

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

LEJA TRDAN

**SINTEZA 4-(BENZILOKSI)ANILINSKIH DERIVATOV
KLATRODINA**

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Leja Trdan

Sinteza 4-(benziloksi)anilinskih derivatov klatrodina

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za farmacijo



LEJA TRDAN

**SINTEZA 4-(BENZILOKSI)ANILINSKIH DERIVATOV
KLATRODINA**

**SYNTHESIS OF 4-(BENZYLOXY) ANILINE DERIVATIVES
OF THE CLATHRODIN**

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Eksperimentalni del magistrske naloge sem opravljala na katedri za farmacevtsko kemijo Fakultete za farmacevtsko farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm. Spektroskopske meritve so bile opravljene na Fakulteti za farmacijo, Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo in na Inštitutu Jožef Stefan v Ljubljani.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Mariji Sollner Dolenc, mag. farm. za ves vložen trud, čas, strokovno pomoč in spodbudne besede. Zahvaljujem se tudi vsem ostalim na Katedri za Farmacevtsko kemijo, ki so mi pomagali pri opravljanju eksperimentalnega dela, še posebej ge. Damjani Zalar in gdč. Martini Tekavec.

Iskrena hvala mojim domačim, ki so mi nudili podporo, me vzpodbujali in zaupali vame skozi vsa študijska leta. Zahvaljujem se tudi prijateljem, s katerimi sem preživela najlepše obštudijske trenutke.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo izdelala samostojno pod vodstvom mentorice prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm.

Leja Trdan

Predsednik magistrske komisije: prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.

Član magistrske komisije: doc. dr. Rok Dreu, mag. farm.

KAZALO

1. UVOD.....	1
1.1. ZNAČILNOSTI IN DELITEV ALKALOIDOV	2
1.1.1. <i>Delitev alkaloidov</i>	3
1.2. VLOGA IN TOKSIČNOST ALKALOIDOV	4
1.3. SPUŽVE KOT VIR BIOAKTIVNIH SPOJIN	5
1.4. RAZRED TIPIČNIH MORSKIH ALKALOIDOV: BROMOPIROLI.....	6
1.5. KLATRODIN.....	8
1.5.1. <i>Vpliv klatrodina na natrijeve kanalčke</i>	9
2. NAMEN DELA	13
2.1. REAKCIJSKE SHEME.....	15
3. MATERIALI IN METODE	18
3.1. MATERIALI.....	18
3.2. METODE	18
3.2.1. <i>Kromatografske metode</i>	18
3.2.2. <i>Spektroskopske metode</i>	19
3.2.3. <i>Določevanje tališč</i>	19
4. EKSPERIMENTALNI DEL.....	20
4.1. SINTEZA N-(4-(4-CIANOBENZILOKSI)FENIL) ACETAMIDA (1)	20
4.2. SINTEZA N-(4-((4-(AMINO(HIDROKSIIMINO)METIL)BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (2)	21
4.3. SINTEZA N-(4-((3-CIANOBENZIL)OKSI)FENIL) ACETAMIDA (3)	23
4.4. SINTEZA N-((4-(3-(AMINO(HIDROKSIIMINO)METIL)BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (4)	24
4.5. SINTEZA N-(4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL) BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (5).....	27
4.6. SINTEZA 4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL) BENZIL)OKSI)FENILAMINA (6)....	28
4.7. SINTEZA N-(4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-KARBOKSAMIDA (7)	31
4.8. SINTEZA 3-METIL-N-(4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIOFEN-2-KARBOKSAMIDA (8).....	32
4.9. SINTEZA N-(4-((4-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL) ACETAMIDA (9)	35
4.10. SINTEZA 4-((4-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENILAMINA (10).....	36

4.11.	SINTEZA N-(4-((4-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-KARBOKSAMIDA (11).....	39
4.12.	POIZKUS SINTEZE N-4-((4-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)-1H-PIROL-2-KARBOKSAMIDA (12)	42
4.13.	SINTEZA N-(4-((3-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (13).....	43
4.14.	SINTEZA 4-((3-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL) BENZIL)OKSI) FENILAMINA (14). .	44
4.15.	SINTEZA N-(4-((3-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL) BENZIL) OKSI)FENIL)TIAZOL-2-KARBOKSAMIDA (15)	47
4.16.	SINTEZA N-(4-((3-(5-(FLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL) BENZIL) OKSI) FENIL ACETAMIDA (16).....	48
4.17.	SINTEZA 4-((3-(5-TRIFLUOROMETIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI) FENILAMINA (17).....	51
4.18.	SINTEZA N-(4-((3-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-KARBOKSAMIDA (18).....	52
5.	REZULTATI IN RAZPRAVA	54
5.1.	PRIPRAVA ETROV 1 IN 3.....	54
5.2.	TVORBA AMIDOKSIMOV 2 IN 4	55
5.3.	TVORBA 3, 5-DISUBSTITUIRANIH-1,2,4-OKSADIAZOLOV 5, 9, 13 IN 16.....	56
5.4.	HIDROLIZA AMIDNE VEZI – SINTEZA SPOJIN 6, 10, 14 IN 17.....	58
5.5.	TVORBA AMIDNE VEZI – SINTEZA SPOJIN 7, 8, 11, 12, 15, 18	60
6.	SKLEPI.....	62
7.	LITERATURA.....	64

I. POVZETEK

Alkaloidi spadajo v skupino sekundarnih presnovkov, ki imajo ključno vlogo pri zaščiti organizma pred škodljivimi vplivi. Pojavljojo se predvsem v rastlinah, našli pa so jih tudi v živalih, glivah in mikroorganizmih. Zaradi zaščitne vloge imajo nemalokrat toksično delovanje, ki so ga ljudje že v preteklosti izrabljali za lov in obrambo. Pogosto se uporablajo v farmakološke namene za zdravljenje širokega spektra obolenj ali pa predstavljajo spojine vodnice za pripravo terapevtsko uporabnih učinkovin. Pomembni vir biološko aktivnih spojin so morske spužve, ki proizvajajo tudi alkaloide iz bromopirolne skupine. Morska spužva *Algelas clathrodes*, ki so jo našli v Karbiskem morju, proizvaja nevrotoksin klatrodin. Ta izkazuje potencialno možnost za protitumorno delovanje, raziskovali pa so predvsem njegov vpliv na natrijeve kanale. Na podlagi njegove strukture izhajamo pri načrtovanju številnih spojin, ki bi lahko imele farmakološke učinke.

V okviru magistrskega dela smo sintetizirali 4-(benziloksi)anilinske derive klatrodina. Najprej smo iz N-(4-hidroksifenil)acetamida in 4-(bromometil)benzonitrila oz. 3-(bromometil)benzonitrila pod vplivom močne baze tvorili ustrezna etra z nitrilno skupino na para (**1**) oz. meta (**3**) mestu fenilnega obroča. Z adicijo hidroksilamina na nitrilno skupino smo pripravili amidoksim z amidoksimsko skupino na para (**2**) oz. meta (**4**) mestu fenilnega obroča. Iz dobljenih amidoksimov smo z anhidridom acetne kisline in anhidridom trifluoroacetne kisline tvorili 3,5-disubstituirane-1,2,4-oksadiazolske obroče in tako dobili spojine **5**, **9**, **13** in **16**. S kislo hidrolizo amidne vezi do amina smo pripravili spojine **6**, **10**, **14** in **17**. Z njimi smo v zadnji stopnji tvorili amidne vezi z različnimi kislinami (1,3-tiazol-2-karboksilna kisina, 5-metil-2-tiofen karboksilna kisina, pirol-2-karboksilna kisina) s pomočjo reagenta za aktivacijo karboksilne kisline (»coupling« reagent) TBTU ter tako dobili končne spojine **7**, **8**, **11**, **12**, **15**, **18**. Vsem spojinam (razen spojini **12**) smo potrdili strukturo s spektrofskimi metodami. Čistost smo preverjali z elementno analizo in določitvijo intervala tališča. Za sintetizirane analoge klatrodina pričakujemo, da se bodo vezali na iste tarče kot klatrodin.

II. ABSTRACT

Alkaloids are a group of secondary metabolites that play a key role in protecting organism against harmful effects. They arise primarily in plants, but they were also found in animals, fungus and microorganisms. Due to the protective role they often have toxic action, which people have exploited in the past for hunting and defense. They are often used in the pharmacological purposes for the treatment of a wide range of diseases or they represent lead compounds for the production of therapeutic useful compounds. Important source of biologically active compounds are sea sponges. They produce also alkaloids from the group of bromopyrroles. Marine sponge *Algelas clathrodes*, which was found in the Caribbean sea, produces neurotoxin clathrodin. Clathrodin demonstrates the potential for the antitumor action but primarily its effect on the sodium channels was studied. On the basis of his structure other substances with pharmacological effect could be synthesized.

We synthesized 4-(benzyloxy)aniline derivatives of the clathrodin. We first made an appropriate ether, with nitrile group on the para (**1**) or meta (**3**) position of the phenyl ring, from N-(4-hydroxyphenyl)acetamide and 4-(bromomethyl)benzonitrile or 3-(bromomethyl)benzonitrile under the influence of strong base. We formed amidoxime with amidoxime group in the para (**2**) or meta position (**4**) of the phenyl ring with adition of hydroxylamine on the nitrile group. We formed 3,5-disubstituted-1,2,4-oxadiazoles **5**, **9**, **13**, **16** from the obtained amidoximes and anhydride of acetic and threefluoroacetic acid. With the acid hydrolysis of the amide bond we prepared amines **6**, **10**, **14** and **17**. In the last step we formed amide bond between obtained amines and various acids (1,3-thiazol-2-carboxylic acid, 5-methyl-2-thiophene carboxylic acid, pyrrole-2-carboxylic acid) with aid of reagent for the activation of the carboxylic acid (»coupling« reagent) TBTU and thus get the final compounds **7**, **8**, **11**, **12**, **15**, **18**. We confirmed structure by spectrographic method to all compounds except to **12**. We determined purity by elemental analysis and determination of melting interval. For the synthesized analogues of clathrodin we expect that they will bind to the same target as clathrodin.

III. SEZNAM OKRAJŠAV

b.v.	brezvodno
CLA	klatrodin
DBS	dibromoskeptrin
d	dublet
DKM	diklorometan
DMSO-d ₆	devteriran dimetil sulfoksid
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> - deoksiribonukleinska kislina
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i> – visokoločljivostna tekočinska spektroskopija
IR	infrardeča spektroskopija
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> – mednarodno združenje za čisto in uporabno kemijo
Mr	relativna molekulska masa
MS	masna spektroskopija
Na _v	<i>voltage-gated sodium channel</i> -napetostno odvisen natrijev kanal
NMM	N-metilmorfolin
Rf	retencijski faktor
rs	razširjen singlet
s	singlet
ST _X	saksitoksin
TBTU	N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)-uronijev tetrafluoroborat
THF	tetrahidrofuran
TEA	trietylamin
TLC	<i>thin layer chromatography</i> – tankoplastna kromatografija
t	triplet
UV	ultravijolični žarki

UVOD

Rastline proizvajajo široko paleto organskih spojin, ki jih razvrščamo med primarne in sekundarne presnovke. Primarni presnovki so spojine, ki imajo pomembno vlogo pri osnovnih življenjskih procesih, kot so: fotosinteza, dihanje, rast in razvoj. Ostali rastlinski produkti spadajo med sekundarne presnovke. Ti imajo ključno vlogo pri zaščiti rastline pred mikroorganizmi, paraziti, virusi in UV žarki. Večino sekundarnih produktov lahko delimo v razrede glede na strukturne podobnosti, biosintezne poti ali glede na vrsto rastlin, ki jih izdelujejo. Po delitvi glede na biosintezni izvor jih razvrščamo v tri večje razrede: (i) flavanoide in sorodne fenolne ter polifenolne spojine, (ii) terpene in (iii) alkaloide(1).

Poznanih je več različnih definicij termina alkaloid, ki so se skozi čas spremajale. Izraz alkaloid je skoval Carl Meissner leta 1819 iz arabskega imena al-qali (arabsko ime za rastlino, iz katere so prvič pridobili kalijev karbonat) in ga definiral kot farmakološko aktivno spojino, ki vsebuje dušik. Francoski kemik Pelletier je alkaloide označil kot ciklične organske spojine, ki vsebujejo dušik v negativni oksidacijski stopnji in so v omejenem obsegu razširjene med živimi organizmi. Ta definicija izključuje spojine, kot je meskalin, ki je po kasnejših opisih uvrščen med alkaloide. Stollova definicija označuje te spojine kot baze, ki vsebujejo dušik in so rastlinskega izvora. Tu je jasno izločeno živalsko kraljestvo kot vir teh spojin, čeprav so jih kasneje odkrili pri mravljah, dvoživkah in morskih organizmih ter ovrgli to definicijo. Hesse je alkaloide definiral kot spojine, ki vsebujejo dušik, so naravnega izvora in izkazujejo večjo ali manjšo stopnjo bazičnosti (2).

Prvi odkriti alkaloid je bil morfin. Iz opija ga je leta 1806 izoliral F. Sertürner. Zaradi uspavalnega učinka ga je poimenoval po bogu spanja (Morfej). Pozneje so iz različnih rastlin izolirali številne nove alkaloide, tako da jih je danes znanih okrog 12000. Le majhen del jih uporabljam v terapiji. Nekatere od teh sintetizirajo ali pridobivajo polsintezno. Prvi sintezno pridobljen alkaloid je bil koniin, alkaloid pikastega mišjaka. Leta 1886 ga je sintetiziral A. Ladenburg (3) .

1.1. ZNAČILNOSTI IN DELITEV ALKALOIDOV

Večina alkaloidov je trdih, kristaliničnih ali amorfnih spojin, alkaloidi brez kisika v molekuli pa so tekoči, na primer nikotin in koniin. Skoraj vsi so bele barve, izjemi sta rumeni berberin in rdeči sangvinarin. Večina je bolj ali manj grenkega okusa, kapsacin je pekoč, medtem ko kokain povzroča prehodno neobčutljivost jezika. Alkaloidi so netopni v vodi in lahko topni v organskih topilih. S kislinami nastanejo vodotopne soli. Razširjeni so predvsem v dvokaličnicah. V enokaličnicah so prisotni predvsem psevdalkaloidi. V prokariontih, glivah, algah, mahovih, praprotnicah in golosemenkah so alkaloidi redki. Alkaloidne sintetizirajo tudi nekatere živali: smraduh, krastače, močerad in tropске ribe ter spužve (slika 1). Alkaloidne droge se uporabljam za izolacijo alkaloidov. Iz nekaterih pripravljam tudi tinkture, na primer tinkturo paprike, opija, kininovca in strihninovca. Učinek večine alkaloidov je zelo močan, zato jih vgrajujemo v farmacevtske oblike s standardizirano vsebnostjo. Prevladujejo zdravila, ki se izdajo na recept (3). Farmakološko jih delimo na: antiholinergike (atropin, hiosciamin, skopolamin, fiziostigmin, galantanin), antimalarike (kinin), antihipertenzive (rezepin, protoveratin), antitusike (kodein), centralne stimulanse (kofein), diuretike (teofilin, teobromin), učinkovine za zdravljenje protina (kolhicin), lokalne anestetike (kokain), narkotike (kodein, morfin), antitumorne učinkovine (vinkristin, vinblastin), učinkovine za zdravljenje povišanega očesnega tlaka (pilotkarpin), simpatomimetike (efedrin) (4).

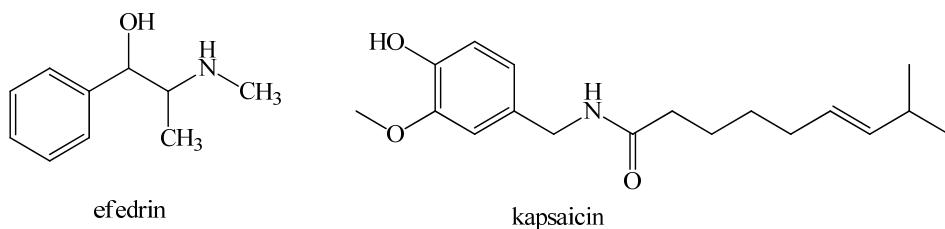


Slika 1: Navadni močerad (*Salamandra salamandra*) (5) in morska krastača (*Bufo marinus*) (6).

1.1.1. Delitev alkaloidov

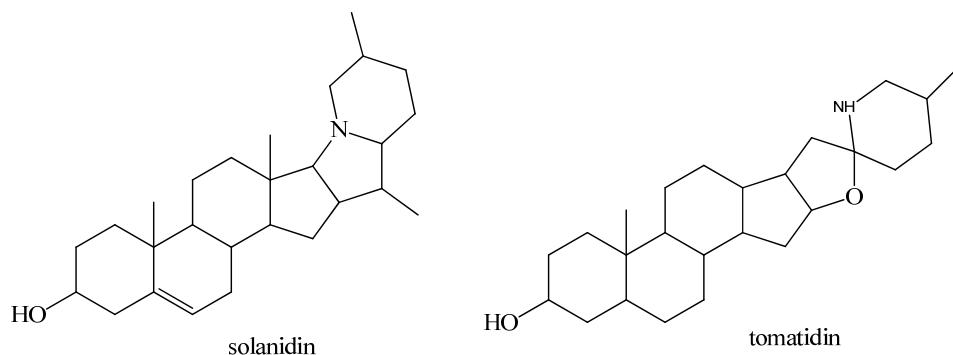
Alkaloide delimo na različne načine.

1. *Farmakološka delitev* temelji na klinični uporabi ali farmakološki aktivnosti. Tak primer so analgetični alkaloidi in kardioselektivni alkaloidi.
2. *Taksonomska klasifikacija* temelji na družini ali rodu rastline, iz katere izhaja alkaloid.
3. *Kemična klasifikacija* temelji na kemični strukturi alkaloida. Opira se predvsem na bazično strukturo obroča. Na primer atropin je tropanski alkaloid, kinin je uvrščen med kinolinske alkaloide, stihnin, rezerpin in ergometrin pa spadajo med indolne alkaloide(7).
4. Najbolj znana je delitev glede na *biosintezni izvor*. Temelji na tipu prekurzorja, ki ga rastline uporabljajo za sintezo alkaloida. Po tej delitvi alkaloide razvrstimo v tri večje skupine.
 - *Protoalkaloidi* so enostavni amini, v katerih dušikov atom ni del heterocikla. So bazični in v rastlinah nastajajo iz aminokislin. Mednje spadajo: efedrin, kapsaicin, kolhicin in meskalin (slika 2).



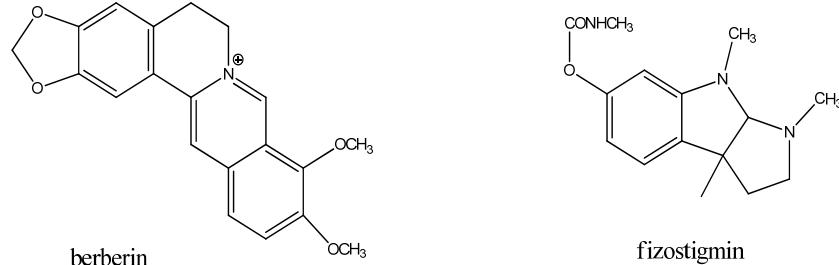
Slika 2: Predstavnika protoalkaloidov: efedrin in kapsaicin (3).

- *Psevdooalkaloidi* imajo lastnosti alkaloidov, vendar ne nastajajo iz aminokislin. Dušik se med biosintezo vgradi v neaminokislinsko spojino. Mednje spadajo: solanidin, akonitin, koniin (slika 3).



Slika 3: Predstavnika psevdoalkaloidov solanidin in tomatidin (3).

- *Pravi alkaloidi* imajo lastnosti alkaloidov. Njihove molekule sestavljata dva dela: spojina z dušikom in spojina brez dušika. Spojina z dušikom je lahko aminokislina, piridinski obroč iz piridinskih nukleotidov ali purinski obroč iz purinskih nukleotidov. Spojina brez dušika je lahko acetat, acetoacetat, izoprenoid, sekoiridoid ali deaminirana aminokislina. V to skupino spadajo: tubokurarin, berberin, morfin, kokain, dopamin in fizostigmin (slika 4) (3) (8).



Slika 4: Predstavnika pravih alkaloidov berberin in fizostigmin (3).

1.2. VLOGA IN TOKSIČNOST ALKALOIDOV

Alkaloidne droge so poznane že od začetkov civilizacije. Uporabljali so jih v šamanizmu za pripravo raznih zvarkov, v tradicionalni medicini za pripravo čajev ter drugih zdravilnih napitkov in kot orožje za obrambo in lov. Še danes iščemo možnosti za njihovo varno uporabo, saj so lahko zelo strupeni. Najpomembnejšo vlogo imajo alkaloidi pri preživetju organizma v naravi, saj ga ščitijo pred plenilci, insekti, mikroorganizmi in virusi. Rastline se pred rastlinojedci zaščitijo predvsem z alkaloidi grenkega okusa - kinin, strihnin in brucin so izjemno grenki. V nekaterih rastlinah se pojavljajo alkaloidi kot herbicidi in z

njimi uničijo rastlino, ki jim omejuje življenski prostor. Te substance so našli tudi pri številnih morskih organizmih (8) (9).

Skozi evolucijo so se strukture alkaloidov izpopolnile tako, da so lahko uspešno učinkovale na tarče v potencialnih sovražnikih. Ti toksini delujejo na več nivojih. Lahko delujejo na: DNA in z njem povezane encime, citoskelet, sintezo proteinov in membransko prepustnost. Delovanje alkaloidov na receptorje v živčevju, ionske kanale in druge elemente živčno signalizirane verige prenosa je bolj specifično in predstavlja močno orožje proti naravnim sovražnikom (10).

1.3. SPUŽVE KOT VIR BIOAKTIVNIH SPOJIN

Spužve so ene najbolj uspešnih živalskih vrst. Nimajo pravih tkiv in organov. Celice spužev niso strogo specializirane kot pri pravih mnogoceličnih organizmih in so funkcionalno zelo prilagodljive. V odraslem stanju so skoraj vse pritrjene, večina vrst nima izrazite oblike, naprednejše oblike spužev pa tudi ne radialne simetrije (11). Tesno so povezane z mikroorganizmi (alge, cianobakterije, glive in bakterije), saj le-ti lahko predstavljajo kar do 40 % njihove suhe mase. Ravno to predstavlja problem pri izolaciji in določitvi bioaktivnih spojin, saj se velikokrat pojavi dvom ali substanco proizvaja spužva ali določena vrsta mikroorganizmov, ki živi z njem v simbiozi. Poleg tega za izolacijo potrebujemo veliko količino spužev in s tem resno ogrozimo stabilnost njihovega ekosistema. V nekaterih deželah je to nezakonito (12).

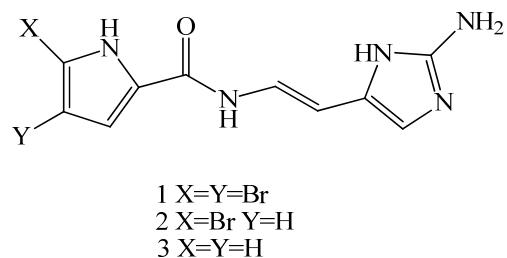
Morske spužve predstavljajo enega največjih virov aktivnih spojin, ki imajo antibakterijsko, protivirusno delovanje in delovanje proti parazitom. Iz njih so izolirali več kot 5300 različnih produktov. Vsako leto se pojavi še približno 200 novih presnovkov iz teh organizmov. Nekateri imajo potencial za uspešno klinično uporabo. Sem spadajo na primer spongistatini, ki delujejo proti raku; menzamin z učinkovitim delovanjem proti malariji, tuberkulozi in HIV-u; psamafilin A s protibakterijskim učinkom in še mnogi drugi. Po vzoru spongouridina in spongotimidina so sintetizirali protivirusno učinkovino ara-A (vidarabin), ki je vodila v razvoj aciklovirja, ki se uporablja za zdravljenje herpesa in kot zdravilo za ADIS. Citarabin iz spužve *Cryptotheca crypta* se rutinsko uporablja za

zdravljenje levkemije in limfoma. Diskodermolid, izoliran iz redkih globokomorskih spužev, pa ima imunosupresiven učinek (12).

1.4. RAZRED TIPIČNIH MORSKIH ALKALOIDOV: BROMOPIROLI

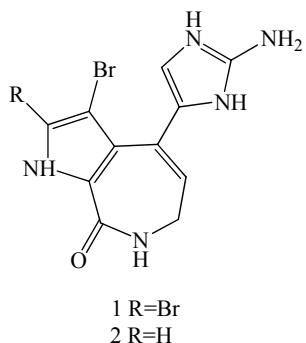
Veliko skupino sekundarnih presnovkov morskih spužev predstavljajo alkaloidi bromopiroli, ki imajo funkcijo zaščite pred plenilskimi ribami. Večinoma vsebujejo 2-amino-imidazolski fragment, ki se v kopenskem okolju zelo redko pojavlja. Glavni predstavnik te skupine je oroidin, ki je bil izoliran leta 1971 iz spužve *Algeas oridides* (10). Ugotovili so, da zaustavlja razrast biofilma morskih α -proteobakterij (13). Do danes so izolirali že približno 150 tovrstnih spojin. V zadnjih letih so uspeli sintetizirati že kar nekaj njegovih derivatov, kot so agelastatin, himenin, stevensin, himenialdizin, himenidin, klatrodin (14-16). Bromopirole na podlagi kemijske sestave delimo v štiri skupine.

1. Oroidinu podobni linearni monomeri – imajo strukturo oroidina brez dodatnih C-N in C-C vezi (slika 5).



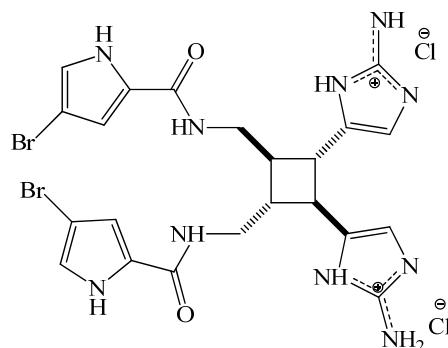
Slika 5: Predstavnika oroidinu podobnih linearnih monomerov: oroidin (**1**), himenidin (**2**) in klatrodin (**3**) (10).

2. Polyciklični derivati oroidina – pri teh strukturah gre za ciklizacijo oroidina ali oroidinu podobnih monomerov (slika 6).



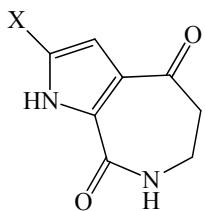
Slika 6: Predstavnika policikličnih derivatov oroidina: setvensin (**1**) in 2-debromosetvensin (**2**) (10).

3. Enostavni ali ciklični dimeri oroidina (slika 7)



Slika 7: Predstavnik enostavnega cikličnega dimera skeptrina (10).

4. Ostali bromopirolni alkaloidi – niso vključeni v prejšnje skupine, ker ne vsebujejo imidazolnih in pirolnih delov (slika 8).



1 X=Br
2 X=H

Slika 8: Predstavnika ostalih bromopirolnih alkaloidov: bromoalldizin (**1**) in alldizin (**2**) (10).

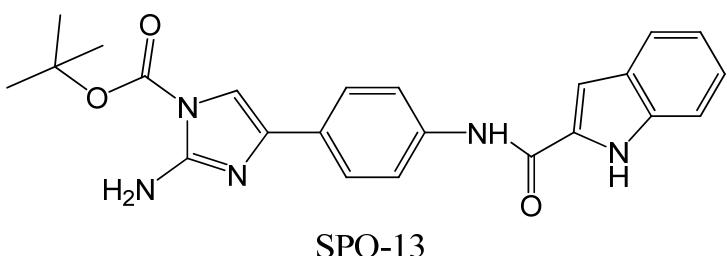
1.5. KLATRODIN

Klatrodin je alkaloid pridobljen iz tropske morske spužve iz rodu *Agelas clathrodes* (slika 9). To spužvo so našli 10 metrov pod morsko gladino na morskih grebenih v Karibskem morju (17). Klatrodin je po kemijski sestavi 2,3-debromo derivat oroidina in spada v skupino oroidinu podobnih linearnih monomerov (slika 6) (10). Ugotovili so, da ima spojina nevrotoksično aktivnost. Deluje tako, da vpliva na ionsko prevodnost natrijevih kanalčkov (18). Pred kratkim so ugotovili, da klatrodin deluje tudi antineoplastično (19).



Slika 9: Spužva iz rodu *Agelas clathrodes* (20).

Na podlagi strukture klatrodina so sintetizirali tudi spojino SPO-13 (slika 10), za katero so dokazali apoptotično aktivnost. Pri načrtovanju novih spojin z apoptotičnim delovanjem so izhajali iz njene strukture in sintetizirali vrsto analogov ter poskušali ugotoviti povezavo med njihovo strukturo in delovanjem. Ugotovili so, da k apoptotični aktivnosti prispeva terc-butiloksikarbonilna skupina, ki je vezana na imidazolni dušik in da zamenjava amidne skupine z metilen aminsko skupino zmanjša apoptotično aktivnost. Točne povezave med strukturo in delovanjem pa do sedaj še niso uspeli dognati (21).



Slika 10: Strukturna formula spojine vodnice (SPO-13) (21).

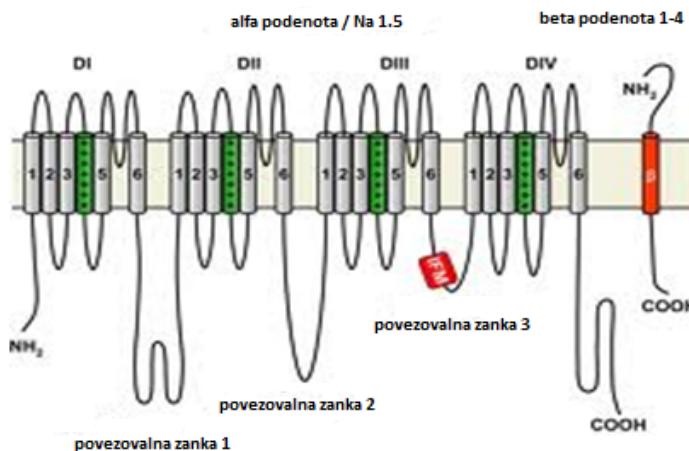
1.5.1. Vpliv klatrodina na natrijeve kanalčke

1.1.1.1. Natrijevi kanalčki

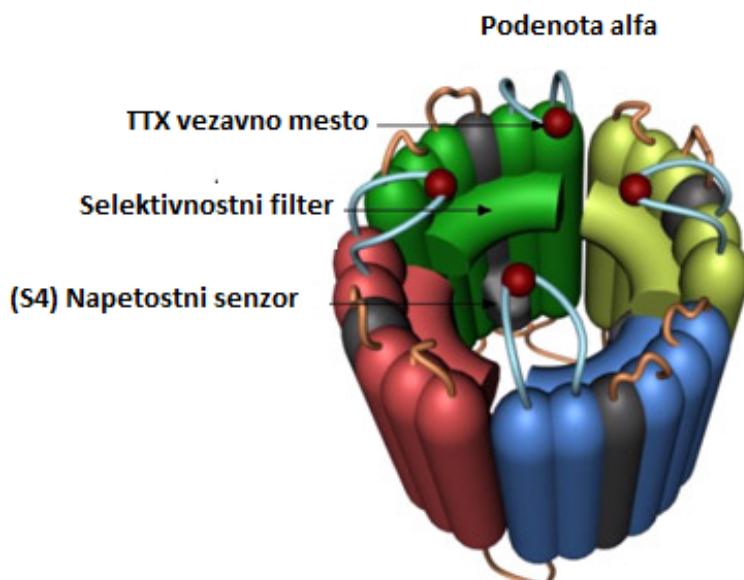
Natrijevi kanalčki (Na_v) spadajo v skupino napetostno odvisnih ionskih kanalov, kamor spadajo tudi kalcijevi in kalijevi kanalčki. Ti se odpirajo ob spremembi membranskega potenciala. Nahajajo se predvsem v nevronih in skeletnih mišicah, najdemo pa jih tudi v srčni mišici. Njihovo inaktivacijo povzročajo številna zdravila iz skupine anestetikov, antikonvulzivov in antiaritmikov (22-23). Poznamo različne izoformne oblike natrijevih kanalčkov. V centralnem živčnem sistemu so razširjeni Na_v 1.1-1.3 in Na_v 1.6, v skeletnih mišicah najdemo Na_v 1.4, v srčni mišici Na_v 1.5 in v perifernem živčevju Na_v 1.7-1.9. Povečana aktivnost natrijevih kanalčkov povzroča prekomerno vzburjenje specifičnih skupin celic, kar povzroči različna nevrodegenerativna obolenja, kronično bolečino, epilepsijo, aritmije in krče. Mutacije genov za tovrstne kanalčke so opazili v srcu, možganih, skeletnih mišicah in perifernem živčevju. Mutacije genov na izoformah Na_v 1.1 in Na_v 1.2 lahko povzročijo epilepsijo in migreno. Mnoge predklinične raziskave so pokazale, da so mutacije na izoformah Na_v 1.3, Na_v 1.7, Na_v 1.8, Na_v 1.9 povezane s spontano kronično bolečino. Mutacije na izoformi Na_v 1.4 povzročajo hiperaktivnost

skeletnih natrijevih kanalčkov in posledično miotonijo, mutacije na izoformi Na_v 1.5 pa pripeljejo do srčnih abnormalnosti (24).

Natrijevi kanalčki (slika 11 in 12) so membranski proteini, ki so sestavljeni iz večje α in več β -podenot. Podenota α lahko samostojno deluje, tudi če se β -podenota ne izrazi. Ko se na α -podeno podenoto pripne β -podenota, ki je zadolžena za napetostno odvisnost kanalčka, pa to omogoči celotno funkcijo in lokalizacijo kanalčka. Podenota α natrijevega kanalčka je sestavljena iz štirih homolognih domen (I-IV), vsako od teh pa sestavlja šest membranskih segmentov (S1-S6) s citoplazemskimi N- in C-terminalnimi konci. Citoplazemska III-IV zanka je zadolžena za hitro inaktivacijo kanala (25). Vsako od glavnih domen lahko razdelimo na napetostno občutljivo domeno (S1-S4) in domeno, ki tvori poro (S5-S6). Zunanji del pore iz vseh štirih homolognih ponovitev α -podenote vsebuje štiri negativno nabite aminokislinske ostanke glutamina. To je najožji del pore, ki je odgovoren za ionsko selektivnost. Širina pore ustreza prehodu iona v velikosti enega natrija z dvema molekulama vode. Napetostno občutljiva domena vsebuje vidni S4 segment, ki ima argininske ali lizinske ostanke. Depolarizacija membrane povzroči njihov premik. Segment S4 se ob spremembri transmembranske napetosti premakne proti zunanji strani celične membrane, vendar kljub temu ohrani svojo transmembransko pozicijo tudi v aktivnem stanju. Segment S2 ima podobno vlogo kot segment S4, saj je to njegov komplementarni kislinski del. Po napetostni aktivaciji pride do konformacijske spremembe blizu stičišča S6 heliksa proti citoplazemskemu koncu prevodne pore in posledično do odprtja kanala. Inaktivacija lahko nastopi hitro z vezavo III-IV zanke na receptor blizu citoplazemskega S6 konca ali počasi z inaktivacijskimi procesi, ki zajemajo konformacijske spremembe v selektivnem filtru blizu zunanjega dela pore (26).



Slika 11: Shematska predstavitev natrijevega kanalčka (27).



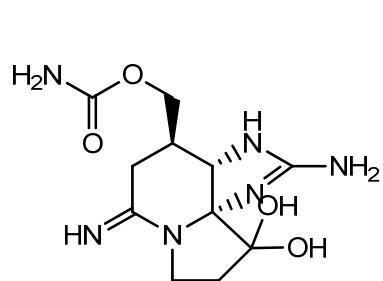
Slika 12: Prostorska predstavitev natrijevega kanalčka (28).

1.1.1.2. Vpliv klatrodina in dibromoskeptrina na natrijeve kanalčke

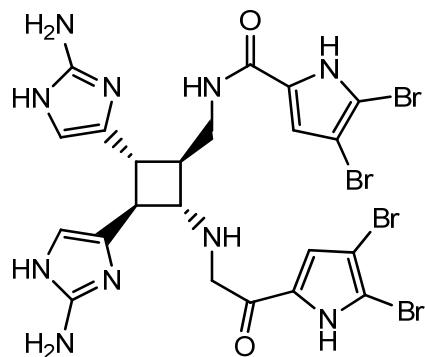
Nedavno so ugotavljali vpliv klatrodina (CLA) in dibromoskeptrina (DBS) na Na_v . Obe spojini sta na celicah, izoliranih iz simpatičnega ganglija piščančjega zarodka, znižali povprečno maksimalno amplitudo notranjega toka Na^+ za 27-40%. Poizkusi, pri katerih so žabjo mišico izpostavili napetosti, so pokazali, da oba toksina spremenita napetostno odvisne ionske tokove. CLA povzroči prezgodne povečanje toka ionov, temu pa sledi popolna inhibicija. DBS takoj povzroči popolno blokado toka ionov. Iz tega lahko

povzamemo, da DBS deluje na napetostno odvisno inaktivacijo kanala, CLA pa deluje na ionsko prevodnost kanala (26) (18).

CLA in DBS se vežeta na vezavno mesto za saksitoksin (ST_X), vendar čisto natančna tarča vezave teh toksinov še ni poznana. Saksitoksin je nevrotoksičen alkaloid, ki je prisoten v morskih školjkah in napihovalkah. Prepreči depolarizacijo membrane preko blokade napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov, kar privede do paralize mišic. Študije z radiološko označenimi ligandi so pokazale, da DBS v 90% prepreči vezavo radiološko označenega ST_X na natrijeve kanalčke v sinapsah mišjih možganov, medtem ko CLA prepreči vezavo tega toksina le v 30% (18).



saksitoksin

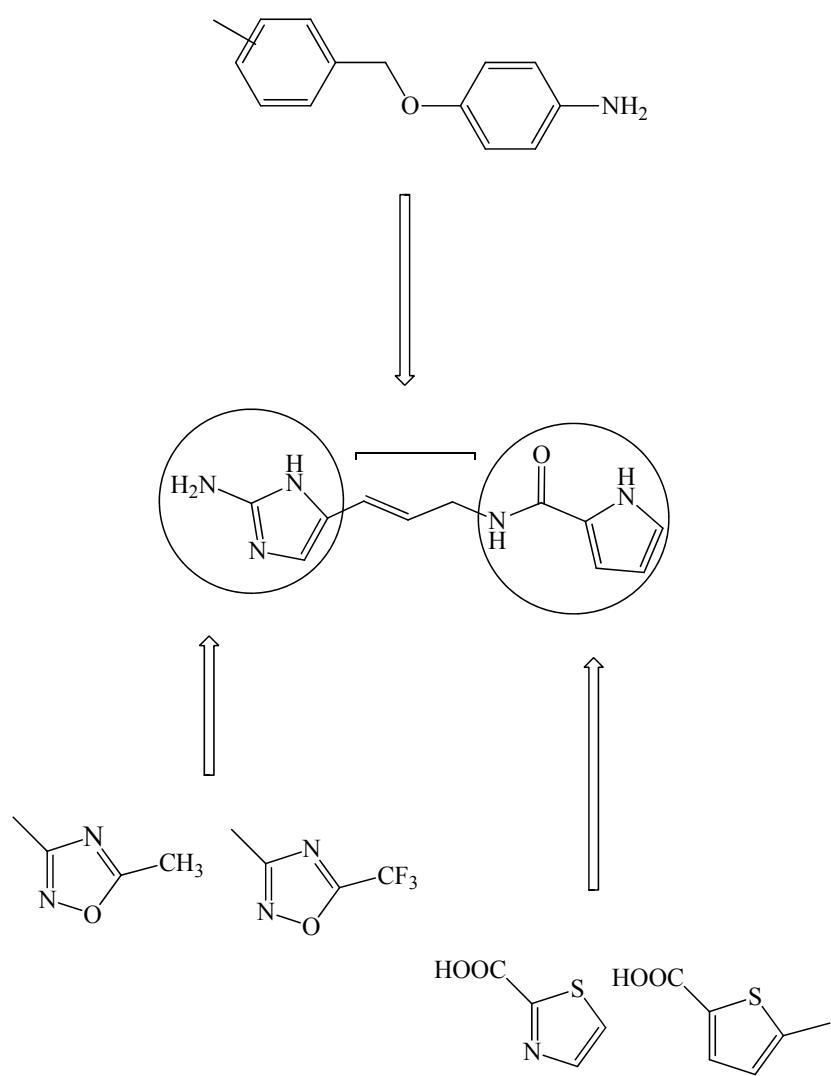


dibromoskeptrin

Slika 13: Stukurni formuli saksitoksina (29) in dibromoskeptrina (10).

NAMEN DELA

V okviru magistrskega dela bomo sintetizirali 4-(benziloksi)anilinske derivate klatrodina in jih ustrezzo spektroskopsko in fizikalno-kemijsko okarakterizirali. Imidazolni obroč klatrodina bomo zamenjali z oksadiazolskim, vstavili bomo 4-(benziloksi)anilinski distančnik ter posnemali amidopirolno skupino s tiazolskim oziroma tiofenskim obročem (slika 14). Pri delu se bomo opirali predvsem na že preizkušene sintezne poti.

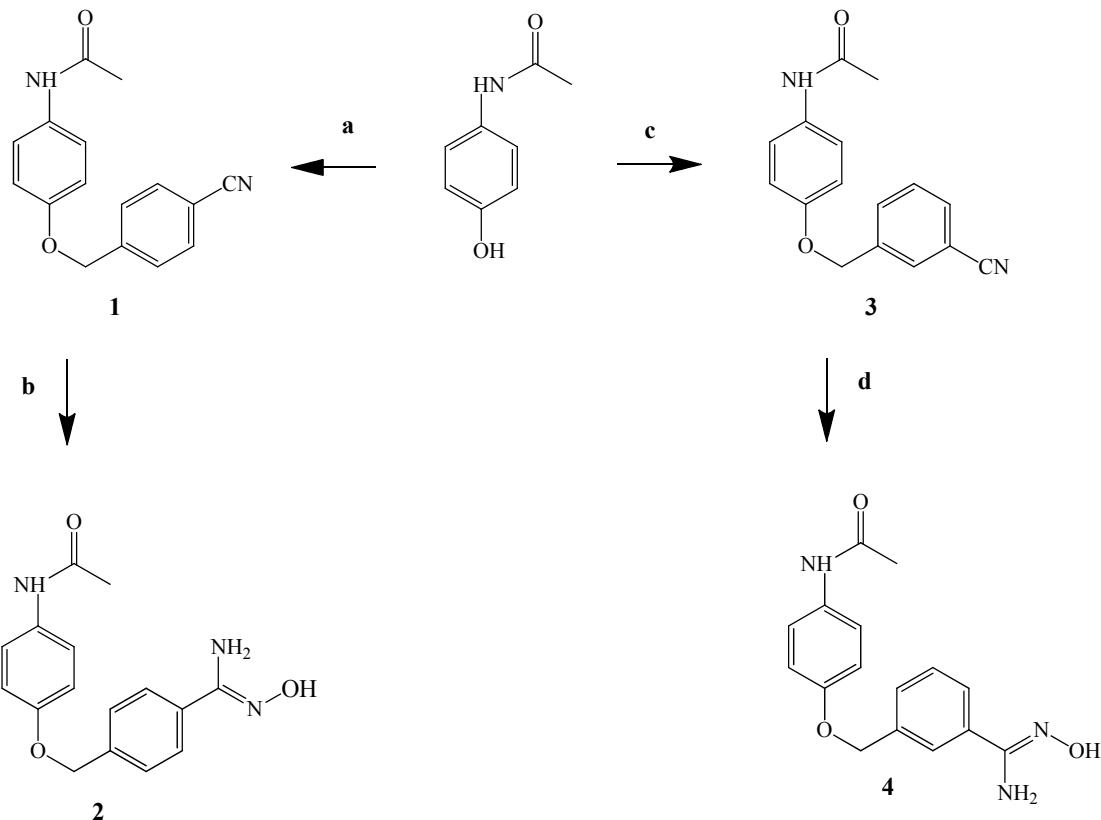


Slika 14: Prikaz sprememb na klatrodinu.

V prvi stopnji bomo tvorili etra N-(4-((4-cianobenzil)oksi)fenil)acetamid (**1**) in N-(4-((3-cianobenzil)oksi)fenil)acetamid (**3**) iz N-(4-hidroksifenil)acetamida ter 4-(bromometil)benzonitrila oz. 3-(bromometil)benzonitrila v prisotnosti močne baze. Iz dobljenih nitrilov **1** in **3** bomo z adicijo hidroksilamonijevega klorida sintetizirali amidoksima N-(4-((4-(amino(hidroksiimino)metil)benzil)oksi)fenil)acetamid (**2**) in N-(4-((3-(amino(hidroksiimino)metil)benzil)oksi)fenil)acetamid (**4**). V nadaljevanju bomo amidoksima **2** in **4** ciklizirali v različne 3,5-disubstituirane-1,2,4-oksadiazole. Najprej bomo z anhidridom ocetne kisline pripravili analoga N-(4-((4-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)acetamid (**5**) ter N-(4-((3-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)acetamid (**13**). Za tvorbo 3,5-disubstituiranega-1,2,4-oksadiazolskega obroča iz amidoksima bomo uporabili tudi anhidrid trifluoroocetne kisline in tako dobili N-(4-((4-(5-(trifluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)acetamid (**9**) ter N-(4-((3-(5-(trifluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)acetamid (**16**). Amidno vez v spojinah **5**, **9**, **13**, **16** bomo hidrolizirali s 3 ali 5 M HCl. Z nastalimi amini 4-((4-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenilamin (**6**), 4-((4-(5-(fluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenilamin (**10**), 4-((3-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenilamin (**14**), 4-((3-(5-(fluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenilamin (**17**) bomo tvorili amidno vez z 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino. Z aminom **6** bomo sintetizirali amid s 5-metil-2-tiofen karboksilno kislino in z aminom **10** še s pirol-2-karboksilno kislino. Amidno vez bomo tvorili s pomočjo aktivatorja N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)-uronijevega tetrafluoroborata (TBTU) in baze N-metilmorfolina (NMM). Produkte vseh sinteznih stopenj bomo po potrebi očistili, potrdili njihovo strukturo z NMR, IR in MS, čistoto pa z elementno analizo in določitvijo intervala temperature tališča.

2.1. REAKCIJSKE SHEME

Reakcijska shema 1: Sinteza amidoksimov N-(4-((4-amino(hidroksiimino)metil)benzil)oksi)fenil)acetamida (2) in N-((4-(3-amino(hidroksiimino)metil)benzil)oksi)fenil)acetamida (4).



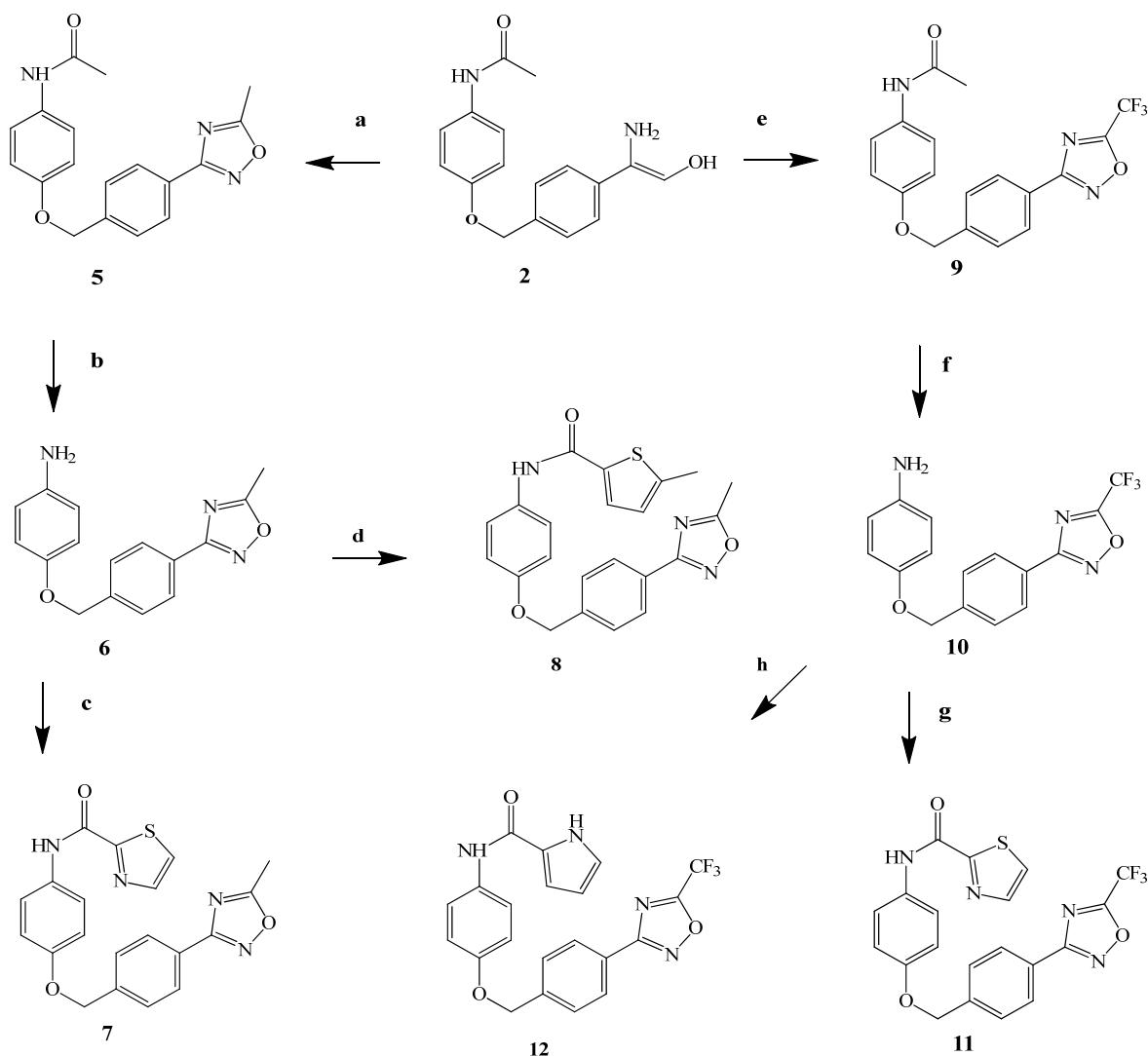
a: 4-(bromometil) benzonitri/NaOEt, temperatura vrenja

b: TEA b.v., NH₂OH×HCl/MeOH, temperatura vrenja

c: 3-(bromometil) benzonitril/NaOEt, temperatura vrenja

d: TEA b.v., NH₂OH×HCl/MeOH, temperatura vrenja

Rekcijska shema 2: Sinteza 4-((4-(trifluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi) in 4-((4-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi anilinskih analogov.



a: acetanhydrid/piridin, T=100 °C

b: 4M HCl/THF, temperatura vrenja

c: 1,3-tiazol-2-karboksilna kislina, TBTU, NMM/DKM, T=50 °C

d: 5-metil-2-tiofen karboksilna kislina, TBTU, NMM/DKM, T=50 °C

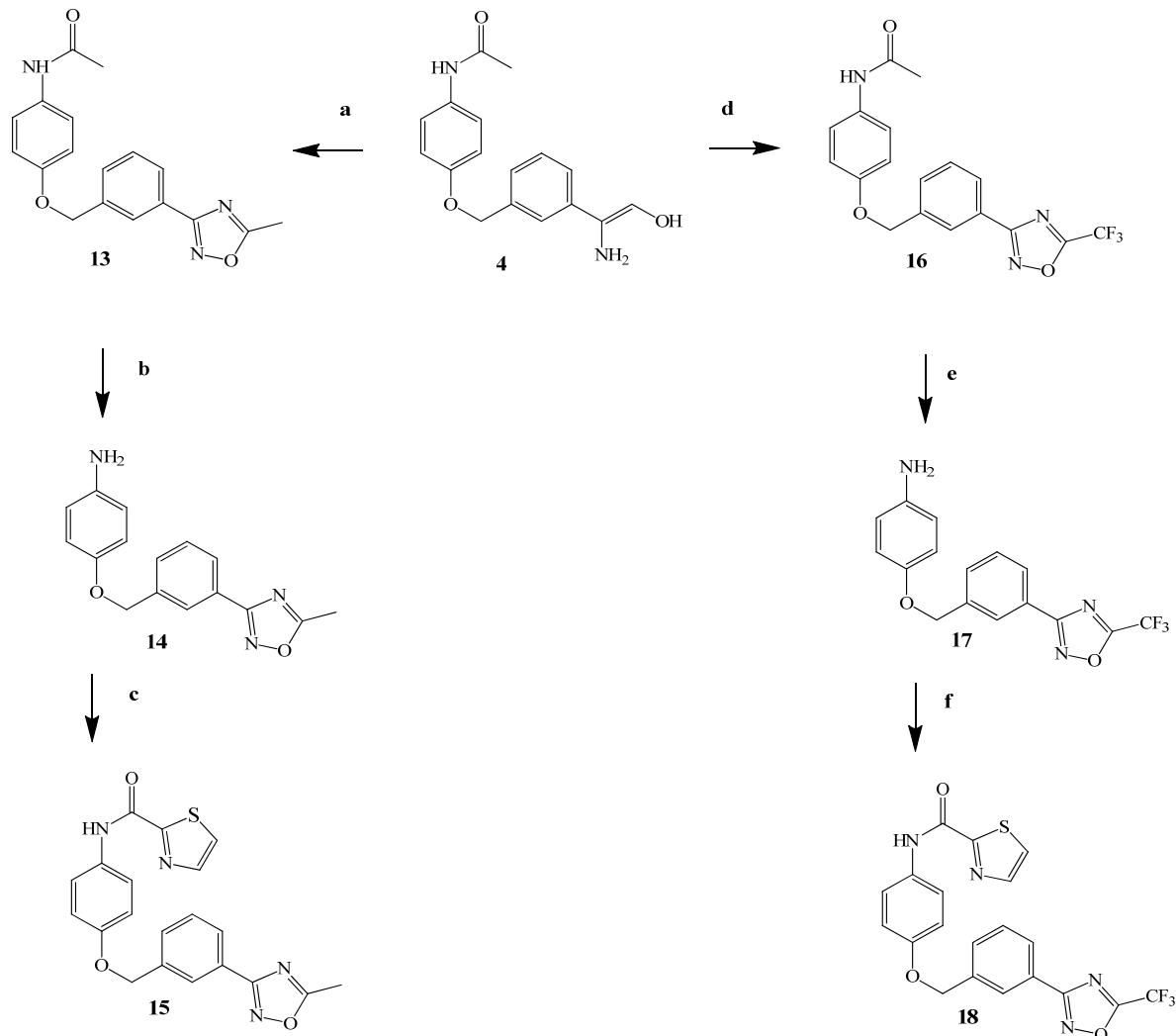
e: anhidrid trifluoroocetne kisline/piridin, T=110 °C

f: 5M HCl/THF, temperatua vrenja

g: 1,3-tiazol-2-karboksilna kislina, TBTU, NMM/DKM, T=50 °C

h: pirol-2-karboksilna kislina, TBTU, NMM/DKM, T=50 °C

Reakcijska shema 3: Sinteza 4-((3-(5-(trifluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi) in 4-((3-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi anilinskih analogov.



a: acetanhydrid/piridin, T=100 °C

b: 4M HCl/THF, temperatura vrenja

c: 1,3-tiazol-2-karboksilna kislina, TBTU, NMM/DKM, T=50 °C

d: anhidrid trifluoroacetne kisline/piridin, T=110 °C

e: 5M HCl/THF, T=70 °C

f: 1,3-tiazol-2-karboksilna kislina, TBTU, NMM/DKM, T=50 °C

MATERIALI IN METODE

3.1. MATERIALI

Reagenti in topila

Pri sinteznem delu v laboratoriju smo uporabljali reagente in topila proizvajalcev: Acros Organics, Fluka, Merck, Sigma-Aldrich in Alfa Aesar. Brezvodna topila smo pripravili po standardnih postopkih in jih shranjevali nad molekularnimi siti z velikostjo por 0,3 nm.

Poimenovanje in risanje spojin

Za poimenovanje spojin in risanje strukturnih formul (IUPAC nomenklatura) smo uporabljali program ChemBioDraw Ultra 12.0, proizvajalca CambridgeSoft.

3.2. METODE

3.2.1. Kromatografske metode

Tankoplastna kromatografija (TLC)

S tankoplastno kromatografijo smo spremljali potek reakcij, izolacij in kolonskih kromatografij. Uporabljali smo plošče DC Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) z 0,22 mm nanosom silikagela na aluminijastem nosilcu velikosti 20×20 cm. Spojine na kromatografskih ploščah smo detektirali z UV svetilko z valovno dolžino $\lambda=254$ nm in orositvenim reagentom za amine (ninhidrin).

Kolonska kromatografija

Kolonsko kromatografijo smo uporabljali kot ločevalno tehniko za čiščenje spojin. Uporabljali smo steklene kolone različnih velikosti. Silikagel 60 (Kieselgel 60), proizvajalca Merck, s premerom delcev 0,040-0,063 mm (flash silikagel) smo uporabljali kot stacionarno fazo.

Mobilne faze, ki smo jih uporabljali:

MF1: diklorometan/metanol = 15/1

MF2: diklorometan/metanol = 30/1

MF3: dulklorometan/metanol = 40/1

MF4: diklorometan/metanol = 50/1

MF5: diklorometan/metanol = 70/1

MF6: diklorometan/metanol = 200/1

MF7: etilacetat

3.2.2. Spektroskopske metode

Jedrska magnetna resonanca (NMR)

NMR spektri so bili posneti na spektrometru Bruker UltraShieldTM Plus pri 400 MHz v Spektroskopskem centru na Fakulteti za farmacijo. Uporabljali smo devterirano topilo DMSO-d₆. Za računalniško obdelavo spektrov smo uporabili program MestRec 4.8.6.0., proizvajalca Mestrelab Research.

Infrardeča spektroskopija (IR)

IR spektri so bili posneti na spektrometru Perkin Elmer 1600 FT-IR na Fakulteti za farmacijo.

Masna spektroskopija (MS)

Masni spektri so bili posneti na spektrometru Q-TOF Premier, proizvajalca Waters-Micromass, z ESI tehniko na Centru za masno spektrometrijo na Inštitutu Jožef Stefan v Ljubljani.

Elementna analiza (CHN)

Vsebnosti elementov C, H in N so bile izmerjene z analizatorjem Perkin Elmer 2400 CHN na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo. S programom JASPER v2.0 - JavaScript Percentage Elemental Results Calculatorja smo rezultate elementnih analiz preračunali na morebitno prisotnost topil ali vode.

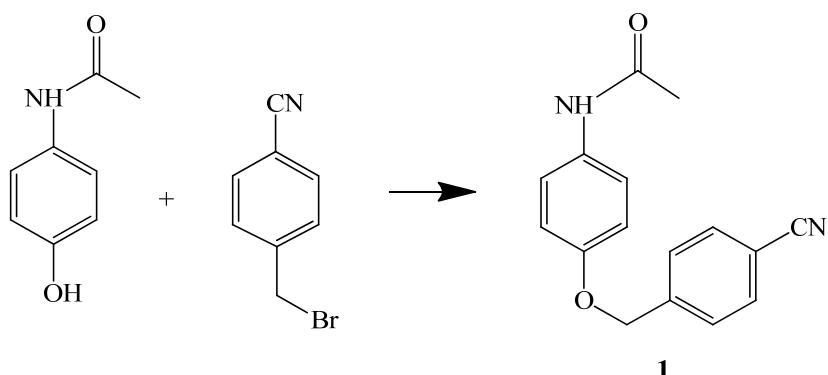
3.2.3. Določevanje tališč

Tališča smo določili s talilnim mikroskopom znamke Leica z ogrevalno mizico in niso korigirana.

EKSPERIMENTALNI DEL

4.1. SINTEZA N-(4-(4-CIANOBENZILOKSI)FENIL) ACETAMIDA (1)

Reakcija



Postopek

Najprej pripravimo natrijev etilat iz Na (53,50 mmol, 1,230 g) in brezvodnega etanola (123 mL). V NaOEt dodamo *N*-(4-hidroksifenil)acetamid (43,95 mmol, 6,644 g), pustimo mešati 1 uro pri sobni temperaturi. Nato dodamo 4-(bromometil)benzonitril (45,34 mmol, 8,888 g). Mešamo pri temperaturi vrenja 4 ure, nato ohladimo, dodamo vodo (800 mL). Izpadlo oborino odfiltriramo s presesavanjem, posušimo in prekristaliziramo iz absolutnega alkohola ter posušimo.

Rezultati

Izgled: beli svetleči kristali

Izkoristek: 67 % (7,87 g)

Rf: 0,54 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 196-199 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3294, 2929, 2230, 1657, 1612, 1513, 1408, 1373, 1317, 1263, 1240, 1172, 1113, 1010, 881, 827, 802, 726, 641, 605, 559, 536, 520

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,03 (s, 3H, CH₃)

5,18 (s, 2H, -CH₂-O)

6,96 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H)

7,49 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,63 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,87 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

9,79 (s, 1H, NH)

MS(ESI): 267,1 ($M+H$)⁺, **Mr (izračunana)** = 266,32

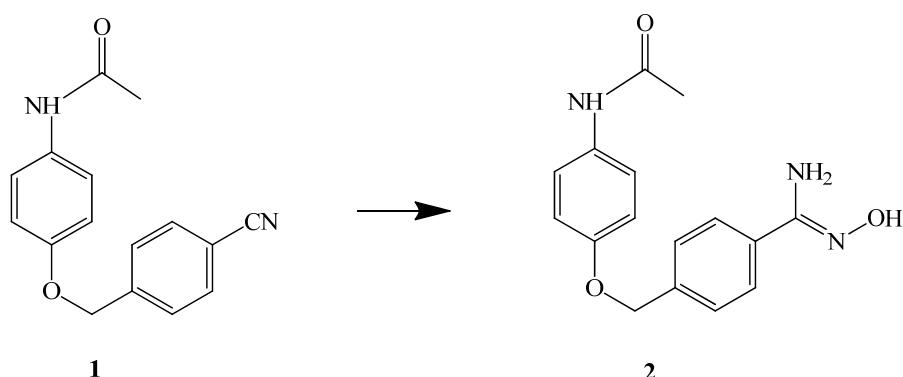
Elementna sestava: C₁₆H₁₄N₂O₂

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 72,16	% C 72,09
% H 5,30	% H 4,84
% N 10,52	% N 10,64

4.2. SINTEZA N-((4-((AMINO(HIDROKSI)IMINO)METIL)BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (2)

Reakcija



Postopek

V MeOH (90 mL) suspendiramo NH₂OH·HCl (19,1 mmol, 1,13 g) in brezvodni trietilamin (12,0 mmol, 1,70 mL). Mešamo 15 minut in dodamo spojino **1** (11,3 mmol, 3,00 g) pri temperaturi vrenja. Ker reakcija po 18 urah ne poteče do konca, dodamo še 226

mg NH₂OH×HCl (3,8 mmol). Po 25 urah dodamo vodo (400 mL) in pustimo v hladilniku čez noč. Izpadle kristale odfiltriramo s presesavanjem ter posušimo. Produkt prekristaliziramo iz absolutnega alkohola in ga posušimo.

Rezultati

Izgled: belo-rožnati svetleči kristali

Izkoristek: 51 % (1,71 g)

Rf: 0,22 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 201-205 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3458, 3365, 3292, 2364, 1662, 1598, 1516, 1459, 1413, 1385, 1312, 1300, 1235, 1042, 930, 828 724, 602, 523

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,0 (s, 3H, CH₃)

5,0 (s, 2H, 2H, -CH₂-O)

5,82 (s, 2H, -NH₂)

6,50 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H)

7,43 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,45 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,68 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

9,65 (s, 1H, -OH)

9,79 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 300,1(M+H)⁺, **Mr (izračunana):** 299,4

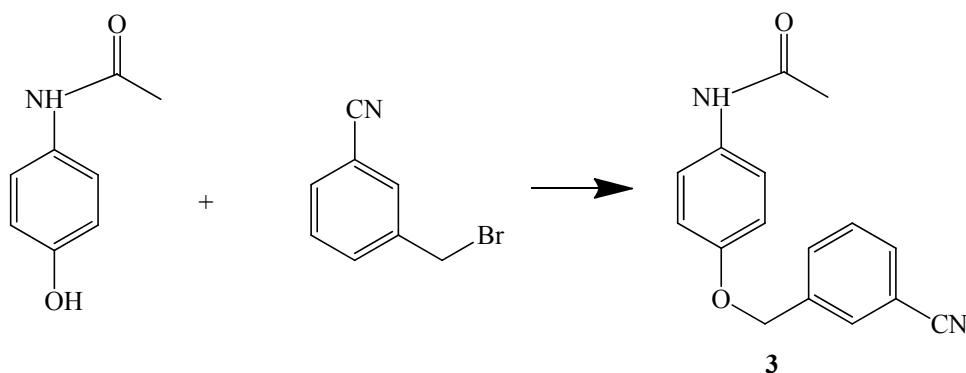
Elementna sestava: C₁₆H₁₇N₃O₃

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 64,20	% C 64,51
% H 5,72	% H 5,61
% N 14,04	% N 14,29

4.3. SINTEZA N-(4-((3-CIANOBENZIL)OKSI)FENIL) ACETAMIDA (3)

Reakcija



Postopek

Najprej pripravimo natrijev etilat iz Na (31,80 mmol, 732 mg) in brezvodnega etanola (45 mL). V NaOEt dodamo N-(4-hidroksifenil)acetamid (27,23 mmol, 4,12 g) in mešamo 1 uro pri sobni temperaturi. Nato dodamo 3-(bromometil)benzonitril (28,06 mmol, 5,50 g) in mešamo pri temperaturi vrenja 4 ure. Po koncu reakcije bučko ohladimo, dodamo hladno vodo (530 mL), izpadle kristale odfiltriramo s presesavajem, posušimo, prekristaliziramo iz absolutnega etanola in posušimo.

Rezultati

Izgled: beli svetleči kristali

Izkoristek: 45 % (3, 28 g)

Rf: 0,63 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 155-158 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3267, 2964, 2363, 1654, 1599, 1572, 1513, 1414, 1414, 1383, 1363, 1298, 1262, 1098, 1020, 800, 742, 703, 603, 522

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,01 (s, 3H, CH₃)

5,13 (s, 2H, -CH₂-O)

6,96 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,49 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,62 (t, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,79 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,81 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,91 (s, 1H, Ar-H)

9,81 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 267,1 ($M+H$)⁺, **Mr (izračunana)** = 266,3

HRMS: 267,1132 (izračunano: 267,1134)

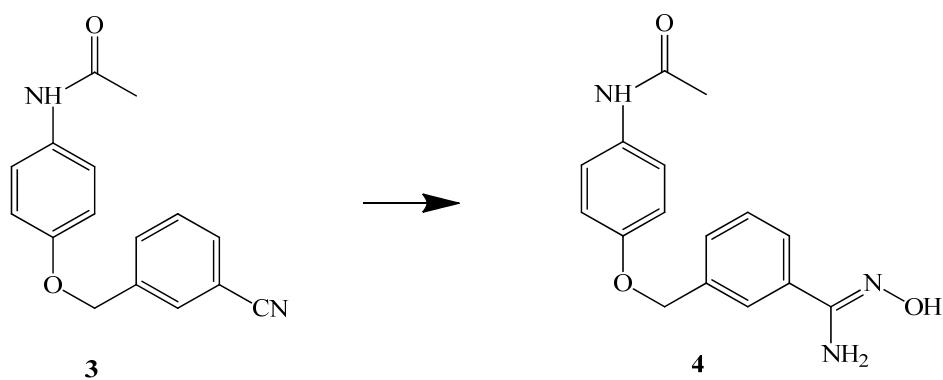
Elementna sestava: C₁₆H₁₅N₂O₂

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 72,16	% C 71,93
% H 5,30	% H 4,99
% N 10,52	% N 10,77

4.4. SINTEZA N-((4-(3-(AMINO(HIDROOKSIIMINO)METIL)BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (4)

Reakcija



Postopek

V metanolu (63 mL) suspendiramo NH₂OH×HCl (17,00 mmol, 1,00 g) in TEA b. v. (1,7 mL) in pustimo mešati 20 minut. Nato dodamo spojino 3 (11,3 mmol, 3,00 g) in

segrevamo pri temperaturi vrenja 25 ur. Po koncu reakcije dodamo vodo (400 mL) in pustimo v hladilniku čez noč. Izpadle kristale odfiltriramo s presesavanjem, posušimo, prekristaliziramo iz absolutnega etanola in posušimo.

Rezultati

Izgled: rjavi kristali

Izkoristek: 66 % (2,28 g)

Rf: 0,24 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 82-86 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3293, 1639, 1509, 1411, 1370, 1304, 1235, 1172, 1017, 939, 829, 795, 703, 516

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,01 (s, 3H, CH₃)

5,09 (s, 2H, -CH₂-O)

5,84 (s, 2H, -NH₂)

6,95 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,3-7,4 (m, 2H, Ar-H)

7,39 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H)

7,61 (d, 1H, Ar-H)

7,76 (s, 1H, Ar-H)

9,66 (s, 1H, -OH)

9,80 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 299,3 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** = 300,1

HRMS: 300,1339 (izračunano: 300,1348)

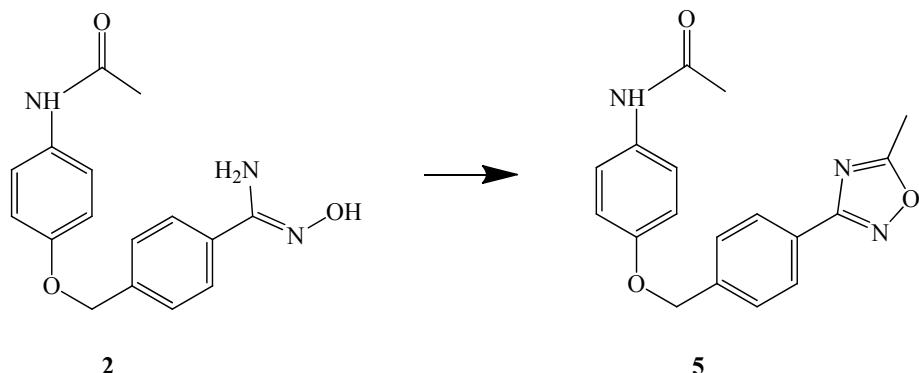
Elementna sestava: C₁₆H₁₇N₃O₃

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 64,20	% C 63,70
% H 5,72	% H 5,76
% N 14,04	% N 13,68

**4.5. SINEZA
N-(4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)
BENZIL)OKSI)FENIL) ACETAMIDA (5)**

Reakcija



Postopek

V brezvodnem piridinu (5,7 mL) suspendiramo spojino **2** (3,79 mmol, 1,13 g), zmes prepihamo z argonom ter ohladimo na -10 °C. Počasi in ob stalnem mešanju dodajamo acetanhidrid (5,30 mmol, 0,50 mL). Mešamo 1 uro pri sobni temperaturi in nato 24 ur pri temperaturi 100 °C. Po koncu reakcije zmesi dodamo vodo (40 mL) in postavimo v hladilnik za 45 minut. Izpadle kristale odfiltriramo, jih speremo z 0,1 M HCl (250 mL) in vodo ter posušimo.

Rezultati

Izgled: svetlo rjavi kristali

Izkoristek: 81 % (993 mg)

Rf: 0,51 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 178-181 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3271, 2962, 1654, 1599, 1571, 1513, 1413, 1382, 1362, 1298, 1262, 1019, 802, 742, 703, 603, 522

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,03 (s, 3H, CH₃CO)

2,68 (s, 3H, CH₃-oksadiazol)

5,16 (s, 2H, -O-CH₂)

6,97 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

6,62 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,02 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H)

9,81 (s, 1H, NH)

MS(ESI): 324.1(M+H)⁺, **Mr (izračunana)** = 323,3

HRMS: 324,1339 (izračunano: 324,1348)

Elementna sestava: C₁₈H₁₇N₃O₃

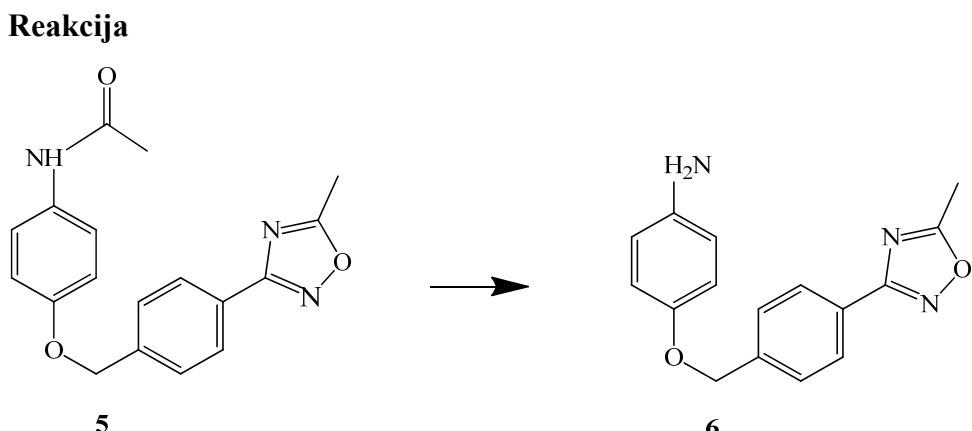
Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 66,86	% C 66,66
% H 5,30	% H 5,15
% N 13,00	% N 12,72

4.6. SINTEZA

4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENILAMINA (6)

Reakcija



Postopek

Spojino **5** (2,93 mmol, 946 mg) suspendiramo v 4 M HCl (16,48 mmol, 4,1 mL) in THF (15 mL) ter segrevamo pri temperaturi vrenja 24 ur. Po koncu reakcije bučko ohladimo, THF odparimo pod znižanim tlakom in naalkalimo do pH 10 z 10 M NaOH. Oborino odfiltriramo in obilno spiramo z vodo ter posušimo.

Rezultati

Izgled: rjavi kristali

Izkoristek: 65 % (576 mg)

Rf: 0,56; 0,63 (MF1: DKM/MeOH= 15/1, MF7: etilacetat)

Tališče: 93-96 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3407, 2964, 2912, 2362, 1604, 1573, 1512, 1418, 1377, 1351, 1291, 1261, 1246, 1097, 1013, 874, 800, 745, 711, 540, 522

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,67 (s, 3H, CH₃)

4,65 (s, 2H, -NH₂)

5,04 (s, 2H, -CH₂-O)

6,52 (d, 2H, J = 9Hz, 2 Ar-H)

6,75 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,59 (d, 2H, J = 9 Hz, 2 Ar-H)

8,00 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

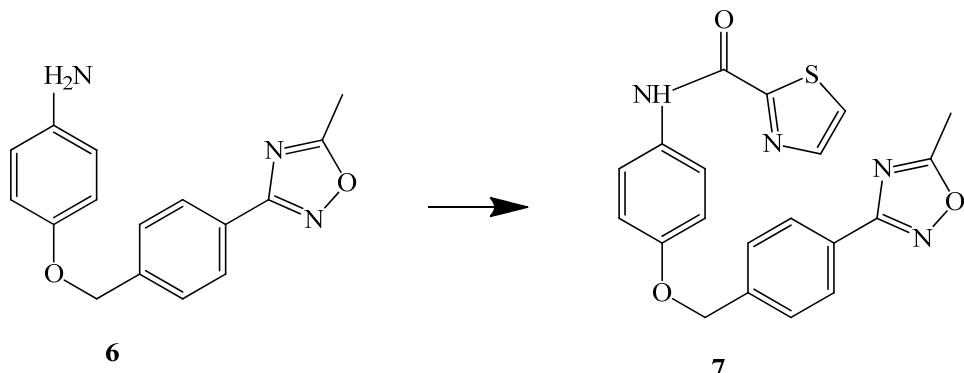
MS(ESI): 282,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** = 281,3

HRMS: 282,1242 (izračunano: 282,1243)

Elementna sestava: C₁₆H₁₅N₃O₂

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 68,31	% C 68,05
% H 5,37	% H 5,26
% N 14,94	% N 14,64

4.7. SINTEZA**N-(4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-KARBOKSAMIDA (7)****Reakcija****Postopek**

V bučko zatehtamo 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino (1,70 mmol, 220 mg) in TBTU (1,70 mmol, 550 mg) ter ju raztopimo v DKM (10 mL). Dodamo NMM (3,7 mmol, 410 µL) in mešamo 1 uro. Dodamo še NMM (1,9 mmol, 210 µL) in spojino **6** (1,12 mmol, 314 mg) ter mešamo pri temperaturi 50 °C. Po eni uri ohladimo reakcijsko zmes, dodamo 30 mL DKM, ekstrahiramo z vodo (6×100 mL), organsko fazo sušimo z Na₂SO₄ in topilo odparimo pod znižanim tlakom.

Rezultati

Izgled: rjavi kristali

Izkoristek: 60 % (263 mg)

Rf: 0,71; 0,48 (MF1: DKM/MeOH = 15/1, MF2: DKM/MeOH=30/1)

Tališče: 193-196 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3274, 3078, 1656, 1593, 1534, 1514, 1485, 1463, 1421, 1399, 1375, 1347, 1299, 1262, 1233, 1114, 1086, 1040, 904, 857, 834, 784, 762, 742, 694, 606, 548, 522

¹H NMR (400 MHz, CDMSO-d₆):

δ[ppm] = 2,68 (s, 3H, CH₃)

5,21 (s, 2H, -CH₂-O)

7,05 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,64 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,78 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,03 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,09-8,13 (m, 2H, tiazol-2H)

10,71 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 393,1 ($M+H$)⁺, **Mr (izračunana)** = 392,1

HRMS: 393,1030 (izračunano: 393,1021)

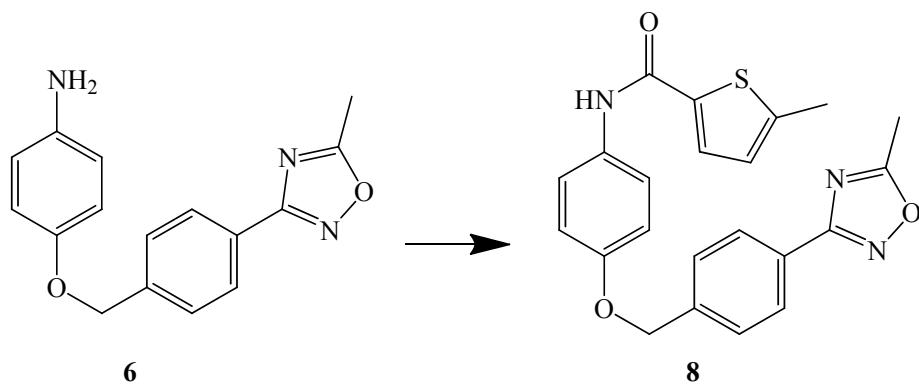
Elementna sestava: C₂₀H₁₆N₄O₃S

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 61,21	% C 61,08
% H 4,11	% H 3,83
% N 14,28	% N 14,16

4.8. SINTEZA 3-METIL-N-(4-((4-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIOFEN-2-KARBOKSAMIDA (8)

Reakcija



Postopek

V bučko zatehtamo 5-metil-2-tiofen-karboksilno kislino (0,70 mmol, 100 mg) in TBTU (0,70 mmol, 225 mg) ter ju raztopimo v DKM (5 mL). Dodamo NMM (1,6 mmol, 171 µL) in mešamo 1 uro. Dodamo še NMM (0,80 mmol, 8,6 µL) in spojino **6** (0,47 mmol, 132

mg) ter mešamo pri temperaturi 50 °C. Po eni uri ohladimo reakcijsko zmes, dodamo 30 mL DKM, ekstrahiramo z vodo (6×100 mL), organsko fazo sušimo z Na₂SO₄ in topilo odparimo pod znižanim tlakom. Produkt očistimo s kolonsko kromatografijo (MF 6).

Rezultati

Izgled: beli kristali

Izkoristek: 25 % (47 mg)

Rf: 0,67 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 192-195 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3363, 2362, 1635, 1598, 1518, 1458, 1411, 1384, 1309, 1262, 1238, 1174, 1114, 1084, 1046, 902, 836, 822, 747, 636, 546, 521

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,68 (s, 3H, CH₃-oksadiazol)

2,50 (s, 3H, CH₃-tiofen)

5,19 (s, 2H, -CH₂-O)

6,91 (rs, 1H, 1H-tiofen)

7,03 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,58-7,66 (m, 4 H, 4 Ar-H)

7,78 (rs, 1H, 1 H-tiofen)

8,03 (d, 2 H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

MS(ESI): 406,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** 405,1

HRMS: 406,1236 (izračunano: 406,1266)

Elementna sestava: C₂₂H₁₉N₃O₃S

Elementna analiza: s pomočjo JASPER v2.0 - JavaScript Percentage Elemental Results Calculator smo izračunali, da je prišlo do vezave 0.15 % MeOH*.

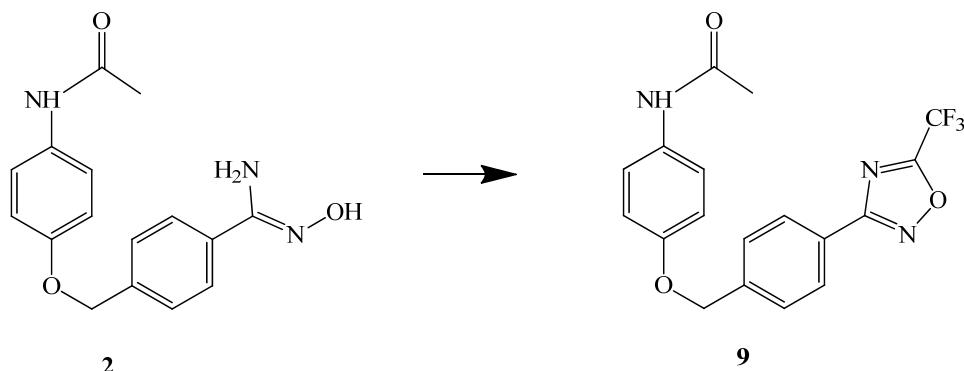
Izračunano	Ugotovljeno	Δ (%)	Preračunane vrednosti ob upoštevanju MeOH*	Δ (%)
% C 65,17	% C 64,40	0,77	64,84	0,44
% H 4,72	% H 4,38	0,34	4,82	0,44

% N 10,36	% N 10,35	0,01	10,24	0,11
-----------	-----------	------	-------	------

*gre za metanol iz mobilne faze, ki smo jo uporabljali pri čiščenju surovega produkta

4.9. SINTEZA N-((4-((4-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL) ACETAMIDA (9)

Reakcija



Postopek:

V brezvodnem piridinu (8,7 mL) suspendiramo spojino **2** (5,76 mmol, 1,72 g), zmes prepihamo z argonom in ohladimo na -10 °C. Počasi ob stalnem mešanju dodajamo anhidrid trifluoroocetne kisline (7,08 mmol, 1 mL) ter mešamo pri sobni temperaturi 1 uro. Po 25 urah reakcijo prekinemo, dodamo vodo (52 mL), nakisamo s 4 M HCl do pH 2 in damo v hladilnik za 45 minut. Izpadle kristale odfiltriramo s presesavanjen, dobro speremo z vodo in posušimo.

Rezultati

Izgled: temno-rjavi kristali

Izkoristek: 74 % (1,605 g)

Rf: 0,57 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 203-206 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3292, 2362, 1655, 1515, 1481, 1410, 1376, 1328, 1225, 1153, 1020, 995, 904, 880, 831, 767, 521

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 2,01 (s, 3H, CH₃)

5,19 (s, 2H, -CH₂-O)

6,98 (d, 2H, J = 9 Hz, 2 Ar-H)

7,50 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,68 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

8,09 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

9,83 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 378,1 ($M+H$)⁺, **Mr (izračunana)** = 377,3

HRMS: 378,1070 (izračunano: 378,1066)

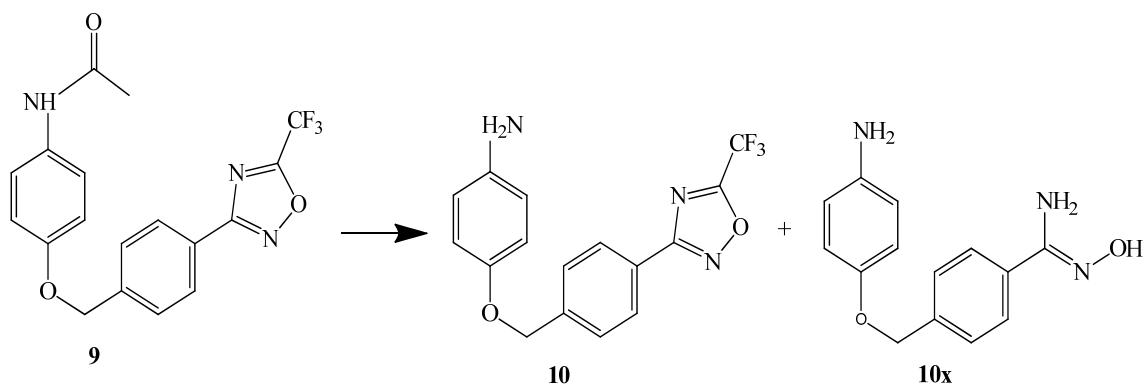
Elementna sestava: C₁₈H₁₄N₃O₃F₃

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 57,30	% C 57,10
% H 3,74	% H 3,52
% N 11,14	% N 11,16

4.10. SINTEZA 4-((4-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI) FENILAMINA (10)

Reakcija



Postopek

Spojino **9** (3,74 mmol, 1,41 g) suspendiramo v 5 M HCl (23,5 mmol, 4,7 mL) in THF (20 mL) ter segrevamo pri temperaturi vrenja 30 ur, nato odparimo THF pod znižanim tlakom in naalkalimo do pH 10 z 10 M NaOH. Oborino odfiltriramo s presesavanjem in obilno spiramo z vodo. Ekstrahiramo z etilacetatom (4×200 mL), organsko fazo speremo z vodo

(3×200 mL) in nasičeno raztopino NaCl (3×100 mL) sušimo z NaSO₄ in topilo odparimo pod znžanim tlakom. Produkt očistimo s kolonsko kromatografijo (MF4).

Rezultati za spojino 10**Izgled:** svetlo-rjavi kristali**Izkoristek:** 8 % (100 mg)**Rf:** 0,63 (MF: DKM/MeOH = 15/1)**Tališče:** 129-131 °C**IR (KBr, cm⁻¹):** 3379, 3317, 2878, 2378, 2364, 1616, 1512, 1478, 1420, 1386, 1327, 1315, 1291, 1232, 1202, 1161, 1024, 995, 900, 882, 829, 768, 757, 726, 700, 659, 542, 526**¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):** δ [ppm] = 4,66 (s, 2H, -NH₂)5,08 (s, 2H, -CH₂-O)

6,52 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

6,76 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,66 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

8,09 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

MS(ESI): 336,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** = 335,3**HRMS:** 336,0964 (izračunano: 336,0960)**Elementna sestava:** C₁₆H₁₂N₃F₃O₂**Elementna analiza:**

Izračunano	Ugotovljeno
% C 57,32	% C 56,98
% H 3,61	% H 3,31
% N 12,53	% N 12,39

Rezultati za spojino 10x**Izgled:** rjavi kristali**Izkoristek:** 24 % (300 mg)**Rf:** 0,25 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)**Tališče:** 204-206 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3463, 3394, 3324, 2870, 2365, 1655, 1513, 1467, 1396, 1246, 1052, 929, 829, 725, 517

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 4,63 (s, 2H, -NH₂)

4,96 (s, 2H, CH₂-O)

5,81 (s, 2H, NH₂-amidoksim)

6,50 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

6,72 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,40 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,67 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

9,63 (s, 1H, OH)

MS(ESI): 258,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** 257,1

HRMS: 258, 1238 (izračunano: 258,1243)

Elementna sestava: C₁₄H₁₅N₃O₂

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 65,35	% C 64,50
% H 5,88	% H 5,48
% N 16,33	% N 15,56

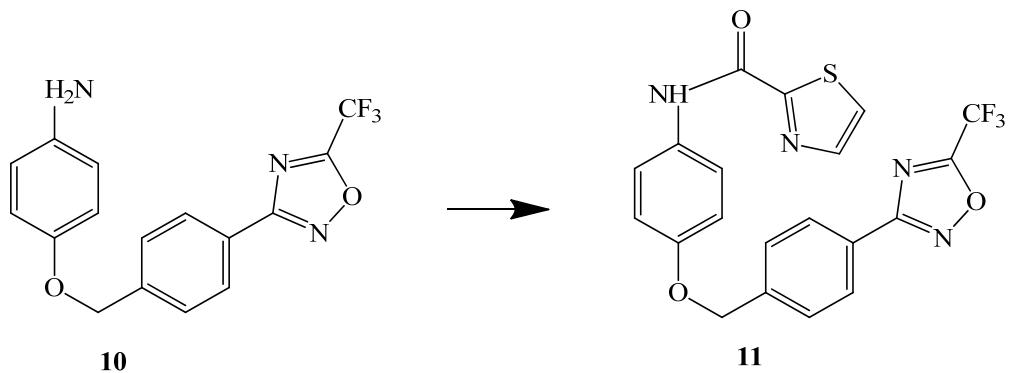
4.11. SINTEZA

N-((4-((4-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-

OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-

KARBOKSAMIDA (11)

Reakcija



Postopek

V bučko zatehtamo 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino (1,44 mmol, 186 mg) in TBTU (1,44 mmol, 462 mg) ter ju raztopimo v DKM (10 mL). Dodamo NMM (3,20 mmol, 350 µL) in mešamo 1 uro. Dodamo še NMM (1,45 mmol, 160 µL) in spojino **10** (0,95 mmol, 317 mg) ter mešamo pri temperaturi 50 °C. Po 24 urah ohladimo reakcijsko zmes, dodamo 30 mL DKM, ekstrahiramo z vodo (6×100 mL), organsko fazo sušimo z Na₂SO₄ in topilo odparimo pod znižanim tlakom. Čistimo s kolonsko kromatografijo (MF6).

Rezultati

Izgled: beli kristali

Izkoristek: 30 % (125 mg)

Rf: 0,80 (MF: diklorometan/metanol = 15/1)

Tališče: 169-171 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3344, 2856, 2365, 1662, 1603, 1540, 1514, 1484, 1466, 1458, 1418, 1388, 1319, 1269, 1307, 1253, 1200, 1162, 1115, 1099, 1084, 1047, 994, 880, 819, 758, 748, 718, 688, 609, 514

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 5,25 (s, 2H, -CH₂-O)
 7,06 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)
 7,71 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)
 7,79 (d, 2H, J = 9Hz, 2 Ar-H)
 8,08-8,15 (m, 4H, 2 Ar-H in 2H tiazol)
 10,72 (s, 1H, NH)

MS(ESI): 446,07 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** 447,1

HRMS: 447,0748 (izračunano: 447,0739)

Elementna sestava: C₂₀H₁₄F₃N₄O₃S

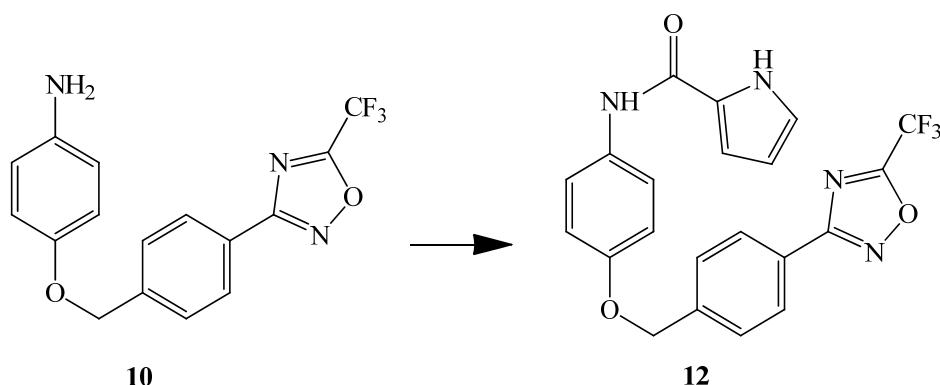
Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 53,81	% C 52,43

% H 2,94	% H 2,51
% N 12,55	% N 11,68

4.12. POIZKUS SINTEZE N-4-((4-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)-1H-PIROL-2-KARBOKSAMIDA (12)

Reakcija



Postopek

V bučko zatehtamo pirol-2-karboksilno kislino (0,63 mmol, 70 mg) in TBTU (0,63 mmol, 202 mg) ter ju raztopimo v DKM (10 mL). Dodamo NMM (1,46 mmol, 160 µL) ter mešamo 1 uro. Nato dodamo še NMM (0,70 mmol, 77 µL) in spojino **10** (0,95 mmol, 317 mg) ter mešamo pri temperaturi 50 °C. Po 24 urah ohladimo reakcijsko zmes, dodamo 30 mL DKM, ekstrahiramo z vodo (6×100 mL), organsko fazo sušimo z Na₂SO₄ in topilo odparimo pod znižanim tlakom. Čistimo s prekristalizacijo in s kolonsko kromatografijo (MF5).

Rezultati

Izgled: beli kristali

Izkoristek: 28 % (50 mg)

Rf: 0,33 (MF2: diklorometan/metanol = 30/1)

Tališče: 232-240 °C

MS(ESI): 429,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana)** = 428,1

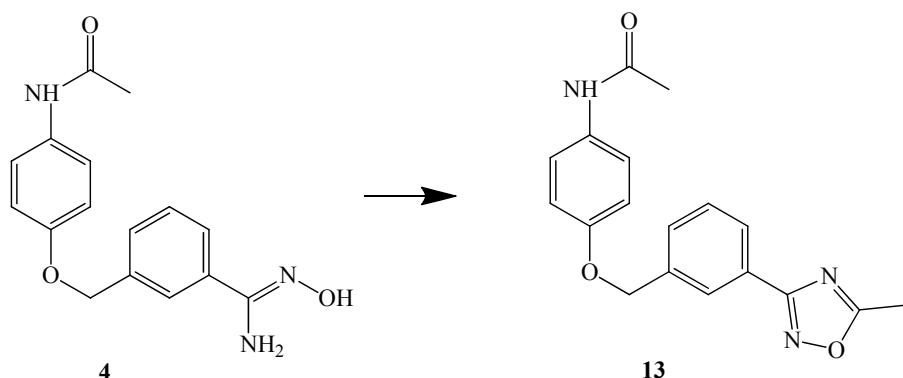
HRMS: 429,1177 (izračunano: 429,1161)

Elementna sestava: C₂₁H₁₅F₃N₄O₃

4.13. SINTEZA

N-(4-((3-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL) ACETAMIDA (13)

Reakcija



Postopek

V brezvodnem piridinu (5 mL) suspendiramo spojino **4** (3,34 mmol, 1,00 g), zmes prepihamo z argonom in ohladimo na -10 °C. Počasi in ob starnem mešanju dokapavamo acetanhidrid (4,23 mmol, 0,40 mL). Mešamo 1 uro pri sobni temperaturi ter 27 ur pri 100 °C. Zmesi nato dodamo vodo (30 mL), postavimo v hladilnik, oborino odfiltriramo, speremo z 0,1 M HCl (210 mL) in vodo ter posušimo.

Rezultati

Izgled: svetlo-rjavi kristali

Izkoristek: 65 % (700 mg)

Rf: 0,51 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 148-151 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3293, 2363, 1655, 1511, 1414, 1364, 1244, 1029, 831, 741, 514

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ[ppm] = 1,99 (s, 3H, CH₃CO-)

2,69 (s, 3H, CH₃)

5,21 (s, 2H, -CH₂-O-)

6,98 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,49 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,46 (t, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,66 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,04 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,14 (s, 1H, Ar-H)

9,80 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 324,1 ($M+H$)⁺, **Mr (izračunana) = 323,4**

HRMS: 324,1347 (izračunano: 324,1348)

Elementna sestava: C₁₈H₁₇N₃O₃

Elementna analiza:

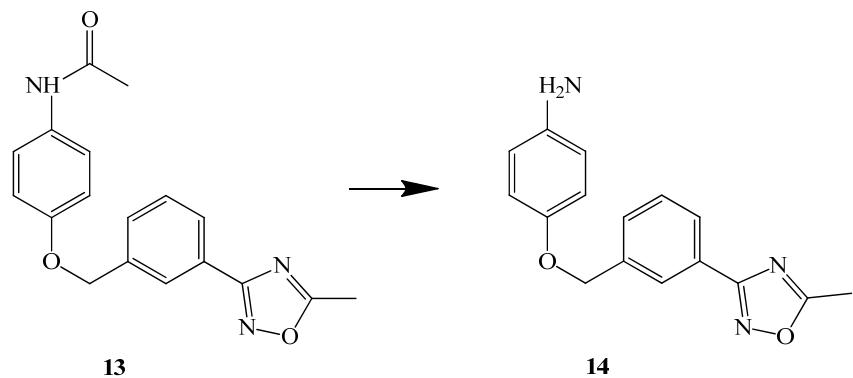
Izračunano	Ugotovljeno
% C 66,86	% C 67,05
% H 5,30	% H 4,99
% N 13,00	% N 12,73

4.14. SINTEZA

4-((3-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)

BENZIL)OKSI) FENILAMINA (14)

Reakcija



Postopek

Spojino **13** (1,70 mmol, 550 mg) suspendiramo v 4 M HCl (8,52 mmol, 2,10 mL) in THF (15 mL) ter segrevamo pri temperaturi vrenja 24 ur. Po koncu reakcije bučko ohladimo, THF odparimo pod znižanim tlakom in naalkalimo do pH 10 z 10 M NaOH. Oborino odfiltriramo in obilno spiramo z vodo ter sušimo v sušilniku 1 uro pri 50 °C.

Rezultati

Izgled: rjavkasti kristali

Izkoristek: 64 % (350 mg)

Rf: 0,54; 0,63 (MF1: DKM/MeOH= 15/1, MF7: etilacetat)

Tališče: 103-105 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3406, 3330, 2878, 1598, 1511, 1461, 1388, 1348, 1233, 1023, 912, 815, 785, 742, 694, 516

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 5,09 (s, 2H, -CH₂-O)

5,74-5,97 (rs, 2H, -NH₂)

6,64 (d, 2H, J = 9 Hz, 2 Ar-H)

7,82 (d, 2H, J = 9 Hz, 2 Ar-H)

7,54-7,64 (m, 2H, 2 Ar-H)

7,94 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,05 (s, 1H, Ar-H)

MS(ESI): 282,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** = 281,3

HRMS: 282,1242 (izračunano: 282,1243)

Elementna sestava: C₁₆H₁₅N₃O₂

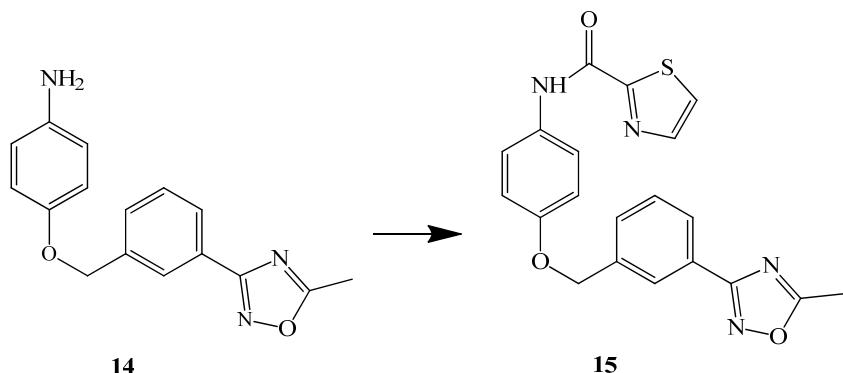
Elementna analiza: s pomočjo JASPER v2.0 - JavaScript Percentage Elemental Results

Calculatorja smo izračunali, da je prišlo do vezave 0.45 % H₂O.

Izračunano	Ugotovljeno	Δ (%)	Preračunane vrednosti ob upoštevanju	Δ (%)
			H ₂ O	
% C 68,31	% C 66,31	1,92	66,40	0,09
% H 5,37	% H 5,12	0,25	5,54	0,42
% N 14,94	% N 14,33	0,61	14,52	0,14

4.15. SINTEZA N-(4-((3-(5-METIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-KARBOKSAMIDA (15)

Reakcija



Postopek

V bučko zatehtamo 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino (1,5 mmol, 191 mg) in TBTU (1,50 mmol, 474 mg) ter ju raztopimo v DKM (10 mL). Dodamo NMM (3,3 mmol, 330 µL) in mešamo 1 uro. Dodamo še NMM (1,6 mmol, 180 µL) in spojino **14** ter mešamo pri temperaturi 50 °C. Po eni uri ohladimo reakcijsko zmes, dodamo 30 mL DKM, ekstrahiramo z vodo (6×100 mL), organsko fazo sušimo z Na₂SO₄ in topilo odparimo pod znižanim tlakom.

Rezultati

Izgled: rjavo-rdeči kristali

Izkoristek: 62 % (241 mg)

Rf: 0,77 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 138-142 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3344, 2364, 1666, 1598, 1584, 1537, 1512, 1449, 1419, 1340, 1351, 1174, 1114, 1084, 1046, 881, 819, 742, 712, 692, 669, 609, 513

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ[ppm] = 2,68 (s, 3H, CH₃)

5,23 (s, 2H, -CH₂-O)

7,50 (d, 2H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,60 (t, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,78 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,96 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,08-8,15 (m, 3H, 3 Ar-H)

MS(ESI): 393,1 ($M+H$)⁺, **Mr (izračunana)** = 392,13

HRMS: 393,1022 (izračunano: 393,1021)

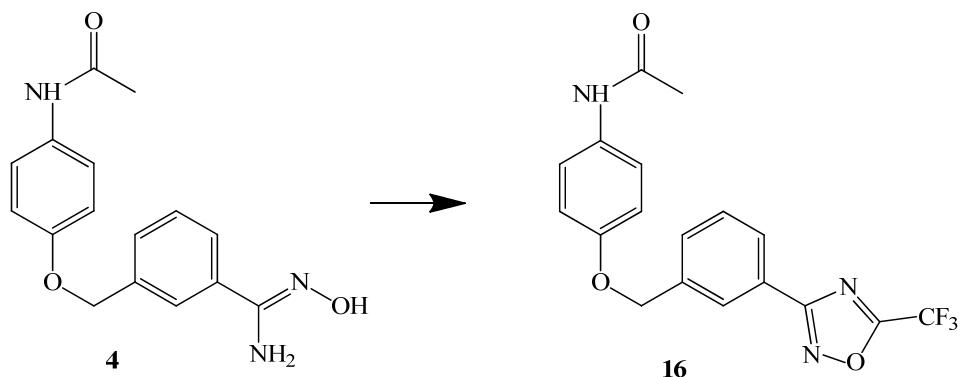
Elementna sestava: C₂₀H₁₆N₄O₃S

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 61,21	% C 61,31
% H 4,11	% H 4,08
% N 14,28	% 14,11

4.16. SINTEZA N-((4-((3-(5-(FLUOROMETIL)-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)ACETAMIDA (16)

Reakcija



Postopek

V brezvodnem piridinu suspendiramo spojino 4 (3,35 mmol, 1,00 g), zmes prepihamo z argonom in ohladimo na -10 °C. Počasi ob stalem mešaju dodajamo anhidrid trifluoroacetne kisline (4,30 mmol, 0,60 mL) ter mešamo pri sobni temperaturi 1 uro. Po 25 urah reakcijo

prekinemo, dodamo vodo (30 mL), nakisamo s 4 M HCl do pH 2 in damo v hladilnik za 45 minut. Izpadle kristale odfiltriramo s presesavanjem in dobro speremo z vodo.

Rezultati

Izgled: svetlo-rjavi kristali

Izkoristek: 68 % (857 mg)

Rf: 0,57 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 203-206 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3293, 3058, 2362, 1660, 16009, 1540, 1540, 1540, 1540, 1514, 1514, 1464, 1412, 1370, 1324, 1324, 1219, 1174, 1158, 1112, 1015, 995, 902, 829, 765, 718, 686, 686, 600, 520

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ [ppm] = 1,99 (s, 3H, CH₃CO)

2,69 (s, 3H, CH₃)

5,21 (s, 2H, CH₂-O)

6,98 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,49 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,64 (t, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,66 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,04 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,14 (s, 1H, Ar-H)

9,80 (s, 1H, -NH-)

MS(ESI): 378,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** 377,3

HRMS: 378,1058 (izračunano: 378,1066)

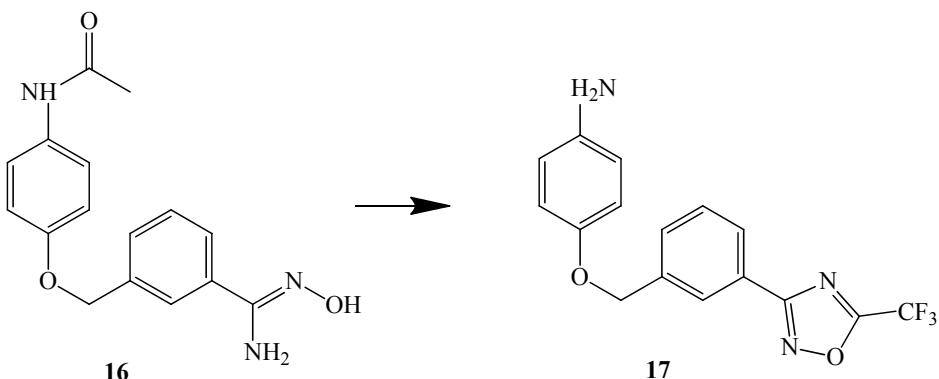
Elementna sestava: C₁₈H₁₄N₃O₃F₃

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 57,30	% C 58,53
% H 3,74	% H 3,59
% N 11,14	% N 11,01

4.17. SINTEZA 4-((3-(5-TRIFLUOROMETIL-1,2,4-OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI) FENILAMINA (17)

Reakcija



Postopek

Spojino **17** (1,86 mmol, 702 g) suspendiramo v 5 M HCl (10 mmol, 2 mL) in THF (8 mL) ter segrevamo pri temperaturi vrenja 24 ur, nato odparimo THF pod znižanim tlakom in naalkalimo do pH 10 z 10 M NaOH. Ekstrahiramo z etilacetatom (7×60 mL), organsko topilo speremo z vodo (5×60 mL) in nasičeno raztopino NaCl (3×60 mL), sušimo z Na_2SO_4 in topilo odparimo pod znžanim tlakom. Produkt očistimo s kolono (MF4).

Rezultati

Izgled: temno-rjavi kristali

Izkoristek: 31 % (190 mg)

Rf: 0,71 (MF1: DKM/MeOH = 15/1)

Tališče: 35-37 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 3375, 2895, 1611, 1513, 1468, 1420, 1384, 1366, 1306, 1324, 1218, 1177, 1158, 1054, 1018, 995, 902, 828, 808, 758, 718, 691, 513

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6):

δ [ppm] = 4,65 (s, 2H, $-\text{NH}_2$)

5,09 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{-O}$)

5,52 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 2 Ar-H)

6,76 (d, 2H, $J = 6$ Hz, 2 Ar-H)

7,64 (t, 1H, $J = 6$ Hz, Ar-H)

7,72 (d, 1H, J = 9 Hz, Ar-H)

8,02 (d, 1H, J = 9 Hz, Ar-H)

8,11 (s, 1H, Ar-H)

MS(ESI): 336,1(M+H)⁺, **Mr (izračunana) = 335,3**

HRMS: 336,0954 (izračunano: 336,0960)

Elementna sestava: C₁₆H₁₂N₃O₂F₃

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 57,32	% C 58,33
% H 3,61	% H 3,77
% N 12,53	% N 12,51

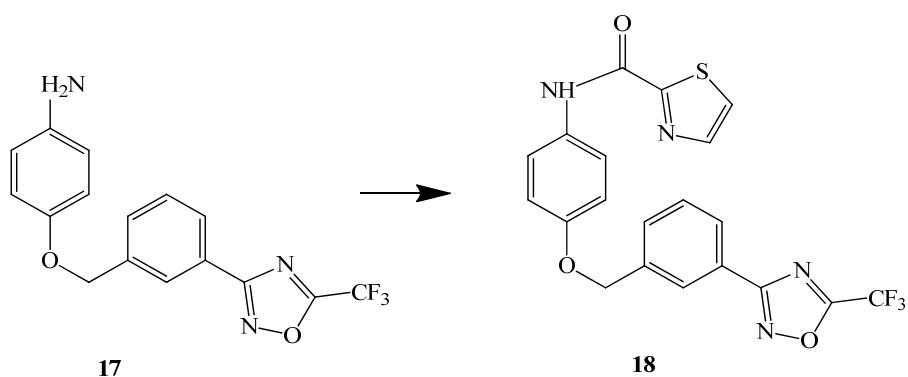
4.18. SINTEZA

N-(4-((3-(5-(TRIFLUOROMETIL)-1,2,4-

OKSADIAZOL-3-IL)BENZIL)OKSI)FENIL)TIAZOL-2-

KARBOKSAMIDA (18)

Reakcija



Postopek

V bučko zatehtamo 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino (0,63 mmol, 81,60 mg) in TBTU (0,63 mmol, 202 mg) ter ju raztopimo v DKM (5 mL). Dodamo NMM (1,4 mmol, 150 µL) in mešamo 1 uro. Dodamo še NMM (0,7 mmol, 70 µL) in spojino **17** (0,42 mmol, 140 mg)

ter mešamo pri temperaturi 50 °C. Po dveh urah ohladimo reakcijsko zmes, dodamo 30 mL DKM, ekstrahiramo z vodo (6×100 mL), organsko fazo sušimo z Na₂SO₄ in topilo odparimo pod znižanim tlakom. Produkt očistimo s kolonsko kromatografijo (MF6).

Rezultati

Izgled: beli kristali

Izkoristek: 38 % (72 mg)

Rf: 0,83 (MF1: diklorometan/metanol = 15/1)

Tališče: 148-151 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 3344, 2856, 23666, 1662, 1603, 1540, 1513, 1484, 1418, 1388, 1319, 1308, 1269, 1253, 1200, 1163, 1115, 1099, 1047, 994, 880, 819, 758, 717, 688, 665, 609

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆):

δ[ppm] = 5,26 (s, 1H, -CH₂-O-)

7,06 (d, 2H, J = 6 Hz, 2 Ar-H)

7,67 (t, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

7,75-7,79 (m, 3H, 3 Ar-H)

8,05 (d, 1H, J = 6 Hz, Ar-H)

8,08-8,14 (m, 2H, 2 Ar-H)

8,17 (s, 1H, Ar-H)

MS(ESI): 447,1 (M+H)⁺, **Mr (izračunana):** 446,1

HRMS: 447,0744 (izračunano: 447,0739)

Elementna sestava: C₂₀H₁₃F₃N₄O₃S

Elementna analiza:

Izračunano	Ugotovljeno
% C 53,81	% C 52,54
% H 2,94	% H 2,52
% N 12,55	% N 11,98

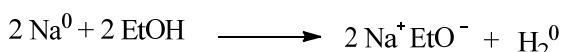
REZULTATI IN RAZPRAVA

Sintetizirali smo 4-(benziloksi)anilinske analoge klatrodina, za katere pričakujemo, da se bodo vezali na iste tarče kot le-ta. Imidazolni obroč klatrodina smo nadomestili z oksadiazolskim, ki smo ga tvorili iz ustreznega amidoksima in acetanhidrida. 4-(benziloksi)anilinski fragment predstavlja distančnik. Z njegovo aminsko skupino smo tvorili amidno vez z 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino, s 5-metil-2-tiofen karboksilno kislino in s pirol-2-karboksilno kislino. Strukture vseh sintetiziranih spojin (razen **12**) smo potrdili z NMR, IR in MS. Vsem spojinam (razen **10x, 11, 12, 16, 17** in **18**) smo potrdili čistoto z elementno analizo. Z določitvijo intervala tališča smo potrdili čistoto vsem spojinam (razen spojini **12**).

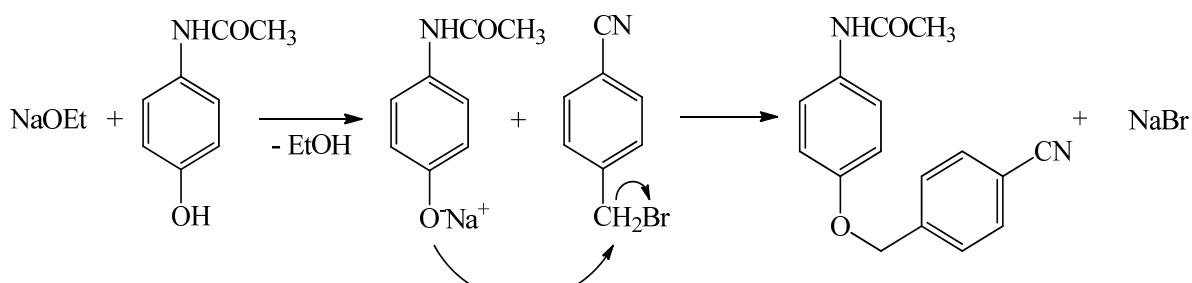
5.1. PRIPRAVA ETROV 1 IN 3

V prvi stopnji smo izvedli sintezo etra med *N*-(4-hidroksifenil)acetamidom in 4-(bromometil)benzonitrilom oz. 3-(bromometil)benzonitrilom s pomočjo močne baze (natrijev etilat). Sinteza je sestavljena iz priprave natrijevega etilata in reakcije z ustreznim alkil halogenidom (slika 15).

1. Redoks reakcija-priprava natrijevega etilata



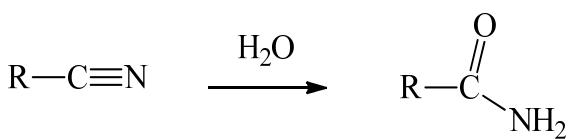
2. Nu-substitucija po tvorbi fenolata (S_{N}^2)



Slika 15 : Redoks reakcija priprave natrijevega etilata in mehanizem tvorbe etra (30).

Močna baza (natrijev etilat) derivatu fenola odcepi kisel proton. Fenolatni anion kot nukleofil reagira z metilensko skupino alkil halogenida. Sledi izstop halogenida (broma). Reakcija poteka po osnovnem mehanizmu nukleofilne substitucije S_N2 .

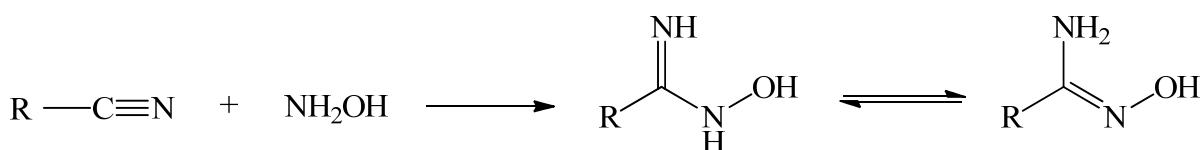
Na TLC ploščici smo pod produktom opazili rahlo liso. Sklepamo, da je zaradi morebitne prisotnosti vode prišlo do hidrolize ciano skupine do amida (slika 16). Odločili smo se za prekristalizacijo iz absolutnega etanola in tako odstranili nečistoto.



Slika 16: Hidroliza ciano skupine do amida.

5.2. TVORBA AMIDOKSIMOV 2 IN 4

Iz pripravljenih nitrilov **1** in **3** smo izvedli reakcijo tvorbe amidoksimov z adicijo hidroksilamina na polarno trojno vez (slika 17). Najprej smo z bazo pretvorili hidroksilamonijev klorid v neionizirano obliko. Temu je sledila adicija hidroksilamina na polarno trojno vez ciano skupine. Uporabili smo bazo trietilamin. Namesto le-te bi lahko uporabili tudi natrijev karbonat, natrijev ali kalijev hidroksid ali natrijev etilat (31).



Slika 17: Adicija hidroksilamina na ciano skupino (32).

Pred izvedbo reakcij smo predestilirali bazo trietilamin. Higroskopen reagent hidroksilamin v obliki hidroklorida smo pred reakcijama dodatno posušili in razdrobili. Želeli smo omogočiti čim bolj brezvodne pogoje, da bi se izognili hidrolizi ciano skupine izhodnih spojin **1** in **3** (slika 16).

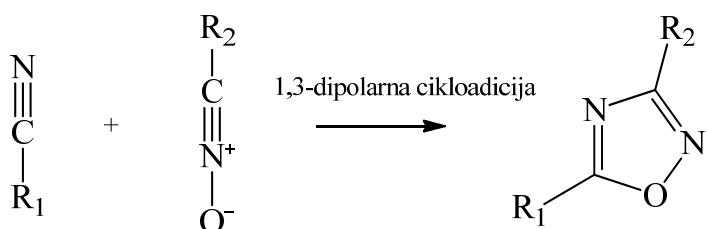
Reakcijo smo izvedli natančno po predpisu iz literature (33), vendar reakcija kljub temu ni potekla do konca. Po 25 urah je bila na TLC ploščici še vedno prisotna rahla lisa v višini izhodne spojine. To se je zgodilo tako pri sintezi N-(4-((4-(amino(hidroksiimino)metil)benzil)oksi)fenil)acetamida (**2**) kot pri sintezi N-((4-(amino(hidroksiimino)metil)benzil)oksi)fenil)acetamida (**4**).

Pri sintezi spojine **2** smo po 18 urah dodali še 20 % hidroksilamonijevega klorida, vendar reakcija po 25 urah kljub temu ni potekla do konca. Produkt smo očistili s prekristalizacijo iz brezvodnega etanola. Izkoristek reakcije (51 % in 66 %) je zaradi čiščenja manjši kot v literaturi (95 % in 85 %) (33).

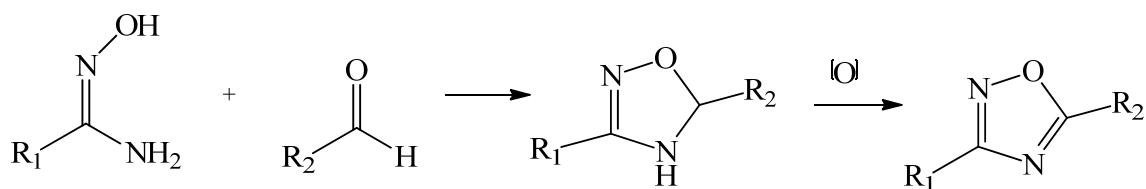
5.3. TVORBA 3, 5-DISUBSTITUIRANIH-1,2,4-OKSADIAZOLOV **5, 9, 13 IN 16**

Prve 1,2,4-oksadiazole sta pred 125 leti sintetizirala Terman in Kruger. Od takrat so objavili mnogo člankov, v katerih so dokazovali njihovo uporabnost v medicini. Ugotovili so, da nekateri substituirani 1,2,4-oksadiazoli delujejo agonistično na muskarinske, benzodiazepinske, histaminske in 5-hidroksitryptaminske receptorje. Delujejo tudi protivirusno, protimikrobnno ter antidiabetično. Zavirajo rast tumorjev in so učinkoviti pri uničevanju parazitov. 1,2,4-oksadiazolska skupina predstavlja bioizosterno zamenjavo za estrsko ali amidno funkcionalno skupino in je relativno odporna na hidrolizo (34).

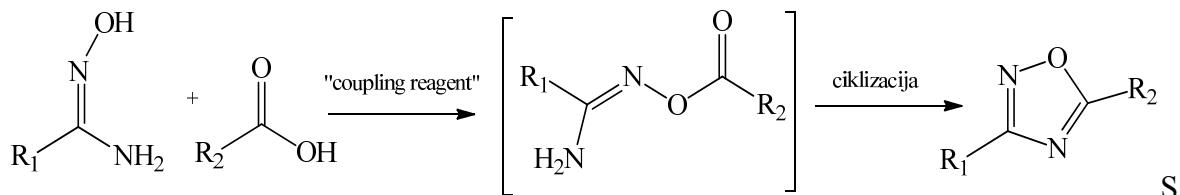
Poznamo različne sintezne možnosti za tvorbo 3,5-disubstituiranih-1,2,4-oksadiazolov. Lahko jih tvorimo z 1,3-dipolarno cikloadicijo nitrilovih oksidov na nitrile (slika 18). Nedavno so raziskali ciklizacijo teh obročev iz amidoksimov in aldehydov. Najprej nastane 4,5-dihidro-1,2,4-oksadiazol, nato sledi oksidacija do ustreznega 1,2,4-oksadiazola (slika 19). Najpogostejsa pa je ciklizacija 1,2,4-oksadiazola iz amidoksimov in karbonilnih reagentov, kot so: aktivirane kisline, kislinski kloridi in fluoridi, kislinski anhidridi ter estri in β -ketoestri (35, 36) (slika 19).



Slika 18: Sinteza 1,2,4-oksadiazolov z 1,3-dipolarno cikloadicijo nitrilovih oksidov na nitrile (35).



Slika 19: Sinteza 1,2,4-oksadiazolov z oksidacijo 4,5-dehidro-1,2,4-oksadiazolov (35).

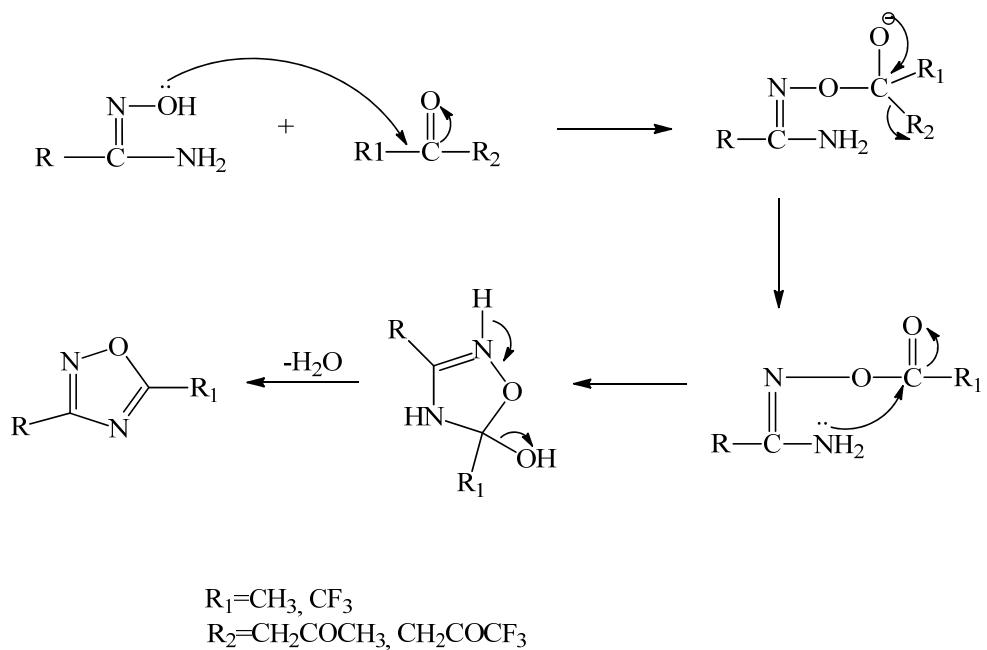


Slika 20: Sinteza 1,2,4-oksadiazolov iz amidoksimov in karbonilnih kislin (35).

Pri našem delu smo se posluževali sinteze 3,5-disubstituiranih-1,2,4-oksadiazolov iz amidoksimov in anhidrida acetne kisline ter anhidrida trifluorocetne kisline v bazičnih pogojih (piridin). Reakcije so potekale brez težav in z dokaj visokimi izkoristki 65-81 %.

Mehanizem reakcije poteka v dveh stopnjah.

1. Nukleofilna adicija $-\text{OH}$ skupine amidoksimov na karbonilno skupino anhidrida in nastanek O-aciliranega amidoksimova.
2. Sledi adicija aminske skupine na karbonilno skupino O-aciliranega amidoksimova oz. intamolekularna ciklizacija in nastanek 3,5-disubstituiranega 1,2,4-oksadiazola (slika 21).



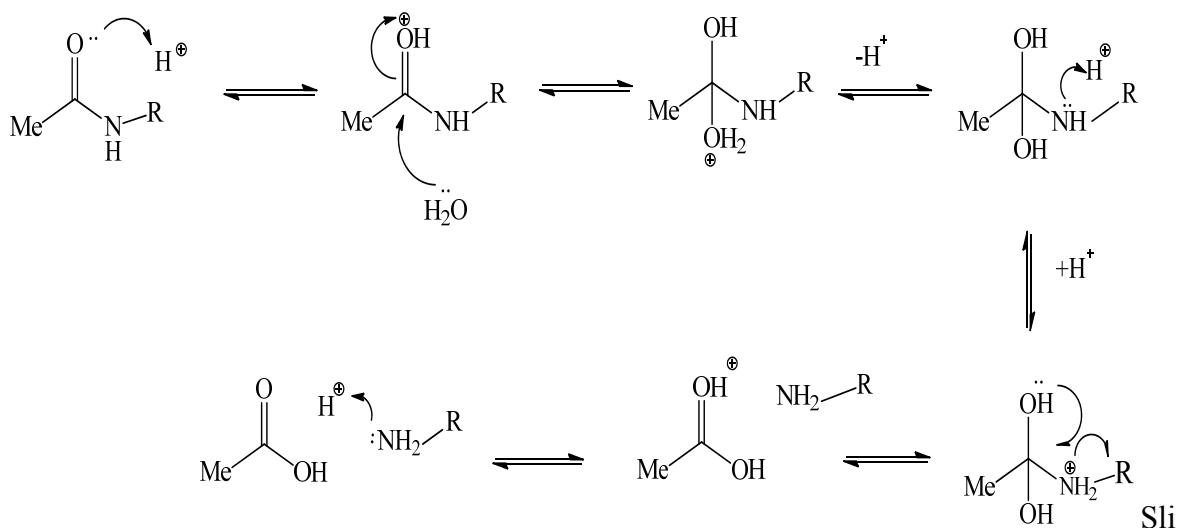
Slika 21: Predlagan mehanizem tvorbe 1,2,4-oksadiazolov iz ustreznega anhidrida in amidoksiema (32).

5.4. HIDROLIZA AMIDNE VEZI – SINTEZA SPOJIN 6, 10, 14 IN 17

Hidrolize amidov so preproste nukleofilne substitucije. Navadno so katalizirane z dokaj močno kislino ali bazo pod vplivom segreganja. Lahko potekajo tudi v prisotnosti nukleofilov ali encimov. Kot topilo se uporablja dioksan, THF, voda, etanol.

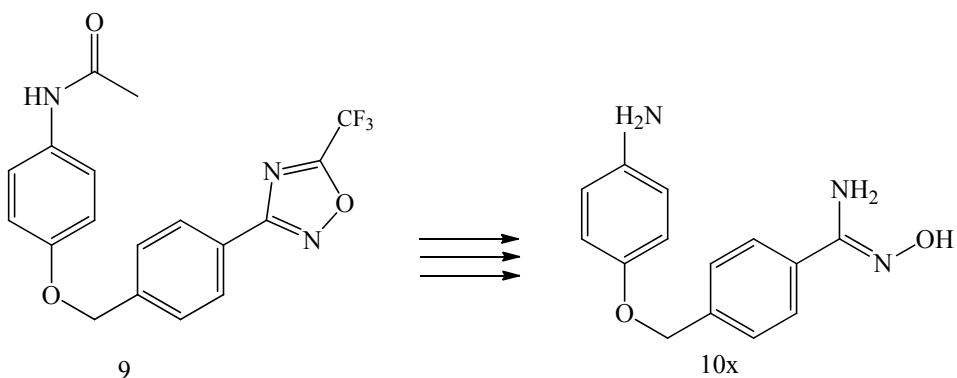
Kisla hidroliza poteka po naslednjem mehanizmu.

1. Protoniranje karbonilnega kisika; tvorba konjugirane kisline.
 2. Nukleofilni napad H_2O na protonirano karbonilno skupino v amidu.
 3. Ravnotežje: oddajanje protona topilu, nato reprotoniranje (slika 21) (37).



ka 22 : Mehanizem kisle hidrolize amida (37).

Pri hidrolizi amidov s 5-trifluorometil-1,2,4-oksadiazolskim obročem je nastal stranski produkt, ki je posledica hidrolize 1,2,4-oksadiazolskega obroča. Kot topilo smo uporabili THF, kot kislino pa 5 M HCl. Stranski produkt je nastal tako pri para, para analogu s 5-fluorometil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**10**), kot tudi pri para, meta analogu s 5-fluorometil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**17**). Pri sintezi spojine **10** smo produkt hidrolize obroča (**10x**) (slika 23) uspeli izolirati s kolonsko kromatografijo in ga ovrednotiti z NMR, IR, MS, HRMS, njegovo čistoto pa smo poskusili potrditi z elementno analizo in določitvijo intervala tališča. Pri sintezi spojine **17** smo o razpadu 1,2,4-oksadiazolskega obroča sklepali iz TLC-ja. Produkt smo izolirali tako, da smo vodno fazo ekstrahirali z etilacetatom in tako odstranili sol NaCl, ki nastane pri naalkaljenju kisle reakcijske zmesi (prebitek HCl) z NaOH. Pri para, para analogu s 5-fluorometil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**10**) smo dobili slab izkoristek (8 %), saj je v veliki meri prišlo do hidrolize 1,2,4-oksadiazolskega obroča. Pri para, meta analogu s 5-fluorometil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**17**) pa smo dobili boljši izkoristek (30 %). V drugem poizkušu sinteze spojine **10** nismo ekstrahirali z etilacetatom, temveč smo produkt obilno spirali z vodo, da smo odstranili NaCl. Izkoristek reakcije je bil 50 %. Surova produkta **10** in **17** smo očistili s kolonsko kromatografijo s suhim nanosom vzorca.



Slika 23: Hidroliza 1,2,4-oksadiazolskega obroča.

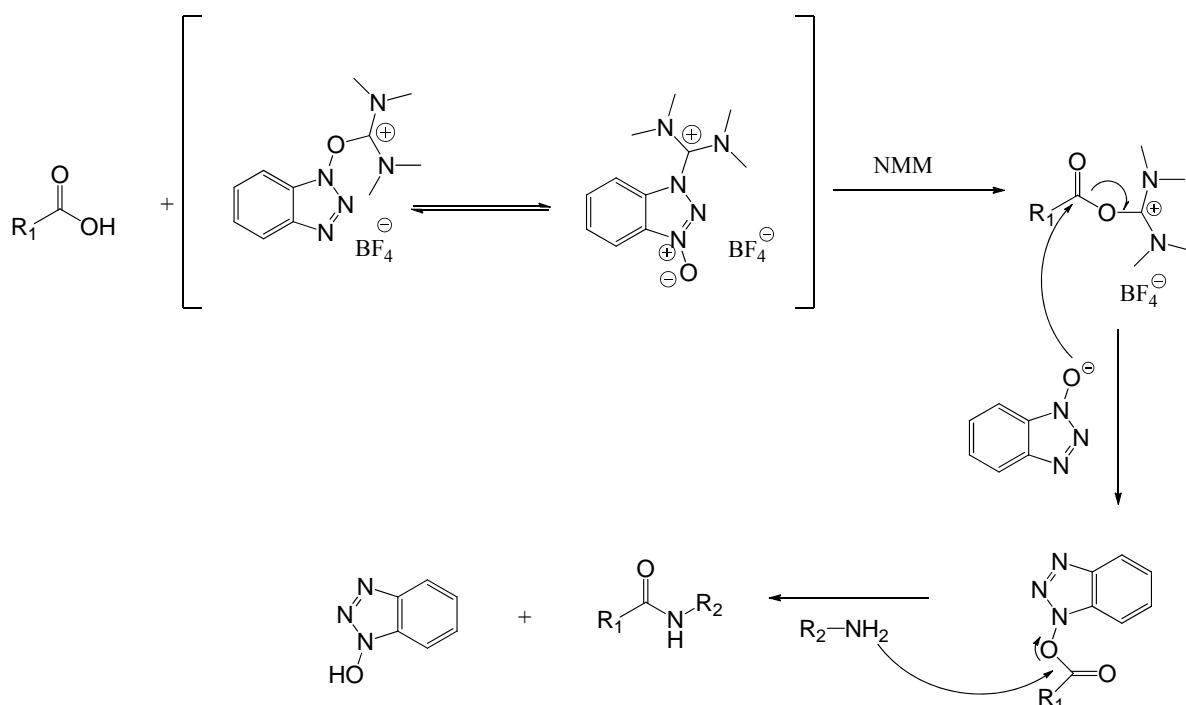
Hidrolizo analogov s 5-metil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**6**, **14**) smo izvajali po predpisu iz literature (33) s 4 M HCl, vendar reakcija ni potekla. Ugotovili smo, da se izhodna spojina **6** ne raztaplja v vodi. Zaradi slabega stika med izhodno spojino in kislino reakcija ni potekala. Dodali smo topilo THF, izhodna spojina se je raztopila in reakcija je brez težav potekla v 24 urah. Isti postopek smo uporabili tudi pri sintezi para, meta analoga s 5-metil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**14**). V primerjavi z analogi s 5-fluorometil-1,2,4-oksadiazolskim obročem je hidroliza analogov s 5-metil-1,2,4-oksadiazolskim obročem potekla z boljšim izkoristkom (65 % in 70 %) in brez stranskih produktov.

5.5. TVORBA AMIDNE VEZI – SINTEZA SPOJIN 7, 8, 11, 12, 15, 18

V zadnji stopnji sinteze smo tvorili amidne vezi med amini **6**, **10**, **14** in **17** in 1,3-tiazol-2-karboksilno kislino, med aminom **6** in 5-metil-2-tiofen karboksilno kislino ter med aminom **10** in pirol-2- karboksilno kislino.

Amidna vez nastane med aminsko skupino ene in karboksilno skupino druge spojine. Pri tem pride do odcepa vode. Reakcija poteče po mehanizmu nukleofilne substitucije na karbonilnem C-atomu. Najprej poteče adicija amina, ki ji sledi eliminacija vode. Pri tem uporabimo »coupling reagent«, ki se uporablja za *in-situ* aktivacijo karboksilne skupine. Aktivacijo karboksilne skupine dosežemo s pretvorbo v bolj reaktivne funkcionalne skupine, kot so: acil halogenidi, anhidridi in acil azidi. Poznamo različne »coupling reagente«, na primer DCC, TiCl_4 , aktiviran fostat, halogen sukcimid, Lawesson's reagent, itd. (38-39). Za aktivacijo karboksilne kisline pri tvorbi amidov z manj reaktivnimi aromatskimi amini se je izkazal za učinkovitega N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)-uronijev tetrafluoroborat (TBTU), zato smo ga izbrali kot ustreznega za tvorbo amidnih vez.

Pri reakciji med kislino in TBTU-jem se aktivira karboksilna kislina (aktiviran ester), ki nato reagira z izhodnim aminom do končnega amida. V reakcijsko zmes smo dodali tudi bazičen N-metil morfolin, ki ionizira karboksilno kislino (slika 24).



Slika 24: Mehanizem aktivacije karboksilne kisline s pomočjo TBTU in tvorbo amida (38).

Tvorba amidne vezi iz aminov **6** in **14** z 1,2-tiazol-2-karboksilno kislino je potekala hitro (1-2 uri), brez stranskih produktov in z dokaj dobrim izkoristkom (60 %, 62 %). Tvorba amidne vezi iz aminov **10** in **17** z 1,2-tiazol-2-karboksilno kislino je potekala dlje časa (2-24 ur), s stranskimi produkti in s slabšim izkoristkom (30 %, 38 %). Sklepamo, da je za slabši potek reakcij odgovorna povečana elektronska gostota na trifluorometilni skupini. Tvorba amidne vezi med aminom **6** in 5-metil-2-tiofensko kislino je potekala s slabim izkoristkom (25 %). To lahko pripišemo metilni skupini na tiofenskem obroču, ki sterično ovira nastanek amidne vezi. Poskusili smo sintetizirati amidno vez tudi s pirol-2-karboksilno kislino, kot amin smo uporabili spojino **10**. Dobili smo nečist produkt, ki smo ga poskusili očistiti. Čiščenje s prekristalizacijo in kolonsko kromatografijo (MF 5) ni bilo uspešno, predvsem zaradi slabe topnosti produkta. Surov produkt se začne sčasoma izobarjati iz topila pri več preizkušenih mobilnih fazah. Kljub temu smo strukturo spojine potrdili z masno spektroskopijo (MS-ESI) in HRMS.

SKLEPI

V okviru magistrskega dela smo sintetizirali 4-(benziloksi) anilinske derivate nevrotoksina klatrodina: N-(4-((4-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)tiazol-2-karboksamid (7), 3-metil-N-(4-((4-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)tiofen-2-karboksamid (8), N-(4-((4-(5-(trifluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)tiazol-2-karboksamid (11), N-(4-((3-(5-metil-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)tiazol-2-karboksamid (15) in N-(4-((3-(5-(fluorometil)-1,2,4-oksadiazol-3-il)benzil)oksi)fenil)tiazol-2-karboksamid (18).

Reakcija tvorbe amidoksimov **2** in **4** ni potekla v celoti, kljub temu da smo dodali hidroksilamin v prebitku. Izhodno spojino smo uspešno odstranili s prekristalizacijo produkta iz etanola.

Izbrani pogoji ciklizacije 1,2,4-oksadiazolov iz amidoksima in kislinskega anhidrida so se izkazali za uspešne, saj je reakcija potekla v celoti in brez stranskih produktov.

Pri kisli hidrolizi amidne vezi analoga s 5-(fluorometil)-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**10**) je nastal stranski produkt (**10x**), ki je posledica hidrolize 1,2,4-oksadiazolskega obroča.

Tvorba amidne vezi med amini analogov s 5-metil-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**6**) (**14**) in 1,2-tiazol-2-karboksilno kislino s pomočjo reagenta za aktivacijo karboksilne kisline TBTU se je izkazala za ugodno, saj je reakcija potekla v kratkem času (1-2 uri) in brez stranskih produktov.

Tvorba amidne vezi med amini analogov s 5-(fluorometil)-1,2,4-oksadiazolskim obročem (**10**) (**17**) in 1,2-tiazol-2-karboksilno kislino je potekala dlje časa od prej omenjenih (2-24 ur) in s stranskimi produkti. Na neugoden potek reakcije bi lahko vplivala povečana elektronska gostota na trifluorometilni skupini.

Tvorba amidne vezi med aminom **6** in 5-metil-2-tiofensko kislino je potekla s slabim izkoristkom (25 %), saj je njeno tvorbo sterično ovirala metilna skupina na tiofenskem obroču.

Sinteza amida iz amina **10** in pirol-2-karboksilne kisline je uspela, vendar produkta nismo uspeli ustrezno očistiti, predvsem zaradi njegove slabe topnosti. Lahko bi uporabili drug postopek za tvorbo amidne vezi, kjer bi nastajali stranski produkti z drugimi karakteristikami kot pri uporabljenem postopku, kar bi omogočilo tudi drugačen način čiščenja surovega produkta.

Za sintetizirane 4-(benziloksi)anilinske analoge klatrodina pričakujemo, da bodo imeli podobno delovanje kot le-ta, kar bi lahko preverili z ustreznimi testi. Predvsem bi bilo zanimivo preveriti njihovo delovanje na natrijeve kanalčke.

LITERATURA

1. A. Crazier, M.N. Clifford, H. Ashihara: Plant secondary metabolites - Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Oxford. Blackwell Publishing, 2006, 1-2.
2. J. Hudlicky, T. Reed: The Way Of Synthesis - Evolution of Design and Methods Of Natural Products. Wiley - vch, 2007, 527-528.
3. N. Prijatelj: Farmakognozija - Kemijska struktura naravnih spojin. Ljubljana. DZS, 2005, 131-146.
4. S.V. Bhat, B.A. Nagasampagi, M. Sivakumar: Chemistry of Natural Products. Narosa, 2005, 403.
5. <http://animals.nationalgeographic.com/animals/amphibians/spotted-salamander/> (julij 2013).
6. <http://my.firefighternation.com/group/hazmatwmdresponders/forum/topics/fire-department-toxmedic-drug> (julij 2013).
7. V. Alagarsamy: Pharmaceutical Chemistry of Natural Products. Elsevier, 2007, 150-151.
8. T. Aniszewski: Alkaloids - Secret of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier, 2007, 1-11.
9. M. Roberts, M. Wink: Alkaloids - Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications. Springer, 1998, 4-6.
10. E. Faturosso, O. Tagliatela-Schafé: Modern alkaloids - Structure, Isolation, Synthesis and Biology. Wiley-vch, 2008, 9-10, 271-299.
11. T. Turk, T. Valentinčič, B. Furlan: Živalski svet Jadranskega morja. Ljubljana: DZS, 1996, 253.
12. J. Sinko, J. Rajchard, Z. Balunova, L. Fikotova: Biologically active substances from water invertebrates. Veterinarski Medicina 2012; 57(4).
13. S.A. Rogers, R.W. Huigens, J. Cavangan, C. Melader: Synergistic Effects between Conventional Antibiotics and 2-Aminoimidazol-Derivated Antibiofilm Agents. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2010; 54(5), 2112-2118.
14. M. Movassaghi, D.S. Siegel., S. Han: Total Synthesis of (-) - Agelastatin alkaloids. Chem Sci., 2010; 1, 561-566.

15. Y. Xu, K. Yakusijin, D. Horne: Synthesis of C11N5 Marine Sponge Alkaloids - Hymenin, Stevensine, Hymenialdisine and Debromohimenialdisine. *J. Org. Chem.* 1997; 62, 456-464.
16. S. Raspall, V. Kumbam, J.A. Dhawane, J.A. Golen, C. Lovely, A. Rheingold: Total synthesis of oroidin, himenidin and clathrodin 2013; 11, str. 4133-4137.
17. en.wikipedia.org/wiki/Agelas_clathrodes (julij 2013)
18. A.L. Rentas, A.D. Rodriguez, G.E. De Motta G.E: Effect of alkaloid toxins from tropical marine sponges on membrane sodium currents. *Toxicon* 1995; 33, 491-497.
19. P. Sima, V. Vetvicka: Bioactive substances with antineoplastic efficacy from marine invertebrates - Porifera and Coelenterata. *World Journal of Clinical Oncology* 2011; 2(11), 355-361.
20. http://sanctuaries.noaa.gov/pgallery/pgflower/living/living_8.html (julij 2013)
21. A. Poljanec: Sinteza imidazolskih derivatov toksina klatrodina s potencialnim apoptotičnim delovanjem. Diplomska naloga. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2012, 18, 55.
22. M.K. Blumenthal, L.A. Seibert: Voltage-Gated Sodium Channel Toxins, Poisons, Probes and Future Promise. *Cell biochemistry and biophysics* 2003; 26. str. 251-237.
23. C.A. Rohl, F.A. Boeckman, C. Baker, T. Scheuer, W.A. Catterall, R.E. Klevit: Solution structure of the sodium channel inactivation gate. *Biochemistry* 1999; 38, 855-861.
24. N. Zidar, Ž. Jakopin, D. J. Madge, F. Chan, J. Tytgat, M. Sollner Dolenc, L. Peterlin Mašič, D. Kikelj: Substituted 5-Phenyl-2-aminoimidazoles and 5-Phenyl-4,5-dihydro-2-aminoimidazoles as Voltage-Gated Sodium Channel Modulatorsn (članek poslan v objavo).
25. M. Al-Sabi, J. McArthur, V. Ostroumov, R.J. French: Marine Toxins That Target Voltage-gated Sodium Channels. *Marine Drugs* 2006; 4, 157-192.
26. A.L. Goldin: Mechanisms of sodium channel inactivation. *Current Opinion in Neurobiology* 2003; 13, 284-290.
27. www.yongcheng-poh.com (julij 2013)
28. www.ch.ic.ac.uk/local/projects/quek/chnact.htm. (julij 2013)
29. sl.wikipedia.org/wiki/Saksitoksin (julij 2013)
30. sl.wikipedia.org/wiki/Williamsonova_sinteza_etrov (julij 2013)

31. F. Eloy, R. Lenaers: The Chemistry of Amidoximes and Related Compounds. Chem. Rev. 1962; 62(2), 155-162.
32. A. Yahya: Synthesis Some Heterocyclic Compounds from Amidoxime and Imidate. Raf. Jour. Sci. 2008; 19, 59-68.
33. K. Nadrah: Načrtovanje, sinteza in biološko vrednotenje delovanja intergrinskih receptorjev. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2008, 131-138.
34. N. Tka, B. B. Hassine: One-pot synthesis of new, biologically active 3, 5-disubstituted-1,2,4-oxadiazoles. Synth. Commun., 2010; 40, 3168-3176
35. <http://etd.lib.metu.edu.tr/upload/12612945/index.pdf> (julij 2011)
36. M. Kočevar, S. Polanc, M. Sollner Dolenc, M. Tišler, B. Verček: Simple procedure for the synthesis of the pyridinecarbohydroximoyl chlorides and bromides. Synth. Commun., 1988; 18 (12), 1427-1432.
37. P.M. Dewick: Essentials of Organic Chemistry - For Students of Pharmacy, Medicinal Chemistry and Biologica Chemistry. Weinheim. Wiley, 2006, 256-261.
38. S. Balalaie, M. Mahdidoust, R. Eshaghi-Najafabadi: 2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium Tetrafluoroborate as an Efficient Coupling Reagent for the Amidation and Phenylhydrazation of Carboxylic Acids at Room Temperature. Journal of The Iraian Chemical Society 2007; 4(3), 364-369.
39. H. So-Yeop, K. Young: Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis. Tetrahedron, 2004; 60, 2447-2467