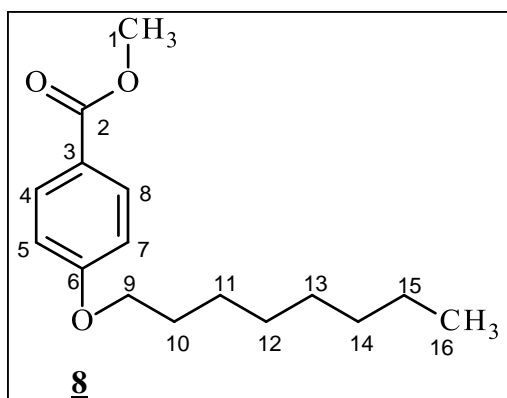
HR-MS (FAB⁺): Izračunana za $C_{11}H_{12}O_4$: 209.0814, ugotovljena: 209.0819

HPLC: 100% čistost, $\lambda = 254$ nm, $T_R = 5.331$ min (MeCN/ H_2O ; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

7.3 Sinteza etrov metil 4-hidroksibenzoata



7.3.1 Sinteza metil 4-oktiloksibenzoata (**8**)



Postopek:

V bučko smo natehtali 4,0 g metil 4-hidroksibenzoata (**2**), 7,27g (2 ekv.) K_2CO_3 , 1 g katalizatorja metiltrioktilamonijevega bromida in odmerili 9,25 mL (2 ekv.) 1-bromo oktana. Reakcijsko zmes smo segrevali in mešali 60 ur pri 120 °C pod refluksom. Zmes smo nato ekstrahirali s 100 mL vode in 2-krat 50 mL diklorometana. Organsko fazo smo sprali z nasičeno raztopino NaCl, jo sušili z brezvodnim natrijevim sulfatom, prefiltrirali in topilo odparili na rotavaporju. Zmes smo očistili s “flash” kolonsko kromatografijo in uporabili mobilno fazo MF(3) ($R_f = 0,16$).

- $T_t = 34-36\text{ °C}$
- η (**8**) = 56 %
- $M_r = 264,4\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3$

- $R_f = 0,54$ (silikageľ, MF(5))

Analize:

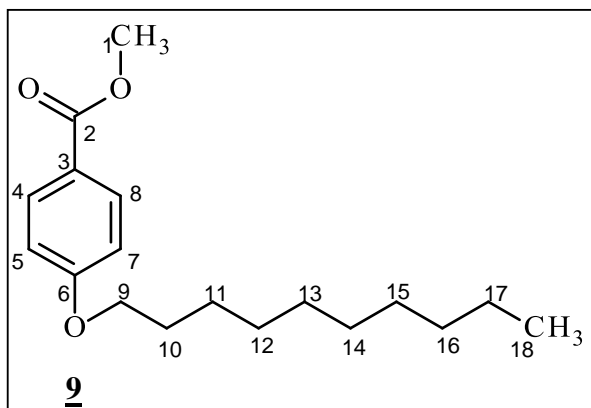
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.80-0.83 (m, 3H, $\text{CH}_3(16)$), 1.19-1.26 (m, 8H, $\text{CH}_2(12-15)$), 1.30-1.38 (m, 2H, $\text{CH}_2(11)$), 1.62-1.70 (m, 2H, $\text{CH}_2(10)$), 3.77 (s, 3H, $\text{CH}_3(1)$), 3.80-3.84 (m, 2H, $\text{CH}_2(9)$), 6.77 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, Ar-H $_{(7, 5)}$), 7.87 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, Ar-H $_{(4, 8)}$) ppm

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 13.99 ($\text{CH}_3(16)$), 22.62, 25.95, 29.10, 29.23, 29.30, 31.79 ($\text{CH}_2(10-15)$), 51.45 ($\text{CH}_3(1)$), 67.97 ($\text{CH}_2(9)$), 113.85 (Ar $_{(5, 7)}$), 122.20 (Ar $_{(3)}$), 131.40 (Ar $_{(4, 8)}$), 162.85 (Ar $_{(6)}$), 166.46 (C $_{(2)}$) ppm

MS (ESI): m/z (%) 265 (100, M+1)

IR (ATR): 2921, 1721, 1606, 1472, 1281, 1252, 1168, 1108, 1026, 848, 766 cm^{-1}

HR-MS (FAB $^+$): Izračunana za $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3$: 265.1804, ugotovljena: 265.1800

7.3.2 Sinteza metil 4-deciloksibenzoata (9)**Postopek:**

V bučko smo natehtali 4,0 g metil 4-hidroksibenzoata (2), 7,27 g (2 ekv.) K_2CO_3 , 1 g katalizatorja metiltrioktilamonijevega bromida in odmerili 11,50 mL (2 ekv.) 1-bromodekana. Reakcijsko zmes smo segrevali in mešali 60 ur pri 120 °C pod refluksom. Zmes smo nato ekstrahirali s 100 mL vode in 2-krat 50 mL diklorometana. Organsko fazo smo sprali z nasičeno raztopino NaCl, jo sušili z natrijevim sulfatom, prefiltrirali in topilo odparili na rotavaporju. Zmes smo očistili s “flash” kolonsko kromatografijo in uporabili mobilno fazo MF(3).

- $T_t = 45-47$ °C
- η (9) = 76 %

- Mr = 292,4 g/mol
- Elementna sestava: C₁₈H₂₈O₃
- R_f = 0,18 (silikagel, MF(3))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.79 (t, *J*=6.5 Hz, 3H, CH₃₍₁₈₎), 1.11-1.31 (m, 12H, CH₂₍₁₂₋₁₇₎), 1.30-1.42 (m, 2H, CH₂₍₁₁₎), 1.64-1.76 (m, 2H, CH₂₍₁₀₎), 3.78 (s, 3H, CH₃₍₁₎), 3.90 (t, *J*=6.7 Hz, 2H, CH₂₍₉₎), 6.80 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H_(7, 5)), 7.89 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, Ar-H_(4, 8)) ppm

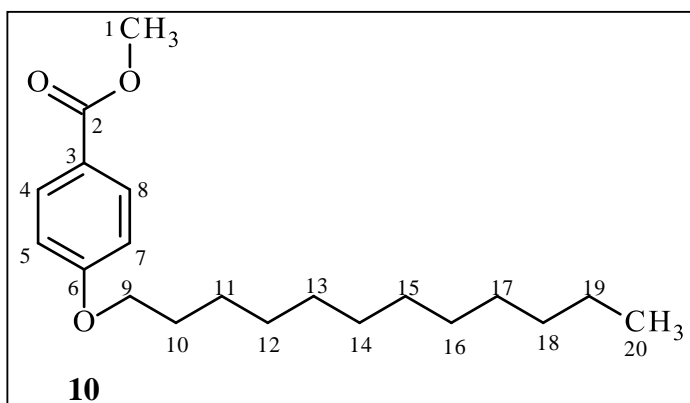
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.14 (CH₃₍₁₈₎), 22.72, 26.02, 29.15, 29.36, 29.40, 29.59, 31.93 (CH₂₍₁₀₋₁₇₎), 51.80 (CH₃₍₁₎), 68.18 (CH₂₍₉₎), 114.04 (Ar_(5, 7)), 122.29 (Ar₍₃₎), 131.56 (Ar_(4, 8)), 162.97 (Ar₍₆₎), 166.89 (C₍₂₎) ppm

MS (ESI): m/z (%) 293 (100, M+1)

IR (ATR): 2918, 1721, 1606, 1472, 1280, 1253, 1168, 1109, 767 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₁₈H₂₈O₃: 293.2117, ugotovljena: 293.2116

HPLC: 97% čistost, λ = 254 nm, T_R = 24.253 min (MeCN/ H₂O; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

7.3.3 Sinteza metil 4-dodeciloksibenzoata (10)**Postopek:**

V bučko smo natehtali 3,0g metil 4-hidroksibenzoata (**2**), 5,46 g K₂CO₃ (2 ekv.), odmerili 9,55ml 1-bromododekana (2 ekv.) in dodali za konico spatule katalizatorja metiltrioktilamonijevega bromida. Reakcijsko zmes smo segrevali in mešali 20 ur pri 120

°C pod refluxom. Dodali smo še 800 mg katalizatorja in pustili segreti nadaljnjih 40 ur. Zmes smo nato ekstrahirali s 100 mL vode in 2-krat 50 mL diklorometana. Organsko fazo smo sprali z nasičeno raztopino NaCl, jo sušili z natrijevim sulfatom, prefiltrirali in topilo odparili na rotavaporju. Zmes smo očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in uporabili mobilno fazo MF(3) ($R_f = 0,16$).

- $T_t = 53-56$ °C
- η (**10**) = 71 %
- $M_r = 320,2$ g/mol
- Elementna sestava: $C_{20}H_{32}O_3$
- $R_f = 0,67$ (silikage1, MF(4))

Analize:

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.88 (t, $J=6.6$ Hz, 3H, $CH_3(20)$), 1.26-1.38 (m, 16H, $CH_2(12-19)$), 1.42-1.49 (m, 3H, $CH_2(11)$), 1.76-1.83 (m, 2H, $CH_2(10)$), 3.88 (s, 3H, $CH_3(1)$), 3.99 (t, $J=6.5$ Hz, 2H, $CH_2(9)$), 6.90 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H_(5, 7)), 7.98 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, Ar-H_(4, 8)) ppm

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 14.33 ($CH_3(20)$), 22.90, 26.18, 29.31, 29.56, 29.77, 29.79, 29.84, 29.85, 32.12 ($CH_2(10-19)$), 52.01 ($CH_3(1)$), 68.38 ($CH_2(9)$), 114.23 (Ar_(5, 7)), 122.47 (Ar₍₃₎), 131.74 (Ar_(4, 8)), 163.14 (Ar₍₆₎), 167.10 ($C(2)$) ppm

MS (ESI): m/z (%) 321 (100, M+1)

IR (ATR): 2917, 1722, 1607, 1472, 1253, 1168, 1108, 766 cm^{-1}

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za $C_{20}H_{32}O_3$: 321.2430, ugotovljena: 321.2428

HPLC: 83% čistost, $\lambda = 220$ nm, $T_R = 21.640$ min (MeCN/ H_2O ; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

Analize:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.88-0.85 (m, 3H, $\text{CH}_3(15)$), 1.27-1.42 (m, 10H, $\text{CH}_2(10-14)$), 1.69-1.72 (m, 2H, $\text{CH}_2(9)$), 3.96 (t, $J=6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(8)$), 6.81 (d, $J=8.2$ Hz, 2H, $\text{Ar-H}_{(4, 6)}$), 7.79 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, $\text{Ar-H}_{(3, 7)}$) ppm

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 13.96 ($\text{CH}_3(15)$), 22.08, 25.50, 28.66, 28.73, 31.23 ($\text{CH}_2(9-14)$), 67.41 ($\text{CH}_2(8)$), 113.21 ($\text{Ar}_{(4, 6)}$), 129.29 ($\text{Ar}_{(2)}$), 130.81 ($\text{Ar}_{(3, 7)}$), 160.39 ($\text{Ar}_{(5)}$), 168.62 ($\text{C}_{(1)}$) ppm

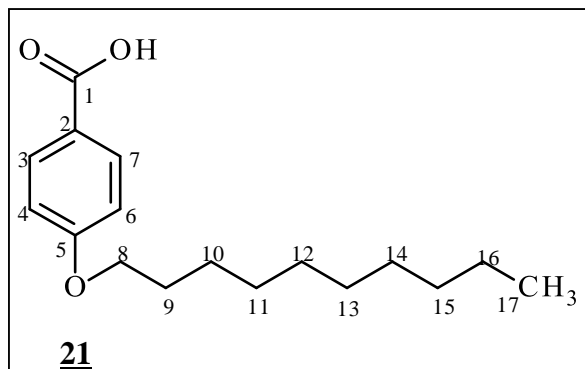
MS (ESI): m/z (%) 249 (100, M-1)

HR-MS (FAB $^+$): Izračunana za $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$: 249.1491, ugotovljena: 249.1494

IR (ATR): 2918, 2853, 1594, 1468, 1418, 1393, 1251, 1172, 784, 650 cm^{-1}

Elementna analiza: Izračunana za $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$: C 71.97%, H 8.86%, O 19.17%, ugotovljena: C 71.80%, H 8.65%, O 19.55%

HPLC: 98%, $\lambda = 254$ nm, $T_R = 9,310$ min (MeCN/ H_2O / NH_3 ; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 20 min, 2.0 min pri 90%, nazaj na 40% v 25. minuti, post time 6 min)

7.4.2 Sinteza 4-deciloksibenzojske kisline (21)**Postopek:**

2,39g (8,17 mmol) spojine **9** smo raztopili v THF (50mL), dodali 1M vodno raztopino NaOH (50 mL) in segrevali pri refluxu 24 ur. Nato smo po kapljicah dodali koncentrirano raztopino HCl (10 mL) in pod znižanim tlakom odstranili THF. Nastalo oborino smo odfiltrirali s presesavanjem in sprali s hladno vodo (10 mL). Masa nastalih belih kristalov je znašala 2,25 g.

- $T_t = 80-83$ °C

- η (**21**)= 99 %
- Mr= 278,2 g/mol
- Elementna sestava: C₁₇H₂₆O₃
- R_f = 0.41 (silikagel, MF(9))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.80-0.83 (m, 3H, CH₃₍₁₇₎), 1.19-1.37 (m, 14H, CH₂₍₁₀₋₁₆₎), 1.63-1.70 (m, 2H, CH₂₍₉₎), 3.94 (t, $J=6.4$ Hz, 2H, CH₂₍₈₎), 6.92 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, Ar-H_(4, 6)), 7.88 (d, 8.3 Hz, 2H, Ar-H_(3, 7)), 12.58 (s, 1H, C₍₁₎) ppm

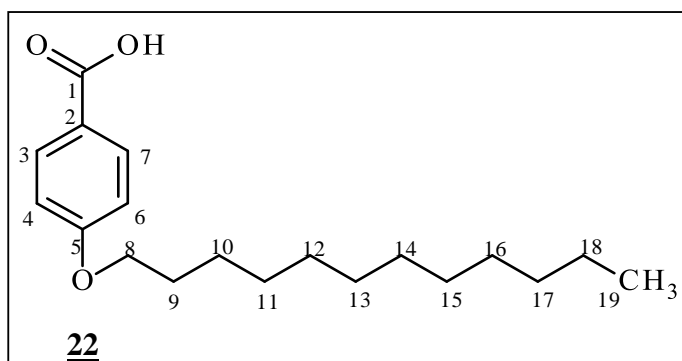
¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 13.76 (CH₃₍₁₇₎), 22.13, 25.50, 28.61, 28.81, 28.88, 29.07, 29.09, 31.37 (CH₂₍₉₋₁₆₎), 67.60 (CH₂₍₈₎), 113.86 (Ar_(4, 6)), 122.85 (Ar₍₂₎), 131.52 (Ar_(3, 7)), 162.19 (Ar₍₅₎), 166.94 (C₍₁₎) ppm

MS (ESI): m/z (%) 277 (100, M-1)

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₁₇H₂₆O₃: 277.1804, ugotovljena: 277.1812

IR (ATR): 2916, 2850, 1671, 1604, 1469, 1303, 1255, 1168, 937, 844, 770, 648, 549 cm⁻¹

Elementna analiza: Izračunana za C₁₇H₂₆O₃: C 73.34%, H 9.41%, O 17.24%, ugotovljena: C 73.21%, H 9.32%, O 17.47%

7.4.3 Sinteza 4-dodeciloksibenzojske kisline (22**)****Postopek:**

2,46 g (7,67 mmol) spojine **10** smo raztopili v THF (50 mL), dodali 1M vodno raztopino NaOH (50 mL) in segrevali pri refluxu 24 ur. Nato smo po kapljicah dodali koncentrirano raztopino HCl (10 mL) in pod znižanim tlakom odstranili THF. Nastalo oborino smo

odfiltrirali s presesavanjem in sprali oborino s hladno vodo (10 mL). Masa nastalih belih kristalov je znašala 2,30 g.

- $T_t = 90-93\text{ }^\circ\text{C}$
- η (**22**) = 98 %
- $M_r = 306,2\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$
- $R_f = 0.43$ (silikagel, MF(9))

Analize:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.84-0.87 (m, 3H, $\text{CH}_{3(19)}$), 1.24-1.42 (m, 18H, $\text{CH}_{2(10-18)}$), 1.69-1.75 (m, 2H, $\text{CH}_{2(9)}$), 4.03 (t, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_{2(8)}$), 7.00 (d, $J=8.7\text{ Hz}$, 2H, Ar- $\text{H}_{(4, 6)}$), 7.87 (d, $J=8.6\text{ Hz}$, 2H, Ar- $\text{H}_{(3, 7)}$), 12.62 (s, 1H, $\text{C}_{(1)}$) ppm

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 13.83 ($\text{CH}_{3(19)}$), 22.13, 25.47, 28.58, 28.80, 29.07, 29.10, 29.20, 31.36 ($\text{CH}_{2(9-18)}$), 67.64 ($\text{CH}_{2(8)}$), 113.96 (Ar $_{(4, 6)}$), 122.80 (Ar $_{(2)}$), 131.24 (Ar $_{(3, 7)}$), 162.21 (Ar $_{(5)}$), 166.94 ($\text{C}_{(1)}$) ppm

MS (ESI): m/z (%) 305 (100, M-1)

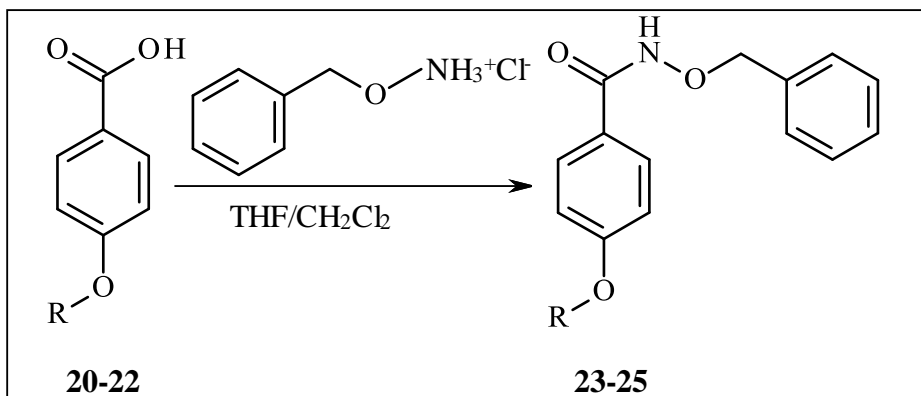
HR-MS (FAB $^+$): Izračunana za $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$: 305.2117, ugotovljena: 305.2114

IR (ATR): 2915, 2850, 1674, 1603, 1469, 1303, 1255, 1168, 940, 844, 770, 648, 548 cm^{-1}

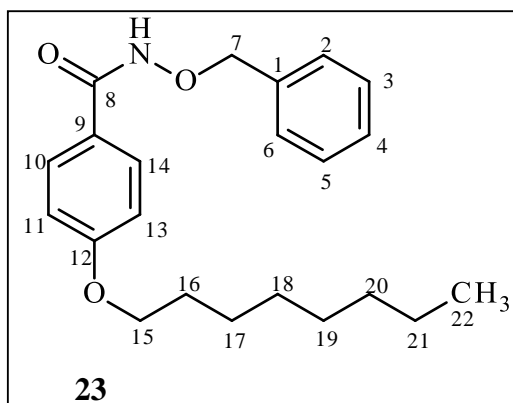
Elementna analiza: Izračunana za $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_3$: C 74.47%, H 9.87%, O 15.66%, ugotovljena: C 74.23%, H 9.52%, O 16.25%

HPLC: 100% čistost, $\lambda = 254\text{ nm}$, $T_R = 2.184\text{ min}$ (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}/\text{NH}_3$; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 20 min, 2.0 min pri 90 %, nazaj na 40% v 25. minuti, post time 6 min)

7.5 Sinteza hidroksamskih kislin z benzilno zaščito



7.5.1 Sinteza *N*-benziloksi-4-oktiloksi-benzamida (**23**)



Postopek:

Spojino **20** (1,87 g, 7,50 mmol) smo raztopili v zmesi THF/CH₂Cl₂ = 1:1 (100 mL) in na 0 °C med mešanjem dodali EDC (1,58 g, 8,24 mmol). Po 2 urah smo dodali še HOBt (1,11 g, 8,24 mmol), NMM (3,4 mL, 24,2 mmol) in *O*-benzilhidroksilamonijev klorid (1,44 g, 8,99 mmol) ter pustili mešati na sobni temperaturi. Po 24 urah smo zmes topil odstranili pod znižanim tlakom in dodali CH₂Cl₂. Organsko fazo smo sprali z 10% vodno raztopino citronske kisline (2x25 mL), 1M vodno raztopino NaOH (2x25 mL) in nasičeno vodno raztopino NaCl (25 mL). Organsko fazo smo sušili nad brezvodnim Na₂SO₄ in uparili pod znižanim tlakom. Surovi produkt smo prekrystalizirali iz etilacetata (50 mL). Masa nastalih belih kristalov je znašala 1,52 g.

- $T_t = 94-96\text{ }^\circ\text{C}$
- $\eta(\mathbf{23}) = 57\%$
- $M_r = 355,2\text{ g/mol}$

- Elementna sestava: C₂₂H₂₉NO₃
- R_f= 0.47 (silikagel, MF(9))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.85-0.88 (m, 3H, CH₃(₂₂)), 1.26-1.45 (m, 10H, CH₂(₁₇₋₂₁)), 1.72-1.79 (m, 2H, CH₂(₁₆)), 3.94 (t, *J*=6.5 Hz, 2H, CH₂(₁₅)), 4.98 (s, 2H, CH₂(₇)), 6.84 (d, *J*=8.1 Hz, 2H, Ar-H(_{10, 14})), 7.33-7.41 (m, 5H, Ar-H(₂₋₆)), 7.60 (d, *J*=8.1 Hz, 2H, Ar-H(_{11, 13})), 8.55 (s, 1H, NH) ppm

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.31 (CH₃(₂₂)), 22.85, 26.16, 29.27, 29.41, 29.51, 31.99 (CH₂(₁₆₋₂₁)), 68.40 (CH₂(₁₅)), 78.51 (CH₂(₇)), 114.58 (Ar(_{11, 13})), 123.71 (Ar(₉)), 126.64, 126.43, 1128.80, 128.93, 29.52, 129.08 (Ar(₂₋₆), Ar(_{10, 14})), 135.55 (Ar(₁)), 162.46 (Ar(₁₂)), 166.47 (C(₈)) ppm

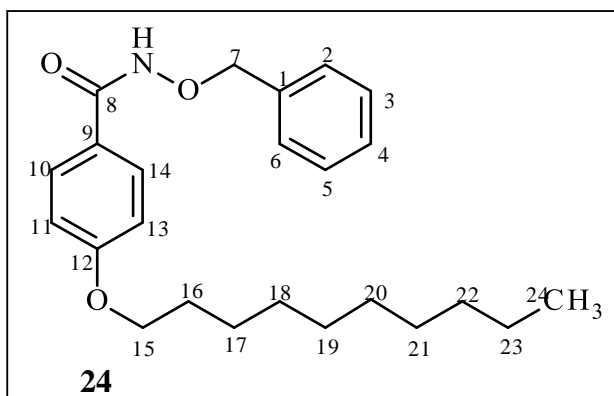
MS (ESI): m/z (%) 356 (100, M+1)

IR (ATR): 3230, 2933, 2858, 1641, 1604, 1491, 1473, 1250, 1155, 1028, 840, 755 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₂₂H₂₉NO₃: 356.2226, ugotovljena: 356.2221

Elementna analiza: Izračunana za C₂₂H₂₉NO₃: C 74.33%, H 8.22%, N 3.94%, O 13.50%, ugotovljena: C 74.54%, H 8.39%, N 3.80%, O 13.27%

HPLC: 79% čistost, λ= 254 nm, T_R= 17.672 min (MeCN/ H₂O/NH₃; gradient 40% MeCN do 90 % MeCN v 20 min, 2.0 min pri 90%, nazaj na 40% v 25. minuti, post time 6 min)

7.5.2 Sinteza *N*-benziloksi-4-deciloksi-benzamida (24)**Postopek:**

Spojino **21** (2,25 g, 8,10 mmol) smo raztopili v zmesi THF/CH₂Cl₂ = 1:1 (100 mL) in na 0 °C med mešanjem dodali EDC (1,71 g, 8,90 mmol). Po 2 urah smo dodali še HOBT (1,20 g, 8,90 mmol), NMM (3,6 mL, 26,3 mmol) in O-benzilhidroksilamonijev klorid (1,56 g, 9,70 mmol) ter pustili mešati na sobni temperaturi. Po 24 urah smo zmes topil odstranili pod znižanim tlakom in dodali CH₂Cl₂. Organsko fazo smo sprali z 10% vodno raztopino citronske kisline (2x25 mL), 1M vodno raztopino NaOH (2x25 mL) in nasičeno vodno raztopino NaCl (25 mL). Organsko fazo smo sušili nad brezvodnim Na₂SO₄ in uparili pod znižanim tlakom. Surovi produkt smo prekristalizirali iz etilacetata (50 mL). Masa nastalih belih kristalov je znašala 1,46 g.

- T_t = 103-106 °C
- η (**24**) = 47 %
- Mr = 383,3 g/mol
- Elementna sestava: C₂₄H₃₃NO₃
- R_f = 0.48 (silikagel, MF(9))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.91 (t, J=8.6 Hz, 3H, CH₃₍₂₄₎), 1.30-1.48 (m, 14H, CH₂₍₁₇₋₂₃₎), 1.76-1.83 (m, 2H, CH₂₍₁₆₎), 3.97 (t, J=6.5 Hz, 2H, CH₂₍₁₅₎), 5.01 (s, 2H, CH₂₍₇₎), 6.87 (d, J=8.0 Hz, 2H, Ar-H_(11, 13)), 7.37-7.44 (m, 5H, Ar-H₍₂₋₆₎), 7.67 (d, J=8.0 Hz, Ar-H₍₁₀₋₁₄₎), 8.98 (s, 1H, NH) ppm

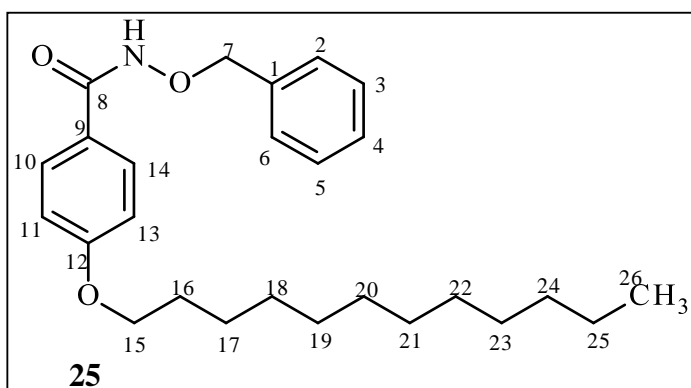
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.18 (CH₃₍₂₄₎), 22.72, 26.01, 29.13, 29.36, 29.41, 29.60, 31.93 (CH₂₍₁₆₋₂₃₎), 68.22 (CH₂₍₁₅₎), 78.29 (CH₂₍₇₎), 114.36 (Ar_(11, 13)), 123.75 (C₍₉₎), 128.61, 128.70, 128.95, 129.33 (Ar₍₂₋₆₎, Ar_(10, 14)), 135.52 (Ar₍₁₎), 162.21 (Ar₍₁₂₎), 166.30 (C₍₈₎) ppm

MS (ESI): m/z (%) 384 (100, M+1)

IR (ATR): 3230, 2917, 2851, 1642, 1604, 1491, 1473, 1250, 1155, 1026, 839, 735 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₂₄H₃₃NO₃: 384.2539, ugotovljena: 384.2547

Elementna analiza: Izračunana za C₂₄H₃₃NO₃: C 75.16%, H 8.67%, N 3.65%, O 12.52%, ugotovljena: C 75.01%, H 8.51%, N 3.75%, O 12.73%

7.5.3 Sinteza *N*-benziloksi-4-dodeciloksi-benzamida (**25**)**Postopek:**

Spojino **22** (2,30 g, 7,52 mmol) smo raztopili v zmesi THF/CH₂Cl₂ = 1:1 (100 mL) in na 0 °C med mešanjem dodali EDC (1,59 g, 8,27 mmol). Po 2 urah smo dodali še HOBT (1,12 g, 8,27 mmol), NMM (3,4 mL, 24,4 mmol) in *O*-benzilhidroksilamonijev klorid (1,46 g, 9,02 mmol) ter pustili mešati na sobni temperaturi. Po 24 urah smo zmes topil odstranili pod znižanim tlakom in dodali CH₂Cl₂. Organsko fazo smo sprali z 10% vodno raztopino citronske kisline (2x25 mL), 1M vodno raztopino NaOH (2x25 mL) in nasičeno vodno raztopino NaCl (25 mL). Organsko fazo smo sušili nad brezvodnim Na₂SO₄ in uparili pod znižanim tlakom. Surovi produkt smo prekrizalizirali iz etilacetata (50 mL). Masa nastalih belih kristalov je znašala 1,58 g.

- $T_t = 95-97\text{ }^\circ\text{C}$
- η (**25**) = 51 %
- $M_r = 411,3\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: C₂₆H₃₇NO₃
- $R_f = 0.50$ (silikagel, MF(9))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.89-0.92 (m, 3H, CH₃₍₂₆₎), 1.29-1.48 (m, 18H, CH₂₍₁₇₋₂₅₎), 1.77-1.81 (m, 2H, CH₂₍₁₆₎), 3.96 (t, $J=6.5$ Hz, 2H, CH₂₍₁₅₎), 5.01 (s, 2H, CH₂₍₇₎), 6.86 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, Ar-H_(11, 13)), 7.36-7.43 (m, 5H, Ar-H₍₂₋₆₎), 7.68 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, Ar-H_(10, 14)), 9.15 (s, 1H, NH) ppm

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 14.19 ($\text{CH}_3(26)$), 22.74, 26.02, 29.14, 29.41, 29.62, 29.70, 31.96 ($\text{CH}_2(16-25)$), 68,21 ($\text{CH}_2(15)$), 71.00 ($\text{CH}_2(7)$), 114.34 ($\text{Ar}(11, 13)$), 123.77 ($\text{Ar}(9)$), 128.57, 128.66, 128.99, 129.31 ($\text{Ar}(2-6)$, $\text{Ar}(10, 14)$), 135.54 ($\text{Ar}(1)$), 162.19 ($\text{Ar}(12)$), 166.23 ($\text{C}(8)$) ppm

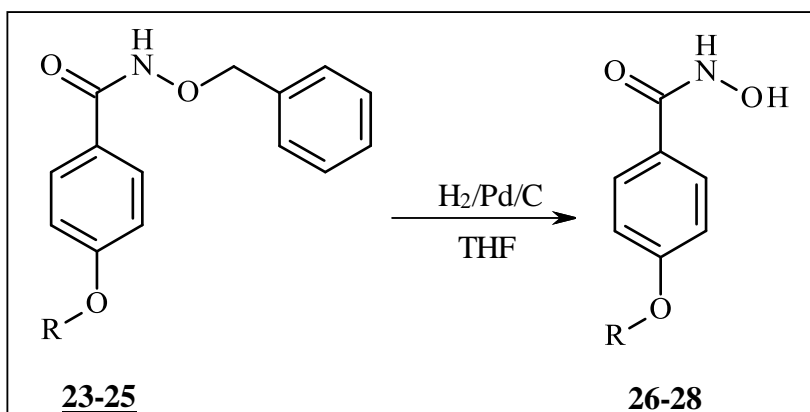
MS (ESI): m/z (%) 412 (100, M+1)

IR (ATR): 3230, 2917, 2850, 1642, 1604, 1491, 1473, 1250, 1155, 1026, 839, 734 cm^{-1}

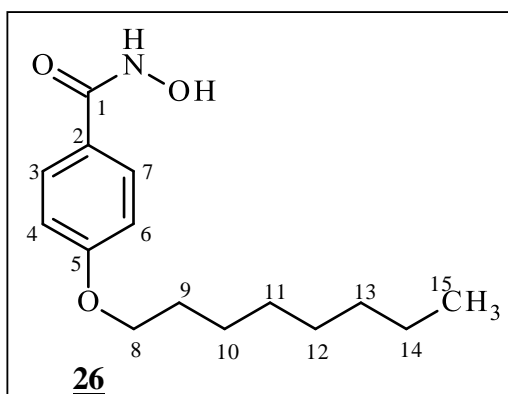
HR-MS (FAB⁺): Izračunana za $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{NO}_3$: 412.2852, ugotovljena: 412.2862

Elementna analiza: Izračunana za $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{NO}_3$: C 75.87%, H 9.06%, N 3.40%, O 11.66%, ugotovljena: C 75.62%, H 9.00%, N 3.53%, O 11.85%

7.6 Odstranitev benzilne zaščite



7.6.1 Sinteza 4-oktiloksibenzenkarbohidroksamske kisline (26)



Postopek:

Spojino **23** 1,52 g (4,27 mmol) smo raztopili v THF (100 mL) in dobljeno raztopino prepihali z argonom. Nato smo dodali Pd/C (150 mg) in 24 ur mešali v atmosferi H_2 . Pd/C

smo odstranili s filtracijo in uparili organsko topilo. Surovi produkt smo prekristalizirali iz etilacetata (20 mL) in dobili 654mg belih kristalov.

- $T_f = 151-153\text{ }^\circ\text{C}$
- η (**26**) = 58 %
- $M_r = 265,2\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_3$
- $R_f = 0.18$ (silikagel, MF(9))

Analize:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.84-0.87 (m, 3H, $\text{CH}_3(15)$), 1.25-1.41 (m, 10H, $\text{CH}_2(10-14)$), 1.67-1.74 (m, 2H, $\text{CH}_2(9)$), 3.99 (t, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2(8)$), 6.96 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 2H, Ar- $\text{H}_{(4, 6)}$), 7.73 (d, $J=8.2\text{ Hz}$, 2H, Ar- $\text{H}_{(3, 7)}$), 8.92 (s, 1H, OH), 11.08 (s, 1H, NH) ppm

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 13.93 ($\text{CH}_3(15)$), 22.09, 25.46, 28.57, 28.67, 28.73, 31.24 ($\text{CH}_2(9-14)$), 67.57 ($\text{CH}_2(8)$), 113.95 (Ar $_{(4, 6)}$), 124.68 (Ar $_{(2)}$), 128.58 (Ar $_{(3, 7)}$), 160.90 (Ar $_{(5)}$), 163.98 ($\text{C}_{(1)}$) ppm

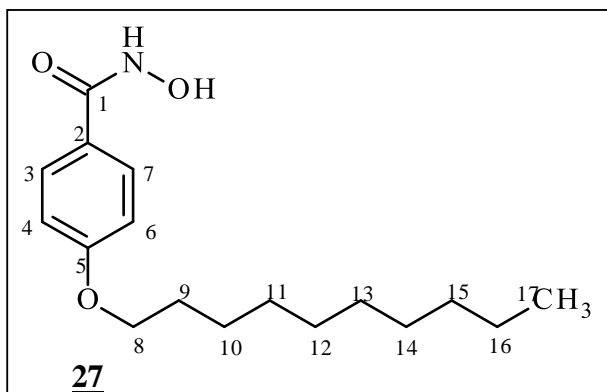
MS (ESI): m/z (%) 266 (100, M+1)

IR (ATR): 3285, 2918, 2849, 1607, 1564, 1463, 1304, 1250, 1163, 1018, 844, 538 cm^{-1}

HR-MS (FAB $^+$): Izračunana za $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_3$: 266.1756, ugotovljena: 266.1760

Elementna analiza: Izračunana za $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_3$: C 67.90%, H 8.74%, N 5.28%, O 18.09%, ugotovljena: C 67.82%, H 8.56%, N 5.01%, O 18.61%

7.6.2 Sinteza 4-deciloksibenzenkarbohidroksamske kisline (27**)**



Postopek:

Spojino **24** 1,46 g (3,80 mmol) smo raztopili v THF (100 mL) in dobljeno raztopino prepihali z argonom. Nato smo dodali Pd/C (150 mg) in 24 ur mešali v atmosferi H₂. Pd/C smo odstranili s filtracijo in uparili organsko topilo. Surovi produkt smo prekristalizirali iz etilacetata (20 mL) in dobili 655mg belih kristalov.

- T_t = 128-130 °C
- η (**27**) = 59 %
- Mr = 293,2 g/mol
- Elementna sestava: C₁₇H₂₇NO₃
- R_f = 0.19 (silikagel, MF(9))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.83-0.86 (m, 3H, CH₃₍₁₇₎), 1.24-1.39 (m, 14H, CH₂₍₁₀₋₁₆₎), 1.67-1.73 (m, 2H, CH₂₍₉₎), 3.98 (t, J=6.4 Hz, 2H, Ar-H_(4, 6)), 7.73 (d, J=8.3 Hz, 2H, Ar-H_(3, 7)), 8.92 (s, 1H, OH), 11.09 (s, 1H, NH) ppm

¹³C NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.91 (CH₃₍₁₇₎), 22.11, 25.48, 28.58, 28.73, 28.79, 28.99, 29.04, 31.32 (CH₂₍₉₋₁₆₎), 67.56 (CH₂₍₈₎), 113.92 (Ar_(4, 6)), 124.68 (Ar₍₂₎), 128.57 (Ar_(3, 7)), 160.89 (Ar₍₅₎), 163.96 (C₍₁₎) ppm

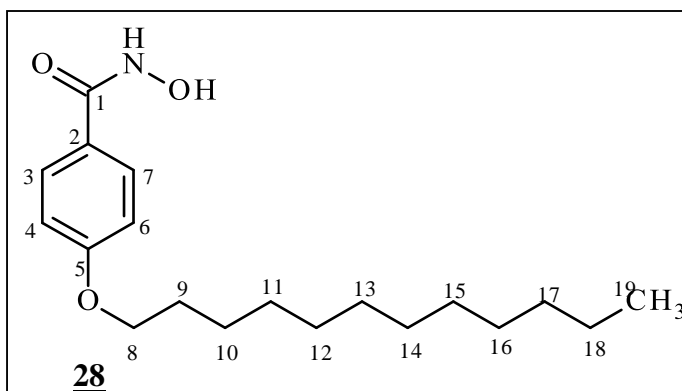
MS (ESI): m/z (%) 294 (100, M+1)

IR (ATR): 3285, 2919, 2850, 1605, 1564, 1504, 1463, 1304, 1252, 1162, 1017, 844, 542 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₁₇H₂₇NO₃: 294.2069, ugotovljena: 294.2062

Elementna analiza: Izračunana za C₁₇H₂₇NO₃: C 69.59%, H 9.28%, N 4.77%, O 16.36%, ugotovljena: C 69.84%, H 9.49%, N 4.91%, O 15.76%

HPLC: 100% čistost, λ = 254 nm, T_R = 9.475 min (MeCN/ H₂O/ NH₃; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 20 min, 2.0 min pri 90%, nazaj na 40% v 25. minuti, post time 6 min)

7.6.3 Sinteza 4-dodeciloksibenzenkarbohidroksamske kisline (**28**)**Postopek:**

Spojino **25** 1,58 g (3,83 mmol) smo raztopili v THF (100 mL) in dobljeno raztopino prepihali z argonom. Nato smo dodali Pd/C (150 mg) in 24 ur mešali v atmosferi H₂. Pd/C smo odstranili s filtracijo in uparili organsko topilo. Surovi produkt smo prekrizalirali iz etilacetata (20 mL) in dobili 656 mg belih kristalov.

- T_t = 135-137 °C
- η (**28**) = 53 %
- Mr = 321,2 g/mol
- Elementna sestava: C₁₉H₃₁NO₃
- R_f = 0.21 (silikagel, MF(9))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.85 (t, 3H, J=6.5 Hz, CH₃₍₁₉₎), 1.24-1.41 (m, 18H, CH₂₍₁₀₋₁₈₎), 1.68-1.72 (m, 2H, CH₂₍₉₎), 3.98 (t, J=6.4Hz, 2H, CH₂₍₈₎), 6.95 (d, J=8.0 Hz, 2H, Ar-H_(4, 6)), 7.73 (Ar-H_(3, 7)), 8.92 (s, 1H, OH), 11.08 (s, 1H, NH) ppm

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 13.90 (CH₃₍₁₉₎), 22.12, 25.49, 28.60, 28.76, 28.80, 29.05, 31.33 (CH₂₍₉₋₁₈₎), 67.55 (CH₂₍₈₎), 113.90 (Ar_(4, 6)), 124.68 (Ar₍₂₎), 128.56 (Ar-H_(3, 7)), 160.89 (Ar₍₅₎), 163.94 (C₍₁₎) ppm

MS (ESI): m/z (%) 322 (100, M+1)

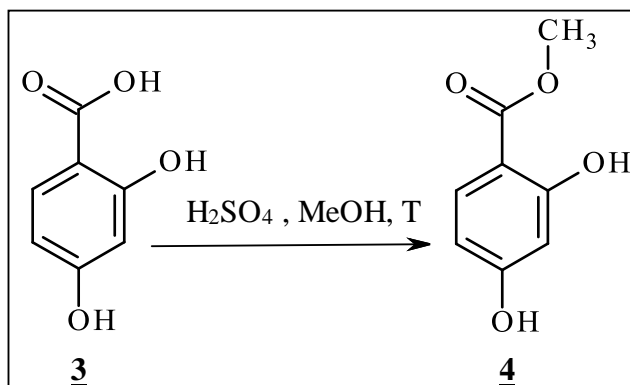
IR (ATR): 3283, 2920, 2851, 1606, 1564, 1504, 1463, 1304, 1251, 1162, 1020, 844, 541 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₁₉H₃₁NO₃: 322.2382, ugotovljena: 322.2386

Elementna analiza: Izračunana za $C_{19}H_{31}NO_3$: C 70.99%, H 9.72%, N 4.36%, O 14.93%, ugotovljena: C 70.79%, H 9.57%, N 4.49%, O 15.15%

HPLC: 97% čistost, $\lambda = 254$ nm, $T_R = 5.333$ min (MeCN/ H₂O/ NH₃; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 20 min, 2.0 min pri 90%, nazaj na 40% v 25. minuti, post time 6 min)

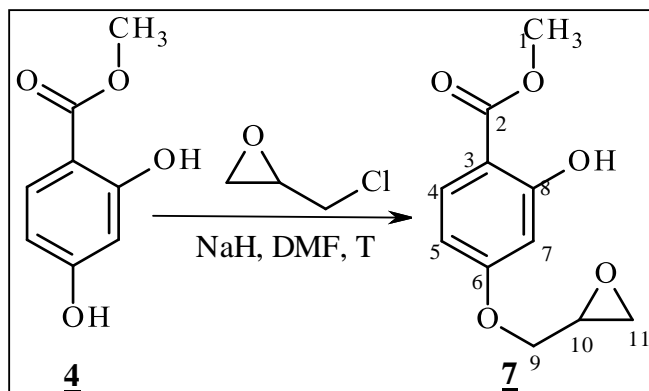
7.7 Sinteza metil 2,4-dihidroksibenzoata (**4**)



Postopek:

V bučko smo natehtali 40.0 g (260 mmol) 2,4-dihidroksibenzojske kisline (**3**), dodali 800mL metanola, 5mL H₂SO₄, segreli na 90 °C in mešali pod refluxom 48 ur. Nato smo odparili topilo, zmes zlili na led in kristale odfiltrirali s presesavanjem.

- η (**4**) = 98 %
- Mr = 168,2 g/mol
- Elementna sestava: C₈H₈O₄
- R_f = 0,68 (silikagel, etilacetat)

7.8 Sinteza metil 2-hidroksi-4-(oksiran-2ilmetoksi)benzoata (7)**Postopek:**

V bučko, ki smo jo predhodno prepihali z argonom, smo natehtali 3,93 g (1,1 ekv.) NaH, dodali 300mL DMF in zmes ohladili na ledu. Nato smo zmesi dodali 15,0 g metil 2,4-dihidroksibenzoata (**4**) in mešali pri sobni T. Po dveh urah smo dodali še 11,25 mL (1,5 ekv.) epiklorhidrina, segreli na 50 °C in pustili mešati pod refluksom in v argonovi atmosferi 20 ur. Po končani reakciji smo delno uparili DMF in zmes ekstrahirali s 100 mL citronske kisline in 5-krat 300 mL etilacetata. Organsko fazo smo sprali z nasičeno raztopino natrijevega klorida, sušili z natrijevim sulfatom, prefiltrirali in odparili topilo na rotavaporju. Zmes smo očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in uporabili mobilno fazo MF(2).

- $T_t = 63-65\text{ }^\circ\text{C}$
- η (**7**) = 89 %
- $M_r = 224,2\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$
- $R_f = 0,15$ (silikagel, MF(2))

Analize:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 2.77 (dd, $J=3.7\text{ Hz}, 4.0\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(11a)}$), 2.93 (dd, $J=4.0\text{ Hz}, 5.1\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(11b)}$), 3.36 (m, 1H, $\text{CH}_{(10)}$), 3.92 (s, 3H, $\text{CH}_3(1)$), 3.95 (dd, $J=10.9\text{ Hz}, 5.9\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(9a)}$), 4.26 (dd, $J=10.9\text{ Hz}, 2.6\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(9b)}$), 6.47 (m, 2H, Ar-H $_{(5, 7)}$), 7.75 (d, $J=8.7\text{ Hz}$, 1H, Ar-H $_{(4)}$), 10.97 (s, 1H, OH) ppm

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 44.85 ($\text{CH}_{2(11)}$), 49.98 ($\text{CH}_{(10)}$), 52.27 ($\text{CH}_{3(1)}$), 69.01 ($\text{CH}_{2(9)}$), 101.57 ($\text{Ar}_{(7)}$), 106.13 ($\text{Ar}_{(3)}$), 108.03 ($\text{Ar}_{(4)}$), 131.56 ($\text{Ar}_{(5)}$), 163.88, 164.50 ($\text{Ar}_{(6, 8)}$), 170.50 ($\text{C}_{(2)}$) ppm

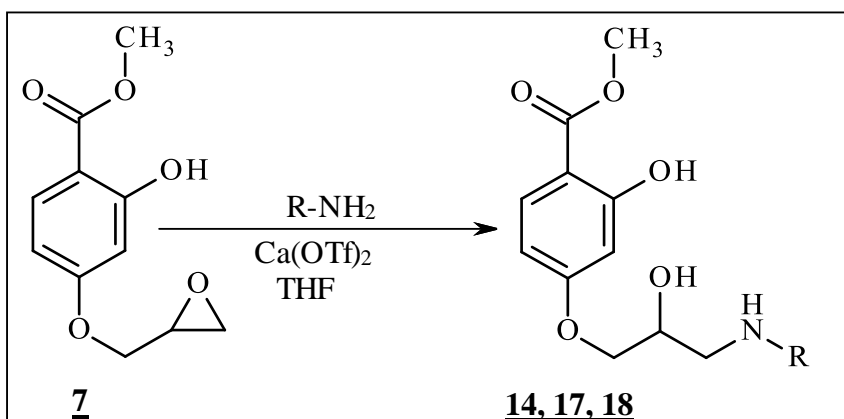
MS (ESI): m/z (%) 225 (100, $\text{M}+1$)

IR (ATR): 3153, 1672, 1615, 1576, 1341, 1441, 1341, 1249, 1184, 1131, 1090, 1019, 860, 777 cm^{-1}

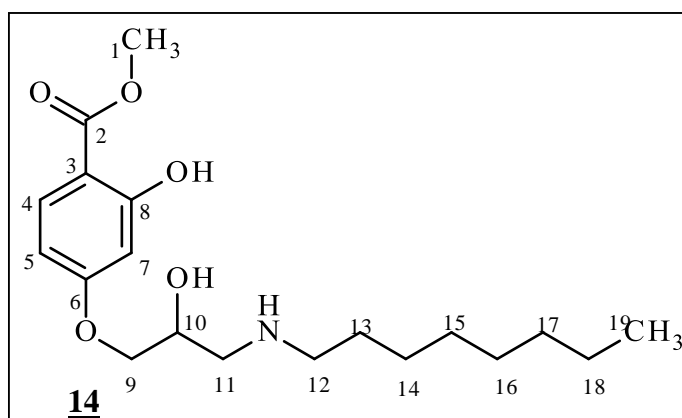
HR-MS (FAB^+): Izračunana za $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$: 225.0763, ugotovljena: 225.0758

HPLC: 99% čistost, $\lambda = 254$ nm, $T_R = 6.832$ min (MeCN/ H_2O ; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

7.9 Odpiranje epoksidnega obroča in podaljševanje verige



7.9.1 Sinteza metil 2-hidroksi-4-[2-hidroksi-3-(oktilamino)propoksi]benzoata (**14**)



Postopek:

V bučko smo natehtali 2 g (8,9 mmol) spojine (**7**), 636 mg (0,2 ekv.) kalcijevega triflata, odmerili 4,47 mL (3 ekv.) oktilamina, dodali 30 mL brezvodnega THF, ohladili na ledu in

pusili mešati tri dni na sobni T pod argonom. Nato smo uparili topilo na rotavaporju in zmes očistili s "flash" kolonsko kromatografijo, kjer smo uporabili mobilno fazo diklorometan/metanol 30:1 z 0,3 % Et₃N (R_f=0,13). Izbrane frakcije smo ponovno očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in tokrat uporabili mobilno fazo MF(6) (R_f = 0,16).

- T_i= 59-62 °C
- η (**14**)= 51 %
- Mr= 353,5g/mol
- Elementna sestava: C₁₉H₃₁NO₅
- R_f = 0,13 (silikagel, MF(7))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.92 (t, J=6.7 Hz, 3H, CH₃₍₁₉₎), 1.28-1.40 (m 10H, CH₂₍₁₄₋₁₈₎), 1.78 (s, 2H, CH₂₍₁₃₎), 3.10 (t, J=7.5 Hz, 2H, CH₂₍₁₂₎), 3.31 (d, J=5.6 Hz, 2H, CH₂₍₁₁₎), 3.95 (s, 3H, CH₃₍₁₎), 4.03 (s, 2H, CH₂₍₉₎), 4.50 (s, 1H, CH₍₁₀₎), 6.41-6.44 (m, 2H, Ar-H_(4, 7)), 7.17 (br, 2H, NH, OH₍₁₀₎), 7.72 (d, J=8.9 Hz, 1H, Ar-H₍₅₎), 11.01 (s, 1H, OH₍₈₎) ppm

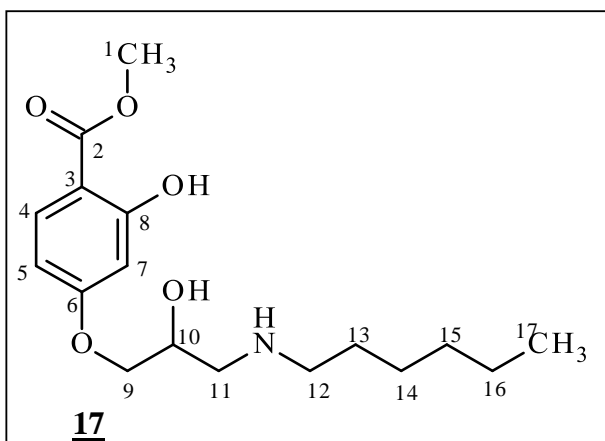
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 22.58 (CH₃₍₁₉₎), 25.82, 26.41, 28.96, 29.02, 31.66 (CH₂₍₁₃₋₁₈₎), 48.90 (CH₂₍₁₂₎), 50.48 (CH₂₍₁₁₎), 52.03 (CH₃₍₁₎), 65.48 (CH₍₁₀₎), 69.30 (CH₂₍₉₎), 101.44 (Ar₍₇₎), 106.07 Ar₍₃₎), 107.35 (Ar₍₅₎) ppm

MS (ESI): m/z (%): 354 (100, M+1)

IR (ATR): 2940, 2927, 1738, 1661, 1619, 1435, 1251, 1217, 1167, 1131, 1028, 776 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₁₉H₃₁NO₅: 354.2280, ugotovljena: 354.2277

HPLC: 100% čistost, λ= 254 nm, T_R= 14.663 min (MeCN/ H₂O; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

7.9.2 Sinteza metil 4-[3-(heksilamino)-2-hidroksi-propoksi]-2-hidroksibenzoata (17)**Postopek:**

V bučko smo natehtali 2 g (8,9 mmol) spojine (7), 636 mg (0,2 ekv.) kalcijevega triflata, odmerili 3,57 mL (3 ekv.) heksilamina, dodali 30 mL brezvodnega THF, ohladili na ledu in pustili mešati tri dni pri sobni T pod argonom. Nato smo odparili topilo na rotavaporju in zmes očistili s “flash” kolonsko kromatografijo, kjer smo za mobilno fazo uporabili MF(7). Izbrane frakcije smo ponovno očistili s “flash” kolonsko kromatografijo in tokrat uporabili mobilno fazo MF(6).

- $T_t = 80-82\text{ }^\circ\text{C}$
- η (17) = 55 %
- $M_r = 325,4\text{g/mol}$
- Elementna sestava: $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_5$
- $R_f = 0,13$ (silikagel, MF(7))

Analize:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.79 (t, $J=6.5$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(17)$), 1.19-1.26 (m, 6H, $\text{CH}_2(14-16)$), 1.61-1.67 (m, 2H, $\text{CH}_2(13)$), 2.96 (t, $J=8.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(12)$), 3.11-3.16 (m, 2H, $\text{CH}_2(11)$), 3.83 (s, 3H, $\text{CH}_3(1)$), 3.87-3.95 (m, 2H, $\text{CH}_2(9)$), 4.36-4.40 (m, 1H, $\text{CH}(10)$), 5.52 (br, 2H, NH, $\text{OH}(10)$), 6.29-6.33 (m, 2H, Ar-H_(4, 7)), 7.61 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H₍₅₎), 10.80 (br, 1H, $\text{OH}(8)$) ppm

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 13.87 ($\text{CH}_3(17)$), 22.36, 25.36, 25.92, 26.10, 31.12 ($\text{CH}_2(13-16)$), 48.98 ($\text{CH}_2(12)$), 50.61 ($\text{CH}_2(11)$), 52.08 ($\text{CH}_3(1)$), 65.52 ($\text{CH}(10)$), 69.36 ($\text{CH}_2(9)$), 101.46 (Ar₍₇₎), 106.15 (Ar₍₃₎), 107.40 (Ar₍₅₎), 131.46, 163.54 (Ar_(6, 8)), 170.26 ($\text{C}(2)$) ppm

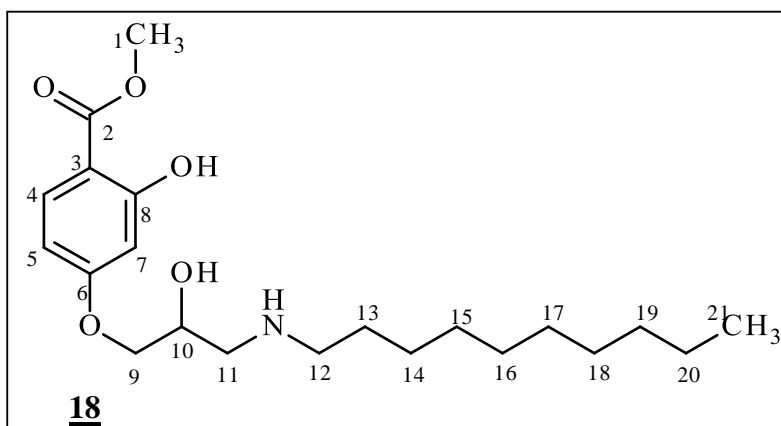
MS (ESI): m/z (%) 326 (100, M+1)

IR (ATR): 2953, 2930, 1739, 1666, 1621, 1440, 1250, 1220, 1168, 1137, 1027, 636 cm⁻¹

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₁₇H₂₇NO₅: 326.1967, ugotovljena: 326.1965

HPLC: 92% čistost, λ= 254 nm, T_R= 1.697 min (MeCN/ H₂O; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

7.9.3 Sinteza metil 4-[3-(decilamino)-2-hidroksi-propoksi]-2-hidroksibenzoata (**18**)



Postopek:

V bučko smo natehtali 2,0 g (8,9 mmol) spojine (**7**), 636 mg (0,2 ekv.) kalcijevega triflata, odmerili 5,41 mL (3 ekv.) decilamina in dodali 30 mL brezvodnega THF. Zmes smo ohladili na ledu in pustili mešati tri dni pri sobni T pod argonom. Nato smo odparili topilo na rotavaporju in zmes očistili s “flash” kolonsko kromatografijo, kjer smo za mobilno fazo uporabili MF(7) (R_f =0,13). Izbrane frakcije smo ponovno očistili s “flash” kolonsko kromatografijo in tokrat uporabili mobilno fazo MF(6).

- T_t = 45-47 °C
- η (**18**) = 50 %
- Mr = 381,5 g/mol
- Elementna sestava: C₂₁H₃₅NO₅
- R_f = 0,13 (silikagel, diklorometan/metanol 30:1, 0,3% Et₃N)

Analize:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 0.80 (t, $J=6.8$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(21)$), 1.17-1.32 (m, 14H, $\text{CH}_2(14-20)$), 1.50-1.74 (m, 2H, $\text{CH}_2(13)$), 3.00 (t, $J=8.4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(12)$), 3.08-3.14 (m, 2H, $\text{CH}_2(11)$), 3.84 (s, 3H, $\text{CH}_3(1)$), 3.90-3.99 (m, 2H, $\text{CH}_2(9)$), 4.36-4.41 (m, 1H, $\text{CH}(10)$), 5.35 (br, 2H, NH, $\text{OH}(10)$), 6.30-6.35 (m, 2H, Ar- $\text{H}(4, 7)$), 7.63 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar- $\text{H}(5)$), 10.89 (br, 1H, $\text{OH}(8)$) ppm

^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 14.13 ($\text{CH}_3(21)$), 22.69, 25.90, 26.45, 29.03, 29.29, 29.38, 29.47, 31.88 ($\text{CH}_2(13-20)$), 48.97 ($\text{CH}_2(12)$), 50.57 ($\text{CH}_2(11)$), 52.08 ($\text{CH}_3(1)$), 65.48 ($\text{CH}(10)$), 69.33 ($\text{CH}_2(9)$), 101.44 (Ar (7)), 106.17 (Ar (3)), 107.38 (Ar (5)), 131.47, 163.54 (Ar $(6, 8)$), 170.25 ($\text{C}(2)$) ppm

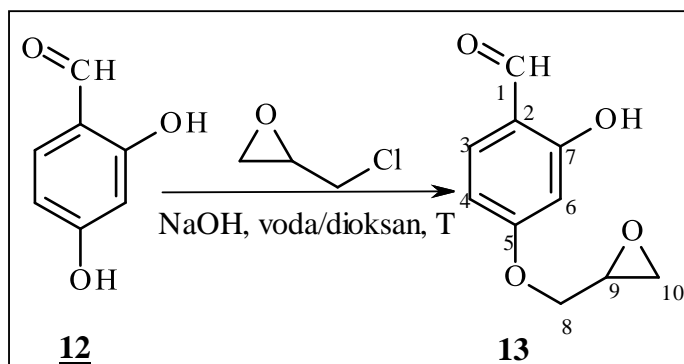
MS (ESI): m/z (%) 382 (100, $\text{M}+1$)

IR (ATR): 2969, 2918, 1739, 1669, 1618, 1445, 1226, 1167, 1028, 783 cm^{-1}

HR-MS (FAB $^+$): Izračunana za $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{NO}_5$: 382.2593, ugotovljena: 382.2583

HPLC: 98% čistost, $\lambda=254$ nm, $T_R=22.528$ min (MeCN/ H_2O ; gradient 40% MeCN do 90% MeCN v 15 min, 2.5 min pri 90%, nazaj na 40% v 18. minuti, post time 6 min)

7.10 Sinteza 2-hidroksi-4-(oksiran-2-ilmetoksi)benzaldehida (**13**)



Postopek:

15,0 g (109 mmol) 2,4-dihidroksibenaldehida (**12**) smo raztopili v 250mL dioksana in raztopino prepihali z argonom. 4,35 g (1 ekv.) NaOH smo raztopili v 100 mL vode in raztopino prepihali z argonom. Raztopini smo nato združili in ponovno prepihali z argonom. Dodali smo 17,2 mL (2 ekv.) epiklorhidrina, segreli na 80 °C in mešali 4 ure pod refluxom v argonovi atmosferi. Po končani reakciji smo na rotavaporju odparili dioksan, vodno fazo močno nakisali z 2M HCl in zmes ekstrahirali z 8-krat 200 mL diklorometana. Organsko fazo smo sprali z nasičeno raztopino NaCl, sušili z natrijevim sulfatom, zmes

prefiltrirali in na rotavaporju odparili topilo. Zmes smo očistili s "flash" kolonsko kromatografijo, kjer smo uporabili mobilno fazo MF(4).

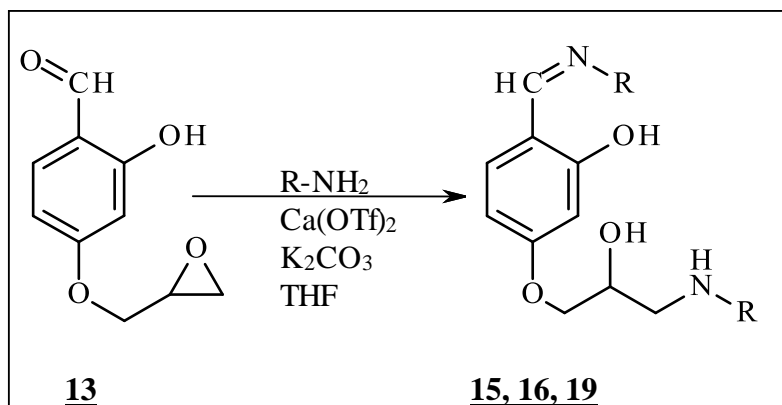
- $T_t = 133-136\text{ }^\circ\text{C}$
- η (**13**) = 21 %
- $M_r = 194,2\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$
- $R_f = 0,12$ (silikage1, MF(4))

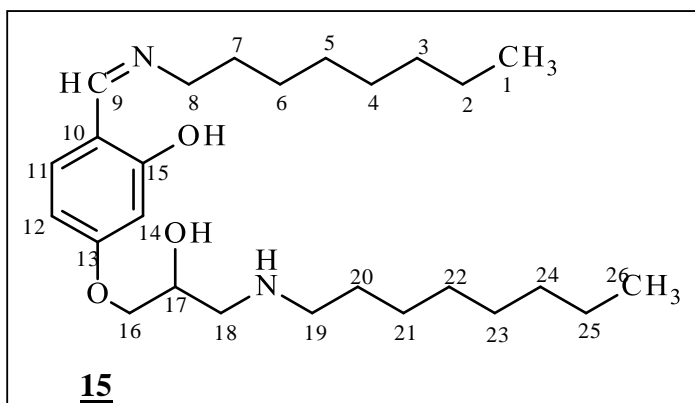
Analize:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ 2.72 (dd, $J=5.1\text{ Hz}, 2.6\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(10a)}$), 2.85 (dd, $J=4.6\text{ Hz}, 4.8\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(10b)}$), 3.32-3.36 (m, 1H, $\text{CH}_{(9)}$), 3.88 (dd, 1H, $J=11.5\text{ Hz}, 6.5\text{ Hz}$, $\text{CH}_{2(8a)}$), 4.42 (dd, $J=11.5\text{ Hz}, 2.4\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{2(8b)}$), 6.50 (d, $J=2.1\text{ Hz}$, 1h, $\text{Ar-H}_{(6)}$), 6.60 (dd, $J=8.5\text{ Hz}, 2.1\text{ Hz}$, 1H, $\text{Ar-H}_{(4)}$), 7.63 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, $\text{Ar-H}_{(3)}$), 10.01 (s, 1H, CHO), 11.02 (s, 1H, OH) ppm

IR (ATR): 3097, 1626, 1498, 1441, 1221, 1162, 1118, 800, 630, 547 cm^{-1}

7.11 Sinteza imina



7.11.1 Sinteza 5-[2-hidroksi-3-(oktilamino)propoksi]-2-[oktiliminometil]fenola (**15**)**Postopek:**

V bučko smo odmerili 10mL brezvodnega THF, nato smo dodali 500 mg (2,6 mmol) spojine (**13**), 1,29 mL (3 ekv.) oktilamina, 184 mg (0,2 ekv.) kalcijevega triflata in 356mg (1 ekv.) K_2CO_3 . Zmes smo pustili mešati na ledu čez noč v atmosferi argona. Po končani reakciji smo zmes očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in za mobilno fazo uporabili MF(7).

- $T_f = 25-26\text{ }^\circ\text{C}$
- η (**15**) = 21%
- $M_r = 434,7\text{ g/mol}$
- Elementna sestava: $C_{26}H_{46}N_2O_3$
- $R_f = 0,37$ (silikagel, MF(7))

Analize:

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.82-0.87 (m, 6H, $\text{CH}_3(1, 26)$), 1.20-1.36 (m, 20h, $\text{CH}_2(2-6)$, $\text{CH}_2(21-25)$), 1.64-1.73 (m, 4H, $\text{CH}_2(7, 20)$), 2.96 (t, $J=7.5\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2(19)$), 3.10-3.19 (m, 2H, $\text{CH}_2(18)$), 3.48 (t, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2(8)$), 3.99 (d, $J=17.6\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2(16)$), 4.42 (m, 1H, $\text{CH}(17)$), 6.19 (d, $J=8.8\text{ Hz}$, 1H, $\text{Ar-H}(11)$), 6.25 (s, 1H, $\text{Ar-H}(14)$), 6.98 (d, $J=8.8\text{ Hz}$, 2H, $\text{Ar-H}(12)$), 7.94 (s, 1H, $\text{CH}(9)$), 13.56 (br, 1H, $\text{OH}(15)$), 7.00 (br, 1H, $\text{OH}(17)$) ppm

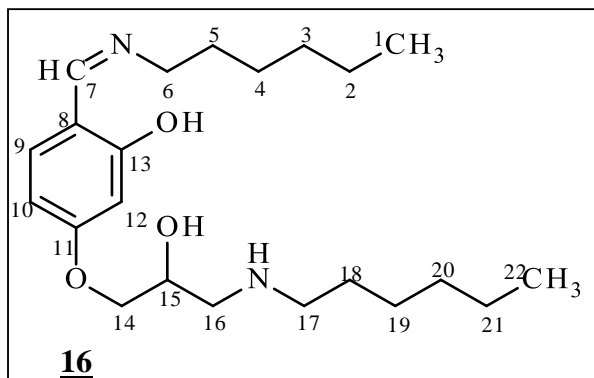
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 14.08 ($\text{CH}_3(1, 26)$), 22.61, 26.26, 26.73, 26.85, 29.00, 30.58, 31.71, 31.79 ($\text{CH}_2(2-7)$, $\text{CH}_2(20-25)$), 48.84 ($\text{CH}_2(19)$), 50.69 ($\text{CH}_2(18)$), 54.27 ($\text{CH}_2(8)$), 65.67 ($\text{CH}(17)$), 69.54 ($\text{CH}_2(16)$), 102.72 ($\text{Ar}(14)$), 106.80 ($\text{Ar}(12)$), 111.21 ($\text{Ar}(10)$), 133.95 ($\text{Ar}(11)$), 163.38, 164.50 ($\text{Ar}(13, 15)$), 172.38 ($\text{CH}(9)$) ppm

MS (ESI): m/z (%) 435 (100, M+1)

IR (ATR): 2925, 1740, 1643, 1611, 1455, 1369, 1219, 1161, 1029, 731, 637 cm^{-1}

HR-MS (FAB⁺): Izračunana za C₂₆H₄₆N₂O₃: 435.3587, ugotovljena: 435.3595

7.11.2 Sinteza 5-[3-(heksilamino)-2-hidroksi-propoksi]-2-[heksiliminometil]fenola (**16**)



Postopek:

V bučko smo odmerili 10 mL brezvodnega THF, nato smo dodali 500 mg (2,6 mmol) spojine (**13**), 1,03 mL (3 ekv.) heksilamina, 184 mg (0,2 ekv.) kalcijevega triflata in 356 mg (1 ekv.) K₂CO₃. Zmes smo pustili mešati na ledu čez noč v atmosferi argona. Po končani reakciji smo zmes očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in za mobilno fazo uporabili MF(8).

- T_t = 75-77 °C
- η (**16**) = 20%
- Mr = 378,6 g/mol
- Elementna sestava: C₂₂H₃₈N₂O₃
- R_f = 0,13 (silikagel, MF(8))

Analize:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.78 (s, 6H, CH₃(_{1, 22})), 1.20 (m, 12H, CH₂(₂₋₄), CH₂(₁₉₋₂₁)), 1.57, 1.75 (2s, 2x2H, CH₂(_{5, 18})), 2.98 (s, 2H, CH₂(₁₇)), 3.15 (s, 2H, CH₂(₁₆)), 3.42 (s, 2H, CH₂(₆)), 3.91-4.00 (m, 2H, CH₂(₁₄)), 4.43 (s, 1H, CH(₁₅)), 6.96 (s, 1H, Ar-H(₁₀)), 7.91 (s, 1H, CH(₇)), 13.00 (br, 1H, OH(₁₃)), 8.00 (br, 2H, NH, OH(₁₅)), 6.10-6.20 (m, 2H, Ar-H(_{9, 12})) ppm

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 13.89, 13.97 (CH₃(_{1, 22})), 22.39, 22.46, 25.76, 26.29, 26.38, 30.44, 31.15, 31.33 (CH₂(₂₋₅), CH₂(₁₈₋₂₁)), 46.32 (CH₂(₁₇)), 48.63 (CH₂(₁₆)), 50.52 (CH₂(₆)), 65.37 (CH(₁₅)), 69.42 (CH₂(₁₄)), 102.91 (Ar(₁₂)), 106.85 (Ar(₁₀)), 110.96 (Ar(₈)), 134,23 (Ar(₉)), 163.41, 164,73 (Ar(_{11, 13})), 172.61 (CH(₇)) ppm

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.19 (m, $J=9.0$ Hz, 2H, Ar-H_(13, 16)), 7.02 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Ar-H₍₁₄₎), 7.94 (s, 1H, CH₍₁₁₎), 13.47 (s, 1H, OH₍₁₇₎) ppm

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 14.11 (CH_{3(1, 30)}), 22.68, 25.85, 26.51, 26.80, 29.06, 29.30, 29.56, 30.51, 31.88, 46.79 (CH₂₍₂₋₉₎, CH₂₍₂₂₋₂₉₎), 48.89 (CH₂₍₂₁₎), 50.56 (CH₂₍₂₀₎), 53.52 (CH₂₍₁₀₎), 65.50 (CH₍₁₉₎), 69.26 (CH₂₍₁₈₎), 102.85 (Ar₍₁₆₎), 106.81 (Ar₍₁₄₎), 110.96 (Ar₍₁₂₎), 134.45 (Ar₍₁₃₎), 163.55, 165.01 (Ar_(15, 17)) ppm

MS (ESI): m/z (%) 491 (100, M+1)

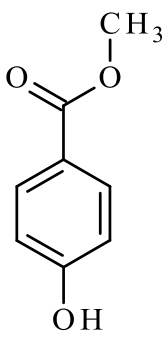
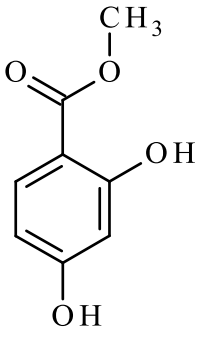
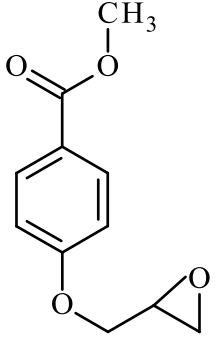
IR (ATR): 3015, 2924, 1739, 1644, 1606, 1457, 1220, 1160, 1028, 636 cm^{-1}

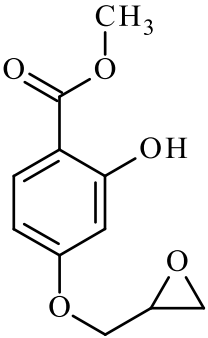
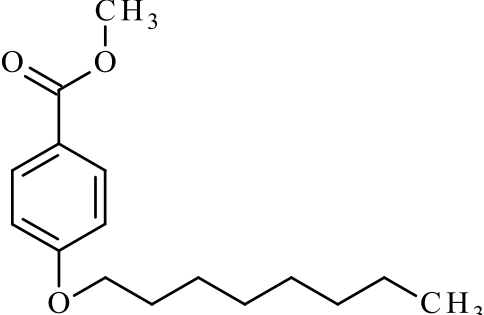
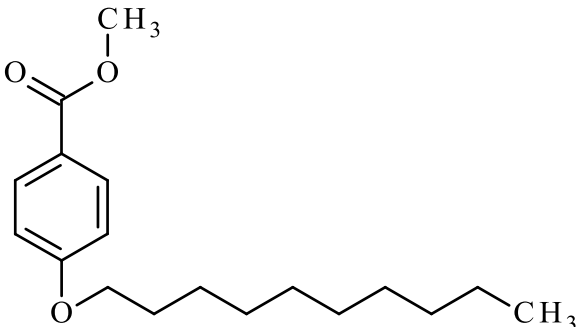
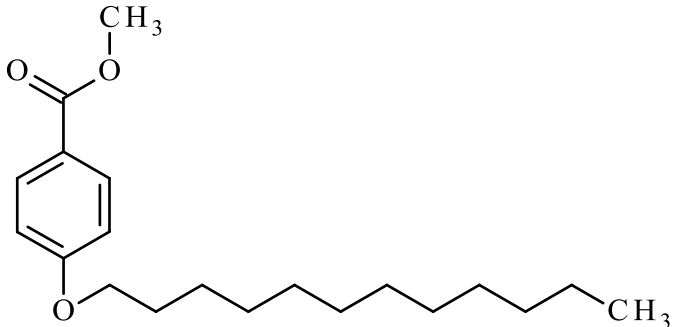
HR-MS (FAB⁺): Izračunana za $\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_3$: 491.4213, ugotovljena: 491.4210

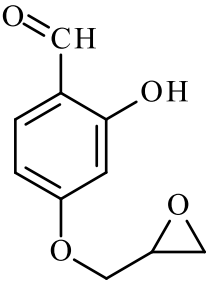
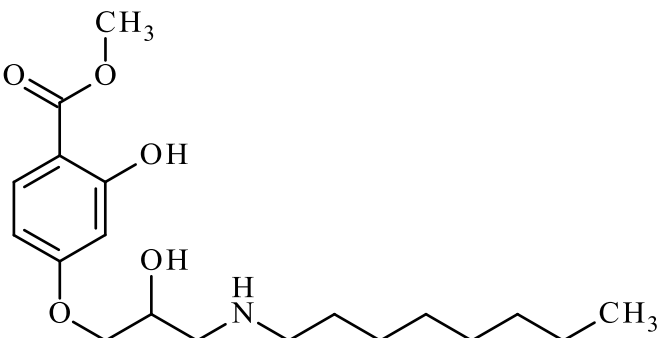
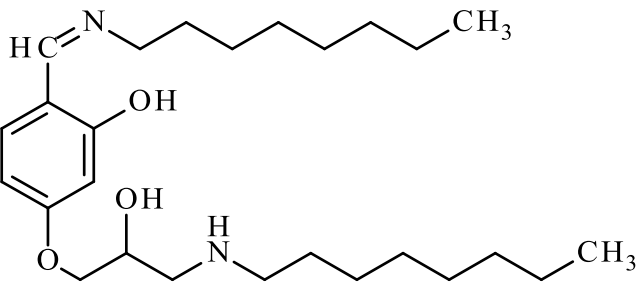
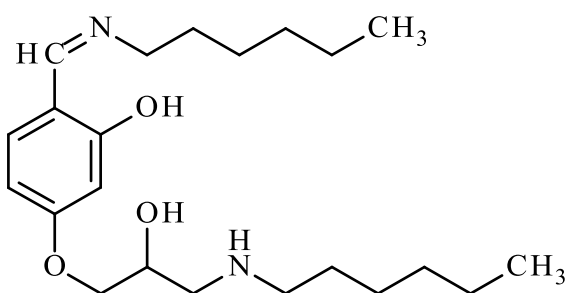
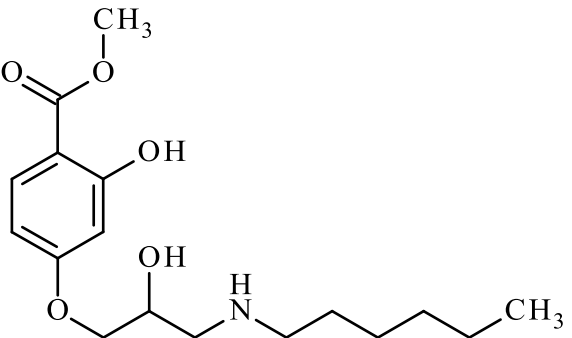
8. REZULTATI IN RAZPRAVA

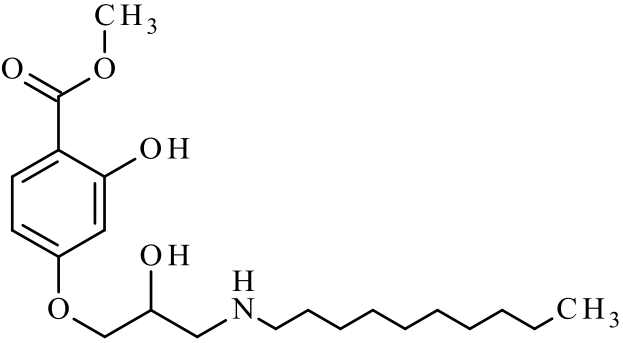
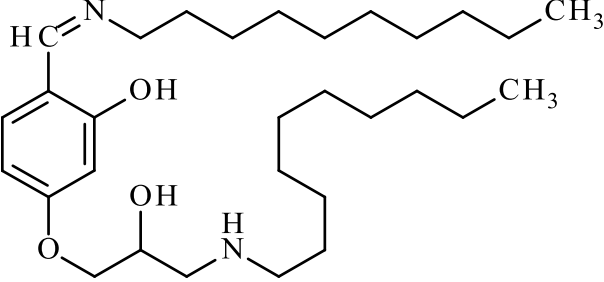
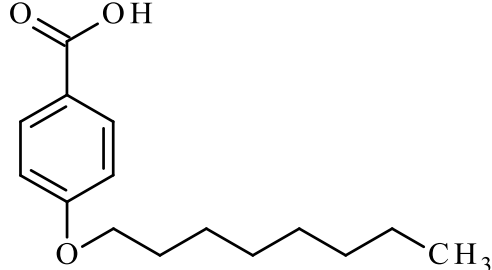
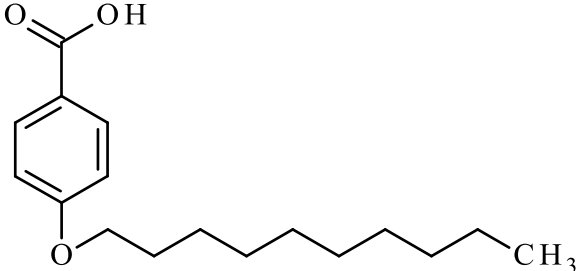
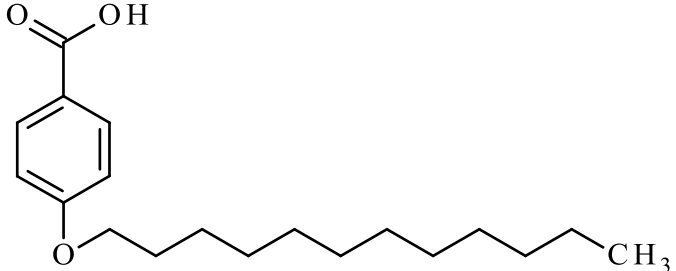
8.1 REZULTATI

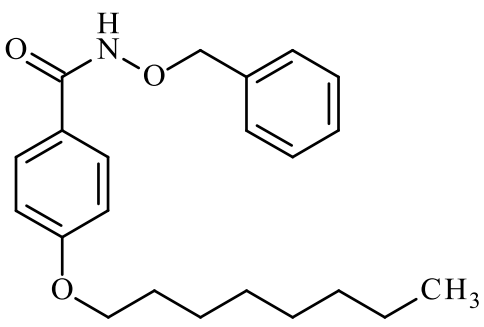
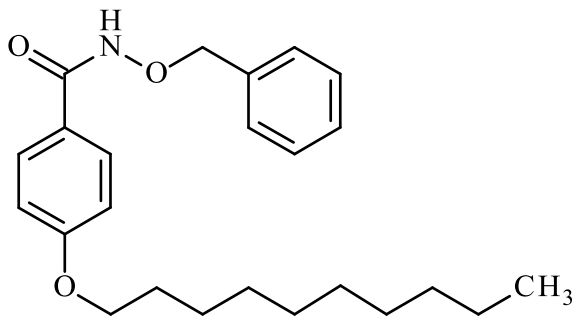
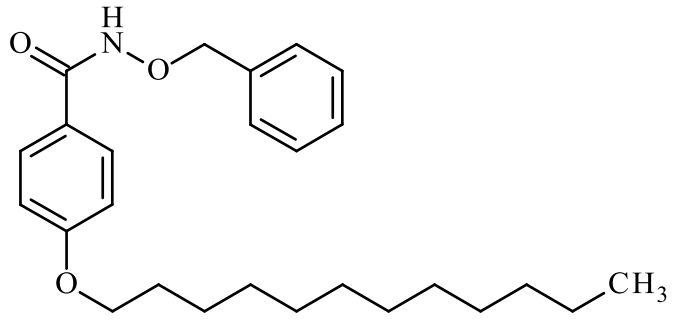
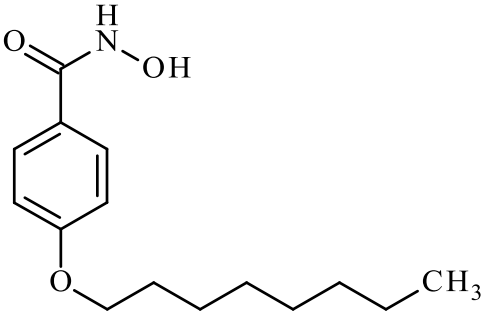
V okviru diplomske naloge smo sintetizirali naslednje spojine:

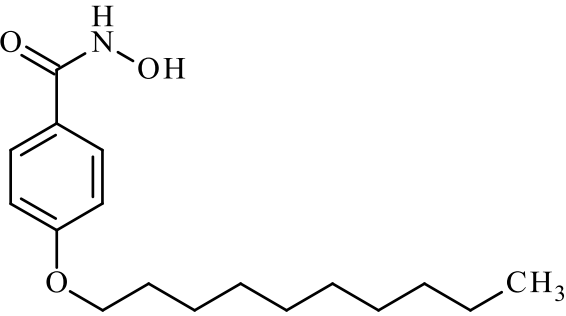
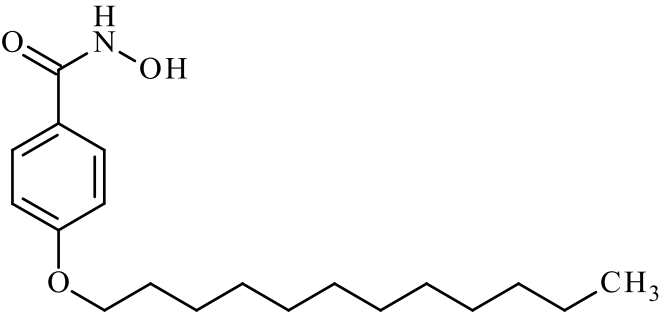
STRUKTURA SPOJINE	ŠTEVILKA SPOJINE	STRAN
	<u>2</u>	19
	<u>4</u>	37
	<u>6</u>	19

	<u>7</u>	38
	<u>8</u>	21
	<u>9</u>	22
	<u>10</u>	23

	<u>13</u>	43
	<u>14</u>	39
	<u>15</u>	45
	<u>16</u>	46
	<u>17</u>	41

	<u>18</u>	42
	<u>19</u>	47
	<u>20</u>	25
	<u>21</u>	26
	<u>22</u>	27

 <chem>CCCCCCCCOC(=O)NOCc1ccccc1</chem>	<u>23</u>	29
 <chem>CCCCCCCCOC(=O)NOCc1ccccc1</chem>	<u>24</u>	30
 <chem>CCCCCCCCOC(=O)NOCc1ccccc1</chem>	<u>25</u>	32
 <chem>CCCCCCCCOC(=O)NO</chem>	<u>26</u>	33

 <p>Chemical structure of 4-(10-oxodecyl)benzoic acid oxime. It consists of a benzene ring with a hydroxamic acid group (-C(=O)NHOH) at the top position and a decyl chain (-O(CH₂)₁₀CH₃) at the para position.</p>	<u>27</u>	34
 <p>Chemical structure of 4-(10-oxodecyl)benzoic acid oxime. It consists of a benzene ring with a hydroxamic acid group (-C(=O)NHOH) at the top position and a decyl chain (-O(CH₂)₁₀CH₃) at the para position.</p>	<u>28</u>	36

8.2 RAZPRAVA

8.2.1 Razprava k sintezi metilnih estrov aromatskih karboksilnih kislin

Pri sintezi smo izhajali iz 4-hidroksibenzojske kisline (**1**) oz. 2,4-dihidroksibenzojske kisline (**3**), ki smo ji dodali metanol in nato še H₂SO₄. Kislina je potrebna za aktivacijo COOH skupine, kar omogoči nukleofilni napad metanola. Nastala je spojina z zaščiteno karboksilno skupino (COOMe). Reakcijo smo spremljali s TLC. Pod UV-svetilko pri λ_{254} je bilo iz TLC razvidno, da se je pojavila nova lisa, in sicer višje od izhodne spojine. Zmes smo nato skoncentrirali na rotavaporju in produkt očistili tako, da smo ga prekrystalizirali iz vode (zmes smo zlili na led in odnučali kristale). Čistoto kristalov smo ponovno preverili s TLC, jih posušili v eksikatorju in za potrditev posneli ¹H NMR spekter, s katerim smo potrdili istovetnost in ustrezno čistoto spojine. Izkoristek reakcije je bil po pričakovanjih pri obeh spojinah zelo visok.

8.2.2 Razprava k sintezi arilalkilnih etrov

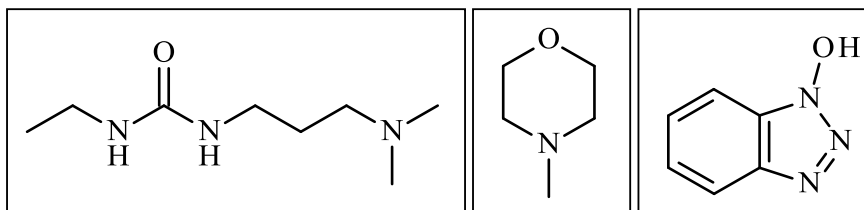
Pri sintezah etrov na para mestu smo izhajali iz metil 4-hidroksibenzoata (**2**). K_2CO_3 smo dodali, ker smo potrebovali bazo, ki odcepi proton s fenolne OH skupine, s čimer se poveča nukleofilnost zaradi nastanka fenolata ($Ph-O^-$), ki nato napade elektrofilni C atom alkilbromida ($CH_3-(CH_2)_n-CH_2-Br$), pri čemer nastane eter ($Ph-O-R$). Uporabili smo tudi katalizator faznega prenosa, saj imamo opravka z reagenti, za katere je značilna velika razlika v lipofilnosti. Dolgoveržni alkilbromidi so zelo lipofilni, fenolat pa je hidrofilen, zato med obema sodelujočima reagentoma brez prisotnosti katalizatorja faznega prenosa težko prihaja do interakcij. Pod UV-svetilko pri λ_{245} je bilo iz TLC razvidno, da se je pojavila nova lisa, in sicer višje od izhodne spojine. TLC smo za potrditev tudi orosili s fosfomolibdensko kislino, s katero se je obarval alkilbromid, ne pa tudi naš produkt.

8.2.3 Razprava k hidrolizi metilnih estrov

Metilne estre smo raztopili v THF, kot bazo dodali NaOH ter en dan segrevali pri refluxu. Pod pogoji bazične hidrolize smo ponovno odščitili karboksilno skupino. Ker se je $-COOH$ skupina nahajala v ionizirani obliki, ki je bila zelo težko topna v večini organskih topil, smo zmes nakisali in pretvorili karboksilatni ion v nedisociirano obliko. Po odstranitvi THF je spojina izpadla v obliki belih kristalov, ki smo jih odfiltrirali s presesavanjem in posušili. V primeru, da reakcijske zmesi nismo nakisali, je spojina sicer izpadla v obliki soli, vendar je bila nastala oborina neuporabna za nadaljnje reakcije, saj je bila netopna v večini organskih topil. Nakisanje reakcijske zmesi pred obarjanjem je bilo zato zelo pomembna stopnja pri sintezi teh spojin.

8.2.4 Razprava k sintezi zaščitениh hidroksamskih kislin

Derivate alkoksibenzojskih kislin smo raztopili v zmesi $THF/CH_2Cl_2 = 1:1$ in na $0\text{ }^\circ C$ med mešanjem dodali EDC. Šele po 2 urah smo dodali še HOBT, NMM in O-benzilhidroksilamonijev klorid in pustili mešati na sobni temperaturi (Slika 10).



Slika 9: EDC (levo), NMM (v sredini) in HOBT (desno)

EDC in HOBT se uporabljata v peptidni kemiji za aktivacijo karboksilne skupine, na katero pripenjamo primarne in sekundarne amine. Pri tovrstnih reakcijah običajno vse reagente dodamo naenkrat in nato po pretečenem času izoliramo produkt. V našem primeru smo bili omejeni z slabo topnostjo, saj je ob dodatku NMM karboksilna kislina izpadla v obliki soli in reakcija v tem primeru ni potekla. Slaba topnost je bila tudi razlog, zakaj smo uporabili zmes THF/CH₂Cl₂. Spojina je najprej reagirala z EDC, šele nato so potekle nadaljnje reakcije z HOBT, NMM in O-benzilhidroksilamonijevim kloridom. Slednji je reagent, ki se v reakciji pripne na aktivirano karboksilno skupino, pri čemer nastane zaščitena hidroksamidna vez (CONHOBz). Po 24 urah smo zmes topil odstranili pod znižanim tlakom in dodali diklorometan. Organsko fazo smo sprali z vodno raztopino citronske kisline, s katero smo iz organske faze odstranili NMM in EDC, nato smo organsko fazo sprali še z 1M raztopino NaOH, s katero smo odstranili HOBT in morebitne ostanke izhodne karboksilne kisline in na koncu še z nasičeno vodno raztopino NaCl, s katero smo odstranili vodo. Organsko fazo smo sušili nad brezvodnim Na₂SO₄ in uparili pod znižanim tlakom. Surovi produkt smo prekristalizirali iz etilacetata.

8.2.5 Razprava k odstranitvi benzilne zaščite

Zaščitene hidroksamske kisline smo raztopili v THF in raztopino prepihali z argonom. Nato smo dodali Pd/C, ki je reducent in 24 ur mešali v atmosferi H₂. Pri tej sintezni stopnji je šlo za hidrogenolizo, kjer smo odcepili benzilni del in nastala je hidroksamska kislina (CONHOH) ter toluen. Pd/C smo odstranili s filtracijo in uparili organsko topilo, s čimer smo se znebili tudi pri reakciji nastalega toluena. Surovi produkt smo nato prekristalizirali iz etilacetata. Pri tej reakciji smo morali biti pozorni predvsem na volumen topila, saj je nastala spojina slabo topna v izbranem topilu. Pri višji koncentraciji se zato obarja in nalaga na delce katalizatorja. Ta zato izgubi svoje katalitske lastnosti in posledično reakcija ne poteče do konca. Reakcije katalitskega hidrogeniranja smo zato vedno izvajali v zelo razredčenih raztopinah.

8.2.6 Razprava k sintezi oksiranskih derivatov

Pri sintezi smo izhajali iz metilnih estrov mono- ali dihidroksi benzojske kisline. Da bi se približali brezvodnim pogojem, smo bučko predhodno prepihali z argonom, nato smo vanjo natehtali NaH in dodali DMF. Zmes smo ohladili na ledu, da smo preprečili prekomerno segrevanje reakcijske zmesi zaradi burnega reagiranja NaH z izhodno spojino, ki smo jo dodali ohlajeni zmesi oz. z morebitno prisotno vodo (NaH burno reagira z vodo, pri čemer se sprošča vodik). Na sobni temperaturi smo zmes mešali še dve uri, da je nastala bistra raztopina, kar olajša potek nadaljnje reakcije. NaH je močna baza, ki odcepi proton s fenolne OH skupine, s čimer se poveča nukleofilnost zaradi nastanka fenolata (Ph-O^-), ki lahko napade najbolj elektrofilni in sterično najmanj ovirani C-atom epiklorhidrina ($\text{C}_{(9)}$).

Izkoristek reakcije je bil precej nizek, vendar smo se z njim zadovoljili, saj smo imeli veliko težav pri optimizaciji te reakcije in nam je vzela zelo veliko časa. Vsi poskusi so nazorneje predstavljeni v spodnji tabeli (Tabela 1).

Tabela 1: Prikaz poskusov sinteze in optimizacije sinteze spojine 6

POSKUS	TOPILO	BAZA	KATALIZATOR	T (°C)	NAČIN GRETJA	PRODUKT
1	aceton	K_2CO_3	DA	150	MW	v sledovih
2	DMF	K_2CO_3	DA	150	MW	v sledovih
3	Brezvodni THF	NaH	NE	80	konv.*	NE
4	MeOH	K_2CO_3	DA	150	MW	v sledovih
5	DMF	K_2CO_3	DA	120	konv.*	NE
6	DMF	NaH	NE	80	konv.*	NE
7	DMF	NaH	NE	50	konv.*	DA

*konvencionalno gretje

V prvem poskusu smo izvajali reakcijo v acetonu, kot bazo smo uporabili K_2CO_3 , dodali smo še katalizator faznega prenosa tetrabutilamonijev fluorid in epiklorhidrin. Reakcijo smo izvajali v mikrovalovki pri 150 °C in 15 bar in jo spremljali s TLC. Najprej smo reakcijo izvajali 10 min, jo nato podaljšali še za 10 min in zaradi minimalnih sprememb na

TLC poskusili še z večjim dodatkom K_2CO_3 nadaljnih 10 min, kar prav tako ni privedlo do opaznih razlik.

V drugem poskusu smo zamenjali topilo, namesto acetona vzeli DMF in izvedli enako reakcijo. V mikrovalovki smo jo izvajali 2-krat po 10 min, vendar reakcija ni potekla do konca. Zato smo poskusili še z večjim dodatkom epiklorhidrina in K_2CO_3 ter segrevali v mikrovalovnem reaktorju nadaljnih 10 min. Na TLC smo opazili le delni potek reakcije. Zaradi značilne težavne odstranitve DMF, smo se odločili, da poskusimo reakcijo izvesti še v kakšnem drugem topilu, s katerim ne bi imeli toliko dela pri odstranjevanju.

V tretjem poskusu smo izvedli reakcijo v brezvodnih pogojih in za topilo uporabili brezvodni THF, kot bazo pa smo uporabili NaH. Po dodatku epiklorhidrina smo mešali več dni na sobni temperaturi in nato še čez noč pri $80^\circ C$ pod refluxom v argonovi atmosferi ter spremljali reakcijo s TLC. Zmes smo ekstrahirali, posušili in posneli 1H NMR spekter, iz katerega pa nismo uspeli ugotoviti, če je produkt nastal.

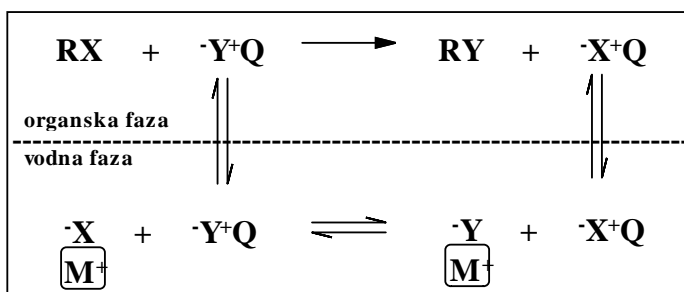
V četrtem poskusu smo za topilo uporabili metanol. Natehtali smo metil 4-hidroksibenzoat, K_2CO_3 , dodali epiklorhidrin, katalizator tetrabutilamonijev fluorid ter metanol in segrevali v mikrovalovnem reaktorju 10 min. Zmes smo nato očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in iz nekaj frakcij dobili zelo čist produkt glede na 1H NMR spekter. Te frakcije smo nato uporabili za standard. Izkoristek je bil še vedno premajhen za uporabo v nadaljnih sintezah.

V petem poskusu smo za topilo uporabili DMF, epiklorhidrin, za bazo pa smo vzeli K_2CO_3 in dodali še katalizator. Segrevali smo na $120^\circ C$, vendar je bilo po 20 urah na TLC preveč različnih lis in smo reakcijo ustavili.

V šestem poskusu smo želeli optimizirati reakcijo v DMF iz drugega poskusa. Izhodni spojini smo poleg DMF dodali še NaH in epiklorhidrin, segrevali pod refluxom pri $80^\circ C$ in spremljali s TLC. Po 20 urah smo vzorcu dodali etilacetat in raztopino sprali s citronsko kislino. Na TLC smo dobili veliko lis, predvidevali smo, da imamo verjetno prisotne razpadne produkte, zato smo v naslednjem poskusu uporabili manj ostre pogoje in znižali temperaturo z $80^\circ C$ na $50^\circ C$ ter zmanjšali količino dodanega NaH z 1,5 ekv. na 1,1 ekv. Po 20 urah smo reakcijsko zmes ekstrahirali v etilacetat in na koncu produkt očistili s "flash" kolonsko kromatografijo. Dobili smo bele igličaste kristale. Izkoristek je bil precej nizek, vendar smo se zaradi vseh predhodnih težav vseeno odločili, da bomo ta postopek uporabili za sintezo v večji količini.

Mikrovalovno segrevanje ima številne prednosti pred običajnim segrevanjem. Običajno segrevamo reakcijske zmesi s pomočjo različnih električnih peči ali v oljnih kopelih, kjer segrevanje poteka konvekcijsko ali kondukcijsko od zunanjih sten proti notranjosti reakcijske zmesi. Za segrevanje notranjosti je torej potrebno veliko več časa kot za segrevanje zunanjih delov, za kar potrošimo dodatno energijo. Pri mikrovalovnem segrevanju pa lahko segrejemo ciljne spojine brez segrevanja celotne peči ali oljne kopeli, s čimer prihranimo čas in energijo. Z mikrovalovnim segrevanjem torej pospešimo reakcijo, vplivamo na selektivnost reakcije, dobimo tudi višje izkoristke, obenem pa potrebujemo blažje pogoje in porabimo manj energije. Kljub vsem prednostim pa pri takem načinu segrevanja tvegamo, da pride do pojava lokalnega pregretja zaradi neenakomerne adsorpcije snovi, ki jo segrevamo.

Tetrabutylamonijev fluorid spada med katalizatorje faznega prenosa. Ti katalizatorji olajšajo prehod reaktanta iz ene v drugo fazo, kjer poteka reakcija. Brez njihove prisotnosti so namreč reaktanti ionske narave pogosto netopni v organski fazi, kjer poteka reakcija. Na ta način pospešimo reakcije v heterogenih sistemih, dosežemo večje izkoristke in se hkrati izognemo uporabi dražjih in nevarnejših topil, ki bi raztopila vse reaktante v eni fazi (Slika 9).



Slika 10: Princip delovanja katalizatorjev faznega prenosa

Podobna je bila tudi sintezna pot, kjer smo izhajali iz 2,4-dihidroksibenzaldehida (**12**). Tudi v tem primeru je bila potrebna optimizacija metode, ki je predstavljena v spodnji tabeli.

Tabela 2: Prikaz poskusov sinteze in optimizacije sinteze spojine **13**

POSKUS	TOPILO	BAZA	T IN ČAS SEGREVANJA	PRODUKT
1	voda	NaOH	sobna T, 20 ur	NE

2	DMF	NaH	50 °C, 48 ur	v sledovih
3a	voda/dioksan	NaOH	80 °C, 20 ur	v sledovih
3b	etanol	K ₂ CO ₃	80 °C, 20 ur	NE
3c	etanol	K ₂ CO ₃	120 °C, 20 ur	NE
4a	DMF	NaHCO ₃	80 °C, 2 uri	NE
4b	voda	NaHCO ₃	80 °C, 20 ur	NE
5	voda/dioksan	NaOH	80 °C, 4 ure	DA

V prvem poskusu smo za topilo uporabili vodo, kot bazo pa smo uporabili NaOH. Epiklorhidrin smo dodali na ledu, zmes pa smo mešali čez noč pri sobni temperaturi. Nato smo izvedli ekstrakcijo z diklorometanom in očistili organsko fazo s flash kolonsko kromatografijo. Reakcija na osnovi NMR-spektra ni potekla.

V drugem poskusu smo uporabili močnejšo bazo NaH in kot topilo brezvodni DMF. Po dodatku epiklorhidrina smo zmes segreli na 50 °C in pustili mešati pod refluxom 48 ur. Nato smo zmes skoncentrirali na rotavaporju, jo sušili z natrijevim sulfatom in jo odfiltrirali ter očistili s "flash" kolonsko kromatografijo. Izolirali smo produkt, vendar je bil zelo nečist, poleg tega tudi nismo bili zadovoljni z izkoristkom reakcije.

V tretjem poskusu smo hkrati nastavili tri reakcije: pri prvi (3a) smo za bazo uporabili NaOH, za topilo smo uporabili zmes vode in dioksana, ki smo ju segrevali pod refluxom 20 ur na 80 °C. Pri drugi (3b) smo za bazo uporabili K₂CO₃ in kot topilo EtOH, ter segrevali pod refluxom 20 ur na 80 °C. Za tretjo reakcijo (3c) smo kot bazo vzeli K₂CO₃ in segrevali 20 ur na 120 °C. Po 20 urah smo se na osnovi TLC odločili le za izolacijo spojine iz prve zmesi, zato smo zmes ekstrahirali in očistili s "flash" kolonsko kromatografijo. Nastalo je nekaj produkta, vendar je bil precej nečist, zato smo to reakcijo nastavili še enkrat in natančneje spremljali s TLC vsako uro, da bi ugotovili, kdaj nam produkt začne razpadati. Ugotovili smo, da je najboljši izkoristek po 4 urah, zato smo reakcijo nastavili še v večji količini, vendar je bila izhodna spojina še vedno prisotna v večji količini.

V četrtem poskusu smo nastavili še dve reakciji (eno v DMF(4a) in eno v vodi (4b)) in za bazo uporabili NaHCO₃. Segrevali smo na 80 °C pod refluxom in argonom. Reakcijo smo spremljali s TLC in po dveh urah ustavili reakcijo v DMF, reakcijo v vodi pa pustili čez noč. Reakcija v vodi ni potekla, zato smo ekstrahirali in očistili s "flash" kolonsko

kromatografijo samo reakcijsko zmes v DMF. Iz NMR eksperimenta smo razbrali, da je verjetno potekla oksidacija fenolnih OH skupin in želeni produkt ni bil prisoten.

V petem poskusu smo dodali več epiklorhidrina kot v prejšnjih poskusih (2 ekv.), zmes pa smo segrevali 4 ure na 80 °C pod refluxom in argonom. Dioksan smo po reakciji uparili in izvedli ekstrakcijo. Pred ekstrakcijo smo raztopino močno nakisali z 2M HCl in se tako znebili nastale oborine. Organsko fazo smo očistili s "flash" kolonsko kromatografijo in z NMR potrdili ustrezno strukturo produkta. To reakcijo smo nato uporabili za poskus sinteze z večjo količino izhodne spojine.

8.2.8 Razprava k reakciji odpiranja oksiranskega obroča

Oksiranske obroče v derivatih karboksilnih kislin in aromatskih aldehydov smo odpirali z različnimi alkilamini (R-NH₂). Aminska skupina ob tem deluje kot nukleofil (Nu⁻), ki povzroči odprtje epoksidnega obroča s pomočjo katalizatorja kalcijevega triflata. Reakcija je potekla pri sobni temperaturi. Te spojine na TLC in na koloni zaradi svojih bazičnih lastnosti niso potovale brez dodatka Et₃N, ki je pomaknil kislinsko-bazično ravnotežje v smer neprotonirane oblike spojine, ki pa je potovala.

V primeru aromatskih aldehydov smo reakcije izvajali v brezvodnih pogojih, zato smo uporabljali brezvodni THF kot topilo. Vse reakcije smo izvajali v atmosferi argona, kot bazo pa smo uporabili K₂CO₃. Reakcija v teh treh primerih ni potekla selektivno na oksiranskem obroču, kot smo želeli, ampak je alkilamin reagiral tudi z aldehydno skupino. Naš prvotni cilj je bil sicer pretvorba aldehydne (CHO) skupine v oksimsko (CH=N-OH). Kot pri vseh ostalih sinteznih produktih je bila tudi v tem primeru ena od zelo omejujočih težav slaba topnost vseh spojin, kar nas je posledično zelo omejevalo pri izbiri topil in tako močno oteževalo izbiro ustreznih pogojev za reakcijo in s tem najverjetneje tudi selektivnost reakcije.

9. SKLEP

Oksidativne reakcije pri številnih zdravilnih učinkovinah povzročijo kvarjenje, kar posledično lahko vodi do izgube učinka ali nastajanja toksičnih intermediatov, ki so lahko v nadaljnjih procesih udeleženi pri nastanku nekaterih bolezni. Te procese lahko delno preprečimo oziroma upočasnimo z ustreznimi pogoji shranjevanja teh učinkovin in pa z uporabo antioksidantov, ki jih dodajamo zdravilom.

V okviru diplomskega dela smo sintetizirali serijo novih antioksidantov z amfifilnimi lastnostmi. Za doseg tega cilja smo upoštevali zakonitosti, ki so nujne za načrtovanje tovrstnih spojin. Polarni del molekul predstavlja hidroksamska funkcionalna skupina, nepolarni del pa različno dolge nerazvejane alkilne verige. V nekaterih primerih smo med aromatski obroč in alkilno verigo vstavili še polarni distančnik.

Sintetizirali smo tudi spojine z dodatno hidroksilno skupino na aromatskem obroču, kjer sta bili sinteza in izolacija nekoliko bolj problematični. Zlasti pri derivatih, kjer smo izhajali iz dihidroksibenzaldehida, smo uspeli pripraviti le derivate, ki so imeli preko iminske vezi tudi na karbonilno skupino pripeto dolgoveržno alkilno verigo.

10. VIRI IN LITERATURA

- 1.) D. L. Nelson, M. M. Cox: Lehninger Principles of Biochemistry, 4th Ed., W. H. Freeman, New York, 2005
- 2.) R. Boyer: Temelji biokemije, Ljubljana: Študentska založba, 2005: 206-237
- 3.) A. J. Hulbert: Life, death and membrane bilayer,. The Journal of Experimental Biology 206, 2303-2311
- 4.) D. Voet, J. G. Voet: Biochemistry, 2nd Ed., John Wiley & Sons, 1995: 277-330
- 5.) J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer: Biochemistry, 5th Ed., W. H. Freeman; 2002: 12. poglavje
- 6.) O. Planinšek, S. Srčič: Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2007: 59-64
- 7.) M. L. Urso, P. M. Clarkson. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology 2003; 189: 41-53
- 8.) S. Pečar: Svetloba, radikali in fotodinamična terapija, Farmacevtski Vestnik 2008; 59: 138-142
- 9) B. Halliwell, J. Gutteridge: Free radicals in biology and medicine, 4th Ed., Oxford University Press Inc., New York 2007
- 10.) http://www.meta-synthesis.com/webbook/14_radical/radical.html
- 11.) B. Poljšak, I. Milisav: The neglected significance of »antioxidative stress«. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2012
- 12.) K. J. Davies: Oxidative stress: the paradox of aerobic life. Biochemical Society Symposium 1995; 61: 1-31
- 13.) Izbrana poglavja iz patološke fiziologije, 9. izdaja, urednik S. Ribarič, Medicinska fakulteta, Ljubljana, 2005, 15-36
- 14.) A. Perdih, S. Pečar: Katalitični antioksidanti kot nove zdravilne učinkovine, Farmacevtski Vestnik 2006; 57: 24-29

- 15.) H. Sies: Strategies of antioxidant defense, *Eur. J. Biochem.*1993; 215: 213-219
- 16.) K. J. A. Davies: Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems, *IUBMB Life*,2000; 50: 279-289
- 17.) A. E. Fazary, M. M. Khalil, A. Fahmy, T. A. Tantawy: The role of hydroxamic acids in biochemical processes. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences* 2001; 14:3, 109–116
- 18.) S. Y. Kwak, S. Lee, H. R. CHOI, K. C. Park, Y. S. Lee: Dual effects of caffeoyl-amino acidyl-hydroxamic acid as an antioxidant and depigmenting agent. School of Chemical and Biological Engineering, Seoul National University, Elsevir Ltd., 2011
- 19.) D. Pal, S. Saha: Hydroxamic acid- A novel molecule for anticancer therapy. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2012; 3: 92-99
- 20.) M. Z. Končić, Z. Rajić, N. Petrić, B. Zorc: Antioxidant activity of NSAID hydroxamic acids. *Acta Pharm.* 2009; 59: 235-242
- 21.) Y. H. Liu, S. Y. Lin, C. C. Lee, W. C. Hou: Antioxidant and nitric oxide production inhibitory activities of galacturonyl hydroxamic acid. *Food Chemistry*, 2008; 109: 159-166
- 22.) M. Zovko Končić, M. Barbarić, I. Perković, B. Zorc: Antiradical, Chelating and Antioxidant Activities of Hydroxamic Acids and Hydroxyureas. *Molecules*, 2011; 16: 6232-6242
- 23.) H. S. Rho, H. S. Baek, B. S. Lee, J. H. Kim, D. H. Kim, I. S. Chang: New Hydroxamic Acid Derivative Prevents Sq-OOH Induced Wrinkle. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2006; 27: 115-118