Priprava i karakterizacija bioaktivnih spojeva temeljenih na 1-azabiciklo[2.2.2]oktanu

Radman Kastelic, Andreja

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:662978

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Andreja Radman Kastelic

Synthesis and Characterization of Bioactive Compounds Based on 1-Azabicyclo[2.2.2]octane

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2019.



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Andreja Radman Kastelic

Priprava i karakterizacija bioaktivnih spojeva temeljenih na 1-azabiciklo[2.2.2]oktanu

DOKTORSKI RAD

Mentorica: prof. dr. sc. Ines Primožič

Zagreb, 2019.



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Andreja Radman Kastelic

Synthesis and Characterization of Bioactive Compounds Based on 1-Azabicyclo[2.2.2]octane

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Dr. Ines Primožič, Professor

Zagreb, 2019

Zahvala

Ova je disertacija izrađena u Zavodu za organsku kemiju, pod vodstvom prof. dr. sc. Ines Primožič, u sklopu sveučilišnoga poslijediplomskog studija Kemije pri Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te u sklopu projekta IP-2016-06-3775 Aktivnošću i *in silico* usmjeren dizajn malih bioaktivnih molekula *(voditelj T. Hrenar) Hrvatske zaklade za znanost.*

Hvala mentorici prof. dr. sc. Ines Primožič na ukazanom povjerenju, prenesenom znanju, odabiru teme, stručnom vođenju te ukazanoj mogućnosti za izradu ove disertacije. Zahvaljujem prof. dr. sc. Tomici Hrenaru na podršci i pomoći oko molekulskog modeliranja.

Zahvaljujem dr. sc. Aniti Bosak, Laboratorij za biokemiju Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, na određivanju inhibicijskog potencijala karbamata prema kolinesterazama.

Biološka aktivnost oksima i amina je određena na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Splitu. Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Mirjani Skočibušić i doc. dr. sc. Renati Odžak na određivanju antibiotskog potencijala oksima, kao i doc. Ani Maravić i doc. dr. sc. Matildi Šprung na određivanju antibiotskog potencijala i citotoksičnosti amina.

Andreja Radman Kastelic

Sadržaj

SAŽETAK ..... **VIII**
ABSTRACT ..... **IX**
§ 1. UVOD **1**
§ 2. LITERATURNI PREGLED **3**
2.1. Svojstva i reakcije 1-azabiciklo[2.2.2]oktana **3**
2.1.1. Sinteza bicikličkog sustava kinuklidina *4*
2.1.2. Menshutkinova reakcija *6*
2.1.3. Sinteza amina reduktivnom aminacijom *6*
2.1.4. Sinteza karbamata *9*
2.1.5. Razdvajanje enantiomera kinuklidin-3-ola *11*
2.2. Mehanokemijska organska sinteza **14**
2.2.1. Primjena mehanokemijske sinteze u sintezi oksima *16*
2.3. Biološka aktivnost derivata kinuklidina **20**
2.3.1. Interakcija s kolinesterazama *20*
2.3.2. Antibakterijski potencijal derivata kinuklidina *29*
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO **34**
3.1. Opće napomene **34**
3.2. Sinteza 3-hidroksiiminokinuklidina **35**
3.2.1. Priprava 3-(hidroksiimino)kinuklidina, ***1*** *35*
3.2.2. Priprava 1-(but-3-en-1-il)-3-(hidroksiimino)kinuklidinijevog bromida, ***2*** *35*
3.2.3. Priprava 1-benzil-3-(hidroksiimino)kinuklidinijevog bromida, ***3*** *36*
3.2.4. Priprava 3-(hidroksimino)-1-(4-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, ***4*** *36*
3.2.5. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, ***5*** *37*
3.2.6. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***6*** *37*
3.2.7. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***7*** *38*
3.2.8. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(4-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***8*** *38*
3.2.9. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***9*** *38*
3.2.10. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(4-brombenzil)kinuklidinijevog bromida, ***10*** *39*
3.2.11. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-brombenzil)kinuklidinijevog bromida, ***11*** *39*
3.3. Sinteza kiralnih kinuklidina **40**
3.3.1. (±)-kinuklidin-3-il-acetat, ***12*** *40*

3.3.2. Rezolucija-kinuklidin-3-il-acetata *40*
3.3.2.1. (R)-kinuklidin-3-ol, ***13*** *41*
3.3.2.2. (S)-kinuklidin-3-ol, ***14*** *41*
3.3.2.3. (±) 3-okso-1-metilkinuklidinijev jodid, ***15*** *42*
3.4. Mehanokemijska sinteza oksima **42**
3.4.1. Sinteza bez otapala i bez prisustva baze *42*
3.4.2. Sinteza uz otapalo i bez prisustva baze *43*
3.4.3. Sinteza uz otapalo i s bazom *43*
3.5. Sinteza derivata 3-dodecilaminokinuklidina **43**
3.5.1. Priprava 3-dodecilaminokinuklidina, ***16*** *43*
3.5.2. Priprava 3-dodecilamino-1-metilkinuklidinijevog jodida, ***17*** *44*
3.5.3. Priprava 1-benzil-3-dodecilaminokinuklidinijevog bromida, ***18*** *44*
3.5.4. Priprava 3-dodecilamino-1-(3-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, ***19*** *45*
3.5.5. Priprava 3-dodecilamino-1-(4-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, ***20*** *46*
3.5.6. Priprava 3-dodecilamino-1-(3-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***21*** *46*
3.5.7. Priprava 3-dodecilamino-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***22*** *47*
3.5.8. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-dodecilaminokinuklidinijevog bromida, ***23*** *47*
3.5.9. Priprava 1-(4-brombenzil)-3-dodecilaminokinuklidinijevog bromida, ***24*** *48*
3.5.10. Priprava 3-dodecilamino-1-(3-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***25*** *48*
3.5.11. Priprava 3-dodecilamino-1-(4-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***26*** *49*
3.6. Sinteza karbamata kinuklidin-3-ola **49**
3.6.1. Priprava 3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidina, ***27*** *49*
3.6.2. Priprava 3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijevog jodida, ***28*** *50*
3.6.3. Priprava 1-benzil-3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***29*** *50*
3.6.4. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***30*** *51*
3.6.5. Priprava 1-(4-klorbenzil)-3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***31*** *52*
3.6.6. Priprava 3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)-1-(4-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, ***32*** *52*
3.6.7. Priprava 3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)kinuklidina, ***33*** *53*
3.6.8. Priprava 3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijevog jodida, ***34*** *53*
3.6.9. Priprava 1-benzil-3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***35*** *54*
3.6.10. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***36*** *54*
3.6.11. Priprava 3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***37*** *55*
3.6.12. Priprava 3-(N-fenilkarbamoiloksi)kinuklidina, ***38*** *55*
3.6.13. Priprava N-benzil-3-(N-fenilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***39*** *56*
3.6.14. Priprava 1-(4-brombenzil)-3-(N-fenilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***40*** *56*
3.6.15. Priprava 3-(N-fenilkarbamoiloksi)-1-(3-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***41*** *57*

3.6.16. Priprava 3-(N-fenilkarbamoiloksi)-1-(3-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***42*** 57
3.6.17. Priprava 3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)kinuklidina, ***43*** 58
3.6.18. Priprava 3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijevog jodida, ***44*** 59
3.6.19. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, ***45*** 59
3.6.20. Priprava 3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, ***46*** 60
3.7. Priprava derivata 2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidin-3-ona 60
3.7.1. Priprava 2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidin-3-ona, ***47*** 60
3.7.2. Priprava N-metil-3-(kinuklidin-3-on-2-iliden)kinuklidinijevog jodida, ***48*** 61
3.7.3. Priprava N-benzil-3-(kinuklidin-3-on-2-iliden)kinuklidinijevog bromida, ***49*** 61
3.7.4. Priprava 3-hidroksiimino-2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidina, ***50*** 62
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA **63**
4.1. Uvod 63
4.2. Priprava oksima 65
4.2.1. Mehanokemijska sinteza oksima 66
4.3. Razdvajanje enantiomera kinuklidin-3-ola 81
4.4. Sinteza amina 82
4.5. Sinteza karbamata 88
4.6. Sinteza aldola kinuklidin-3-ona 91
4.7. Biološka aktivnost novosintetiziranih spojeva 95
4.7.1. Biološka aktivnost oksima 95
4.7.2. Biološka aktivnost amina 98
4.7.3. Biološka aktivnost karbamata 100
§ 5. ZAKLJUČAK **104**
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA **106**
§ 7. LITERATURNI IZVORI **107**
§ 8. ŽIVOTOPIS ..... **X**

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

PRIPRAVA I KARAKTERIZACIJA BIOAKTIVNIH SPOJEVA TEMELJENIH NA 1-AZABICIKLO[2.2.2]OKTANU

Andreja Radman Kastelic
Prirodoslovno matematički fakultet, Kemijski odsjek
Horvatovac 102 A, Zagreb

U okviru ove disertacije opisana je priprava 3-hidroksiimino-, 3-dodecilamino, 3-(*N*,*N*-dimetilkarbamoiloksi)-, 3-(*N*,*N*-dietilkarbamoiloksi)-, 3-(*N*-fenilkarbamoiloksi)-, te 3-(*N*,*N*-difenilkarbamoiloksi)kinuklidina, kao i 2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidin-3-ona i njegovog ketoksima. Spojevi su sintetizirani klasičnim postupcima organske sinteze, a ketoksim kinuklidina i mehanokemijskom sintezom. Ispitan je potencijal mehanokemijske sinteze oksima na nizu aldehida i ketona koji u svojoj strukturi imaju dušikove atome različite bazičnosti te je pokazano da su reakcije moguće uz katalitičku količinu otapala i bez dodatka baze. Nadalje, kvaternizacijom spojeva s metil-jodidom, but-3-en-1-il-bromidom i različito *para* i *meta* supstituiranim benzil-bromidima pripravljena su 42 derivata, od kojih 37 do sada nisu opisani u literaturi. Svi pripravljeni spojevi dobiveni su u zadovoljavajućem iskorištenju te im je struktura dokazana standardnim analitičkim metodama, a primjenjena je i spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije za određivanje optičke čistoće kiralnih amina. Svi spojevi su pokazali bioaktivnost: oksimi i amini antibiotski potencijal, a karbamati inhibicijski potencijal prema kolinesterazama. Molekulskim modeliranjem određen je način vezanja *N*,*N*-dimetilkarbamata u aktivnom mjestu AChE.

(112 stranica, 44 slike, 51 shema, 19 tablica, 102 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: kinuklidin /amini / oksimi/ karbamati / autokondenzacija / mehanokemija / bioaktivni spojevi /
Mentorica: prof. dr. sc. Ines Primožič
Rad prihvaćen: 9. listopada 2019. godine
Ocjenitelji:
1. prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić
2. dr. sc. Maja Majerić Elenkov, v. zn. sur.
3. dr. sc. Anita Bosak, zn. sur.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS BASED ON 1-AZABICYCLO[2.2.2]OCTANE

Andreja Radman Kastelic
Faculty of Science, Department of Chemistry
Horvatovac 102 A, Zagreb

In this thesis, the syntheses of 3-hydroxiimino-, 3-dodecylamino-, 3-(*N*,*N*-dimethylcarbamoyl)oxy-, 3-(*N*,*N*-diethylcarbamoyl)oxy-, 3-(*N*-phenylcarbamoyl)oxy-, 3-(*N*,*N*-diphenylcarbamoyl)oxyquinuclidine, as well as the condesation product of quinuclidine-3-on and its ketoxime are described. The possibility of mechanochemical synthesis (without the addition of external base and with catalytic amount of solvent) of oximes from carbonyl compounds that have nitrogen atoms of various bacisity was also determened. Furthermore, prepared compounds were quaternized with methyl iodide, but-3-en-1-yl bromide, and differently substituted *meta* and *para* benzyl bromides. 42 compounds were prepared in that manner, from which 37 for the first time. All compounds were prepared in good yields and were characterized by standard analytical methods. Bioactivity of compounds was tested. Oximes and amine derivatives showed antibacterial potential. The interaction of carbamates with cholinesterases was determined experimentaly and the mode of binding of 3-(*N*,*N*-dimethylcarbamates within the active site was determined.

(112 pages, 44 figures, 51 scheme 19 tables, 102 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

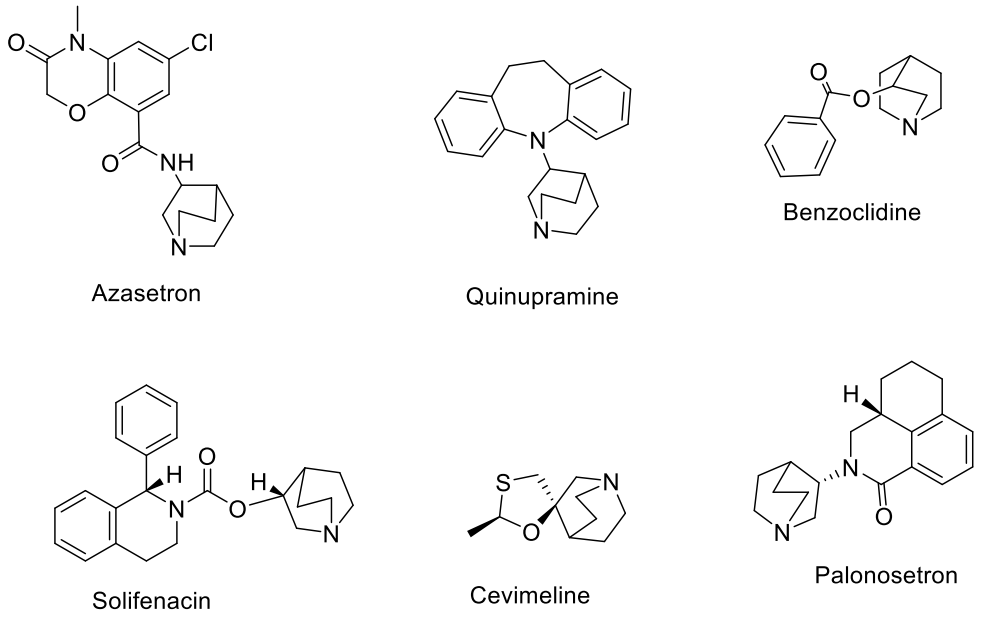
Keywords: quinuclidine/amine/ oxime/carbamates/ autocondensation/ mechanochemistry/bioactive compounds/

Supervisor: Dr. Ines Primožič, Professor

Thesis accepted: October 4, 2019
Reviewers:
1. Dr. Iva Juranović Cindrić, Professor
2. Dr. sc. Maja Majerić Elenkov, Senior Research Associate
3. Dr. sc. Anita Bosak, Research Associate

§ 1. UVOD

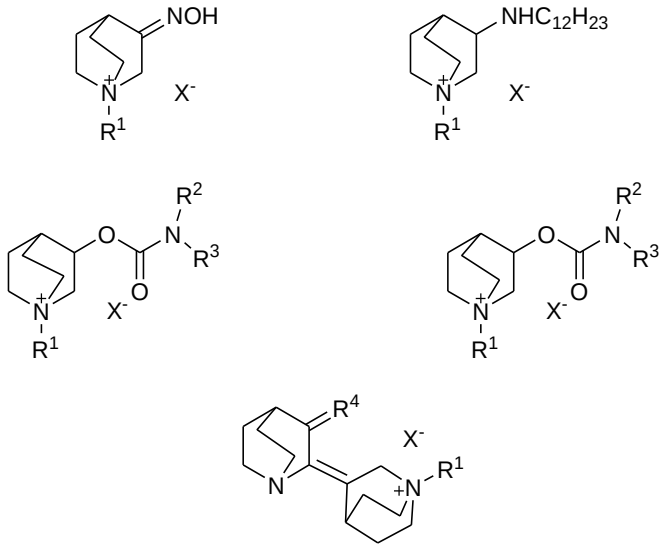
1-azabiciklo[2.2.2]oktan ili kinuklidin,[1] alifatski je biciklički spoj koji sadrži dušikov atom u premoštenju.[2] Sastavni je dio brojnih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih spojeva.[3] Primjenu nalazi u organskoj stereoselektivnoj sintezi kao sastavni dio katalizatora.[4] Kinuklidin u strukturi sadrži biciklički farmakofor s dušikovim atomom kao i Avibaktam,[5] te je određena antimikrobna aktivnost kinuklidinskih derivata.[6] Još neki od lijekova koji u svojoj strukturi sadrže kinuklidinski prsten su Azasetron, Benzoclidine, Solifenacin te Quinupramine, slika 1.[7]



Slika 1. Lijekovi koji u svojoj strukturi sadrže kinuklidin.

Kinuklidin-3-ol i njegovi esteri mogu se promatrati kao biciklički analozi kolina tj. acetilkolina, pa ne iznenađuje interakcija derivata kinuklidina s raznim receptorima u kolinergičkom sustavu.[8] Dobru zaštitu od trovanja somanom pokazali su derivati kinuklidina koji u *in vitro* eksperimentima inhibiraju sintezu acetilkolina ACh.[9] Kao obećavajući antidoti pri trovanju organofosfornim spojevima pokazali su se i derivati kinuklidin-3-ona konjugirani s piridin-2- i piridin-4-aldoksimom.[10]

Cilj ovog rada je sinteza biblioteke 3-supstituiranih kinuklidinijevih derivata radi izučavanja njihovih bioloških svojstava (interakcija s kolinesterazama (acetilkolinesteraza (AChE, E.C. 3.1.1.7.) i butirilkolinesteraza (BChE, E.C. 3.1.1.8.)) te antimikrobni potencijal). Pripravljene su serije oksima, amina i karbamata kao i aldoli kinuklidin-3-ona, slika 2.



R_1: CH_3; CH_2=$CHCH_2CH_2$; C_6H_5 CH_2; p-$NO_2C_6H_4CH_2$; m-$NO_2C_6H_4CH_2$; p-$ClC_6H_4CH_2$; m-$ClC_6H_4CH_2$; p-$CH_3C_6H_4CH_2$; m-$CH_3C_6H_4CH_2$; p-$BrC_6H_4CH_2$; m-$BrC_6H_4CH_2$; **R_2**: CH_3; CH_3CH_2; C_6H_5; **R_3**: H; CH_3; CH_3CH_2; C_6H_5; **R_4**: O; NOH.

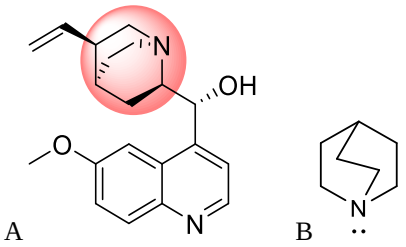
Slika 2. Opće strukturne formule sintetiziranih spojeva.

Spojevi su kvaternizirani s odgovarajućom alkilnom odnosno benzilnom skupinom čija su sterička i elektronska svojstva mijenjana uvođenjem skupina u *para* ili *meta* položaj (–NO_2, –Cl, –Br, –CH_3). Ekološki prihvatljivim mehanokemijskim pristupom sintetizirani su oksimi kinuklidina te odabranih heterocikličkih aldehida i ketona. Iskorištena je prisutnost atoma dušika u supstratima kao moguće unutarnje baze za deprotoniranje hidroksilamin-hidroklorida u reakciji s aldehidima, a ispitane su i kapljevinom potpomognute reakcije mljevenja kao i reakcije uz dodatak dušiove organske baze. Struktura pripravljenih spojeva potvrđena standardnim analitičkim postupcima koje uključuju FTIR, 1D (^{1}H, ^{13}C) i 2D NMR (H,H-COSY, NOESY i HETCOR) spektroskopskim metodama. Primjenjena je spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije za određivanje optičke čistoće kiralnih amina te je molekulskim modeliranjem studiran konformacijski prostor aldola i karbamata te vezanje karbamata u aktivno mjesto enzima.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Svojstva i reakcije 1-azabiciklo[2.2.2]oktana

1-azabiciklo[2.2.2]oktan poznat je i kao kinuklidin.[1] Trivijalno ime dobio je po prirodnom alkaloidu kininu koji se koristi i kao lijek protiv malarije čiji je strukturni dio, slika 3.[11] Kinuklidin je sastavni dio strukture brojnih lijekova i prirodnih, biološki aktivnih spojeva.[12]



Slika 3. Struktura A) kinina i B) kinuklidina.

Kinuklidin je alifatski, zasićeni, biciklički spoj rigidne, simetrične strukture, s dušikovim atomom u premoštenju. Svaki od šesteročlanih prstenova zauzima konformaciju izvijene kolijevke. Zbog nemogućnosti konformacijskih promjena vezanih za rotaciju atoma oko jednostrukih veza, struktura spoja je izrazito rigidna. Slobodni elektronski par na dušikovom atomu je sp^3 hibridiziran. Kinuklidin je jaka baza (pK_a konjugirane kiseline je 11). Bazičnost je posljedica elektronske gustoće na dušikovom atomu. Zbog položaja susjednih atoma, slobodni elektronski par dostupniji je Lewisovim kiselinama od primjerice slobodnog elektronskog para *N*-metilpiperidina, slika 4. Poput ostalih tercijarnih amina, kinuklidin stupa u reakciju s kiselinama tvoreći amonijeve soli. Reakcija s alkil-halogenidima je 500 puta brža od reakcije odgovarajućih alifatskih amina.[13]



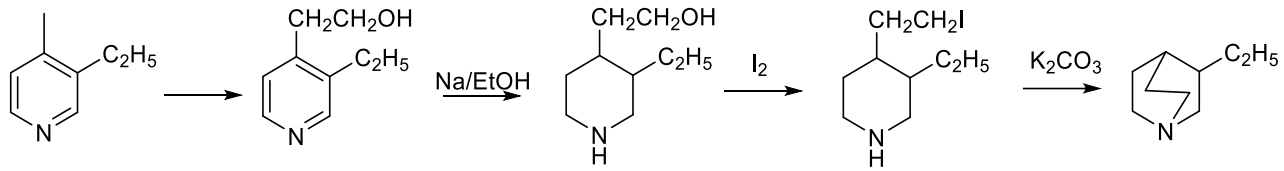
Slika 4. Položaj slobodnog elektronskog para i utjecaj susjednih atoma kod A) derivata kinuklidina i B) *N*-metilpiperidina.

2.1.1. Sinteza bicikličkog sustava kinuklidina

Kao polazni spojevi u sintezi kinuklidina korišteni su trihalogenalkani, dihalogenalkilamini te derivati piperidina. Zbog zasićenog bicikličkog sustava, supstituenti se uvode u strukturu prilikom sinteze samog kinuklidinskog bicikličkog sustava.

U literaturi su opisane različite metode sinteze kinuklidina. Tako sinteza kinuklidina iz derivata piperidina uključuje intramolekulsku alkilaciju/acilaciju te intramolekulsku Dieckmanovu kondenzaciju.

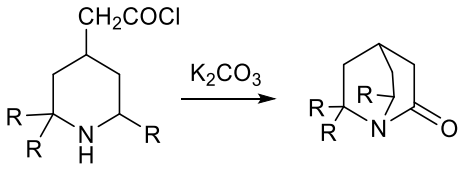
Intramolekulska alkilacija je korištena početkom 20-tog stoljeća u sintezi kinuklidinskog derivata 3-etilkinuklidina, shema 1.



Shema 1. Sinteza 3-etilkinuklidina.

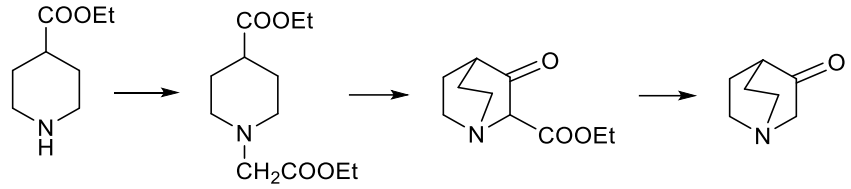
Polazni spoj u sintezi 3-etilkinuklidina je 3-etil-4-metilpiridin. Sama sinteza uključuje hidroksimetilaciju polaznog spoja, redukciju nastalog međuprodukta pomoću elementarnog natrija u etanolu, supstituciju hidroksilne skupine jodom te u konačnici intramolekulsku ciklizaciju pomoću kalijevog karbonata.[14]

Intramolekulska acilacija korištena je u sintezi kinuklidin-2-ona iz odgovarajućeg acil-klorida, shema 2.[15]



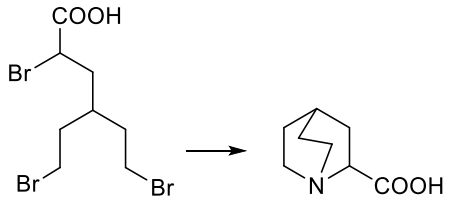
Shema 2. Intramolekulska ciklizacija kod sinteze kinuklidina.

Intramolekulska Dieckmanova kondenzacija korištena je i u sintezi kinuklidin-3-ona. Etilpiperidine-4-karboksilat je alkilacijom transformiran u diester koji potom ciklizira u prisutnosti elementarnog kalija u β-ketoester. Hidroliza s dodatkom klorovodične kiseline i dekarboksilacija dovode do produkta kinuklidin-3-ona, shema 3.[16]



Shema 3. Intramolekulska Dieckmanova kondenzacija u sintezi kinuklidin-3-ona.

Nadalje, kao polazni spojevi za sintezu kinuklidina korišteni su tribromalkani te dibromalkani čija sinteza je prilično zahtjevna, shema 4.



Shema 4. Sinteza karboksilnog derivata kinuklidina iz tribromoalkana.

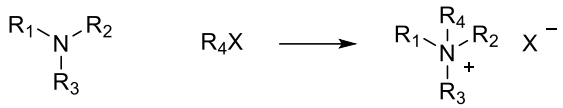
Modifikacije supstituenta kinuklidinskog prstena moguće su nakon ciklizacije. Karboksilna skupina vezana na kinuklidin može se prevesti u acil-klorid, a potom i u amid čijom redukcijom nastaju amini, shema 5.



Shema 5. Sinteza amino derivata kinuklidina**.**

2.1.2. Menshutkinova reakcija

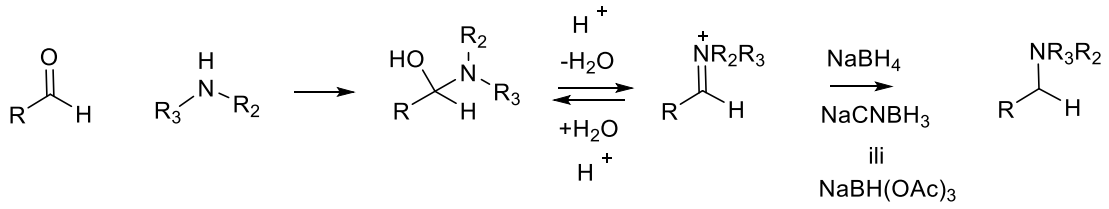
Menshutkinova reakcija je reakcija *N*-alkilacije tercijarnih amina alkil-halogenidima, shema 6. Jedna je od metoda sinteze *phase transfer* katalizatora, koji su često kvaterne amonijeve soli. Menshutkinova reakcija pripada skupini reakcija koje se odvijaju S_N2 mehanizmom. Utvrđen je utjecaj otapala na brzinu ove vrste kemijske reakcije. Brzina kemijske reakcije značajno raste s povećanjem polarnosti otapala zbog stabilizacije separacije naboja tijekom kemijske reakcije.[17] Klorirana otapala poput diklorometana ili kloroforma valja izbjegavati zbog mogućnosti Menshutkinove reakcije samog otapala i tercijarnih amina.[18]



Shema 6. Menshutkinova reakcija *N*-alkilacije tercijarnih amina.

2.1.3. Sinteza amina reduktivnom aminacijom

Jedan od češćih načina sinteze amina je reduktivna aminacija, shema 7. Reakcijom ketona/aldehida s odgovarajućim aminom nastaje Schiffova baza čijom redukcijom dobijemo željeni amin. Schiffove baze su nestabilna skupina organskih spojeva, stoga se redukcija uobičajeno izvodi *in situ*, tj. bez izolacije imina.

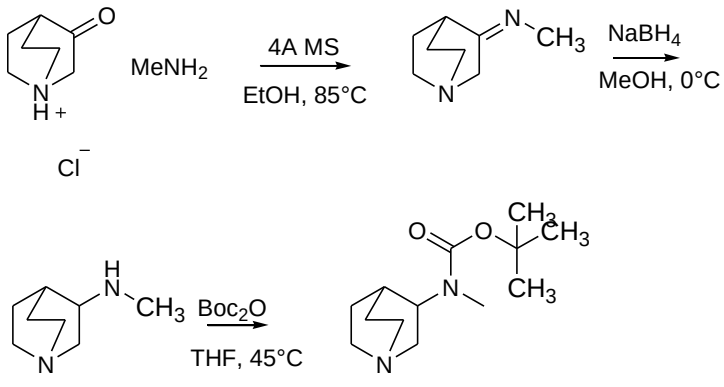


Shema 7. Sinteza amina reduktivnom aminacijom.

Kao reducensi prilikom redukcije imina koriste se natrijev borhidrid, natrijev cijanoborhidrid ili natrijev triacetoksiborhidrid.

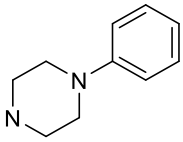
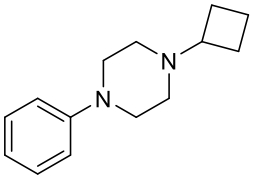
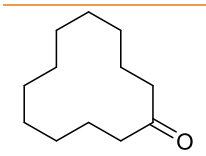
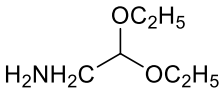
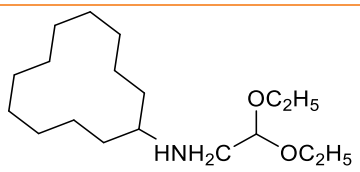
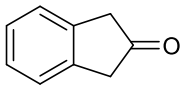
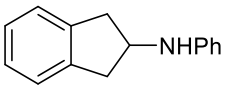
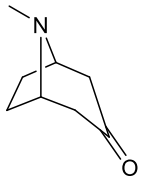
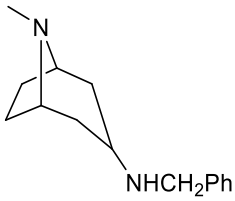
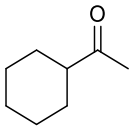
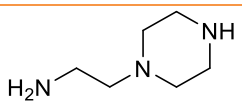
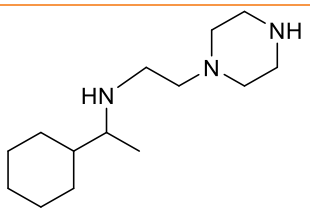
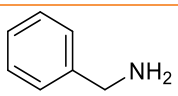
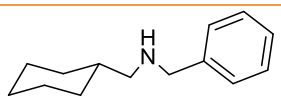
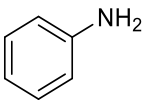
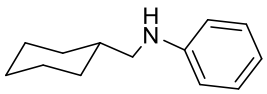
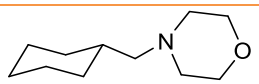
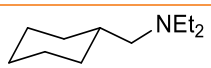
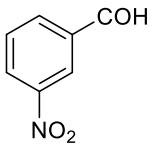
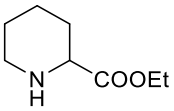
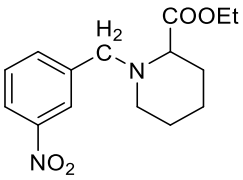
Natrijev triacetoksiborhidrid je blagi reducens koji se upotrebljava u reduktivnoj aminaciji aldehida i ketona, tablica 1. Ograničenja postoje u slučaju sterički ometanih aldehida i ketona. Reakcije redukcije se izvode u tetrahidrofuranu, 1,2-dikloroetanu i acetonitrilu.[19] Reakcije reduktivne aminacije sa sekundarnim aminima su rezultirale visokim iskorištenjima (96%) budući da ne mogu nastati dialkilirani produkti. Primarni alifatski amini reagiraju brže od primarnih aromatskih i sekundarnih alifatskih amina. Ciklički sekundarni amini reagiraju brže od acikličkih sekundarnih amina zbog steričkih smetnji. Mali alifatski ciklički ketoni poput ciklobutanona i cikloheksanona su najreaktivniji. Veći ciklički ketoni reagiraju sporije. Reakcije reduktivne aminacije aromatskih ketona i sterički ometanih ketona su najsporije. Alifatski i aromatski aldehidi su vrlo reaktivni te reduktivnom aminacijom nastaju različiti primarni i sekundarni amini. Redukcija aldehida je opažena samo u slučaju primjene sterički ometanih amina. Reduktivnom aminacijom aldehida s primarnim aminima vrlo često nastaju dialkilirani amini kao neželjeni produkti koji se potom odvoje prekristalizacijom.

Najveća prednost natrijevog cijanoborhidrida je kemijska selektivnost koja ovisi od otapala i pH. Neutralni pH i blago kiseli uvjeti pogodni su za redukciju isključivo Schiffovih baza u protičnim otapalima i eteru. U uvjetima reduktivne aminacije pri pH > 5 aldehidi i ketoni nisu podložni redukciji spomenutim reagensom, shema 8. Kao jedini nedostatak naveden u literaturi je upotreba suviška amina, sporija reakcija u slučaju aromatskih ketona ili slabo bazičnih amina ili primjerice kontaminacija produkta cijanidom.[20]



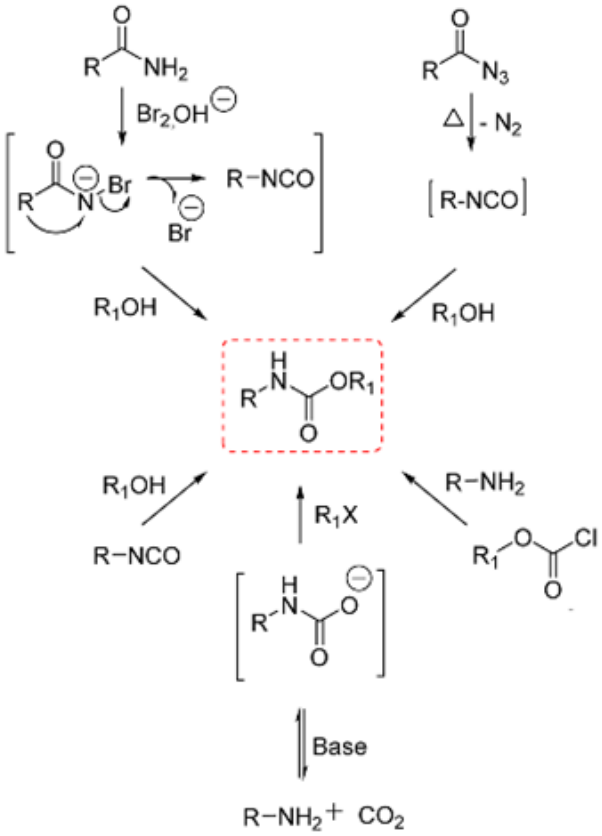
Shema 8. Sinteza amina redukcijom Schiffove baze.

Tablica 1. Sinteza amina reduktivnom aminacijom uz primjenu natrijevog triacetoksiborhidrida: vrijeme potrebno za reakciju (*t*/h) te iskorištenje reakcije (η/%).[43]

Karbonilni spoj	Amin	t/h	produkt	η/%
		2		96
		24		88
	NH_2-Ph	6		85
	NH_2CH_2Ph	18		99
		12		98
		1		98
		24		95
		2		74
	Et_2NH	0,5		95
		1,5		96

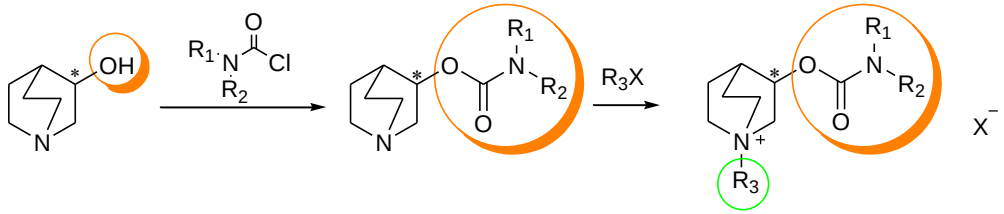
2.1.4. Sinteza karbamata

Karbamati su derivati karbaminske kiseline. Karbamati kinuklidin-3-ola se prvi puta kao takvi spominju 1965. godine kada je ujedno i testirana njihova interakcija s acetilkolinesterazom.[21] Strukturalno su slični esterima, kemijski su stabilni i mogu prolaziti kroz staničnu membranu. Karbamati predstavljaju vrlo značajnu skupinu spojeva u medicinskoj kemiji i istraživanju novih skupina lijekova zbog mogućnosti nastajanja inter- i intramolekulskih interakcija sa svojim biološkim metama poput receptora i enzima. Postoji nekoliko različitih načina sinetze karbamata: Hofmannova pregradnja amida, Curtiusova pregradnja acil-azida, reduktivna karbonilacija nitroaromata, karbonilacija amina, reakcija s izocijanatima, shema 9.



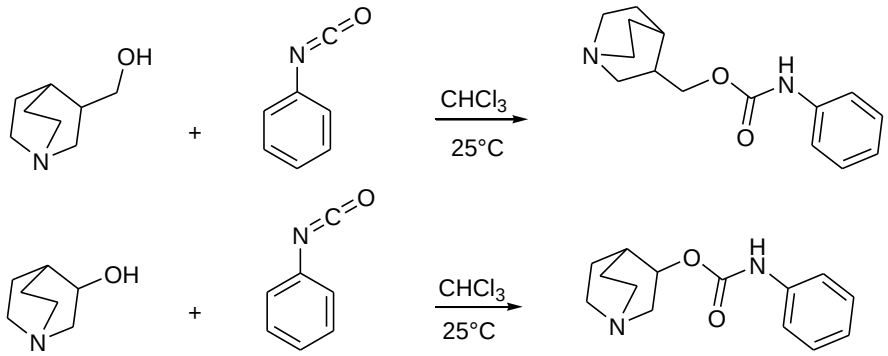
Shema 9. Načini sinteze karbamata.

Dva su načina sinteze karbamata kinuklidin-3-ola najčešće opisana u literaturi. Jedan način podrazumijeva karbamoiliranje hidroksilne skupine[22] vezane na kinuklidinski prsten, shema 10.



Shema 10. Priprava karbamata kinuklidin-3-ola karbamoiliranjem s odgovarajućim karbamoil-kloridom nakon koje slijedi kvaternizacija karbamata

Za pripravu karbamata kinuklidin-3-ola karbamoiliranjem alkohola korišten je piridin koji je u tom slučaju i otapalo. Kao glavni nedostatak prilikom takvog načina pripreme karbamata spominje se u literaturi prije svega prisutnost neizreagiranog polaznog materijala, slabo iskorištenje i zahtjevnost čišćenja produkta. Piridin se pokazao kao loš izbor otapala, iskorištenje reakcije i čistoća produkta je povećana zamjenom otapala. U slučaju kada je umjesto piridina korišten kloroform, iskorištenje reakcije kao i čistoća produkta je bila veća iako je reakcija provedena s 2 molarna ekvivalenta polaznog spoja, prilikom čega samo jedan molarni ekvivalent stupa u reakciju dok drugi služi kao baza za neutralizaciju oslobođenog HCl-a. Sinteza karbamata kinuklidin-3-ola reakcijom fenilizocijanata s alkoholom je također opisana u literaturi, shema 11.[23]

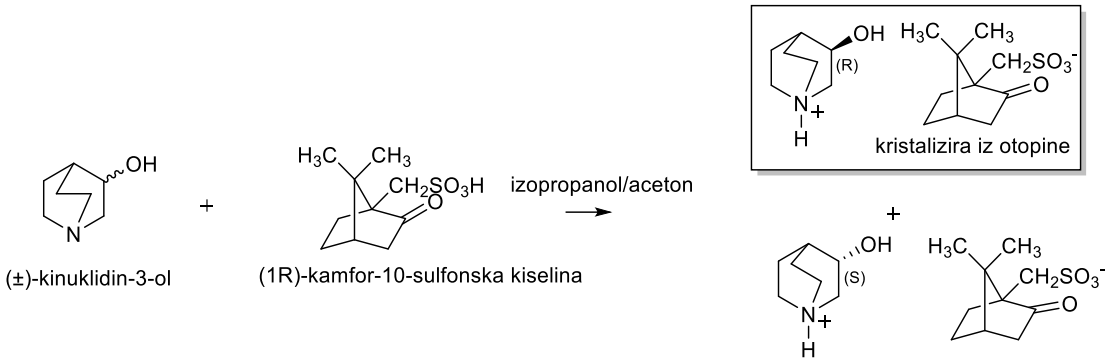


Shema 11. Sinteza karbamata reakcijom alkohola kinuklidin-3-ola s fenilizocijanatom

2.1.5. Razdvajanje enantiomera kinuklidin-3-ola

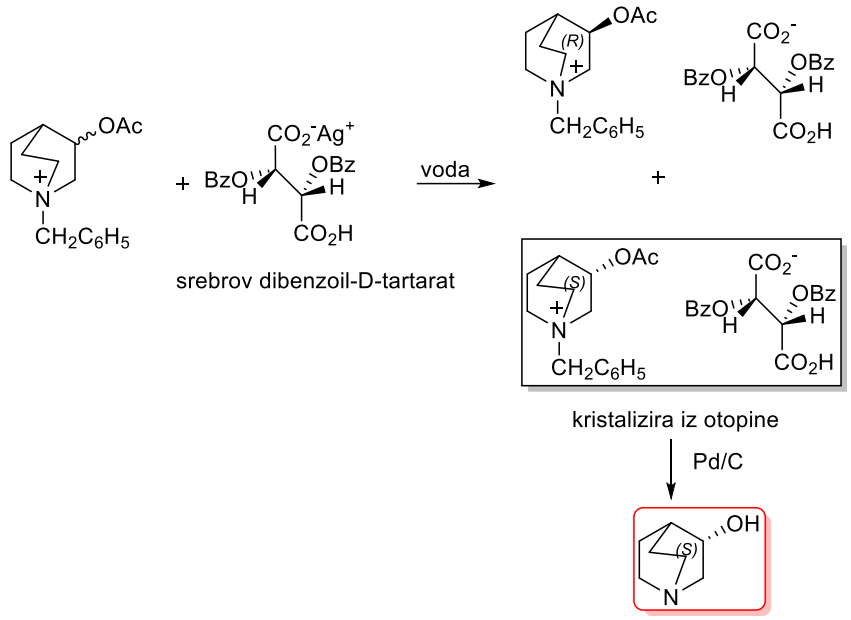
Kroz povijest istraživanja sinteze lijekova pokazalo se da enantiomeri nemaju nužno istu biološku aktivnost, te se zbog moguće toksičnosti jednog od enantiomera pribjegava njihovoj rezoluciji. Rezolucija kinuklidin-3-ola provodi se na nekoliko načina kemijskim[24,25,26] i biokatalitičkim metodama.[27]

Jedan od načina razdvajanja enantiomera kinuklidin-3-ola bazira se na rezoluciji racemata kemijskim metodama pomoću kamfor-10-sulfonske kiseline. Spomenuta metoda rezultira lošim iskorištenjem i slabijom čistoćom jednog od enantiomera, shema 12.



Shema 12. Rezolucija enantiomera kinuklidin-3-ola kamfor-10-sulfonskom kiselinom.

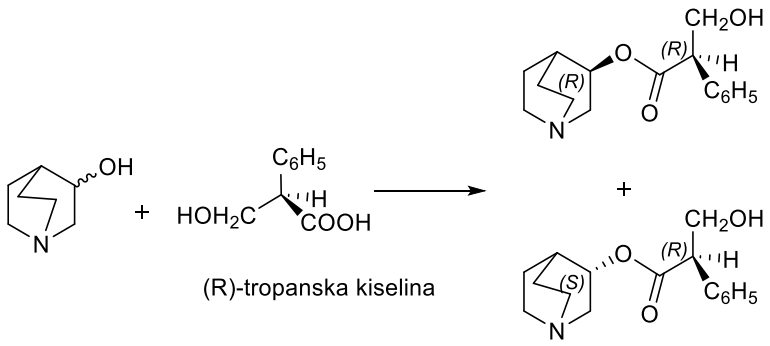
Druga metoda je rezolucija *N*-benzilnog alkohola s dibenzoli-**D**-tartaratom, nakon čega slijedi katalitičko hidrogeniranje i dobivanje optički čistih alkohola, shema 13.



Shema 13. Razdvajanje enantiomera kinuklidin-3-ola pomoću dibenzoil-**D**-tartarata.

Često korištena metoda svakako je rezolucija kinuklidin-3-ola pomoću vinske kiseline tako da se prvo sintetizira racemični acetat. Nastala sol s vinskom kiselinom nakon prekristalizacije neutralizira se s lužinom.[28]

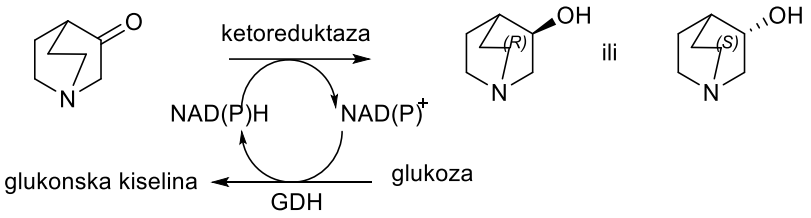
Reakcijom racemičnog kinuklidin-3-ola s (*R*)-(+)-tropanskom kiselinom, priređeni su dijastereomerni esteri kinuklidin-3-ola, shema 14. Nastali dijastereomerni parovi odijeljeni su kromatografijom na stupcu silikagela.



Shema 14. Rezolucija kinuklidin-3-ola pomoću (*R*)-tropanske kiseline.

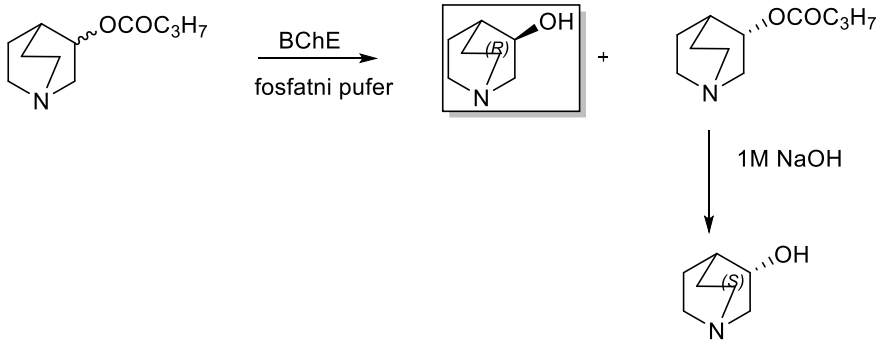
Opisane su i brojne, većinom patentirane biokatalitičke metode transformacije kinuklidina da bi se dobili optički čisti spojevi. Jedan od načina priprave optički čistog

kinuklidin-3-ola je redukcija kinuklidin-3-ona pomoću enzima reduktaze izolirane iz različitih organizama (npr. *Rhodotorula rubra*[29]), shema 15.



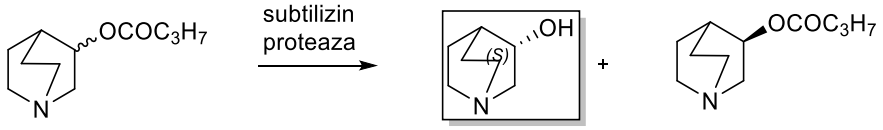
Shema 15. Asimetrična redukcija kinuklidin-3-ona.

Drugi način opisan u literaturi je kinetička rezolucija u reakciji hidrolize kinuklidin-3-il-butirata butirilkolinesterazom (BChE) iz seruma konja. BChE katalizira hidrolizu oba enantiomera kinuklidin-3-il-butirata, ali različitim brzinama: (+)-kinuklidin-3-il-butirat hidrolizira se 50 puta sporije nego (-)-estera, shema 16.[27]



Shema 16. Kinetička rezolucija hidrolizom pomoću BChE.

Kinetička rezolucija estera kinuklidin-3-ola izvedena je uz subtilizin[30,31] kao katalizator, dajući (*R*)-enantiomer butirata 3-hidroksi kinuklidina s enantimernim viškom većim od 95%, shema 17.



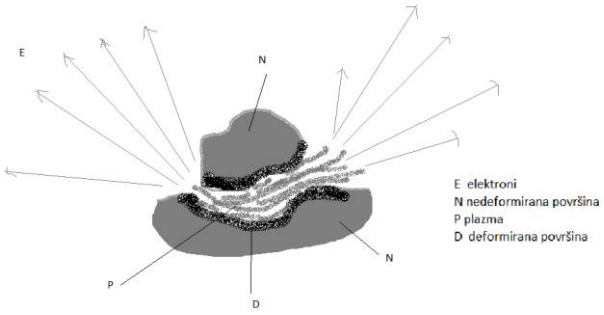
Shema 17. Priprema (*S*)-kinuklidin-3-ola rezolucijom sa subtilizin proteazom.

2.2. Mehanokemijska organska sinteza

Mehanokemija je grana kemije koja proučava kemijske i fizikalno kemijske promjene do kojih dolazi pod utjecajem mehaničke energije poput udarca, trenja i struganja Mehanokemijske reakcije su poznate od davnina, mljevenje u tarioniku je prvi primjer mehanokemijskih reakcija spomentih početkom 19. tog stoljeća.[32] Mehanizam takve vrste kemijskih reakcija je složen proces koji se sastoji od mehaničke deformacije, aktivacije površine prilikom čega dolazi do kemijske reakcije.[33] Mljevenje, rastezanje i smicanje dovode do generiranja mehanokemijskih reaktivnih mjesta, smanjenjem veličine čestica, povećanjem dodirne površine među česticama reaktanta dolazi do kemijske reakcije. Postoje dvije teorije koje objašnjavaju na koji način dolazi do kemijske reakcije. To je tzv. ili teorija vrućih mjesta (engl. *hot spot theory*) te magmatsko plazmatski model.

Teorija vrućih mjesta podrazumijeva trenje uzrokovano klizanjem dviju površina jedne uz drugu prilikom čega dolazi do plastičnih deformacija s lokalnim promjenama temperature od preko 10^3 °C na površini od 1μm^2 tijekom 10^{-4} s.[34]

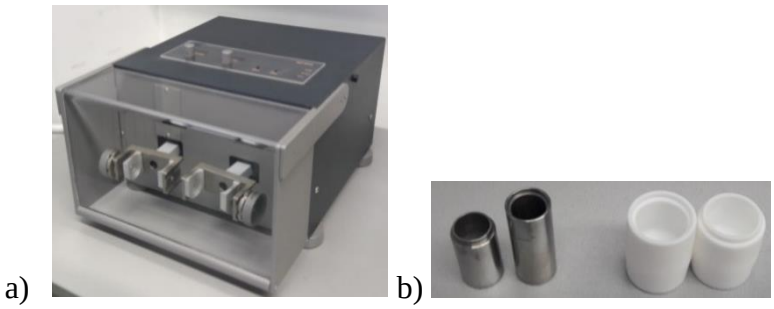
Magmatsko plazmatski model je predložen 60-tih godina 20-tog stoljeća, slika 5. Prema tom modelu velika količina energije se oslobađa na točkama sudara dviju čestica te je zaslužna za stvaranje kratkoživuće plazme i emisiju visokoenergetskih čestica poput elektrona, fotona u kratkom vremenu. Na mjestima sudara čestica razvija se temperatura i veća od 10^4 K.[34]



Slika 5. Prikaz magmatsko-plazmatskog modela

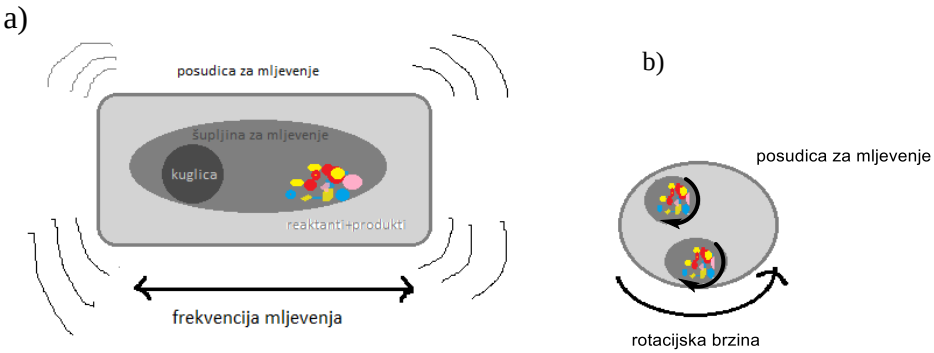
Prve spomenute mehanokemijske reakcije odvijale su se u tarioniku pomoću prenošenja mehaničke energije uz pomoć tučka. U tom slučaju su se kemijske reakcije odvijale u otvorenom sustavu pod atmosferskim utjecajem. Kako bi se smanjio što više

atmosferski utjecaj i povećala kontrola samih reakcija potrebno je izvesti reakcije u zatvorenom sustavu. Za mehanokemijsku sintezu koriste se tri različite vrste mlina: kuglični vibracijski mlin, slika 6, planetarni mlin i ekstrudator.



Slika 6. a) Kuglični mlin, i b) vrste posudica.

Kuglični vibracijski i planetarni mlin se razlikuju u samom principu rada. U vibracijskom mlinu reakcijske posudice vibriraju dok se u planetarnom kreću oko svoje osi, pa su samim time i sile koje djeluju na reaktante drugačije, slika 7.[35]



Slika 7. Princip rada rotacijskog i planetarnog mlina.

Reakcijske posudice koje se koriste mogu biti od različitih materijala: nehrđajućeg čelika, teflona, cirkona i polimetilmetaakrilata za *in situ* praćenje reakcija. Kuglice koje se koriste prilikom samih mehanokemijskih reakcija su obično od nehrđajućeg čelika, različitih promjera.

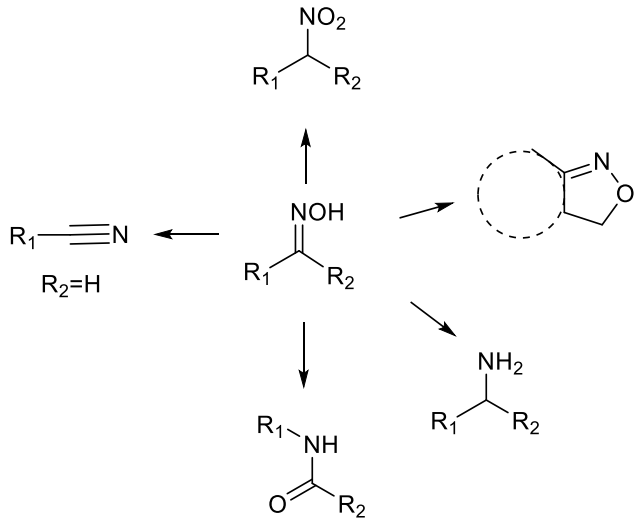
Parametri koji bitno utječu na rezultat reakcije su broj i promjer kuglica, volumen reakcijske posudice, volumen reaktanata u reakcijskoj posudici, frekvencija i reakcijsko

vrijeme. Na sve te paramatere možemo utjecati i mijenjati ih, jedini parametar koji se ne može mijenjati i na koji se ne može utjecati je temperatura.

Postoje dvije vrste mljevenja: tekućinom potpomognuto mljevenje (engl. *liquid assisted grinding*, LAG) i ionima i tekućinom potpomognuto mljevenje (engl. *ion liquid assisted grinding*, ILAG). Količina otapala koji se koristi kod tekućinom potpomognutog mljevenja je 0-1 μL/mg, otapalo se koristi za ubrzanje kemijske reakcije ne utječući na topljivost reaktanta.[36] Količina otapala koja se primjenjuje je izrazito mala te se stoga povećanje reaktivnosti objašnjava stalnim zasićenjem otapala reaktantima i stvaranjem mobilnog površinskog sloja.[37] Katalitička količina soli može ubrzati mehanokemijsku reakciju, primerice sintezu metaloorganskih mreža, u tom slučaju govorimo o ionima i tekućinama potpomognutim mljevenjem.[38]

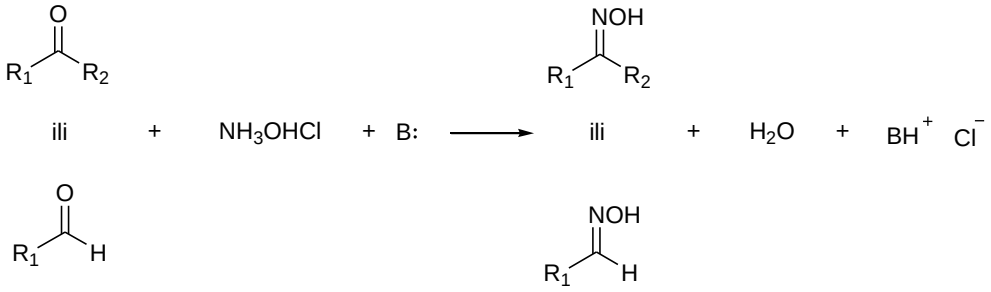
2.2.1. Primjena mehanokemijske sinteze u sintezi oksima

Oksimi su vrlo važna skupina spojeva u organskoj kemiji te imaju široku primjenu. Koriste se ne samo kao zaštitne skupine, već se mogu transformirati u amide, amine ili nitrile, shema 18.[39]



Shema 18. Pretvorbe oksima u druge funkcijske skupine.

Uobičajeni način sinteze oksima je reakcijom aldehida/ketona s hidroksilamin hidrokloridom uz bazu (npr. natrijev hidroksid), shema 19.

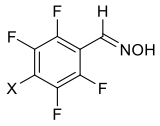
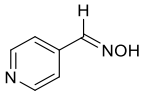
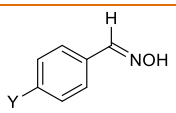
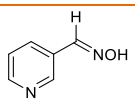
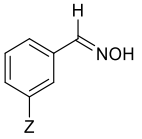
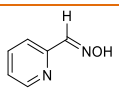


Shema 19. Klasični pristup sintezi oksima.

Velika količina otapala, niska iskorištenja reakcije, toksičnost organskih otapala i dugo vrijeme reakcije doveli su do razvoja novih metoda sinteze oksima koje su dio tzv. zelene kemije. Jedna od metoda spomenuta u prijašnjim istraživanjima je sinteza oksima mljevenjem u tarioniku pri sobnoj temperaturi. Tom metodom su pripremljeni oksimi aromatskih aldehida uz prisutnost metanola, tablica 2.[40] Aldoksimi su pripremljeni mljevenjem u tarioniku tijekom 5 min, uz dodatak ekvimolarne količine hidroksilamin hidroklorida, natrijevog hidroksida te katalitičke količine metanola. Iskorištenja reakcija su bila 60-85%, a nastale soli su odstranjene ispiranjem s vodom. Mehanokemijska sinteza pokazala se uspješnom čak i u prisutnosti supstituenata koji daju i odvlače elektrone.

Oksimi su pripremljeni mljevenjem aldehida i ketona u prisutnosti Bi_2O_3, bez prisutnosti baze i dodatka otapala.[41] Bizmutovi spojevi služe kao Lewisove kiseline. Mehanokemijska sinteza oksima alifatskih, heterocikličkih i α,β-nezasićenih aldehida rezultirala je kvantitativnom pretvorbom u oksime uz dodatak 0,5 mol% Bi_2O_3 unutar 3 min. Reakcija sinteze oksima sterički ometanog benzofenona bila je značajno sporija, s iskorištenjem 60% nakon 20 min. Dokazano je da supstituenti kao što su $–NO_2$, -OH, -Cl ne utječu na ishod kemijske reakcije. Sam katalizator može se reciklirati. Priprava oksima aromatskih aldehida i ketona zahtijevala je duže vrijeme reakcije.

Tablica 2. Sinteza aldoksima mljevenjem u tarioniku.

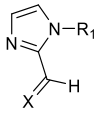
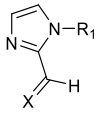
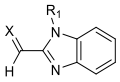
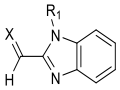
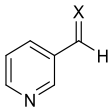
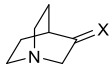
Spoj	Produkt	*η*/%	Spoj	Produkt	*η*/%
1	 X=F,Br,I	X=F; 78 X=Br; 80 X=I; 87	4		83
2	 Y=-CCBr; I; -COOH;	Y=-CCBr; 85 Y=I; 61 Y=COOH; 67	5		81
3	 Z=I; -COOH; -OH	Z=I; 59 Z=-COOH; 73 Z=-OH; 62	6		65

Tijekom istraživanja provedena je mehanokemijska priprava oksima bez prisutnosti baze, polazni spojevi su bili *N*-heterociklički karbonilni spojevi koji u svojoj strukturi sadrže bazičan dušikov atom, tablica 3. Mehanokemijska sinteza provedena je s ekvimolarnim količinama hidroksilamin hidroklorida, pri sobnoj temperaturi tijekom 30 min.

Rezultati pokazuju da dodatak baze nije neophodan u slučaju da polazni karbonilni spoj u svojoj strukturi sadrži bazičan dušikov atom koji može deprotonirati hidroksilamin hidroklorid. Reakcije su značajno brže uz katalitički dodatak metanola. U slučaju benzimidazola s benzilnom skupinom vezanom na dušikovom atomu, reakcija nije završena niti nakon 90 min zbog steričkih smetnji prisutnih u reaktantu.[42]

Mehanokemijskom reakcijom, mljevenjem u tarioniku pri sobnoj temperaturi uz 1,2 ekvivalenta hidroksilamin hidroklorida i natrijevog hidroksida pripremljeni su oksimi cikličkih ketona poput ciklopentanona, ciklohekasnona i cikloheptanona. Priprava oksima na jednak način iz aromatskih ketona nije rezultirala željenim produktima. Aromatski ketoni poput acetofenona, benzofenona i sličnih, mljevenjem u tarioniku nisu rezultirali nastankom oksima niti nakon nekoliko sati reakcije. Dodatkom katalitičke količine silikagela reakcijom su pripremljeni oksimi u visokom iskorištenju (98 %).[43]

Tablica 3. Mehanokemijska reakcija priprave oksima s ekvimolarnom količinom hidroksilamin hidroklorida: postupak A-bez otapala i baze; postupak; B- LAG; postupak C- LAG i NaOH.

Spoj	Procedura A *t*/ min	Procedura B *t*/min	Procedura C *t*/min
 **X=O; R1=CH_3**	1	1	-
 **X=O; R1=$CH_2C_6H_5$**	>30	6	20
 **X=O; R1=CH_3**	5	5	-
 **X=O; R1=$CH_2C_6H_5$**	>90	>90	>90
 **X=O; R1=CH_3**	30	5	-
 **X=O**	>30	10	-

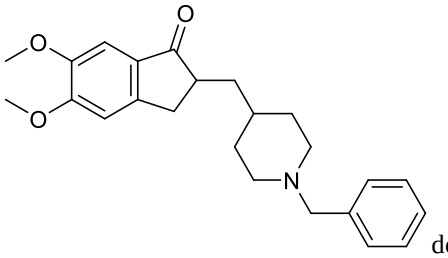
Sve te metode koje uključuju mljevenje su zapravo dobra alternativa reakcijama koje se odvijaju u otopini. Iskorištenja reakcija su veća, reakcije su brže, zbog primjene manje količine reagensa i otapala reakcije su financijski isplativije i ekološki prihvatljive.

2.3. Biološka aktivnost derivata kinuklidina

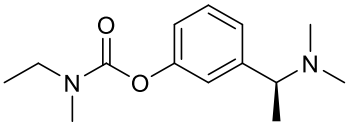
Derivati kinuklidina biološki su aktivni spojevi zbog povoljnih strukturnih značajki bicikličkog sustava s dušikom u premoštenju. Skupina su spojeva koji imaju veliku ulogu u istraživanju lijekova i u medicinskoj kemiji. Između ostalog, istražuje se njihova interakcija s kolinesterazama (npr. mogući antidoti organofosfornih spojeva, tretiranje glaukoma i Alzheimerove bolesti), te antimikrobna svojstva.

2.3.1. Interakcija s kolinesterazama

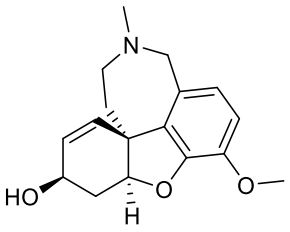
Acetilkolinesteraza (AChE, EC 3.1.1.7) je enzim koji se zbog svoje uloge u organizmu uveliko istražuje u području toksikologije i biomedicine.[44] Enzim pripada skupini hidrolaza, a fiziološka uloga mu je hidroliza kemijskog neurotransmitera acetilkolina (ACh) tijekom prijenosa živčanih impulsa u kolinergičkoj sinapsi. AChE se nalazi u živčanim i glija stanicama ljudskog mozga, a veliku ulogu ima u nastajanju i progresiji Alzheimerove bolesti[45,46] i Parkinsonove bolesti. Alzheimerova bolest je neurodegenerativna, progresivna bolest mozga, a demencija Alzheimerova tipa je jedna od najčešćih demencija uopće.[47] Njezina učestalost raste sa starenjem populacije pa predstavlja veliki zdravstveni, socijalni i ekonomski problem, posebno u visokorazvijenim zemljama.[48] Jedan od uzročnika Alzheimerove bolesti je smanjena aktivnost AChE. Jedan od pristupa poboljšanju stanja bolesnika je povratak kolinergičke funkcije AChE i povrata razine ACh što je dovelo do razvoja i sinteze skupine lijekova koji su usmjereni prvenstveno na inhibiciju AChE u mozgu.[49,50] Lijekovi koji se danas koriste za ublažavanje simptoma Alzheimerove bolesti imaju pozitivni, ali kratkotrajni učinak. Neki od njih su donepezil, rivastigmin i galantamin, shema 20, i njima nije moguće izliječiti Alzheimerovu bolest, već samo ublažiti simptome.



donepezil



rivastigmin

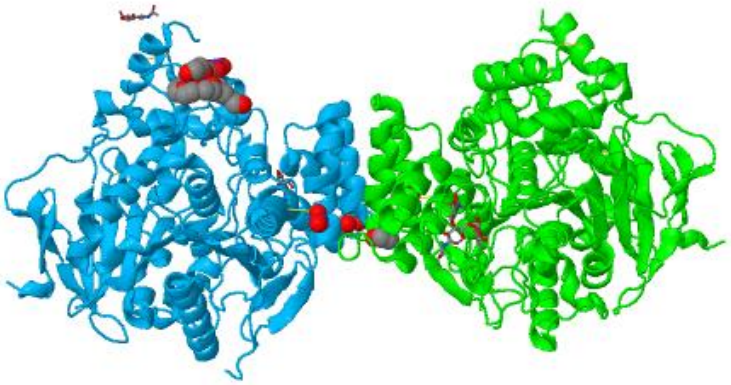


galantamin

Shema 20. Strukture nekih spojeva koji se koriste u liječenju Alzheimerove bolesti.

Visoki stupanj homologije primarne i sekundarne strukture s AChE dijeli butirilkolinesteraza (BChE, E.C. 3.1.1.8). Fiziološka uloga BChE nije do kraja definirana. Uočeno je da je uključena u metabolizam lipida i lipoproteina, diferencijaciju i rast živčanog tkiva, u detoksikaciju različitih otrova te regulaciju količine acetilkolina u glatkim mišićima. BChE također ima važnu ulogu kod tretiranja neurodegenerativnih bolesti *Myasthenie gravis*, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti.[44]

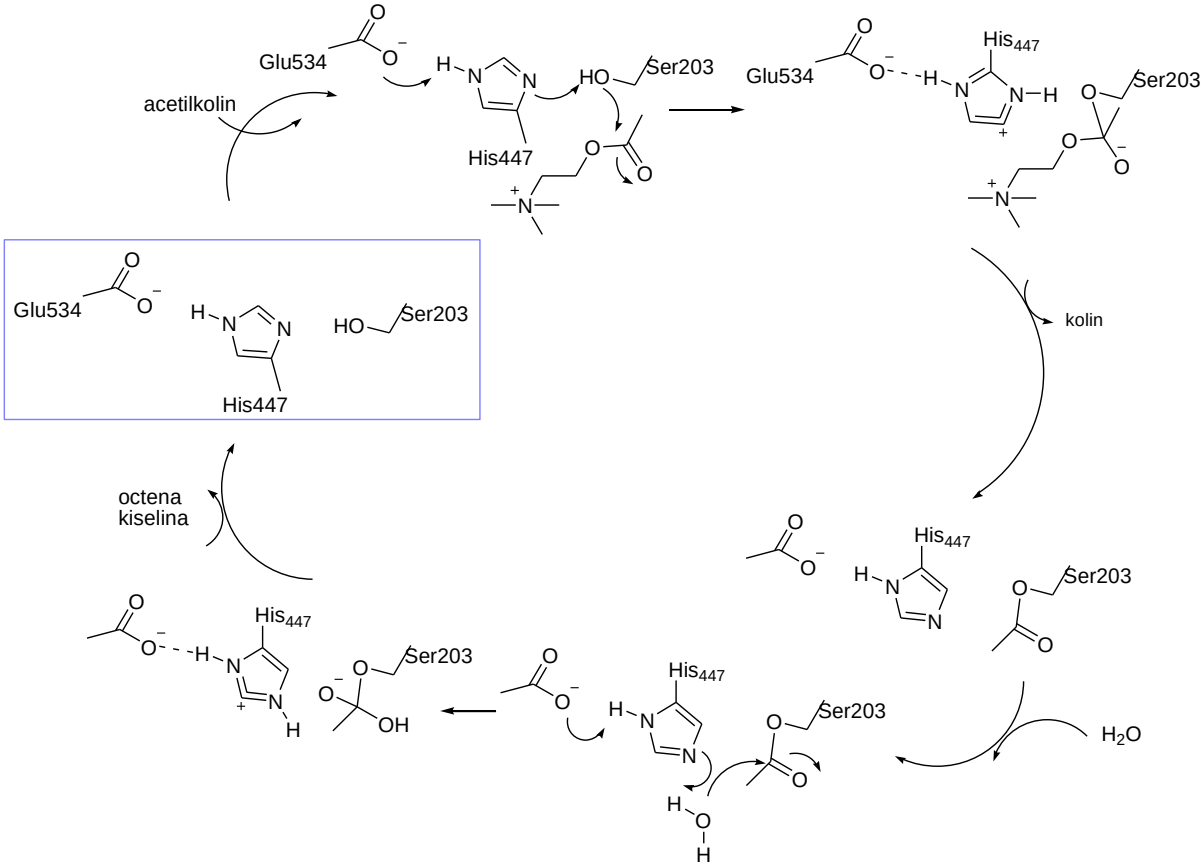
Brojne biokemijske i kristalografske[51] studije kolinesteraza omogućile su detaljan uvid u strukture enzima, na molekularnoj razini, slika 8. Osnovna struktura sastoji se od 14 α-uzvojnica i 12 β-nabranih ploča. Prva kristalna struktura AChE iz raže *Torpedo californica* određena je 1991. godine,[52] dok je struktura BChE riješena 2003. godine.[53] Aktivno mjesto AChE je različito za različite specije iz čega proizlaze uočene razlike u afinitetima prema pojedinim inhibitorima i supstratima.[54,55,56]



Slika 8. Kristalna struktura ljudske AChE (dimer).[51]

Aktivno mjesto enzima AChE sastoji se od 14 aromatskih aminokiselina od kojih je 6 zamijenjeno alifatskim u aktivnom mjestu BChE čineći aktivno mjesto većim za 200 Å.[57,58]

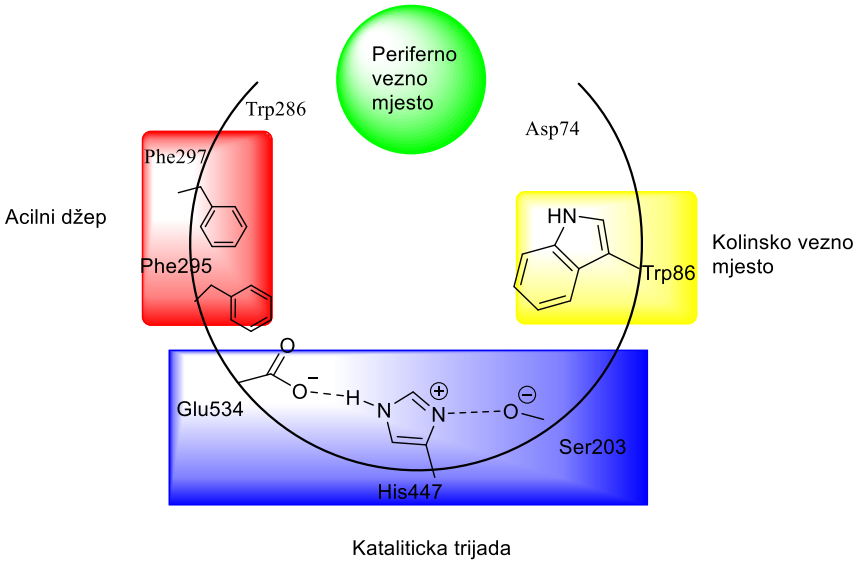
Iako je sastav aminokiselina aktivnog mjesta različit, mehanizam hidrolize supstrata je jednak i u slučaju AChE i BChE, slika 9. Hidroliza supstrata AChE uključuje tri koraka: nastajanje Michaelisova kompleksa, aciliranje i deaciliranje enzima preko tetraedarskog međuprodukta između serina aktivnog mjesta i supstrata.



Slika 9. Mehanizam hidrolize AChE.

Aktivno mjesto enzima se sastoji od katalitičkog mjesta (katalitička trijada i oksoanionska šupljina), kolinskog mjesta, acilnog džepa i perifernog mjesta na rubu ždrijela, slika 10.[59] Kolinsko mjesto kation-π interakcijama stabilizira pozitivno nabijene dijelove kvaterniziranog kolinskog supstrata. Acilni dio supstrata se smješta u acilni džep. Katalitičku trijadu čine Ser203, His447 i Glu334. Katalitička trijada direktno sudjeluje u katalizi, a nalazi se na dnu ždrijela. Ser203 je specifičan po tome što je nukleofilniji od ostalih serina u proteinu zbog stvaranja vodikovih veza s dušikovim atomom His447. Druga vodikova veza prisutna u katalitičkom mjestu je ona između karbonilne skupine Glu334 i dušikovoga atoma His447. Hidroliza se odvija preko tetraedaraskoga međuprodukta, kisik karbonilne skupine supstrata stabiliziran je vodikovim vezama u oksianionskoj šupljini koju čine Gly119 i

Ala201.[60] Kolinsko mjesto čine aminokiseline Trp86, Tyr337 i Tyr338. Zbog prisutnosti aromatskih aminokiselina u kolinskom mjestu među najzastupljenijim interakcijama su kation-π interakcije. Triptofan omogućava smještanje nabijenog dijela kolinskog supstrata dok acilni džep omogućava smještanje acilne skupine supstrata omogućavajući orijentaciju prema aktivnom serinu.[61,62,63] Periferno mjesto ljudske AChE čine aminokiseline Tyr72, Tyr124 i Trp286, te je odgovorno za alosterički mehanizam inhibicije u slučaju visokih koncentracija acetilkolina.[64] Asp74 sudjeluje u pravilnoj orijentaciji supstrata pri ulazu u aktivno mjesto, a nalazi se između ždrijela i kolinskog mjesta.[65]



Slika 10. Shematski prikaz veznog mjesta AChE.

Inhibicijom AChE dolazi do nagomilavanja acetilkolina te poremećaja u prijenosu živčanih impulsa. Postoje dvije različite vrste inhibicije acetilkolinesteraze s obzirom na vrstu kemijske veze između enzima i supstrata. U slučaju kada su te veze nekovalentne govorimo o reverzibilnoj inhibiciji, a kada je riječ o kovalentnoj vezi supstrata vezanog na serin u katalitičkoj trijadi tada govorimo o ireverzibilnoj inhibiciji.[66]

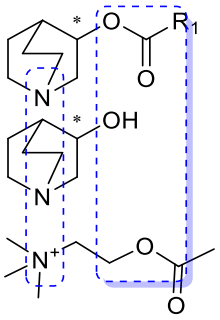
Reverzibilni inhibitori su se razvili i upotrebaljavaju se kao lijekovi u slučaju neuromuskularnih oboljenja poput Alzheimerove bolesti i Parkinsove bolesti. Neki od lijekova su već spomenuti donepezil i takrin. Reverzibilni inhibitori vežu se ili u aktivno mjesto AChE ili na periferno mjesto enzima ili istodobno na oba. Iz toga proizlazi da do inhibicije dolazi zbog konformacijskih promjena enzima, elektrostatskih interakcija pozitivno

nabijenih inhibitora s kationskim dijelom supstrata tijekom katalitičke reakcije ili steričkim ometanjem ulaska supstrata u aktivno mjesto enzima.[67]

Reverzibilni inhibitori imaju zajedničko strukturalno svojstvo, a to je postojanje pozitivnog naboja ili aromatskih hidrofobnih supstituenata čime je olakšan ulazak inhibitora u aktivno mjesto. Zbog prirode enzimskih podjedinica, olakšano je vezanje pozitivno nabijenih molekula. Kod dugačkih inhibitora koji sadrže ili dva aromatska prstena ili dvije pozitivno nabijene skupine mogu se istodobno vezati i na kolinsko i na periferno mjesto enzima.[68,69]

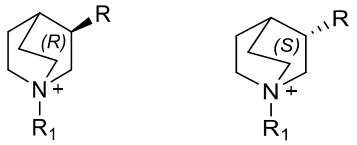
S druge strane ireverzibilni inhibitori u aktivnom mjestu enzima stvaraju Michaelisov kompleks sa serinom katalitičke trijade, nakon čega slijedi kovalentno vezanje. Samo prijelazno stanje je stabilizirano elektrostatskim interakcijama u oksoanionskoj šupljini. Reakcija reaktivacije enzima je izuzetno spora i zbog toga govorimo o ireverzibilnoj inhibiciji.[70,71]

Spojevi kinuklidin-3-ola i njegovi esteri strukturno su vrlo slični ACh, slika 11, te je istražena njihova aktivnost prema kolinesterazama. Kinuklidin-3-ol u strukturi sadrži asimetrični ugljikov atom, stoga prije priprave estera potrebno je odvojiti enantiomere.



Slika 11. Strukturalna sličnost estera kinuklidin-3-ola, kinuklidin-3-ola i ACh. * označava kiralni centar.

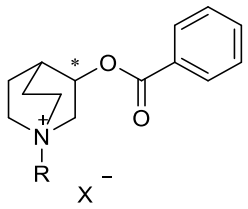
Enantiomerima kinuklidin-3-ola kao i njihovim acetatima i odgovarajućim kvaternim analozima, slika 12, ispitana je interakcija s AChE i BChE. Mjerena je enzimska hidroliza (*R*)- i (*S*)-3-acetoksikinuklidina. Rezultati pokazuju da je (*R*)-derivat bolji supstrat oba enzima, dok je (*S*)- acetat slabiji supstrat. Najbolji supstrat za oba enzima je (*R*)-MeQA. Svi (*R*)-enantiomeri su bolji supstrati za AChE nego za BChE. Ispitivanjem inhibicije AChE dokazano je da su enantiomeri 3-hidroksi-1-azabiciko[2.2.2]oktana kompetitivni inhibitori AChE za oba mjesta enzima, katalitičko i alosteričko mjesto.[72,73]



R	R_1	Naziv
OH	H	QOH
OH	$-CH_3$	MeQOH
OH	$-CH_2C_6H_5$	BzQOH
OAc	$-CH_3$	MeQOA
OAc	$-CH_2C_6H_5$	BzQOA

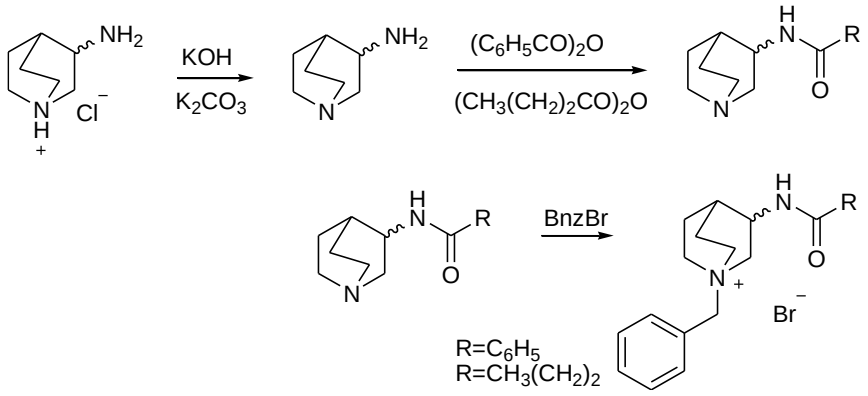
Slika 12. Enantiomerno čisti kinuklidin-3-ola i njegovi acetati.

Tijekom različitih istraživanja pripremljeni su racemični, (*R*)- i (*S*)-benzoati kinuklidin-3-ola, slika 13. Sintetizirani esteri korišteni su kao supstrati BChE, mjerena je kinetika hidrolize katalizirane s BChE. Zbog steričkih smetnji (*S*)-ester s benzilnom skupinom nije bio dobar supstrat BChE, već inhibitor (3 μmol dm^{-3}).[74]



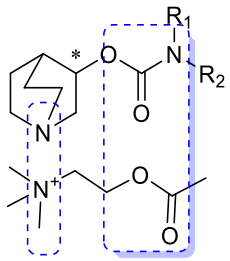
Slika 13. Opća struktura estera benzojeve kiseline i kinuklidin-3-ola.

Nadalje, pripravljeni su enantiomerno čisti amidi 3-aminokinuklidina koji su Menshutkinovom reakcijom transformirani u kvaternizirane amonijeve soli, shema 21. Svim spojevima je određena inhibitorna aktivnost prema BChE. Kao najjači inhibitor pokazao se (*S*)-*N*-benzilni derivat koji je 7 puta jači od odgovarajućeg (*R*)-enantiomera. Amidi butanske kiseline pokazali su se kao slabiji inhibitori od onih benzojeve kiseline.[75]



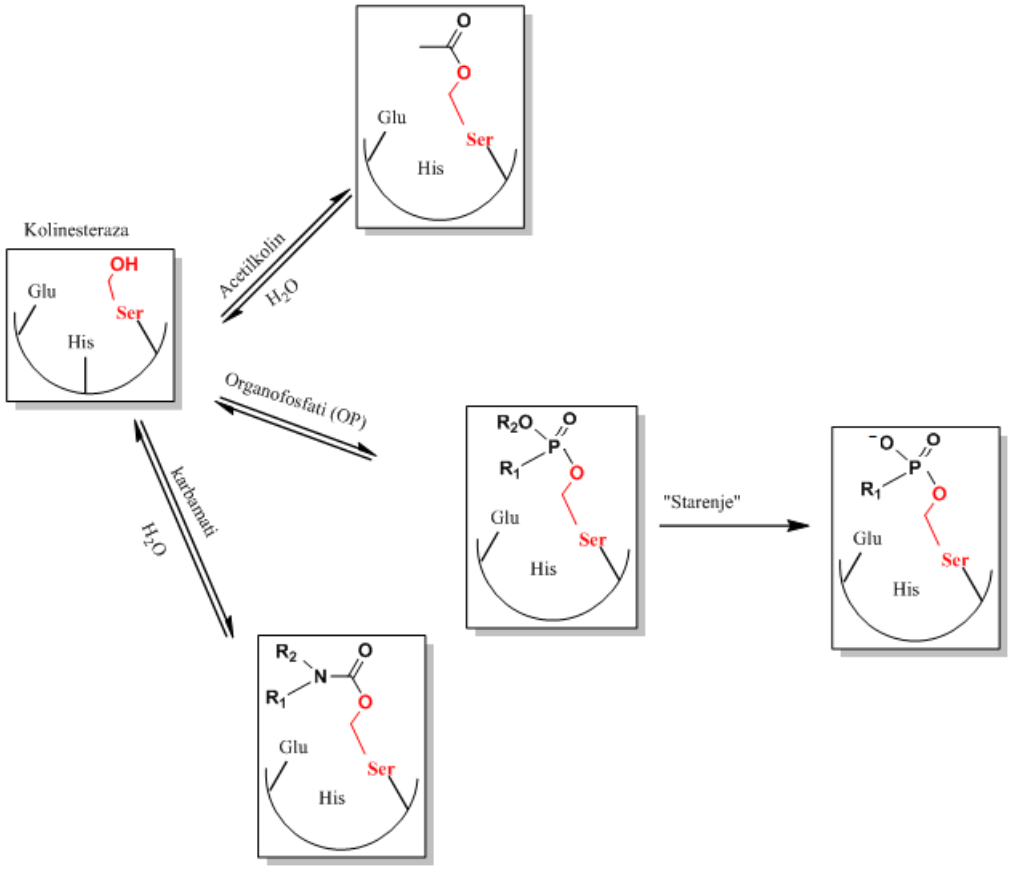
Shema 21. Pripravljeni amidi kinuklidina.

Zbog svoje strukturne sličnosti s esterima, a samim time i s ACh, shema 22, brojni karbamati sintetizirani su kao inhibitori AChE, muskarinskih i nikotinskih receptora.[76]



Shema 22. Strukturalna sličnost karbamata i ACh.

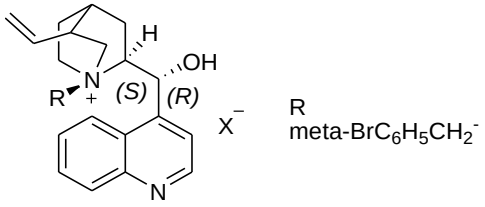
Karbamati se osim kao inhibitori kolinesteraza koriste i kao antidoti kod trovanja organofosfornim spojevima, shema 23. Karbamoiliranjem hidroksilne skupine serina u aktivnom mjestu kolinesteraze, nastaje kovalentno vezani karbamoil-enzim međuprodukt,[77,78] te se nakon toga karbamoilirani enzim regenerira (npr. nakon 30 min).[79,80,81] Karbamati imaju značajnu ulogu u usporavanju neurodegenerativnih bolesti poput Alzheimerove i Parkinsove bolesti.[82] Jedan od lijekova koji se koristi za ublažavanje simptoma Alzheimerove bolesti je i karbamat rivastigmin, shema 20.



Shema 23. Reakcija AChE s ACh, organofosfornim spojevima i karbamatima.

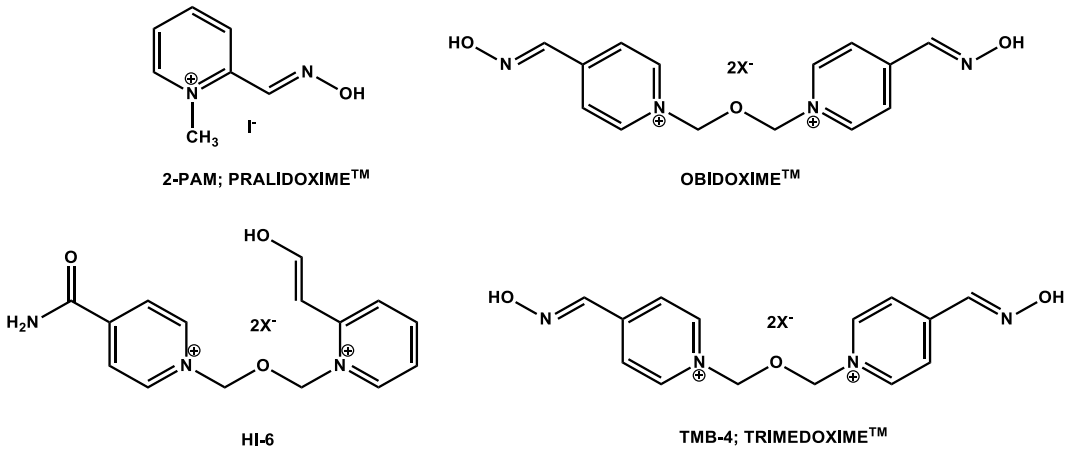
Antidotska aktivnost testirana je i *N*,*N*-dimetilkarbamoiloksikinuklidinijevom spoju. Iako je strukturno analogan piridostigminu, njegova antikolinesterazna aktivnost je 2000 puta manja. U *in vivo* testiranjima pokazalo se da sintetizirani spojevi štite miševe od trovanja živčanim bojnim otrovom somanom te da imaju bolja biokemijska svojstva od 3-hidroksilnih derivata kinuklidina.[83,84]

Kinuklidin je sastavni dio strukture brojnih biološki aktivnih prirodnih spojeva poput *Cinchona* alkaloida koji su se iskazali kao potencijalni lijekovi u liječenju malarije i groznice zbog svog anti-inflamatornog, analgetičnog i antiaritmičnog djelovanja. *Cinchona* alkaloidi su određeni kao inhibitori AChE i BChE. Bazični dušikov atom kinuklidina omogućuje uspješnu pripravu različito supstituiranih kvaternih derivata *Cinchona* alkaloida. *meta*-brombenzilni kvaterni derivat, shema 24, pokazao se kao vodeća molekula za daljna istraživanja u slučaju inhibicije BChE. Zbog pozitivnog naboja koji posjeduju u strukturi nedostatak je što teže prolaze krvno-moždanu barijeru pasivnim transportom.[85]



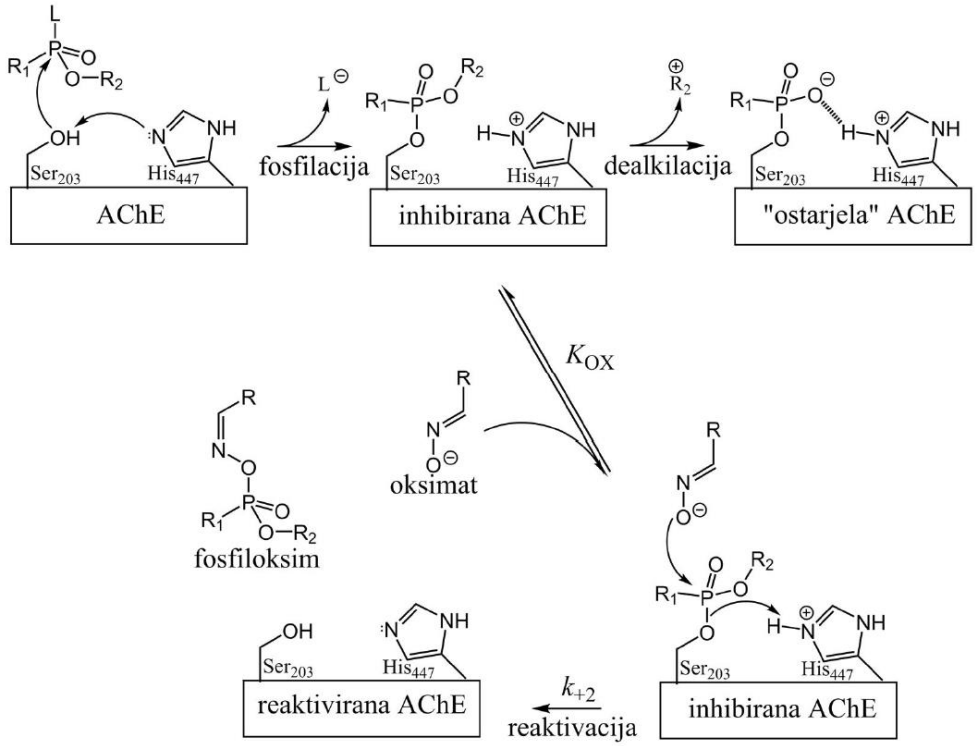
Shema 24. Struktura kvaternog derivata cinchonidina.

Oksimi su skupina spojeva koji se uspješno koriste kao antidoti prilikom trovanja organofosfornim spojevima poput bojnih otrova, insekticida i pesticida. Mehanizam inhibicije AChE s organofosfornim spojem te reaktivacije AChE oksimom prikazan je na shemi 25.[86,87,88] Brojni mono- i biskvaterni heterociklički oksimi istraženi su kao potencijalni antidoti. Međutim samo su 4 našla primjenu u humanoj kliničkoj terapiji kao reaktivatori inhibirane AChE, slika 14.



Slika 14. Strukture oksima koji se primjenjuju kao antidoti u humanoj terapiji pri trovanju OP spojevima.

3-hidroksiiminokinuklidin i njegovi derivati zajedno s atropinom daju dobru zaštitu kod trovanja somanom.[89] Derivati kinuklidina inhibiraju sintezu acetilkolina, do čijeg prekomjernog nagomilavanja dolazi uslijed trovanja somanom. Udio smrtnost životinja smanjen je sat vremena nakon aplikacije s 70% na 30%. S pravom dozom oksima, moguće je smanjiti sintezu acetilkolina, spriječiti njegovo nagomilavanje, ali i dopustiti prevođenje živčanih impulsa u manjoj mjeri nego u normalnim uvjetima.[89]



Shema 25. Mehanizam inhibicije AChE s organofosfornim spojem te reaktivacije AChE oksimom.

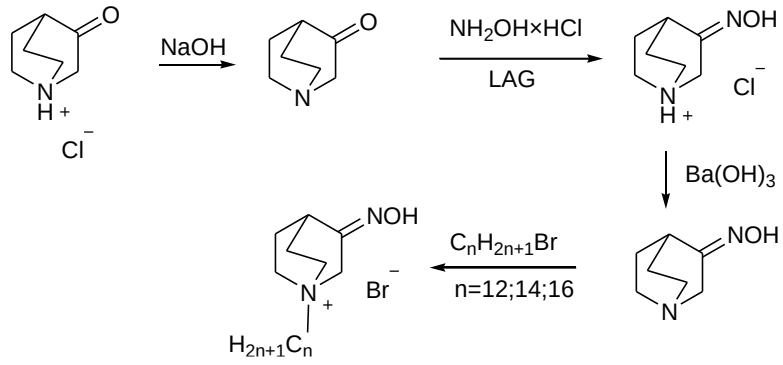
2.3.2. Antibakterijski potencijal derivata kinuklidina

Rezistencija mikroorganizama na antibiotike jedan je od najvećih problema današnjice.[90] To je prirodan i ireverzibilan proces prilagodbe bakterija na antibiotike pri čemu prekomjerna i neopravdana uporaba antibiotika uvelike pridonosi tom problemu. Sve je veći broj infektivnih bolesti kao što su tuberkuloza, gonoreja te upala pluća koje se sve teže liječe antibioticima. Zabrinjavajuća je procjena da će većina trenutačno raspoloživih antimikrobnih lijekova izgubiti djelotvornost u narednih pet godina. Danas znanstvenici iz svih područja prirodnih znanosti pokušavaju pronaći ili sintetizirati nove lijekove sa širokim spektrom antimikrobnog djelovanja te s minimalnim nepoželjnim djelovanjem na ljudsko zdravlje. Iz tog razloga javlja se potreba za sintezom novih antibiotika koji bi se koristili za liječenje bakterija rezistentnih na postojeće antibiotike.[91]

Skupina spojeva koja u posljednje vrijeme u fokusu razvoja novih lijekova sadrži biciklički sustav s dušikom u premoštenju kao središnji dio svoje kemijske strukture kao

avibaktam, inhibitor β-laktamaza. Zbog određene različite antimikrobne aktivnosti i jedinstvenog mehanizma djelovanja kinuklidinski spojevi pokazuju izuzetan potencijal u istraživanju i sintezi novih lijekova.[92]

Sintetizirana je skupina oksima s dugolančanim supstituentima vezanim na dušikov atom, shema 26.



Shema 26. Sinteza derivata 3-hidroksiiminokinuklidina kao površinski aktivne tvari.

Takva skupina spojeva pripada skupini surfaktanta tj. površinski aktivnih tvari. Ugljikovodični lanci su u kristalnoj strukturi okrenuti paralelno jedan drugome, dok su nabijene "glave" (kinuklidinska jezgra) okrenute u suprotnom smjeru. Takve molekule zbog pozitivno nabijenog dušikovog atoma stupaju u elektrostatsku interakciju s negativno nabijenim fosfolipidnim dvoslojem staničnih stijenki bakterija. Antimikrobna aktivnost može proizlaziti iz elektrostatskih interakcija pozitivno nabijenih kvaternih amino skupina s negativno nabijenim fosfolipidima. Sintetizirane molekule surfaktanata s različitim strukturnim funkcionalnostima koje utječu na fizikalno-kemijska svojstva, a samim time i na biološku aktivnost molekule, polazišne su točke za daljnja istraživanja na tom području.[93]

Svi spojevi pokazali su dobru bakteriostatsku aktivnost i inhibiraju različite Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, tablica 4. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) određena je u rasponu od 1,23 do 280,57 μmol/L i uspoređena je sa standardnim antibioticima (Gentamicinom i Tetraciklinom). Najveći spektar antibakterijskog dijelovanja pokazao je spoj C_{12}QNOH koji je bolji antibiotik od *Gentamicina* kod *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*, a u rangu je *Tetraciklina* kod *Enterococcus faecalis*. Spoj C_{14}QNOH pokazao se boljim od *Gentamicina* kod *Escherichie coli*. S povećanjem hidrofobnosti smanjuje se

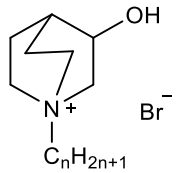
antimikrobna aktivnost navedenih spojeva. U slučaju *Escherichie coli* minimalna inhibitorna koncentracija promijenila se s 80,25 μmol/L na 37,42 μmol/L u slučaju povećanja dužine alkilnog lanca s 12 na 14 ugljikovih atoma. Spoj C_{12}QNOH je najaktivniji od spomenutih spojeva.[94]

Tablica 4. Antimikrobna aktivnost: minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) 3-hidroksiiminokinuklidinijevih spojeva s različitim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama.

Spoj:	MIK / μmol L^{-1}				
	C_{12}QNOH	C_{14}QNOH	C_{16}QNOH	*Gentamicin**	*Tetraciklin**
Bacillus cereus[a]	80,25	149,71	140,29	8,38	4,50
Enterococcus faecalis[a]	1,23	149,71	140,29	8,38	1,13
Staphylococcus aureus[a]	2,49	37,42	280,57	2,09	1,13
Clostridium perfringens[a]	20,06	37,42	140,29	1,05	4,5
Escherichia coli[b]	80,25	37,42	112,23	67,0	144,0
Klebsiella pneumoniae[b]	10,02	74,86	112,23	16,75	288,0
Pseudomonas aeruginosa[b]	40,11	149,71	224,46	134,00	576,0
Chronobacter sakazakii[b]	40,11	74,86	70,14	16,75	18,0

*standard; [a] Gram-pozitivna bakterija; [b] Gram-negativna bakterija

Antimikrobna aktivnost ispitana je *N* supstituiranim spojevima kinuklidin-3-ola, shema 27. Spojevi s 3, 4 i 6 ugljikovih atoma u alkilnom lancu pokazali su slabu aktivnost (veću od 2000 μg/mL) stoga nisu dalje istraživana. Najbolju antimikrobnu aktivnost pokazao je alkohol QOH-C14, s MIK vrijednostima u rasponu od 0,06 do 3,9 μg/mL prema Gram-pozitivnim bakterijama, tablica 5.[95]



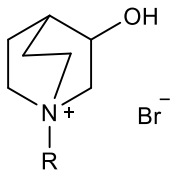
n	Oznaka spoja
10	QOH-C10
12	QOH-C12
14	QOH-C14

Shema 27. Strukture spojeva kojima je ispitana antimikrobna aktivnost.

Tablica 5. Antimikrobna aktivnost: minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) supstituiranih 3-kinuklidinola s različitim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama te kvascima.

Spoj:	MIK /μg mL^{-1}		
	QOH-C10	QOH-C12	QOH-C14
Staphylococcus aureus[a]	125	15,6	0,97
Enterococcus faecalis[a]	250	15,6	0,97
Streptococcus pyogenes [a]	15,6	0,48	0,06
Escherichia coli[b]	500	62,5	15,6
Klebsiella pneumoniae[b]	1000	250	15,6
Pseudomonas aeruginosa[b]	2000	250	31,25
		MIK_{50}	
Candida albicans	31,25	1,95	0,06

Antimikrobna aktivnost ispitana je *N* supstituiranim kinuklidin-3-olima s različitim *N*-benzilnim supstituentima u *para* položaju (brom, klor i nitro skupina), shema 28. Svi testirani spojevi pokazali su dobru antimikrobnu aktivnost prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama s MIK vrijednostima u rasponu od 0,39 do 100 μg/mL. Spojevi sa supstituentima na benzilnom prstenu u *para* položaju pokazuju bolju antimikrobnu aktivnost u odnosu na spojeve bez supstituenata. Spoj QOH-3 s kloridnim atomom u *para* položaju pokazuje bolju antibakterijsku aktivnost prema Gram pozitivnim i Gram negativnim bakterijama u odnosu na standard s MIK vrijednostima u rasponu od 0,39 do 3,12 μg/mL, tablica 6.[96] Istraživanja kvaternih derivata kinuklidin-3-ola i 3-klorkinuklidina s različitim elektronegativnim supstituentima u *para* položaju benzilnog supstituenta pokazala su da spojevi s nitro skupinom u *para* položaju benzilnog supstituenta i hidroksilnom skupinom na položaju 3 kinuklidina ima najbolja antioksidativna svojstva.



R	spoj
-	QOH
$CH_2C_6H_5$	QOH-1
para $BrCH_2C_6H_4$	QOH-2
para $ClCH_2C_6H_4$	QOH-3
para $NO_2CH_2C_6H_4$	QOH-4

Shema 28. Strukture spojeva kojima je ispitana antimikrobna aktivnost.

Tablica 6. Antimikrobna aktivnost: minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) supstituiranih 3-kinuklidinola s različitim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama .

Spoj	MIK / μg mL^{-1}						
	QOH	QOH-1	QOH-2	QOH-3	QOH-4	Gentamicin	Cefotaxime
B. aureus[a]	25	12,5	50	100	50	4	0,25
E. faecalis[a]	50	50	50	3,12	12,5	4	0,5
S. aureus [a]	25	50	25	100	100	1	0,5
E. coli[b]	50	50	12,5	12,5	25,5	32	0,5
P. aeruginosa[b]	25	6,25	12,5	0,39	3,12	64	16
C. sakazakii	50	12,5	25	25	50	8	8

Ovi rezultati su pokazatelj da je optimizacija strukture kvaterniziranih amonijevih soli, koji u strukturi sadrže kinuklidinsku jezgru, dobra polazišna točka u istraživanju novih antimikrobnih spojeva.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Opće napomene

Sve upotrijebljene kemikalije i otapala bili su analitičke čistoće ili su pročišćavani standardnim postupcima opisanim u literaturi. Spojevi 3-oksokinuklidinijev klorid (Aldrich, 97%), hidroksilamonijev klorid (Aldrich, 99%), dodecilamin (Aldrich, 99%), sve upotrijeljene baze, *N*,*N*-dimetilkarbamoil-klorid (Aldrich, 98%), *N*,*N*-dietilkarbamoil-klorid (Aldrich, 97%), *N*,*N*-difenilkarbamoil-klorid (Aldrich, 98%), benzaldehid (Aldrich, 99%); cinamaldehid (Aldrich, 99%), indol-3-karbaldehid (Merck, 97%) te indol-5-karbaldehid (Aldrich, 98%) komercijalno su dostupni i nisu bili dodatno pročišćavani.

Tijek reakcija, identifikacija i kontrola čistoće pripravljenih spojeva praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), infracrvenom spektroskopijom (FT-IR), te ^{1}H i ^{13}C nuklearnom magnetskom rezonancijom (NMR).

Tankoslojna kromatografija rađena je na pločicama aluminijeva oksida (DC Aluminiumoxid 60 F_{254}, neutralni, Merck) te silikagela (HPTLC Kieselgel 60 F_{254}, Merck). Supstancije su detektirane reverzibilnom adicijom joda ili pod UV lampom.

IR spektri snimljeni su na Perkin-Elmer FT-IR Spectrum Two spektrometru. Kruti uzorci snimani su kao pastile kalijevog bromida, a tekući uzorci na pločicama natrijeva klorida. Vrijednosti valnih brojeva izraženi su u cm^{-1}.

NMR spektri snimljeni su na Bruker AV300 i/ili AV600 u deuteriranim otapalima pri sobnoj temperaturi. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u dijelovima na milijun (ppm), a kao unutrašnji standard korišteni su tetrametilsilan (TMS), ili nedeuterirani udio otapala. Konstante sprege, *J*, izražene su u Hz. Signali su označeni kao s=singlet, d=dublet, t=triplet, dd=dublet dubleta, m=multiplet.

Tališta su određena na uređaju Büchi Melting Point B-540 u otvorenim kapilarama. Optička skretanja određena su na automatskom polarimetru Optical Activity AA-10 (589 nm) pri sobnoj temperaturi (~24°C) u ćeliji dugoj 1 dm. Koncentracija otopine izražena je kao masa otopljenog uzorka u 100 cm^3 otopine (g/100 cm^3).

Elementna analiza (C, H, N) rađena je na instrumentu Perkin-Elmer PE 2400, Series II CHNS/O Analyser.

Mehanokemijska sinteza rađena je u kugličnom mlinu Retsch MM200, u posudici od nehrđajućeg čelika volumena 10 mL uz dvije kuglice od istog materijala. Frekvencija mljevenja bila je 25 Hz, a vrijeme mljevenja od 1 min do najdulje 120 min.

3.2. Sinteza 3-hidroksiiminokinuklidina

3.2.1. *Priprava 3-(hidroksiimino)kinuklidina,* **1**

Reakcijska smjesa kinuklidin-3-ona (500 mg, 3,99 mmol), hidroksilamin hidroklorida (236,5 mg, 5,99 mol) i natrijevog hidroksida (239,6 mg, 5,99 mol) u metanolu miješana je 1 sat pri sobnoj temperaturi. Talog koji nastaje prilikom reakcije je uklonjen vakumskom filtracijom. Filtrat je uparen pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Produkt je istaložen dodatkom dietil-etera, profiltriran te višestruko ispran dietil-eterom. Dobiveno je 439 mg (78,5%) spoja **1**.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 1,73-1,83 (m, H8, H5); 2,59-2,60 (m, H4); 2,85-2,98 (m, H6, H7); 3,47 (s, H2); 3,67 (s, H2); 9,84 (s, C=N-OH).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ/ppm: 21,96 ($C4_b$); 24,22 (C5); 25,81 (C8); 28,11 ($C4_a$); 46,69 (C6, C8); 51,34 ($C2_a$); 53,09 ($C2_b$); 161,79; 163,17 (C3).

3.2.2. *Priprava 1-(but-3-en-1-il)-3-(hidroksiimino)kinuklidinijevog bromida,* **2**

Reakcijska smjesa spoja **1** (123 mg, 0,88 mmol) i but-3-enil-bromida (90 μL, 0,88 mmol) u suhom tetrahidrofuranu miješana je preko noći pri temperaturi refluksa otapala. u atmosferi dušika. Tijek reakcije je praćen tankoslojom kromatografijom na pločici aluminijevog oksida. Produkt je profiltriran te višestruko ispran i digeriran dietil-eterom. Dobiveno je 122 mg (50%) spoja **2**, t.t. 276,4-277,3°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3319-2686, 1643, 1463, 1423, 1085, 838, 700

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,89-2,14 (m, H8, H5); 2,80-2,82 (m, H4); 3,38-3,63 (m, H6, H7, H9, H10); 4,22 (s, H2); 4,37 (s, H2); 5,14-5,28 (m, H12); 5,72-5,78 (m, H11); 11,13-11,17 (s, C=N-OH); Z:E=40:60

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 21,64 ($C4_b$); 22,09 (C5); 23,54 (C8); 26,47 (C10); 26,96 ($C4_a$); 54,74 (C6, C8); 57,74 ($C2_a$); 58,48 ($C2_b$); 62,35 (C9); 118,83 (C12); 133,61 (C11) ; 151,595 (C3).

CHN analiza ($C_{11}H_{19}BrN_2O$) / %: Izračunano: C 48,01; H 6,96; Br 29,04; N 10,18; O 5,81; Dobiveno: C 48,14; H 6,95; N 10,20.

3.2.3. Priprava 1-benzil-3-(hidroksiimino)kinuklidinijevog bromida, **3**

Reakcija spoja **1** (100 mg, 0,72 mmol) i benzil-bromida (85 µL, 0,72 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 175 mg (78%) spoja **3**, t.t. 276,4-277,3°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3390-2689, 1673, 1460, 1419, 1063, 944, 770, 713.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ/ppm:1,88-2,12 (m, H5, H7); 2,78-2,79 (m, H4); 3,52-3,61 (m, H6, H8, H4); 4,18 (s, $H2_a$); 4,32 (s, $H2_b$); 4,67 (d, Ar-CH_2, *J*=10,44 Hz);7,52-7,77 (m, H11, H12, H13, H14, H15); 11,12; 11,15 (s, C=N-OH).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 21,59 (C5); 21,69 ($C4_b$); 23,00 (C7); 26,97 (C4a); 53,94 (C6, C8); 56,84 ($C2_a$); 57,87 ($C2_b$); 66,21 (C9); 127,28 (C10); 129,03; 130,28; 133,02 (C11-C15); 150,89 (C3).

CHN analiza ($C_{14}H_{19}BrN_2O$) /%: Izračunano: C 54,03; H 6,15; Br 25,67; N 9,00; O 5,14. Dobiveno: C 53,88; H 6,16; N 9,02.

3.2.4. Priprava 3-(hidroksimino)-1-(4-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, **4**

Reakcija spoja **1** (150 mg, 1,07 mmol) i 4-nitrobenzil-bromida (231 mg, 1,07 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 297 mg (78%) spoja **4**, t.t. 232,5-233,2°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3214-2846, 1608, 1524, 1353, 958, 856, 706.

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 1,78-1,81 (m, $H4_b$); 1,91-2,18 (m, H5, H7); 2,83-2,84 (m, $H4_a$); 3,59-3,71 (m, H6, H8); 4,28 (s, H2); 4,41 (s, H2); 4,88 (d, H9, *J*= 11,62 Hz); 7,90-7,93; 8,39-8,42 (m, H11, H12, H14, H15); 11,17;11,19 (s, C=N-OH). Z:E=35:65.

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 21,65(C5, $C4_b$); 23,03 (C7); 26,84 ($C4_a$); 54,38 (C8,C6); 57,02 ($C2_a$); 57,97 ($C2_b$); 64,67 (C9); 123,87; 134,64 (C11, C12, C14, C15); 134,35 (C10); 148,63 (C13); 150,67(C3).

CHN analiza ($C_{14}H_{18}BrN_3O_3$) / %: C 47,20; H 5,09; Br 22,43; N 11,80; O 13,47; Dobiveno: C 47,10; H 5,08; N 11,81.

3.2.5. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, **5**

Reakcija spoja **1** (100 mg, 0,71 mmol) i 3-nitrobenzil-bromida (153 mg, 0,71 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 114 mg (45%) spoja **5**, t.t. 261-262,6°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3377-2846, 1670, 1618, 1531, 1353, 945, 707.

^{1}H NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,89-2,10 (m, H5, H7); 2,79-2,81 (m, H4$_a$); 3,55-3,65 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,24 (s, H2); 4,38 (s, H2); 4,86 (d, H9, *J*=5,34 Hz); 7,82-7,87; 8,02-8,04; 8,38-8,47 (m, H11, H13, H14, H15); 11,14;11,17 (s, C=N-OH). Z:E=43:57.

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 22,12(C5); 23,53 (C8); 27,43 (C4); 54,68; 54,78(C7, C6); 57,47 (C2$_a$); 58,36 (C2$_b$); 65,21 (C9); 129,78 (C10); 125,57; 128,20; 131,14; 140,07 (C11, C13, C14, C15); 148,50 (C12); 151,20 (C3).

CHN analiza ($C_{14}H_{18}BrN_3O_3$) / %: Izračunano: C 47,20; H 5,09; Br 22,43; N 11,80; O 13,47. Dobiveno: C 47,32; H 5,10; N 11,81.

3.2.6. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **6**

Reakcija spoja **1** (120 mg, 0,86 mmol) i 4-klorbenzil-bromida (177 mg, 0,86 mmol) u prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 193 mg (65%) spoja **6**, t.t. 239,7-240,3°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3184-2781, 1652, 1598, 1493 , 1437, 1384, 951, 883, 626.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d$_6$) *δ*/ppm: 1,90-2,10 (m, H5, H7); 2,77-2,79 (m, H4$_a$); 3,52-3,59 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,18 (s, H2); 4,32 (s, H2); 4,68 (d, H9, *J*=5,07 Hz); 7,56-7,63; (m, H11, H12, H14, H15); 11,11;11,15 (s, C=N-OH). Z:E=39:61

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) *δ*/ppm: 22,08(C5); 22,17 (C4$_b$); 23,51 (C8); 27,45 (C4); 54,43; 54,56(C7, C6); 57,30 (C2$_a$); 58,30 (C2$_b$); 65,68 (C9); 126,79 (C10); 129,58; 135,35; (C11, C12, C14, C15); 135,81 (C13); 151,21;151,32 (C3).

CHN analiza ($C_{14}H_{18}BrClN_2O$) / %: Izračunano: C 48,65; H 5,25; Br 23,12; Cl 10,26; N 8,10; O 4,63. Dobiveno: C 48,52; H 5,26; N 8,12.

3.2.7. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **7**

Reakcija spoja **1** (196 mg, 1,4 mmol) i 3-klorbenzil-bromida (288 mg, 1,4 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 393 mg (81,3%) spoja **7**.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3445-2825, 1675, 1574, 1467, 1378, 934, 796, 715.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,92-2,11 (m, H5, H7); 2,79-2,81 (m, H4$_a$); 3,53-3,61 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,22(s, H2); 4,35 (s, H2); 4,69 (d, H9, *J*= 5,7 Hz); 7,55-7,71; (m, H11, H13, H14, H15); 11,13;11,16 (s, C=N-OH). Z:E=35:65

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 22,11(C5); 23,52 (C8); 27,42 (C4); 54,54; 54,73(C7, C6); 57,45 (C2$_a$); 58,43 (C2$_b$); 65,62 (C9); 130,14 (C10); 130,75; 131,35; 132,32; 133,13 (C11, C13, C14, C15); 134,00 (C12); 151,21;151,29 (C3).

CHN analiza ($C_{14}H_{18}BrClN_2O$) / %: Izračunano: C 48,65; H 5,25; Br 23,12; Cl 10,26; N 8,10; O 4,63. Dobiveno: C 48,53; H 5,26; N 8,08.

3.2.8. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(4-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, **8**

Reakcija spoja **1** (120 mg, 0,86 mmol) i 4-metilbenzil-bromida (159 mg, 0,86 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 173 mg (62%) spoja **8**, t.t. 233,4-233,9°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 2992-3228, 1674, 1611, 1513, 1460, 1376, 1064, 1029, 956, 829, 689.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d$_6$) *δ*/ppm: ¶ 1,88-2,10 (m, H5, H7); 2,36 (s, CH$_3$); 2,77-2,79 (m, H4$_a$); 3,49-3,54 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,16 (s, H2); 4,29 (s, H2); 4,60 (d, H9, *J*= 5,31Hz); 7,33-7,46; (m, H11, H12, H14, H15); 11,11;11,14 (s, C=N-OH). Z:E=39:61

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) *δ*/ppm: 21,32 (CH$_3$); 22,08 (C5); 22,23 (C4$_b$) 23,49 (C8); 27,49 (C4$_a$); 54,30; 54,44(C7, C6); 57,25 (C2$_a$); 58,30 (C2$_b$); 66,56 (C9); 124,76 (C10); 130,08; 133,39; (C11, C12, C14, C15); 140,49 (C13); 151,29;151,42 (C3).

CHN analiza ($C_{15}H_{21}BrN_2O$) / %: Izračunano: C 55,39; H 6,51; Br 24,57; N 8,61; O 4,92. Dobiveno: C 55,49; H 6,52; N 8,60.

3.2.9. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, **9**

Reakcija spoja **1** (120 mg, 0,86 mmol) i 3-metilbenzil-bromida (159 mg, 0,86 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 173 mg (62%) spoja **9**, t.t. 218,6-219,4°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3511, 3433-2758, 1671, 1659, 1466, 1418, 1381, 940, 887, 797, 711.
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,89-2,11 (m, H5, H7); 2,37 (s, CH$_3$); 2,77-2,79 (m, H4$_a$); 3,53-3,55 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,18 (s, H2); 4,32 (s, H2); 4,61 (d, H9, *J*=5,52 Hz); 7,32-7,42; (m, H11, H13, H14, H15); 11,11;11,14 (s, C=N-OH). Z:E=32:68.
^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 21,38 (CH$_3$); 22,09 (C5); 22,19 (C4$_b$) 23,50 (C8); 27,47 (C4$_a$); 54,44; 54,55(C7, C6); 57,46 (C2$_a$); 58,44(C2$_b$); 66,64 (C9); 124,69 (C10); 130,62; 133,39; 133,95 (C11, C13, C14, C15); 138,85 (C12); 151,29;151,41 (C3).
CHN analiza ($C_{15}H_{21}BrN_2O$) /%: Izračunano: C 55,39, H 6,51, Br 24,57, N 8,61, O 4,92. Dobiveno: C 55,43, H 6,50, N 8,59.

3.2.10. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(4-brombenzil)kinuklidinijevog bromida, **10**

Reakcija spoja **1** (150 mg, 1,07 mmol) i 4-brombenzil-bromida (267 mg, 1,07 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 313 mg (75%) spoja **10**, t.t. 234,9-235,7°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3346-2840, 1656, 1630, 1588, 1460, 1376, 1072, 945, 842.
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,92-2,10 (m, H5, H7); 2,77-2,79 (m, H4$_a$); 3,53-3,58 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,19(s, H2); 4,32 (s, H2); 4,67 (d, H9, *J*=5,04 Hz); 7,49-7,55; 7,72-7,77(m, H11, H12, H14, H15); 11,12;11,15 (s, C=N-OH). Z:E=32:68.
^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 22,09 (C5); 22,16 (C4$_b$) 23,50 (C8); 27,45 (C4$_a$); 54,41; 54,55(C7, C6); 57,30 (C2$_a$); 58,29 (C2$_b$); 65,7 (C9); 124,65 (C13); 127,17 (C10); 132,51; 135,59(C11, C12, C14, C15); 151,21; 151,31 (C3).
CHN analiza ($C_{14}H_{18}Br_2N_2O$) /%: Izračunano: C 43,10, H 4,65, Br 40,96, N 7,18, O 4,10. Dobiveno: C 43,99, H 4,64, N 7,20.

3.2.11. Priprava 3-(hidroksiimino)-1-(3-brombenzil)kinuklidinijevog bromida, **11**

Reakcija spoja **1** (150 mg, 1,07 mmol) i 3-brombenzil-bromida (267 mg, 1,07 mmol) prema postupku opisanom u 3.2.1. dala je 272 mg (65%) spoja **11**. t.t. 221,7-222,4°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3481, 3360-2801, 1673, 1569, 1431, 1377, 1215, 1064, 943, 719, 711.
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,92-2,10 (m, H5, H7); 2,77-2,79 (m, H4$_a$); 3,53-3,58 (m, H6, H8, H4$_b$); 4,19(s, H2); 4,33 (s, H2); 4,65 (d, H9, *J*= 5,46Hz); 7,49-7,58; 7,75-7,83 (m, H11, H13, H14, H15); 11,12;11,15 (s, C=N-OH). Z:E=31:69.

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 22,10 (C5); 23,51 (C8); 27,40 (C4); 54,62; 54,75(C7, C6); 57,47 ($C2_a$); 58,45 ($C2_b$); 65,7 (C9); 122,56(C12); 130,33 (C10); 131,59; 132,68; 133,69; 135,95 (C11, C13, C14, C15); 151,19; 151,29 (C3).

CHN analiza ($C_{14}H_{18}Br_2N_2O$) / %: Izračunano: C 43,10, H 4,65, Br 40,96, N 7,18, O 4,10. Dobiveno: C 43,21, H 4,65, N 7,16.

3.3. Sinteza kiralnih kinuklidina

3.3.1. (±)-kinuklidin-3-il-acetat, **12**

(±)-kinuklidin-3-ol (9,000 g, 0,071 mol) i acetanhidrid (60 cm^3, 0,636 mol) zagrijavani su na uljnoj kupelji uz refluks tri sata. Destilacijom pri sniženom tlaku uklonjen je acetanhidrid. Ostatak nakon destilacije neutraliziran je zasićenom otopinom kalijevog karbonata (10 cm^3) i ekstrahiran s kloroformom (5 puta po 30 cm^3). Kloroformski ekstrakti su sušeni s bezvodnim Na_2SO_4, Kloroform je uparen pod sniženim tlakom, a tako dobiveni sirovi acetat predestiliran je uz podtlak vodene sisaljke. Prvo destilira acetanhidrid, a zatim bezbojni tekući spoj **2**, (10,300 g, 86 %), t.v. (10 mm Hg) 106°C (lit. 90 %, t.v. (15 mm Hg) 115°C).

IR (NaCl) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 2948, 2872, 1727, 1457, 1322, 1248, 1029, 785.

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 1,30-1,75 (m, 4H, H_5 i H_8); 1,85-1,88 (m, 1H, H_4); 1,99 (s, 3H, C$\underline{H}_3$C=O); 2,42-2,70 (m, 5H, H_6, H_7 i H_2 *cis*); 3,24 (dd, 1H, ^2J=14,5 i ^3J=8,4 Hz, H_2 *trans*); 4,60-4,67 (m, 1H, H_3).

^{1}H NMR ($CDCl_3$, RBN) δ/ppm: 1,20-1,75 (m, 4H, H_5 i H_8); 1,91-1,95 (m, 1H, H_4); 1,98 i 2,01 (s, 3H, C$\underline{H}_3$C=O); 2,32-2,59 (m, 5H, H_6, H_7 i H_2 *cis*); 2,75-2,91 (m, 1H, H_2 *trans*); 4,52-4,61 (m, 1H, H_3).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 19,44 (C_5); 21,50 (C_8); 24,32 (C_4); 25,27 ($\underline{C}H_3C$=O); 46,21 (C_6); 47,12 (C_7); 55,22 (C_2); 71,62 (C_3); 171,73 (C=O).

3.3.2. Rezolucija-kinuklidin-3-il-acetata

L-Vinska kiselina (9,150 g, 0,061 mol) otopljena je u etanolu (80 %, 50 cm^3). Zatim je dodana otopina spoja **2** (10,300 g, 0,061 mol) u etanolu (80 %, 1 cm^3). Nakon što je zagrijana do vrenja, reakcijska smjesa je ostavljena preko noći pri sobnoj temperaturi. Nastali bijeli

kristali soli profiltrirani su i dva puta prekristalizirani iz etanola (80 %, 80 cm^3). Dobiven je (*R*)-3-acetiloksikinuklidinijev L-tartarat (5,510 g, 57 %), t.t. 92,3-96,0°C, (lit. 60 %, t.t. 94-95°C).[18] Matičnica je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Ostatak je zalužen zasićenom otopinom kalijevog karbonata (4,5 cm^3) te ekstrahiran s kloroformom (4×20 cm^3). Spojeni kloroformski ekstrakti sušeni su s bezvodnim Na_2SO_4, a kloroform uparen pod sniženim tlakom. Dobivena otopina sirovog acetata destilirana je uz podtlak vodene sisaljke. Dobiven je bezbojni, tekući kinuklidin-3-il-acetat, pretežno (S)-konfiguracije (3,705 g, 0,022 mol).

Tako dobiveni kinuklidin-3-il-acetat (3,705 g, 0,022 mol) dodan je u otopinu D-vinske kiseline (3,29 g, 0,0219 mol) u etanolu (80 %, 18 cm^3). Otopina je zagrijana do vrenja i ostavljena preko noći pri sobnoj temperaturi. Nastali bijeli kristali soli profiltrirani su i dva puta prekristalizirani iz etanola (80 %, 25 cm^3). Dobiven je (*S*)-3-acetiloksikinuklidinijev D-tartarat (4,430 g, 63 %), t.t. 92,3-96,0°C, (lit. 60%, t.t. 95°C).

*3.3.2.1. (*R*)-kinuklidin-3-ol,* ***13***

(*R*)-3-acetiloksikinuklidinijev L-tartarat (5,510 g, 0,017 mol) otopljen je u vodenoj otopini NaOH (2,5 M, 20 cm^3). Reakcijska smjesa je zagrijavana na uljnoj kupelji, jedan sat na 50°C, nakon čega je uparena do suha. Dobiveni talog stavljen je u tuljac od filtar-papira i umetnut u cilindar Soxhletovog uređaja za kontinuiranu ekstrakciju. Ekstrakcija s benzenom trajala je 24 sata. Benzen je zatim uparen pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču i dobiven je kristalinični spoj 1**3,** prekristaliziran iz benzena (1,527 g, 71 %), t.t. 212,9-216,1°C, $[\alpha]_D^{22}$ –43,3° (*c*=3,0; 1 mol dm^{-3} HCl), (lit. 80 %, t.t. 222°C, $[\alpha]_D^{23}$ –44,7° (*c*=3,0; 1 mol dm^{-3} HCl).[18] IR (NaCl) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 3600-2482, 2942, 2872, 1045, 989, 940, 817, 795, 774, 631, 492, 462.

*3.3.2.2. (*S*)-kinuklidin-3-ol,* ***14***

Postupkom opisanim za pripravu (spoja 1**3** (3.1.3.3) iz (*S*)-3-acetiloksikinuklidinijevog D-tartarata (4,430 g, 0,014 mol) dobiven je kristalinični spoj 1**4**, prekristaliziran iz benzena (1,178 g, 99 %), t.t. 212,9-216,1°C, $[\alpha]_D^{22}$ +44,0° (*c*=3,0; 1 mol dm^{-3} HCl), (lit. 60 %, t.t.

223,5-225°C; $[\alpha]_D^{23}$ +45,7° (*c*=3,0; 1 mol dm^{-3} HCl)).[18] FTIR spektri su identični sa spektrima spoja 1**3.**

3.3.2.3. (±) 3-okso-1-metilkinuklidinijev jodid, ***15***

U okrugloj tikvici od 50 ml otopljen je 1 mmol kinuklidin-3-ona te 4 mmol metil-jodida u 20 ml suhog acetona. Tako pripravljena reakcijska smjesa ostavljena je tjedan dana pri sobnoj temperaturi zaštićena od svijetla. Nastali talog profiltriran je i ispran suhim eterom. Dobiveni su bijeli kristali spoja **3** (97,5%), t.t. 278°C, prekristalizirani iz smjese etanol-voda.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ /cm^{-1}: 2923, 1753, 1468, 1120, 1090, 945, 786, 479.
^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 2,01-2,17 (m, 2H, H5); 2,17-2,35 (m, 2H, H8); 2,70-2,74 (m, 1H, H4); 3,16 (s, 3H, NCH3); 3,55-3,67 (m, 2H, H6); 3,67-3,80 (m, 2H, H7); 4,33 (s, 2H, H2).
^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 20,87 (C5 i C8); 36,54 (NCH3); 52,55 (C4); 56,03 (C6 i C7); 67,10 (C2); 203,43 (C=O).

3.4. Mehanokemijska sinteza oksima

U mehanokemijskom postupku korišteni su komercijalno dostupni aldehidi: 4-(dimetilamino)benzaldehid i njegov *N*-metilni kvaterni derivat, (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)akrilaldehid i njegov *N*-metilni kvaterni derivat, indolil-3-karbaladehid, indolil-5-karbaladehid; te ketoni: 3-okso-1-azabiciklo[2.2.2]oktan i njegov *N*-metilni kvaterni derivat **15**, 3-acetilindol, fenil-(piridin-2-il)-keton, 3-butiroilindol. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (aluminijev oksid, $CHCl_3$: CH_3OH = 9 : 1) te nisu uočeni nusprodukti. Sve reakcije provedene su pri sobnoj temperaturi. FTIR spektri snimani su uz spektralno razlučivanje 2 cm^{-1} (64 spektra).

3.4.1. Sinteza bez otapala i bez prisustva baze

U metalnu posudicu stavljeno je 0,2 – 1,0 mmol (50 ili 100 μL; 50 mg) odgovarajućeg heterocikličkog aldehida i ekvimolarna količina hidroksilamin hidroklorida. Smjesa je usitnjena (mljevena) kroz 30 – 120 minuta. Ovisno o vrsti spoja, nakon određenog

vremenskog intervala (5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 minuta), uzorak reakcijske smjese (~ 1 mg) je uziman i pripravljena je KBr pastila te snimljen FTIR spektar.

3.4.2. Sinteza uz otapalo i bez prisustva baze

U metalnu posudicu stavljeno je 0,2 – 1,0 mmol (50 ili 100 μL; 50 mg) odgovarajućeg heterocikličkog aldehida i ekvimolarna količina hidroksilamin hidroklorida te 30 μL etanola. Smjesa je usitnjena (mljevena) kroz 30 – 90 minuta. Ovisno o vrsti spoja, nakon određenog vremena (5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 minuta) uzorak reakcijske smjese (~ 1 mg) je uziman i pripravljena je KBr pastila te snimljen FTIR spektar.

3.4.3. Sinteza uz otapalo i s bazom

U metalnu posudicu stavljeno je 0,2 – 1,0 mmol (50 ili 100 μL; 50 mg) odgovarajućeg heterocikličkog aldehida, ekvimolarna količina hidroksilamin hidroklorida, ekvimolarna količina NaOH te 30 μL etanola. Smjesa je usitnjena (mljevena) kroz 30 – 120 minuta. Ovisno o vrsti spoja, nakon određenog vremena (5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 minuta) uzorak reakcijske smjese (~ 1 mg) je uziman i pripravljena je KBr pastila te snimljen FTIR spektar.

3.5. Sinteza derivata 3-dodecilaminokinuklidina

3.5.1. Priprava 3-dodecilaminokinuklidina, **16**

Reakcijska smjesa kinuklidin-3-ona (250,3 mg, 2 mmol), natrijevog cijanoborhidrida (151 mg, 2,4 mmol) te dodecilamina (371 mg, 2 mmol) u 4 ml metanola miješana je preko noći pri 40°C. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom na pločici aluminijevog oksida. Reakcijska smjesa je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Ostatku je dodano 2,5 mL vodene otopine 1 mol dm^{-3} NaOH. Smjesa je ekstrahirana s 3 puta po 5 mL klororforma. Organska faza je sušena dodatkom natrijevog sulfata koji je uklonjen filtracijom. Filtrat je uparen pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Dobiveno je 570 mg ostataka

koji je pročišćen kolonskom kromatografijom na stupcu aluminijevog oksida, sustav otapala 9:1 ($CHCl_3$:MeOH). Dobiveno je 188 mg (32%) spoja **16** u obliku ulja.

IR (NaCl) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 2924; 2854; 1455; 1364; 1321; 1137; 1098; 1057; 977; 817; 787; 721; 614; 485.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 3,13 (ddd, J = 13,5, 8,9, 2,1 Hz, H3); 2,97 – 2,64 (m, H2, H6); 2,64 – 2,29 (m, H5,H2); 1,91 – 1,75 (m, H7); 1,73 – 1,58 (m, H4); 1,57 – 1,04 (m, CH_2); 0,88 (t, J = 7,0 Hz, CH_3).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 56,57 (C2); 54,71 (C3); 47,21; 46,59 (C6, C8); 31,39; 29,96; 29,13(CH_2); 29,09, 29,05 (C5, C7); 28,81; 26,96; 25,86 (CH2); 24,64 (C4); 22,14; 19,50 (CH_2); 13,55 (CH_3).

3.5.2. Priprava 3-dodecilamino-1-metilkinuklidinijevog jodida, **17**

Reakcijska smjesa spoja **16** (188 mg, 0,64 mmol) i metil-jodid (40 µL, 0,64 mmol) u suhom acetonu miješana je 2 sata pri sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Tijek reakcije je praćen tankoslojom kromatografijom na pločici aluminijevog oksida. Produkt je profiltriran te višestruko ispran i digeriran dietil-eterom. Dobiveno je 222 mg (79%) spoja **17,** t.t. 111,5-115,1°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3600-2482, 2942, 2872, 1045, 989, 940, 817, 795, 774, 631, 492, 462.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,7-1,0 (t, CH3); 1,1-1,4 (m, CH2); 1,4-1,45 (m, CH2); 1,8-1,9 (m, H7); 2,0-2,1 (m, H5);2,15-2,2 (m, CH2) 2,2-2,4 (m, H5) ; 2,4-2,6 (m, CH2N); 3,0-3,2 (m, H4) ; 3,2-3,4 (m, CH3N, H8); 3,5-3,6 (m, H2); 3,7- 4,0 (m, H2, H6); 4,01-4,26 (m, H3).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 13,56 (CH3); 18,02 (C5); 22,14 (C7); 22,37 (CH2CH3); 23,35 (C4); 26,83-46,92 (CH2); 52,13 (C3); 52,32 (CH3N); 56,00 (C8); 57,34 (C6); 64,25 (C2).

CHN analiza ($C_{20}H_{41}IN_2$) / %: Izračunano: C 55,04; H 9,47; I 29,08; N 6,42; Dobiveno: C 54,91; H 9,44; N 6,41.

3.5.3. Priprava 1-benzil-3-dodecilaminokinuklidinijevog bromida, **18**

Reakcijska smjesa spoja **16** (100 mg, 0,34 mmol) i benzil-bromida (40,4 μL, 0,34 mmol) u suhom acetonu miješana je 2 sata pri sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Tijek reakcije je praćen tankoslojom kromatografijom na pločici aluminijevog oksida. Produkt je profiltriran te višestruko ispran i digeriran dietil-eterom. Dobiveno je 96 mg (73%) spoja **18**, t.t. 72,8-73,9°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3468; 3214; 2923; 2851; 1741; 1655; 1469; 1381; 1219; 1066; 905; 829; 765; 707; 619; 562.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm:0,87 (t, CH3); 1,23-1,31 (m, CH2); 1,42-1,44 (m, CH2); 1,78-1,79 (m, H5); 1,94-2,05 (m, H5, H8); 2,19-2,20 (m, H7); 2,22-2,25 (m, H6); 2,45-2,52 (m, CH2N); 3,12-3,17 (m, H2a); 3,23-3,25 (m, H4); 3,52-3,60 (m, H2b); 3,80 (m, NH); 4,21 (m, H3); 4,9 (m, CH2 Bnz); 7,41-7,44 (m, H3, H4, H5 Bnz); 7, 63 (d, H2, H6 Bnz).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 13,55 (CH3); 17,96 (C5); 22,13 (C8); 22,42 (CH2CH3); 24,15 (C4); 26,75-46,92 (CH2); 52,57 (C3); 53,38 (C7); 53,65 (C6); 60,62 (C2); 66,55 (CH2 Bnz); 126,47 (C1 Bnz); 128,65; 129,97; 132,83 (C Bnz).

CHN analiza ($C_{26}H_{45}BrN_2$) / %: Izračunano: C 67,08; H 9,74; Br 17,16; N 6,02; Dobiveno: C 67,27; H 9,71; N 6,01.

3.5.4. Priprava 3-dodecilamino-1-(3-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, **19**

Reakcija spoja **16** (100 mg, 0,34 mmol) i 3-nitrobenzil-bromida (73 mg, 0,34 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 152,3 mg (88%) spoja **19**.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3236; 2921; 2849; 1525; 1466; 1355; 1220; 1133; 1107; 984; 885; 818; 746; 712; 619.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,88 (t, CH3, *J*=7,0 Hz); 1,15-1,36 (m, CH2); 1,35-1,50 (m, CH2); 1,8-2,1 (m, H8); 2,05-2,15 (m, H5); 2,17-2,25 (m, CH2); 2,25-2,30 (m, H5); 2,4-2,6 (m, CH2N); 3,09-3,11 (m, H4); 3,2-3,3 (m, H2); 3,5-3,6 (m, H2); 3,8-3,95 (m, H7); 3,97-4,02 (m, H6); 4,25-4,4 (m, H3), 5,25-5,4 (dd, *J*=41,9 Hz, 12 Hz, CH2 Bnz); 7,65-7,75 (t, H5 bnz); 8,25-8,40 (m, H4, H6 Bnz); 8,51 (s, H2 bnz).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 13,58 (CH3); 17,89 (C5); 22,15 (C7); 22,37 (CH2CH3); 24,07 (C4); 26,77-46,92 (CH2); 52,36 (C3); 53,76 (CH2Bnz); 53,99 (C8); 60,98 (C6); 64,42 (C2); 124,48; 127,17; 130,01; 139,50 (C2, C4, C5,C6 Bnz); 128,86 (C1 bnz); 147,80 (CNO2 Bnz).

CHN analiza ($C_{26}H_{44}BrN_3O_2$) / %: Izračunano: C 61,17; H 8,69; Br 15,65; N 8,23; O 6,27; Dobiveno: C 61,04; H 8,68; N 8,25.

3.5.5. Priprava 3-dodecilamino-1-(4-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, **20**

Reakcijska spoja **16** (66 mg, 0,22 mmol) i 4-nitrobenzil-bromida (48mg, 0,22 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 99 mg (87%) spoja **20**, t.t. 133,5-138,4°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3250; 3080; 2923; 2852; 2818; 1608; 1527; 1469; 1347; 1215; 1142; 1110; 1049; 853; 807; 708.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,88 (t, CH3, *J*=7,0 Hz); 1,09-1,51(m, CH2); 1,7-1,8 (m, H7**);** 1,9-2,07 (m, H5, H7); 2,11-2,37 (m, H2, H5); 2,45 (m, CH2N); 2,88-3,32 (m, H2,H6); 3,52 (m, H4); 3,84 (m, H6); 4,0 (m, H8); 4,23 (m, H3); 5,34 (dd, *J*=45,8 Hz, 12,8 Hz, CH2 Bnz); 8,00 (d, *J*=8,4 Hz H2, H6 Bnz); 8,23 (d, *J*= 8,4 Hz H3, H5 bnz).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 13,59 (CH3); 17,91 (C5); 22,16 (C7); 22,37 (CH2CH3); 24,05 (C4); 26,77-46,93 (CH2); 52,37 (C3); 53,79 (CH2Bnz); 53,95 (C8); 61,05 (C6); 64,26 (C2); 123,5 (C2, C3, C5,C6 Bnz); 134,22 (C1 bnz); 148,58 (CNO_2Bnz).

CHN analiza ($C_{26}H_{44}BrN_3O_2$) / %: Izračunano: C 61,17; H 8,69; Br 15,65; N 8,23; O 6,27; Dobiveno: C 61,15; H 8,70; N 8,21.

3.5.6. Priprava 3-dodecilamino-1-(3-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **21**

Reakcija spoja **16** (100 mg, 0,34 mmol) i 3-klorbenzil-bromida (45µL, 0,34 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 112 mg (66%) spoja **21**, t.t. 102,5-108,3°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3219; 2913; 2849; 1569; 1467; 1393; 1213; 1146; 1076; 941; 904; 795; 721; 671; 567.

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm:0,87 (t, CH3); 1,23-1,31 (m, CH2); 1,42-1,44 (m, CH2); 1,78-2,05 (m, H5); 2,05-2,25 (m, H8); 2,40-2,52 (m, CH2N); 3,0-3,10 (m, H2a); 3,15-3,25 (m, H2b); 3,47-3,48 (m, H4); 3,70-3,80 (m, H6); 3,80 (m, H7); 4,21 (m, H3); 5,1 (m, CH2 Bnz); 7,36-7,41(d, H Bnz); 7, 63 (d, H Bnz).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 13,55 (CH3); 17,96 (C5); 22,13 (C7); 22,42 (CH2CH3); 24,15 (C4); 26,75-46,92 (CH2); 52,57 (C3); 53,38 (C8); 53,65 (C6); 60,62 (C2); 66,55 (CH2 Bnz); 126,47 (C1 Bnz); 128,65; 129,97; 132,83 (C Bnz).

CHN analiza ($C_{26}H_{44}Br_2N_2$) / %: Izračunano: C 57,36; H 8,15; Br 29,35; N 5,15; Dobiveno: C 57,47; H 8,16; N 5,13.

3.5.7. Priprava 3-dodecilamino-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **22**

Reakcija spoja **16** (100 mg, 0,34 mmol) i 4-klorbenzil-bromida (70mg, 0,34 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 165 mg (97%) spoja **22,** t.t. 155,8-161,7°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3240; 2922; 2853; 2810; 1594; 1470; 1387; 1312; 1280; 1138; 1073; 1014; 805; 720; 642; 605; 574; 476.
^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,88 (t, CH3, *J*=7,0 Hz); 1,15-1,36 (m, CH2); 1,35-1,50 (m, CH2)**;** 1,7-1,8 (m, H8**);** 1,9-2,07 (m, H5); 2,19-2,26 (m, H6); 2,3-2,5 (m, CH2N); 3,14-3,09 (m, H6); 3,15-3,2 (m, H4); 3,43-3,52 (m, H2); 3,7-3,8 (m, H7); 3,90-3,95 (m, H2); 4,06-4,29 (m, H3); 5,07 (dd, *J*=45,8 Hz, 12,8 Hz, CH2 Bnz); 7,37 (d, *J*=8,4 Hz H2, H6 Bnz); 7,63 (d, *J*= 8,4 Hz H3, H5 bnz).
^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 13,59 (CH3); 17,90 (C5); 22,16 (C7); 22,38 (CH2CH3); 24,20 (C4); 26,77-46,92 (CH2); 52,37 (C3); 53,41 (CH2Bnz); 53,55 (C8); 60,74 (C6); 65,18 (C2); 128,90; 125,04 (C2, C3, C5,C6 Bnz); 134,21 (C1 bnz); 136,47 (CCl Bnz).
CHN analiza ($C_{26}H_{44}Br_2N_2$) / %: Izračunano: C 57,36; H 8,15; Br 29,35; N 5,15; Dobiveno: C 57,45; H 8,16; N 5,14.

3.5.8. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-dodecilaminokinuklidinijevog bromida, **23**

Reakcija spoja **16** (89 mg, 0,30 mmol) i 3-brombenzil-bromida (89 mg, 0,30 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 113 mg (69%) spoja **23**, t.t. 148,3-148,5°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3438; 3219; 2922; 2851; 1574; 1468; 1383; 1216; 1144; 1084; 792; 721.
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,88 (t, *J*=6,7 Hz, CH3); 1,01-1,55 (m, CH2); 1,79 (m, H8); 2,01 (m, H5); 2,2 (m, H8); 2,46 (m, CH2N); 2,88-3,32 (m, H6); 3,5 (m, H4); 3,65-3,91 (m, H7); 3,99 (m, H2); 4,22 (m, H3); 5,07 (m, CH2Bnz); 7,09-7,41 (m, HBnz); 7,56 (d, *J*=7,8 H4 Bnz); 7,60-7,89 (m, H Bnz).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 14,12 (CH3); 18,40 (C5); 22,67 (C7); 22,89 (CH2CH3); 24,61 (C4); 27,29 -47,43 (CH2); 52,88 (C3); 54,03 (CH2Bnz); 54,15 (C8); 61,29 (C6); 65,68 (C2); 123,01; 129,33 (C Bnz); 130,75; 132,33; 133,67; 135,65 (CH Bnz).

CHN analiza ($C_{26}H_{44}BrClN_2$) / %: Izračunano: C 62,46; H 8,87; Br 15,98; Cl 7,09; N 5,60; Dobiveno: C 62,27; H 8,88; N 5,62.

3.5.9. Priprava 1-(4-brombenzil)-3-dodecilaminokinuklidinijevog bromida, **24**

Reakcija spoja **16** (89 mg, 0,30 mmol) i 4-brombenzil-bromida (89 mg, 0,30 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 135 mg (82%) spoja **24**, t.t. 139,3°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3249; 2924; 2852; 2359; 1598; 1493; 1466; 1379; 1143; 1087; 1017; 849; 811; 732; 667; 584; 487.
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,89 (t, *J*=6,7 Hz, CH3); 1,01-1,55 (m, CH2, H8); 1,79 (m, H8); 1,81-2,1 (m, H5); 2,1-2,3 (m, H7); 2,29-2,67 (m, CH2N); 2,92-3,33 (m, H6); 3,48 (m, H4); 3,74 (m, H2)3,96 (m,NH); 4,17 (m, H3); 5,07 (m, CH2Bnz); 7,44-7,68 (m, HBnz).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 14,08 (CH3); 22,65 (C5); 27,27 (C7); 29,32 (CH2CH3); 29,46 (C4); 29,55 -47,42 (CH2); 52,88 (C3); 54,03 (CH2Bnz); 54,15 (C8); 61,29 (C6); 65,68 (C2); 126,01; 132,40; 134,93 (C Bnz).
CHN analiza ($C_{26}H_{44}BrClN_2$) / %: Izračunano: C 62,46; H 8,87; Br 15,98; Cl 7,09; N 5,60; Dobiveno: C 62,48; H 8,89; N 5,59.

3.5.10. Priprava 3-dodecilamino-1-(3-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, **25**

Reakcija spoja **16** (80 mg, 0,27 mmol) i 3-metilbenzil-bromida (37 μL, 0,27 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 107 mg (83%) spoja **25**, t.t. 142,2-148,2°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}:3234; 2921; 2849; 1467; 1379; 1308; 1143; 1050; 983; 908; 791; 745; 716.
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,86 (t, *J*=6,7 Hz, CH3); 1,00-1,46 (m, CH2, H8); 1,75 (m, H8); 1,9-2,15 (m, H5); 2,15-2,3 (m, H7); 2,3-2,4 (s, CH3Bnz); 2,4-2,6 (m, CH2N); 3,0-3,2 (m, H6); 3,4-3,6 (m, H4); 3,6-3,8 (m, H2); 3,95 (m, NH); 4,18 (m, H3); 4,9 (m, CH2Bnz); 7,1-7,5 (m, CH Bnz).
^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 14,11 (CH3); 18,44 (C5); 21,30 (CH3Bnz); 22,67 (C7); 22,93 (CH2CH3); 24,63 (C4); 27,29 -47,42 (CH2); 52,93 (C3); 53,87 (CH2Bnz); 54,15 (C8); 61,37 (C6); 67,20 (C2); 126,8 (C Bnz); 129,01-133,72 (CH Bnz); 139,07 (CCH3Bnz).
CHN analiza ($C_{27}H_{47}BrN_2$) / %: Izračunano: C 67,62; H 9,88; Br 16,66; N 5,84; Dobiveno: C 67,79; H 9,90; N 5,85.

3.5.11. Priprava 3-dodecilamino-1-(4-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, **26**

Reakcija spoja **16** (100 mg, 0,34mmol) i 4-metilbenzil-bromida (63 mg, 0,34 mmol) prema postupku opisanom u 3.5.3. dala je 106 mg (82%) spoja **26**, t.t. 126,3-129,8°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}:3234; 2922; 2853; 2809; 1515; 1470; 1389; 1311; 1208; 1137; 1051; 986; 909; 812; 760; 721; 607; 486.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 0,86 (t, J=6,7 Hz, CH3); 1,00-1,36 (m, CH2, H8); 1,75 (m, H8); 1,9-2,05 (m, H5); 2,12-2,19 (m, H7); 2,33 (s, CH3Bnz); 2,4-2,6 (m, CH2N); 3,0-3,16 (m, H6); 3,4-3,6 (m, H4); 3,6-3,75 (m, H2); 3,95 (m, NH); 4,18 (m, H3); 4,9 (m, CH2Bnz); 7,16 (d, CHBnz); 7,48 (d, CH Bnz).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ/ppm: 14,11 (CH3); 18,44 (C5); 21,30 (CH3Bnz); 22,67 (C7); 22,93 (CH2CH3); 24,63 (C4); 27,29 -47,42 (CH2); 52,93 (C3); 53,87 (CH2Bnz); 54,15 (C8); 61,37 (C6); 67,20 (C2); 123,8 (C Bnz); 129,01-133,72 (CH Bnz); 140,68 (CCH3Bnz).

CHN analiza ($C_{27}H_{47}BrN_2$) / %: Izračunano: C 67,62; H 9,88; Br 16,66; N 5,84; Dobiveno: C 67,56; H 9,87; N 5,86.

3.6. Sinteza karbamata kinuklidin-3-ola

*3.6.1. Priprava 3-(*N,N-*dimetilkarbamoiloksi)kinuklidina,* **27**

Reakcijska smjesa kinuklidin-3-ola (1 g, 7,86 mmol) u 25 mL suhog tetrahidrofurana ohlađena je u atmosferi dušika na 0°C. U ohlađenu reakcijsku smjesu je dokapano (3,93 mL, 7,86 mmol) 2 mol dm^{-3} otopine *n*-butillitija u hexanu. Nastala reakcijska smjesa miješana je 1 sat pri 0°C, a potom je u nju dokapano (724 µL, 7,86 mmol) *N*,*N*-dimetilkarbamoil-klorida. Nakon dodatka cijele količine, reakcijska smjesa je zagrijana na sobnu temperaturu i miješana na toj temperaturi 3 sata. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom na pločici silikagela. Reakcijska smjesa je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Destilacijskom ostatku je dodano 5 mL destilirane vode i 10 mL kloroforma. Nakon ekstrakcije, organski sloj je sušen dodatkom natrijevog sulfata koji je uklonjen filtracijom. Organska faza je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču, dobiveno ulje je

pročišćeno kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela u sustavu otapala MeOH:$CHCl_3$:NH_3=85:14:1. Dobiveno je 984 mg (63%) spoja **27** u obliku ulja.

IR (NaCl) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}:2939; 2871; 1693; 1491; 1454; 1397; 1369; 1272; 1191; 1049; 1008; 932; 770.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ/ppm:1,28-1,76 (m, H5, H7); 1,87-1,89 (m, H4); 2,47(t, H2, *J*=2,48 Hz); 2,56-2,74 (m, H6, H8); 2,81 (s, CH3); 2,87 (s, CH3); 3,01-3,11 (m, H2); 4,51-4,59 (m, H3).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 19,86 (C8); 24,62 (C5); 25,74 (C4); 35,88 (CH3); 36,29 (CH3); 46,36 (C7); 47,37 (C6);55,97 (C2); 71,67 (C3); 155,31 (-C=O).

3.6.2. Priprava 3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijevog jodida, **28**

Reakcijskoj smjesi spoja **27** (130 mg, 0,65 mmol) u 10 mL suhog teterahidrofurana dokapan je metil-jodid (41 µL, 0,65 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 3 sata pri sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Suspenzija je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Ostatku je dodano 10 mL suhog dietil-etera. Talog je profiltriran te je višekratno ispran i digeriran dietil-eterom. Dobiveno je 183 mg (82%) spoja **28**, t.t. 174,6-175,9°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}:: 2949; 2882; 1698; 1474; 1397; 1182; 1121; 1084; 1044; 995; 952; 862; 831; 762.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ/ppm: 1,76-2,12 (m, H5, H7); 2,25-2,31 (m, H4); 2,83 (s, CH3); 2,89 (s, CH3); 2,96 (s, NCH3); 3,25-3,33 (m, H2); 3,46-3,50 (m, H6, H8); 3,76-3,85 (m, H2); 4,82-4,92 (m, H3).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 18,54 (C8); 21,21 (C5); 23,99 (C4) ; 36,07 (CH3); 36,48 (CH3); 51,23 (NCH3); 55,43 (C7); 56,08 (C6); 62,68 (C2); 68,19 (C3); 155,19 (C=O).

CHN analiza ($C_{11}H_{21}IN_2O_2$) / %: Izračunano: C 38,84; H 6,22; I 37,30; N 8,23; O 9,41;
Dobiveno: C 38,80; H 6,22; N 8,24.

3.6.3. Priprava 1-benzil-3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **29**

Reakcijskoj smjesi spoja **27** (130 mg, 0,65 mmol) u 10 mL suhog tetrahidrofurana dokapan je benzil-bromid (77 µL, 0,65mmol). Reakcijska smjesa miješana je 3 sata pri sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Suspenzija je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom

uparivaču do suhoga. Ostatku je dodano 10 mL suhog dietil-etera. Talog je profiltriran te je višekratno ispran i digeriran dietil-eterom. Dobiveno je 187 mg (78%) spoja **29**, t.t. 111,5-115,1°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3439; 3357; 3222; 2991; 2960; 2886; 1706; 1616; 1499; 1464; 1388; 1265; 1185; 1068; 984; 892; 770; 711; 711.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ*/ppm: 1,79-2,13 (m, H5, H7); 2,23-2,29 (m, H4); 2,84 (s, CH3); 2,89 (s, CH3); 3,31-3,35 (m, H2; H6); 3,46-3,50 (m, H6, H8); 3,71-3,79 (m, H2); 4,53 (m, CH2 bnz); 4,85-4,92 (m, H3); 7,49-7-56 (m, H bnz).

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm:18,55 (C8); 20,89 (C5); 24,30 (C4); 36,06 (CH3); 36,48 (CH3); 52,51(C7); 54,29 (C6); 60,85(C2); 66,30 (C11); 68,08 (C3); 127,91 (C12); 129,48 (C15); 130,69 (C14, C16); 133,52 (C13, C17); 155,16 (C=O).

CHN analiza ($C_{17}H_{25}BrN_2O_2$) / %: Izračunano: C 55,29; H 6,82; Br 21,64; N 7,59; O 8,66; Dobiveno: C 55,32; H 6,81; N 7,57.

3.6.4. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **30**

Reakcija spoja **27** (130 mg, 0,65 mmol) i 3-brombenzil-bromida (162 mg, 0,65mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 199 mg (68 %) spoja **30,** t.t. 144,3-147,5°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3387; 3020; 2962; 2879; 2796; 1699; 1571; 1500; 1391; 1337; 1279; 1193; 1142; 1096; 1071; 1049; 1002; 904; 851; 767.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ*/ppm: 1,76-2,14 (m, H5, H7); 2,23-2,30 (m, H4); 2, 84(s, CH3); 2,90 (s, CH3); 3,30-3,37 (m, H2); 3,41-3,61 (m,H6, H8); 3,71-3,80 (m, H2); 4,53 (q, ch2bnz); 4,87-4,89 (m, H3); 7,47-7,55 (m, H17, H16); 7,72-7,79 (m, H13, H15).

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm:18,49 (C8); 20,91(C5); 24,74 (C4); 36,07 (CH3); 36,49 (CH3); 52,55 (C7); 54,54 (C6); 60,95 (C2); 65,27 (C11); 68,05 (C3); 122,52 (C14); 130,48 (C13); 131,57; 132,66; 133,59; 135,95 (C13, C15, C17, C16); 155,15 (C=O).

CHN analiza ($C_{17}H_{24}Br_2N_2O_2$) / %: Izračunano: C 45,56; H 5,40; Br 35,66; N 6,25; O 7,14; Dobiveno: C 45,57; H 5,41; N 6,24.

3.6.5. Priprava 1-(4-klorbenzil)-3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **31**

Reakcija spoja **27** (130 mg, 0,65 mmol) i 4-klorbenzil-bromida (133,5 mg, 0,65mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 220 mg (75 %) spoja **31**.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3085; 2966; 2884; 1705; 1598; 1494; 1391; 1340; 1272; 1190; 1095; 1067; 999; 927; 898; 861; 766.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,75-2,14 (m, H5, H7); 2,21-2,32 (m, H4); 2,84 (s, CH3); 2,90 (s, CH3); 3,27-3,43 (m, H6, H2); 3,40-3,58 (m, H6, H8); 3,69-3,79 (m, H2); 4,53 (q, CH2 bnz); 4,84-4,90 (m, H3); 7,49-7,66 (m, H13, H14, H16, H17).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 18,48 (C8); 20,9 (C5); 24,78 (C4); 36,06 (CH3); 36,48 (CH3); 52,43 (C7); 54,33 (C6); 60,82 (C2); 65,30 (C11); 68,07 (C3); 126,89;129,53; 135,34; 135,71 (c13,c14,c17,c16); 155,144 (C=O).

CHN analiza ($C_{17}H_{24}BrClN_2O_2$) / %: Izračunano: C 50,57; H 5,99; Br 19,79; Cl 8,78; N 6,94; O 7,93; Dobiveno: C 50,48; H 6,01; N 6,94.

3.6.6. Priprava 3-(N,N-dimetilkarbamoiloksi)-1-(4-nitrobenzil)kinuklidinijevog bromida, **32**

Reakcija spoja **27** (130 mg, 0,65 mmol) i 4-nitrobenzil-bromida (140 mg, 0,65mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 110 mg (95 %) spoja **32**, t.t. 200,5-204,7°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3107; 2962; 2886; 1706; 1607; 1524; 1491; 1392; 1349; 1272; 1188; 1096; 1048; 999; 940; 857; 767.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,82-2,09 (m, H5, H7); 2,24-2,30 (m, H4); 2,84 (s, CH3); 2,90 (s, CH3); 3,34-3,43 (m, H2); 3,45-3,62 (m, H6, H8); 3,75-3,82 (m, H2); 4,71 (q, CH2Bnz); 4,84-4,90 (m, H3); 7,81-7,84 (m, H13, H17); 8,35-8,39 (m, H14, H16).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 18,51 (C8); 20,93 (C5); 24,68 (C4); 36,08 (CH3); 36,49 (CH3); 52,7 (C7); 54,6 (C6); 61,01 (C2); 68,02 (C11); 68,62 (C3); 124,33; 135,04;135,11; 149,04 (C12, C13,C14,C15,C16,C17); 155,14 (C=O).

CHN analiza ($C_{17}H_{24}BrN_3O_4$) / %: Izračunano: C 49,28; H 5,84; Br 19,29; N 10,14; O 15,45; Dobiveno: C 49,20; H 5,86; N 10,15.

3.6.7. Priprava 3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)kinuklidina, **33**

Reakcijska smjesa kinuklidin-3-ola (1 g, 7,86 mmol) u 25 mL suhog tetrahidrofurana ohlađena je u atmosferi dušika na 0°C. U ohlađenu reakcijsku smjesu je dokapano (3,93 mL, 7,86 mmol) 2 mol dm^{-3} otopine *n*-butillitija u heksanu. Nastala reakcijska smjesa miješana je 1 sat pri 0°C, a potom je u nju dokapan (996 µL, 7,86 mmol) *N,N*-dietilkarbamoil-klorida. Nakon dodatka cijele količine, reakcijska smjesa je zagrijana na sobnu temperaturu i miješana na toj temperaturi 3 sata. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom na pločici silikagela. Reakcijska smjesa je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Destilacijskom ostatku je dodano 5 mL destilirane vode i 10 mL kloroforma. Nakon ekstrakcije, organski sloj je sušen dodatkom natrijevog sulfata koji je uklonjen filtracijom. Organska faza je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču, dobiveno ulje je pročišćeno kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela u sustavu otapala MeOH:$CHCl_3$:NH_3=85:14:1. Dobiveno je 1 g (65 %) spoja **33** u obliku ulja.

IR (NaCl) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3676-3120; 2938; 2870; 1696; 1473; 1426; 1274; 1173; 1018; 979; 770.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,06 (s, CH3); 1,32-1,79 (m, H5, H7); 1,90-1,98 (m, H4); 2,55-2,82 (m, H6, H8;H2); 3,09-3,25 (m, CH2); 4,56-4,63 (m, H3).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 14,58; 13,93 (CH3); 19,72;24,17 (C5, C8); 25,56 (C4); 47,26 (C6, C7); 46,23 (CH2N); 55,76 (C2); 70,98 (C3); 155,144 (C=O).

3.6.8. Priprava 3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijevog jodida, **34**

Reakcijskoj smjesi spoja **33** (150 mg, 0,66 mmol) u 10 mL suhog teterahidrofurana dokapan je metil-jodid (41 µL, 0,66 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 3 sata pri sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Suspenzija je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču do suhoga. Ostatku je dodano 10 mL suhog dietil-etera. Talog je profiltriran te je višekratno ispran i digeriran dietil-eterom. Dobiveno je 194 mg (80%) spoja **34**, t.t. 142,1-144,7°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 2966; 2881; 1698; 1531; 1476; 1428; 1379; 1275; 1170; 1105; 1081; 1008; 961; 766.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 0,97-1,18 (m, CH3); 1,78-2,08 (m, H5, H8); 2,25-2,35(m, H4); 2,87-3,05(m, NCH3); 3,15-3,31 (m, CH2, H7, H6); 3,44-3,5 (m, H2, H6); 3,78-3,86 (m, H2); 4,86-4,92 (m, H3).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 13,84 (CH3); 14,61 (CH3);18,65 (C8); 21,21 (C5); 24,07(C4); 41,47; 41,82 (CH2N); 51,21 (NCH3); 55,46; 56,09 (C7, 6); 62,76 (C2); 68,01(C3); 154,49 (C=O).

CHN analiza ($C_{13}H_{25}IN_2O_2$) / %: Izračunano: C 42,40; H 6,84; I 34,46; N 7,61; O 8,69;
Dobiveno: C 42,47; H 6,85; N 7,59.

3.6.9. Priprava 1-benzil-3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **35**

Reakcija spoja **33** (150 mg, 0,66 mmol) i benzil-bromida (79 µL, 0,66mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 210 mg (86%) spoja **35**, t.t. 106,7-107,1°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3483; 3237; 2967; 2890; 1695; 1478; 1430; 1395; 1274; 1221; 1171; 1084; 1000; 940; 891; 767; 709.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm:0,97-1,73 (m, Me); 1,76-2,14 (m, H5,H8); 2,22-2,36 (m, H4); 3,12-3,31 (m, H6, H7); 3,3-3,39 (m, CH2); 3,40-3,54 (m, CH2, H2); 3,73-3,82 (m, H2); 4,48-4,62 (m, CH2 Bnz); 4,87-4,96 (m, H3); 7,52 (s, CH Bnz).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 14,59; 13,83 (CH3 Et); 20,91; 18,56 (C5, C8); 24,85 (C4); 41,45; 41,83 (CH2 Et); 54,27; 52,52 (C6, C7) ; 60,97 (C2); 66,28 (CH2 Bnz); 67,87 (C3); 127,93 (C1 Bnz);129,66; 130,68; 133,62 (CHBnz); 154,40 (C=O).

CHN analiza ($C_{19}H_{29}BrN_2O_2$) / %: Izračunano: C 57,43; H 7,36; Br 20,11; N 7,05; O 8,05;
Dobiveno: C 57,47; H 7,38; N 7,05.

3.6.10. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **36**

Reakcija spoja **33** (150 mg, 0,66 mmol) i 3-brombenzil-bromida (162 mg, 0,66mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 203 mg (83%) spoja **36**, t.t. 144,3-147,5°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3429; 3370; 3243; 2974; 2882; 1684; 1631; 1569; 1438; 1393; 1277; 1216; 1168; 1076; 1002; 942; 891; 829; 797; 768; 717; 669; 617; 567; 447.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 0,96-1,17 (m, Me); 1,72-2,13 (m, H5,H7); 2,21-2,36 (m, H4); 3,14-3,4 (m, H6, H8); 3,3-3,39 (m, CH2); 3,40-3,58 (m, CH2, H2); 3,74-3,85 (m, H2); 4,46-4,62 (m, CH2 Bnz); 4,87-4,96 (m, H3); 7,45-7,79 (m, CH Bnz).
^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 13,83; 14,61 (CH3 Et); 18,60; 20,91 (C5, C7); 24,85 (C4); 41,46; 41,84 (CH2 Et); 52,55; 54,51(C6, C8) ; 61,11 (C2); 65,26 (CH2 Bnz); 67,83 (C3); 122,53 (C14);130,51; 131,56; 132,68; 133,59; 135,94 (C15,16,17,18,19); 154,44 (C=O).
CHN analiza ($C_{19}H_{28}Br_2N_2O_2$) / %: Izračunano: C 47,92; H 5,93; Br 33,56; N 5,88; O 6,72; Dobiveno: C 47,96; H 5,93; N 5,89.

3.6.11. Priprava 3-(N,N-dietilkarbamoiloksi)-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **37**

Reakcija spoja **33** (150 mg, 0,66 mmol) i 4-klorbenzil-bromida (135,5 mg, 0,66 mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 188 mg (77%) spoja **37**, t.t. 92,6-94,1°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3421; 3368; 2970; 2932; 1698; 1475; 1430; 1393; 1317; 1277; 1225; 1171; 1091; 1020; 942; 890; 829; 767; 734; 590; 529; 487; 443.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 0,91-1,25 (m, Me); 1,69-2,13 (m, H5,H7); 2,19-2,39 (m, H4); 3,16-3,42 (m, H6, H8); 3,3-3,39 (m, CH2); 3,43-3,53 (m, CH2, H2); 3,72-3,85 (m, H2); 4,49-4,62 (m, CH2 Bnz); 4,87-4,94 (m, H3); 7,52-7,64 (m, CH Bnz).
^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 13,83; 14,60 (CH3 Et); 18,59; 20,90 (C5, C7); 24,85 (C4); 41,46; 41,83 (CH2 Et); 52,38; 54,31(C6, C8) ; 60,95 (C2); 65,25 (CH2 Bnz); 67,84 (C3); 126,91 (C14);129,50; 135,36; 135,70 (C bnz); 154,44 (C=O).
CHN analiza ($C_{19}H_{28}BrClN_2O_2$) / %: Izračunano: C 52,85; H 6,54; Br 18,51; Cl 8,21; N 6,49; O 7,41; Dobiveno: C 52,84; H 6,53; N 6,48.

3.6.12. Priprava 3-(N-fenilkarbamoiloksi)kinuklidina, **38**

Reakcijskoj smjesi kinuklidin-3-ola (750 mg, 5,89 mmol) u 15 mL toluena, dodano je (753 μL, 5,89 mmol) fenil-izocijanata. Reakcijska smjesa je zagrijana na 100°C i miješana kroz noć. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom na pločici aluminijevog oksida. Otapalo je upareno na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom. Ostatku je dodano 3 mL dietil-etera te je istaložen produkt je izoliran. Dobiveno je 430 mg (30 %) spoja **38**, t.t. 183,4-187,8°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2775-3230; 1723; 1600; 1556; 1494; 1445; 1312; 1228; 1083; 1048; 995; 932; 898; 819; 745; 692; 621; 582; 510.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) *δ*/ppm:1,42-1,94 (m, H5, H8); 2,08-2,14 (m, H4); 2,71-3,01 (m, H6, H7;H2);3,25-3,35 (m, H2); 4,81-4,88 (m, H3); 6,81 (s, NH); 7,08-7,44 (m, Bnz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ/ppm: 19,56;24,63 (C5, C7); 25,45 (C4); 46,54; 47,44 (C6, C8); 55,55 (C2); 72,18 (C3); 118,68; 123,44; 129,07; 137,92 (C Bnz); 153,18 (C=O).

CHN analiza ($C_{14}H_{18}N_2O_2$) / %: Izračunano: C 68,27; H 7,37; N 11,37; O 12,99; Dobiveno: C 68,15; H 7,38; N 11,39.

3.6.13. Priprava N-benzil-3-(N-fenilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **39**

Reakcija spoja **38** (200 mg, 81 mmol) i benzil-bromida (140 mg, 81 mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 160 mg (54%) spoja **39**, t.t. 65,3-67,9°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 2887-3752; 1726; 1600; 1544; 1498; 1445; 1317; 1225; 1093; 1064; 895; 764; 706; 619; 509.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) *δ*/ppm: 1,4-1,7 (m, H8); 1,85-1,87(m, H5); 1,9-2,1 (m, H4); 2,7-3,2 (m, H2, H7, H6); 3,2-3,4 (m, H2); 4,7-4,9 (m, H3); 7,0-7,1 (m, CH Bnz); 7,2-7,5 (m, CH Bnz).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ/ppm:19,56 (C5); 24,63 (C8); 25,43 (C4); 47,44; 45,54 (C7, C6); 55,54 (C2); 72,18 (C3); 118,68; 123,45; 129,08; (CH Bnz); 138,02 (C Bnz); 152,66 (C=O).

CHN analiza ($C_{21}H_{25}BrN_2O_2$) / %: Izračunano: C 60,44; H 6,04; Br 19,15; N 6,71; O 7,67; Dobiveno: C 60,46; H 6,04; N 6,73.

3.6.14. Priprava 1-(4-brombenzil)-3-(N-fenilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **40**

Reakcija spoja **38** (200 mg, 81 mmol) i 4-brombenzil-bromida (205 mg, 81 mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 301 mg (78%) spoja **40**, t.t. 103,2-105,8°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3535-3261; 3220; 3047; 2969; 1724; 1599; 1544; 1490; 1445; 1384; 1316; 1225; 1093; 1065; 1013; 897; 829; 758; 695; 645; 581; 509; 481.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 1,8-2,0 (m, H8, H5); 2,1-2,2 (m, H5); 2,2-2,3 (m, H4); 3,2-3,6 (m, H2, H7, H6); 3,8-3,9 (m, H2); 4,4-4,6 (m, CH2Bnz); 5,0-5,1 (m, H3); 7,0-7,8 (m, CH Bnz); 9,8 (s, NH).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ/ppm:18,41 (C5); 20,95 (C8); 24,74 (C4); 52,76; 54,26 (C7, C6); 60,67 (C2); 65,38 (CH2Bnz); 67,79 (C3); 118,75; 123,25; 129,5; 135,38 (CH Bnz); 139,15; 135,74; 123,25 (C Bnz); 153,1 (C=O).
CHN analiza ($C_{21}H_{24}Br_2N_2O_2$) / %: Izračunano: C 50,83; H 4,87; Br 32,20; N 5,65; O 6,45; Dobiveno: C 50,85; H 4,87; N 5,64.

3.6.15. Priprava 3-(N-fenilkarbamoiloksi)-1-(3-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **41**

Reakcija spoja **38** (200 mg, 81 mmol) i 3-klorbenzil-bromida (16,6 mg, 81 mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 227 mg (76%) spoja **41**, t.t. 85,8-89,3°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3535-3261; 3183; 3049; 2966; 1727; 1600; 1544; 1491; 1445; 1317; 1225; 1092; 1064; 880; 832; 798; 748; 694; 567; 509; 436.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 1,8-2,0 (m, H8, H5); 2,1-2,2 (m, H5); 2,2-2,3 (m, H4); 3,2-3,6 (m, H2, H7, H6); 3,8-3,9 (m, H2); 4,4-4,6 (m, CH2Bnz); 5,0-5,1 (m, H3); 7,0-7,8 (m, CH Bnz); 9,9 (s, NH).
^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ/ppm:18,42 (C5); 20,95 (C8); 24,71 (C4); 52,91; 54,46 (C7, C6); 60,79 (C2); 65,38 (CH2Bnz); 67,76 (C3); 118,77; 123,25; 129,30; 130,75; 131,35; 132,36; 133,15 (CH Bnz); 130,22; 133,98; (C Bnz); 153,1 (C=O).
CHN analiza ($C_{22}H_{27}BrN_2O_2$) / %: Izračunano: C 61,26; H 6,31; Br 18,52; N 6,49; O 7,42; Dobiveno: C 61,39; H 6,32; N 6,48.

3.6.16. Priprava 3-(N-fenilkarbamoiloksi)-1-(3-metilbenzil)kinuklidinijevog bromida, **42**

Reakcija spoja **38** (200 mg, 81 mmol) i 3-metilbenzil-bromida (150 mg, 81 mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 301 mg (92 %) spoja **42**, t.t. 112,4-115,3°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3524-3302; 3221; 318; 3050; 2966; 1726; 1600; 1543; 1445; 1316; 1224; 1092; 1067; 1050; 902; 863; 796; 760; 695; 562; 508; 438.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 1,8-2,0 (m, H8, H5); 2,1-2,2 (m, H5); 2,2-2,3 (m, H4); 2,4 (s,CH3); 3,2-3,6 (m, H2, H7, H6); 3,8-3,9 (m, H2); 4,4-4,6 (m, CH2Bnz); 5,0-5,1 (m, H3); 7,0-7,6 (m, CH Bnz); 9,8(s, NH).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ/ppm:18,40 (C5); 20,95 (C8); 21,39 (CH3); 24,77 (C4); 52,93; 54,20 (C7, C6); 60,69 (C2); 66,46 (CH2Bnz); 67,81 (C3); 118,77; 123,25; 129,30;129,37 130,75; 131,35; 134,00; (CH Bnz); 127,77; 138,8; (C Bnz); 153,1 (C=O).
CHN analiza ($C_{21}H_{24}BrClN_2O_2$) / %: Izračunano: C 55,83; H 5,35; Br 17,69; Cl 7,85; N 6,20; O 7,08; Dobiveno: C 55,73; H 5,35; N 6,18.

3.6.17. Priprava 3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)kinuklidina, **43**

Reakcijska smjesa kinuklidin-3-ola (1 g, 7,86 mmol) u 25 mL suhog tetrahidrofurana ohlađena je u atmosferi dušika na 0°C. U ohlađenu reakcijsku smjesu je dokapano (3,93 mL, 7,86 mmol) 2 mol dm^{-3} otopine *n*-butillitija u heksanu. Nastala reakcijska smjesa miješana je 1 sat pri 0°C, a potom je u nju dodan (1,64 g, 7,86 mmol) *N*,*N*-difenilkarbamoil-klorid u 3 mL THF-a. Nakon dodatka cijele količine, reakcijska smjesa je zagrijana na sobnu temperaturu i miješana na toj temperaturi 3 sata. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom na pločici silikagela. Reakcijska smjesa je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Destilacijskom ostatku je dodano 5 mL destilirane vode i 10 mL kloroforma. Nakon ekstrakcije, organski sloj je sušen dodatkom natrijevog sulfata koji je uklonjen filtracijom. Organska faza je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču, dobiveno ulje je pročišćeno kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela u sustavu otapala MeOH:$CHCl_3$:NH_3=85:14:1. Dobiveno je 1,16 g (45%) spoja **43**, t.t. 123,5-125,8°C.
IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3284; 2987; 2918; 2851; 2809; 1474; 1383; 1344; 1145; 1116; 954; 759; 729.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,07-1,62 (m, H5,H7); 1,77-1,86 (m, H4); 2,42-2,7 (m, H6, H8, H2); 2,99-3,12 (m, H2); 4,62-4,74 (m, H3); 7,19-7,45 (m, Ph).
^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm:19,65; 24,28 (C5, C7); 25,4 (C4); 46,2; 47,13 (C6, C8); 55,81 (C2); 72,80 (C3); 126,63; 127,75; 129,37 (CH Ph); 142,86 (C Ph); 154,03 (C=O).
CHN analiza ($C_{20}H_{22}N_2O_2$) / %: Izračunano: C 74,51; H 6,88; N 8,69; O 9,93; Dobiveno: C 74,58; H 6,87; N 8,68.

3.6.18. Priprava 3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)-1-metilkinuklidinijevog jodida, **44**

Reakcija spoja **43** (100 mg, 0,31 mmol) i metil-jodida (40 µL, 0,62 mmol) prema postupku opisanom u 3.6.2. dala je 134 mg (93%) spoja **44**, t.t. 276,5-278,9°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3509-3385; 2966; 1703; 1587; 1491; 1464; 1363; 1336; 1299; 1217; 1169; 1120; 1084; 1047; 960; 911; 856; 829; 801; 761; 708; 668; 598; 537; 506; 451.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,33-1,99 (m, H5,H7); 2,11-2,21 (m, H4); 2,87 (s, Me); 3,19-3,84 (m, H6, H8); 23,57-3,69(m, H2); 3,78-3,91 (m, H2); 4,95-5,04 (m, H3); 7,21-7,51 (m, Ph).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm:18,35; 20,94 (C5, C7); 23,69 (C4); 51,23 (Me); 55,38; 55,89 (C6, C8); 62,44 (C2); 69,07 (C3); 126,98; 129,51 (CH Ph); 142,51 (C Ph); 153,38 (C=O).

CHN analiza ($C_{21}H_{25}IN_2O_2$) / %: Izračunano: C 54,32; H 5,43; I 27,33; N 6,03; O 6,89; Dobiveno: C 54,20; H 5,41; N 6,05.

3.6.19. Priprava 1-(3-brombenzil)-3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)kinuklidinijevog bromida, **45**

Reakcija spoja **43** (120 mg, 0,37 mmol) i 3-brombenzil-bromida (93,02 mg, 0,37mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 167 mg (78%) spoja **45**, t.t. 131,6-133,5°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3679-3142; 2964; 1710; 1592; 1492; 1453; 1364-1276; 1212; 1047; 900; 848; 796; 762; 694; 562; 512; 432.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ*/ppm: 1,38-1,99 (m, H5,H7); 2,13-2,23 (m, H4); 3,11-3,51 (m, H6, H8); 3,55-3,85 (m, H2); 4,44-4,67 (m, CH2 Bnz); 4,93-5,04 (m, H3); 7,19-7,69 (m, Ph, Bnz).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm:18,33; 20,63 (C5, C7); 24,44 (C4); 52,44; 54,05 (C6, C8); 60,49 (C2); 65,18 (CH2 bnz); 68,85 (C3); 126,82; 126,97; 126,49; 135,33; 135,74; 142,47(Bnz, Ph) 153,28 (C=O).

CHN analiza ($C_{27}H_{28}Br_2N_2O_2$) / %: Izračunano: C 56,66; H 4,93; Br 27,92; N 4,89; O 5,59; Dobiveno: C 56,74; H 4,94; N 4,90.

3.6.20. Priprava 3-(N,N-difenilkarbamoiloksi)-1-(4-klorbenzil)kinuklidinijevog bromida, **46**

Reakcija spoja **43** (120 mg, 0,37 mmol) i 4-klorbenzil-bromida (76,5 mg, 0,37mmol) prema postupku opisanom u 3.6.3. dala je 176 mg (90%) spoja **46**, t.t. 261,2-264°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3607-3297; 2966; 1709; 1591; 1495; 1456; 1384; 1356; 1311; 1220; 1093; 1048; 1018; 958; 899; 853; 812; 767; 694; 649; 589; 527; 487.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,40-1,98 (m, H5,H7); 2,11 (s, H4); 3,10-3,48 (m, H6, H8); 3,55-3,83(m, H2); 4,45-4,64 (m, CH2 Bnz); 4,96-5,08 (m, H3); 7,19-7,84 (m, Ph, Bnz).

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm:18,35; 20,64 (C5, C7); 24,39 (C4); 52,59; 54,26 (C6, C8); 60,61 (C2); 65,21 (CH2 Bnz); 68,83 (C3); 122,54; 126,99; 129,5; 130,4; 131,57; 132,69; 133,63; 135,68; 142,46 (C Bnz, Ph); 153,27 (C=O).

CHN analiza ($C_{27}H_{28}BrClN_2O_2$) / %: Izračunano: C 61,43; H 5,35; Br 15,14; Cl 6,72; N 5,31; O 6,06; Dobiveno: C 61,54; H 5,34; N 5,30.

3.7. Priprava derivata 2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidin-3-ona

3.7.1. Priprava 2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidin-3-ona, **47**

Reakcijskoj smjesi kinuklidin-3-ona (3,9 g, 31,2 mmol) u 15,6 mL *n*-butanola, dodano je 1,79 g, 16,05 mmol kalijevog *tert*-butoksida. Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi u atmosferi dušika. Tijek reakcije je praćen tankoslojom kromatografijom. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je uparena pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Destilacijskom ostatku je dodano 5 mL vode, produkt je izoliran ekstrakcijom s 4 puta po 2 mL vrućega benzena. Organski slojevi sušeni su iznad magnezijevog sulfata, profiltrirani i upareni pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču. Produkt je prekristaliziran uz dodatak dietil-etera. Dobiveno je 1,36 g (75%) spoja **47**, t.t. 157,4-157,1°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3803-3013; 2945; 2847; 1688; 1623; 1457; 1403; 1337; 1299; 1268; 1228; 1177; 1125; 1087; 1042; 986; 902; 804; 666; 591.

3.7.2. Priprava N-metil-3-(kinuklidin-3-on-2-iliden)kinuklidinijevog jodida, ***48***

Otopini spoja **47** (100 mg, 430,4 μmol) u 10 mL suhog dietil-etera dodano je 60,3 μL metil-jodida. Reakcijska smjesa miješana je u atmosferi dušika. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa je uparena, a produkt višekratno ispran s 1 mL suhog dietil-etera te digeriran. Dobiveno je 199 mg (82%) spoja **48**, t.t. 221,9-225,6°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3471; 3409; 2952; 2911; 2873; 1699; 1635; 1456; 1340; 1227; 1177; 1120; 1066; 1037; 999; 938; 898; 854; 807; 724; 639; 593; 507; 459; 471.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,76-2,12 (m, H5, H5B, H7, H7B); 2,46-2,48 (m, Me); 2,71-2,78 (m, H4); 3,0-3,1 (m, H6B, H8B); 3,4-3,6 (m, H6, H8); 4,5 (s, H2).

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 205,3 (C=O); 139,25 (C3); 137,5 (C3b); 62,77 (C2); 56,22 (C6, C8); 51,42 (C4); 48,32 (C6b, C8b); 41,16 (Me); 25,13 (C5, C7); 23,45 (C4b); 23,41 (C5b, C7b).

CHN analiza ($C_{15}H_{23}IN_2O$) / %: Izračunano: C 48,14; H 6,19; I 33,91; N 7,49; O 4,27; Dobiveno: C 48,25; H 6,21; N 7,49.

3.7.3. Priprava N-benzil-3-(kinuklidin-3-on-2-iliden)kinuklidinijevog bromida, **49**

Otopini spoja **47** (110 mg, 473,4 μmol) u 10 mL suhog dietil-etera dodano je 56,2 μL benzil-bromida. Reakcijska smjesa miješana je u atmosferi dušika. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom. Reakcijska smjesa je uparena, a produkt višekratno ispran s 1 mL suhog dietil-etera te digeriran. Dobiveno je 165 mg (86%) spoja **49**, t.t. 257,9-258,6°C.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$/cm^{-1}: 3633-3287; 2942; 2870; 1694; 1629; 1500; 1459; 1424; 1333; 1266; 1226; 1175; 1120; 1072; 1039; 996; 911; 853; 816; 767; 705; 646; 592; 561; 509; 458; 412.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) δ/ppm: 1,77-2,09 (m, H5, H5B, H7, H7B); 2,45-2,46 (m, H4b); 2,71-2,78 (m, H4); 3,0-3,1; 3,0-3,1 (m, H6B, H8B); 3,3-3,7 (m, H6, H8, H4b); 4,5 (s, H2); 4,7 (s, CH2); 7,5 (s, Bnz).

^{13}C NMR (DMSO-d$_6$) δ/ppm: 205,7 (C=O); 139,15 (C3); 137,5 (C3b); 133,5; 130,74; 129,51 (Bnz); 128,0 (Bnz); 66,44 (CH2); 60,6 (C2); 54,1 (C6, C8); 48,32 (C6b, C8b); 41,19 (C4); 25,13 (C5, C7); 24,27 (C4b); 23,25 (C5b, C7b).

CHN analiza ($C_{21}H_{27}BrN_2O$) / %: Izračunano: C 62,53; H 6,75; Br 19,81; N 6,95; O 3,97; Dobiveno: C 62,38; H 6,75; N 6,93.

3.7.4. Priprava 3-hidroksiimino-2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidina, **50**

Bistroj otopini spoja **47** (666 mg, 2,86 mmol) u 5 mL etanola dodan je hidroksilamin hidroklorid (200 mg, 1,86 mmol) te natrijev acetat (235 mg, 2,86 mmol). Reakcijska smjesa je zagrijavana pri temperaturi refluksa otapala. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Po završetku reakcije, otapalo je uklonjeno pod sniženim tlakom na roatcijskom uparivaču. Ostatku je dodana zasićena otopina natrijevog hidrogenkarbonata (5 mL) i 10 mL kloroforma. Organska faza je nakon sušenja uparena pod sniženim tlakom na roatcijskom uparivaču. Dobiveno je 460 mg (65%) spoja **50**.

IR (KBr) $\tilde{\nu}/cm^{-1}$: 3741-3085; 2943; 2865; 1638; 1510; 1456; 1406; 1316; 1192; 1119; 1096; 1059; 962; 852; 802; 750; 659; 628; 535.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ/ppm: 1,52-1,67 (m, H4b,H5, $H5_B$, H7, $H7_B$); 1,88 (s, NOH); 2,5-2,85 (m, H4, H8, H6); 3,35-3,62 (m, C2, C6b, C8b).

^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ/ppm: 160 (C3b); 133,2 (C2b); 56,5 (C2); 53,9 (C6, C8); 48,6 (C6b, C8b); 25,13 (C5, C7); 24,2 (C4b); 23,25 (C5b, C7b).

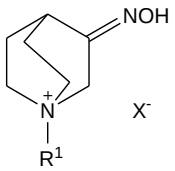
CHN analiza ($C_{14}H_{21}N_3O$) / %: Izračunano: C 67,98; H 8,56; N 16,99; O 6,47; Dobiveno: C 68,09; H 8,54 N; 17,03.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

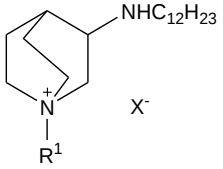
4.1. Uvod

U više sintetskih stupnjeva pripravljeni su različiti derivati 3-supstituiranih kinuklidina – tablice 7 do 10, da bi se ispitala njihova bioaktivnost. Trideset pet spojeva do sada nisu opisani u literaturi. Strukturna svojstva pripravljenih međuprodukata i spojeva studirana su FTIR, NMR, MS i UV spektroskopskim metodama. Istražene su i mogućnosti priprave spojeva mehanokemijskom sintezom.

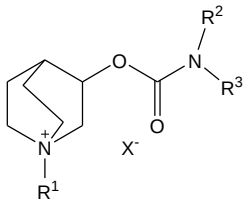
Tablica 7. Pripravljeni oksimi kinuklidin-3-ona

Opća formula	Spoj	R^1	X
	**1**	–	–
	2	CH_2=$CHCH_2CH_2$	Br^-
	3	C_6H_5 CH_2	Br^-
	4	*p*–$NO_2C_6H_4CH_2$	Br^-
	5	*m*–$NO_2C_6H_4CH_2$	Br^-
	6	*p*–$ClC_6H_4CH_2$	Br^-
	7	*m*–$ClC_6H_4CH_2$	Br^-
	8	*p*–$CH_3C_6H_4CH_2$	Br^-
	9	*m*–$CH_3C_6H_4CH_2$	Br^-
	10	*p*–$BrC_6H_4CH_2$	Br^-
	11	*m*–$BrC_6H_4CH_2$	Br^-

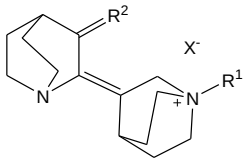
Tablica 8. Pripravljeni dodecilamini kinuklidina

Opća formula	Spoj	R^1	X
	**16**	–	–
	17	CH_3	I^-
	18	$CH_2C_6H_5$	Br^-
	19	*m*–$NO_2C_6H_4CH_2$	Br^-
	20	*p*–$NO_2C_6H_4CH_2$	Br^-
	21	*m*–$BrC_6H_4CH_2$	Br^-
	22	*p*–$BrC_6H_4CH_2$	Br^-
	23	*m*–$ClC_6H_4CH_2$	Br^-
	24	*p*–$ClC_6H_4CH_2$	Br^-
	25	*m*–$CH_3C_6H_4CH_2$	Br^-
	26	*p*–$CH_3C_6H_4CH_2$	Br^-

Tablica 9. Pripravljeni karbamati kinuklidin-3-ola

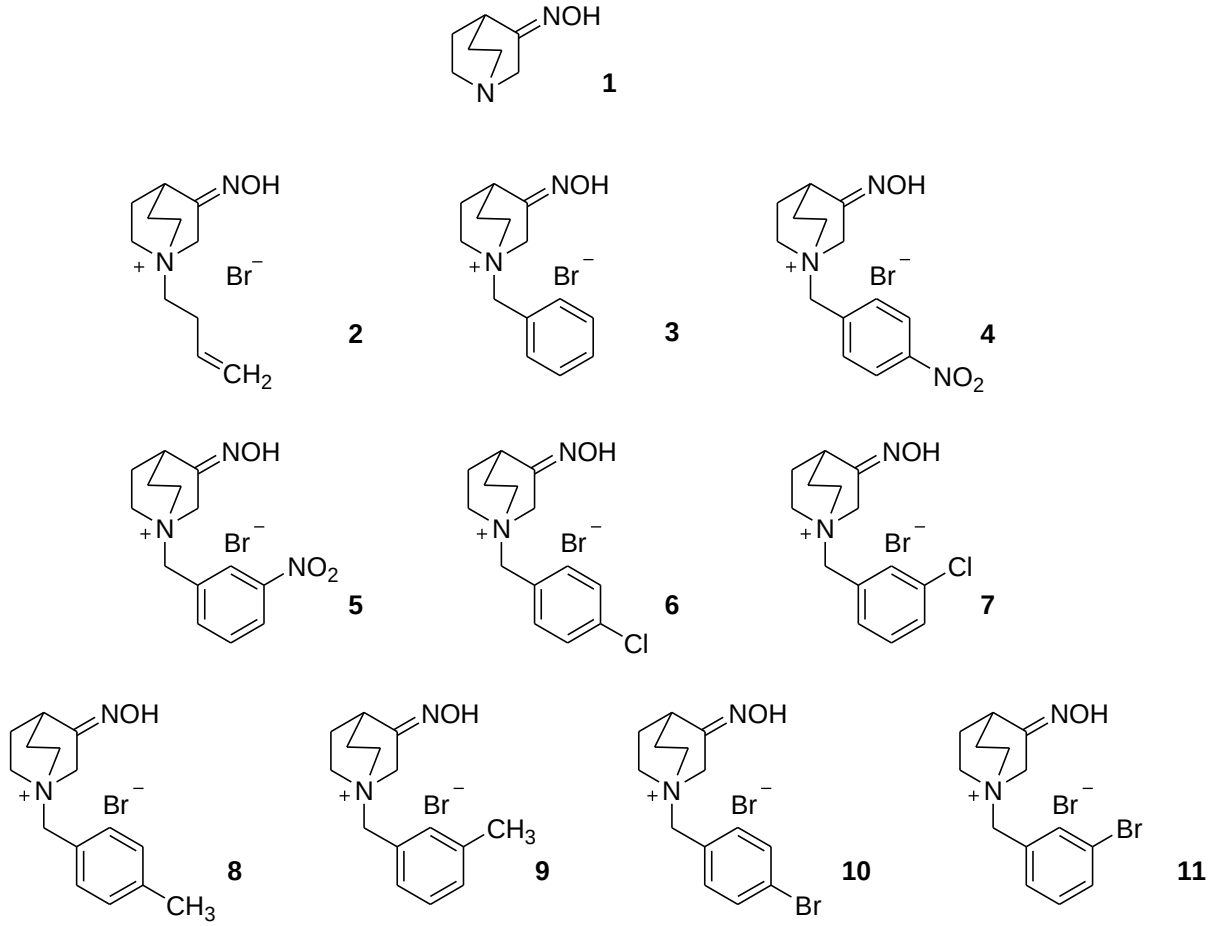
Opća formula	Spoj	R^1	R^2	R^3	X
	**27**	–	CH_3	CH_3	–
	28	CH_3	CH_3	CH_3	I^-
	29	$CH_2C_6H_5$	CH_3	CH_3	Br^-
	30	*m*–$BrC_6H_4CH_2$	CH_3	CH_3	Br^-
	31	*p*–$ClC_6H_4CH_2$	CH_3	CH_3	Br^-
	32	*p*–$NO_2C_6H_4CH_2$	CH_3	CH_3	Br^-
	33	-	CH_3CH_2	CH_3CH_2	–
	34	CH_3	CH_3CH_2	CH_3CH_2	I^-
	35	$CH_2C_6H_5$	CH_3CH_2	CH_3CH_2	Br^-
	36	*m*–$BrC_6H_4CH_2$	CH_3CH_2	CH_3CH_2	Br^-
	37	*p*–$ClC_6H_4CH_2$	CH_3CH_2	CH_3CH_2	Br^-
	38	–	C_6H_5	H	–
	39	$CH_2C_6H_5$	C_6H_5	H	Br^-
	40	*p*–$BrC_6H_4CH_2$	C_6H_5	H	Br^-
	41	*m*–$ClC_6H_4CH_2$	C_6H_5	H	Br^-
	42	*m*–$CH_3C_6H_4CH_2$	C_6H_5	H	Br-
	43	–	C_6H_5	C_6H_5	–
	44	CH_3	C_6H_5	C_6H_5	I-
	45	*m*–$BrC_6H_4CH_2$	C_6H_5	C_6H_5	Br-
	46	*p*–$ClC_6H_4CH_2$	C_6H_5	C_6H_5	Br^-

Tablica 10. Pripravljeni derivati autokondenzacije kinuklidin-3-ona

Opća formula	Spoj	R^1	R^2	X
	**47**	–	O	–
	48	CH_3	O	I^-
	49	$CH_2C_6H_5$	O	Br^-
	50	–	NOH	–

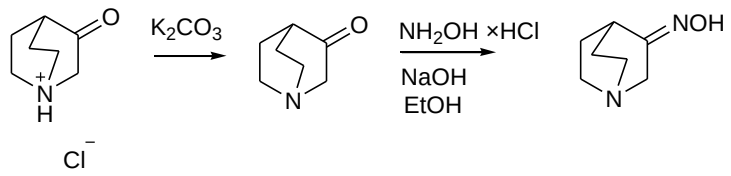
4.2. Priprava oksima

Pripravljen je 3-hidroksiiminokinuklidin te serija njegovih derivata, shema 29. Spojevi **2-11** do sada nisu opisani u literaturi.



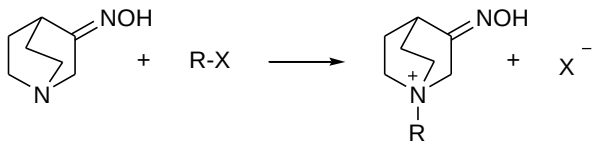
Shema 29. Strukture pripravljenih 3-hidroksiiminokinuklidina.

Spoj **1** pripremljen je reakcijama prema shemi 30. Kao polazni spoj korišten je komercijalno dostupan kinuklidin-3-on hidroklorid kojeg je bilo potrebno prevesti u neutralni oblik (iskorištenje reakcije 80%). Reakcija sinteze 3-hidroksiiminokinuklidina je izvedena u etanolu pri sobnoj temperaturi, uz 1,2 ekvivalenata natrijevog hidroksida i 1,2 ekvivalenata hidroksilamonijevog klorida. Prilikom reakcije dolazi do taloženja natrijevog klorida, koji je uklonjen tijekom izolacije. Produkt je izoliran uz iskorištenje od 78%.



Shema 30. Reakcijska shema sinteze 3-hidroksiiminokinuklidina.

Spoj **1** Menshutkinovom je reakcijom alkilacije tercijarnog dušika, shema 31, preveden u kvaterne derivate **2-11**. Reakcija je izvedena u suhom tetrahidrofuranu radi sprječavanja hidrolize korištenih alkil-halogenida. Iskorištenja reakcija (izolirani i pročišćeni produkti) bila su u rasponu od 50-80% te su najniža iskorištenja dobivena za *N*-butenilni spoj **2** i *N-meta*-nitrobenzilni derivat **5,** tablica 11.



Shema 31. Priprava spojeva 2-11: Menshutkinova reakcija *N*-alkilacije spoja **1**.

Tablica 11. Iskorištenja reakcija nakon izolacije i pročišćavanja produkata.

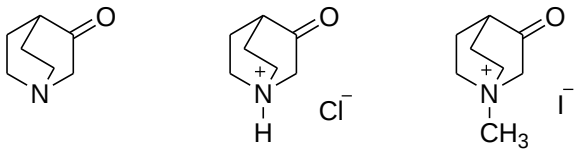
Spoj	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
ŋ/%	79	50	78	78	45	65	81	62	62	75	65

Kinuklidinskim oksimima struktura je potvrđena i 2D NMR spektrima. Na temelju kontakta u NOESY i HETCOR spektrima asignirani su svi protoni u ^{1}H i ugljikove jezgre u ^{13}C spektrima. Zbog sprege dugog dosega (*engl*. long range) kroz više od tri veze, nije bilo moguće odrediti konstante sprezanja vicinalnih protona te tako predvidjeti neke strukturne parametre prstena.

4.2.1. Mehanokemijska sinteza oksima

Uz klasičnu organsku sintezu oksima, korištena je i zelena metoda sinteze - mehanokemijska sinteza oksima. Mehanokemijska sinteza izvedena je u kugličnom mlinu, pri frekvenciji 25 Hz uz dodatak dviju čeličnih kuglica. Reakcije su izvedene bez i uz prisutnost baze, te bez i uz dodatak katalitičke količine otapala.

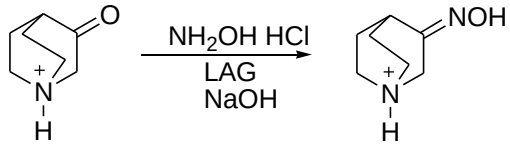
Prvo su istražene mogućnosti priprave 3-hidroksiiminokinuklidina iz kinuklidin-3-ona, komercijalno dostupnog 3-oksokinuklidinijevog klorida te pripravljenog, *N*-metilnog kvaternoga spoja **15**, shema 32.



QO **QO HCl** **15**

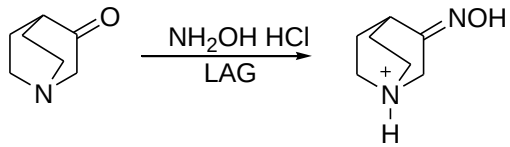
Shema 32. Ketoni kinuklidina za mehanokemijsku reakciju

Izvedena je reakcija uz dodatak natrijevog hidroksida kao baze u skladu s literaturnim navodima. Ova mehanokemijska sinteza provedena je u kugličnom mlinu pri sobnoj temperaturi, s 20 μL etanola, u stehiometrijskom omjeru reaktanata i baze, shema 33.



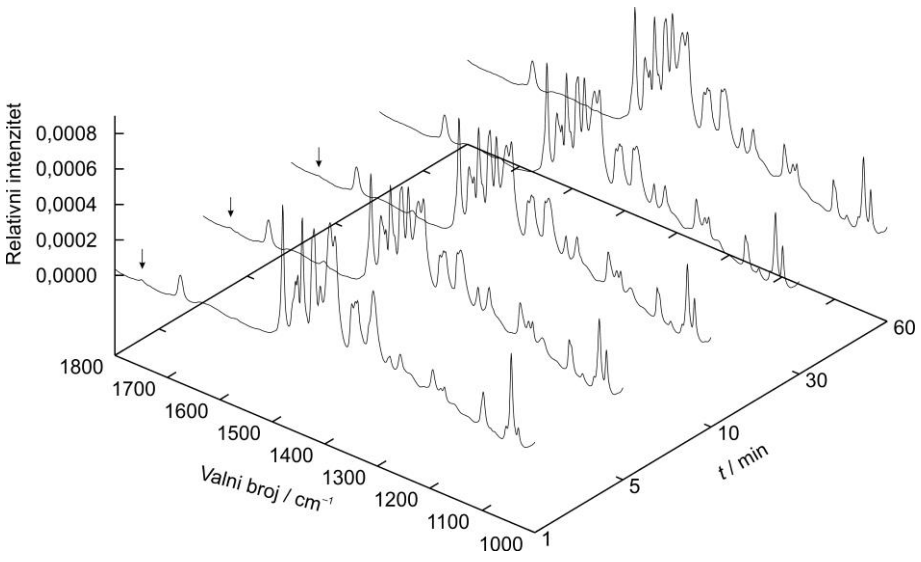
Shema 33. Reakcija priprave oksima kinuklidin-3-ona mehanokemijski uz NaOH kao bazu

Reakcije su praćene FTIR spektroskopijom i tankoslojnom kromatografijom. Već nakon 5 minuta primijećeno je da je sav početni spoj izreagirao i nastao spoj **1**. Budući da je dušikov atom heterocikličkog kinuklidina bazičan (pK_a oko 11) pretpostavljeno je da nije potrebno dodavati bazu u reakciju ako se pripravi neprotonirani kinuklidin-3-on. Reakcija je provedena mljevenjem ekvimolarnih količina kinuklidin-3-ona i hidroksilamonijevog klorida uz dodatak 20 μL etanola, shema 34.



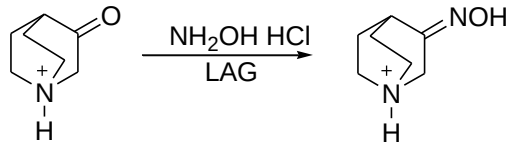
Shema 34. Reakcija priprave oksima kinuklidin-3-ona mehanokemijski bez dodatka baze

Tijek reakcije praćen je FTIR spektroskopijom tijekom 60 minuta. Budući da u reakciji nastaje i voda, područje od 2700 and 3500 cm^{-1} nije se moglo efikasno iskoristiti za praćenje reakcije (istezanja veza C–H aromatskih prstenova, metilne ili metilenske skupine, aldehidne skupine, vibracijske vrpce istezanja veza N–H i O–H). No, područje od 1800–600 cm^{-1} gdje se javljaju karakteristične vrpce istezanja oksimske veze C=N, te vrpce istezanja karboknilne skupine C=O bilo je pogodno za analizu. Na slici 15 prikazani su FTIR spektri snimljeni nakon 5, 10, 20, 30 i 50 minuta. Može se uočiti da je već nakon 1 minute nastalo 95% produkta. U tridesetoj minuti vrpca karbonilne skupine ketona (1735 cm^{-1}) potpuno iščezava te je postignuta kvantitativna pretvorba u oksim.



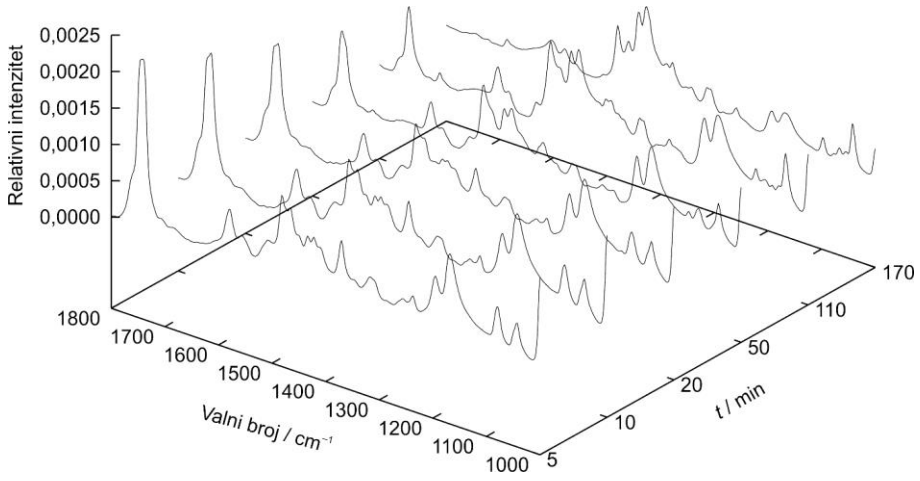
Slika 15. FTIR spektri snimljeni tijekom mehanokemijske sinteze spoja **1** iz kinuklidin-3-ona. Strelice označavaju položaj karbonilne skupine u spektrima.

Reakcija kinuklidin-3-onijevog klorida **QO HCl** i hidroksilamonijevog klorida **15**, shema 35, provedena je u uvjetima kada u reakcijskoj smjesi nije prisutna slobodna baza, već je dušikov atom protoniran. Mehanokemijska sinteza spoja **QO HCl** provedena je u kugličnom mlinu pri sobnoj temperaturi s 20 μL etanola, shema 35. Hidroksilamonijev klorid dodan je u suvišku.



Shema 35. Reakcija priprave oksima kinuklidin-3-ona mehanokemijski bez dodatka baze

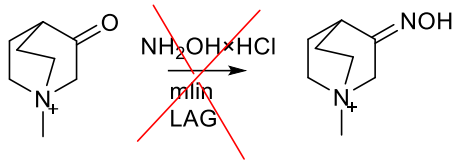
Reakcija je praćena u duljem vremenskom periodu, tijekom 170 minuta, slika 16. Ova reakcija s protoniranim heterociklom ide bitno sporije nego ona s neutralnim kinuklidin-3-onom: tek nakon 170 minuta dogodi se potpuna konverzija ketona u oksim. Iako nije prisutna baza u reakcijskoj smjesi i nukleofil hidroksilamin je u potpunosti protoniran na početku reakcije, mljevenjem u mlinu reakcija polako napreduje. Ovo se može objasniti procesom protoniranja i deprotoniranja kinuklidinskog dušika s karbonilnom i hidroksilnom skupinom prisutnom u reakcijskoj smjesi.



Slika 16. FTIR spektri snimljeni tijekom mehanokemijske sinteze spoja **1** iz potpuno protoniranih reaktanata bez dodatka baze.

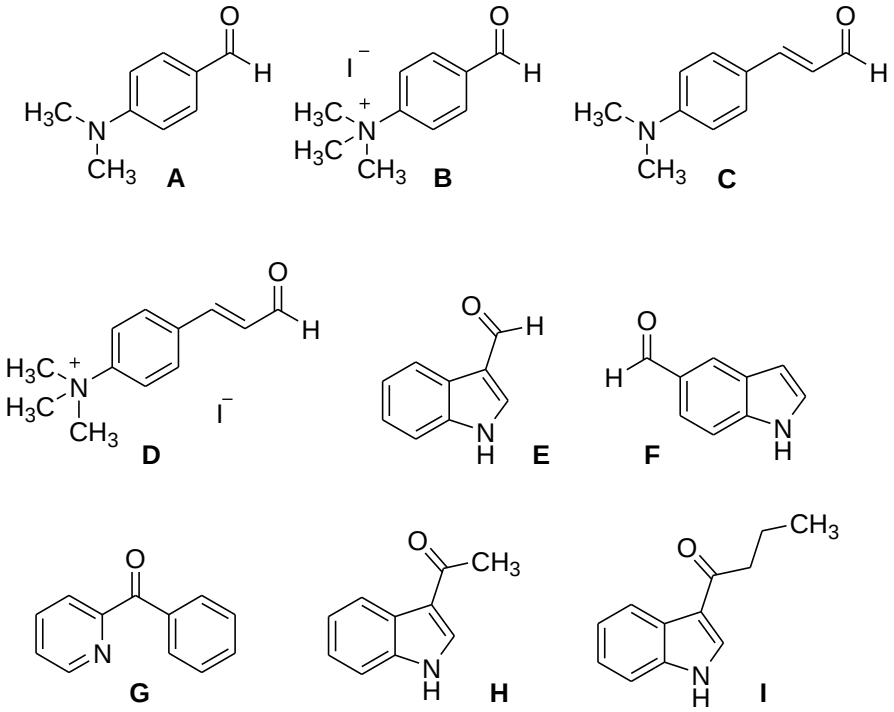
Konačno, sintetiziran je kvaterni spoj **15** reakcijom kinuklidin-3-ona i metil-jodida. Mljevenjem u mlinu spoja **15** i hidroksilamonijeg klorida pod istim uvjetima kao i u predhodnoj reakciji nije dobiven oksimski produkt **4**, shema 36. Time je potvrđena važnost kinuklidinskog dušika za deprotoniranje hidroksilamina te dobiven značajan uvid u mehanizam reakcije.

Sve mehanokemijske reakcije isprobane su i bez dodatka katalitičke količine otapala, no reakcije su se odvijale bitno sporije od onih u koje je dodana katalitička količina etanola.



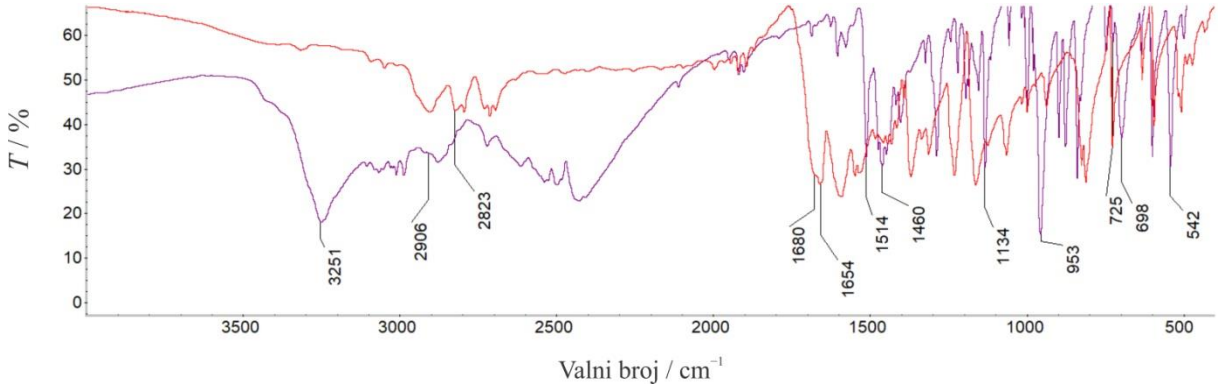
Shema 36. Sinteza oksima spoja **15** mehanokemijskim putem

Da bi se utvrdilo mogu li se mehanokemijske reakcije izvoditi bez dodatka anorganske baze pri sintezi oksima kada je u molekuli prisutan dušikov atom, istražene su mehanokemijske sinteze oksima šest aldehida s dušikovim atomima u strukturi: 4-(dimetilamino)benzaldehid (**A**) i njegov *N*-metilni kvaterni derivat (**B**), (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)akrilaldehid (**C**) i njegov *N*-metilni kvaterni derivat (**D**), indolil-3-karbaladehid (**E**), indolil-5-karbaladehid (**F**); te tri heterociklička ketona: fenil-(piridin-2-il)-keton (**G**), 3-acetilindol (**H**), 3-butiroilindol (**I**), slika 17. Svi spojevi su bili komercijalno dostupni osim spojeva **B** i **D** koji su sintetizirani reakcijom kvaternizacije s metil-jodidom.



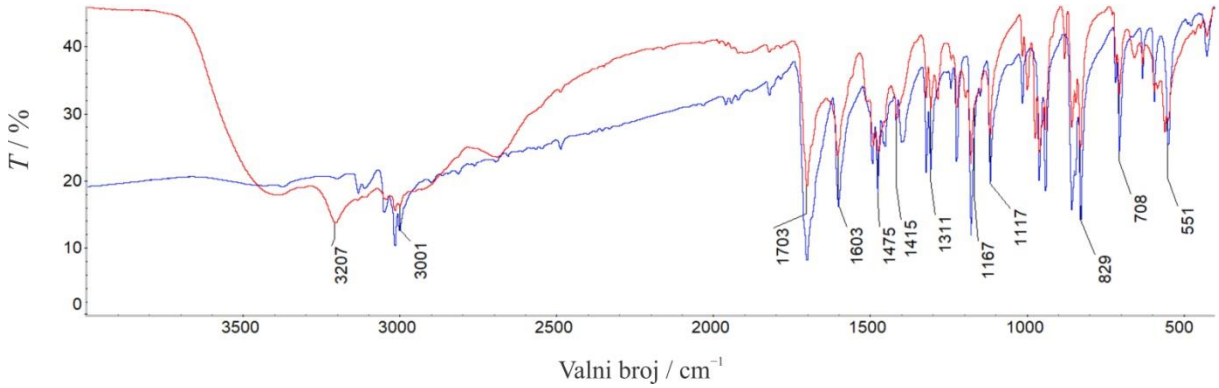
Slika 17. Odabrani aldehidi i ketoni za mehanokemijske reakcije.

Mehanokemijska reakcija aldehida **A** s hidroksilamin hidrokloridom bez prisutnosti baze kvantitativna je već tijekom prvih 5 minuta, što je vidljivo iz FTIR spektra, slika 18. Široka vrpca koja odgovara karbonilnoj skupini pri 1680 cm^{-1} je u potpunosti nestala.



Slika 18. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **A** (plavi spektar), te spoja **A,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 5 minuta mljevenja.

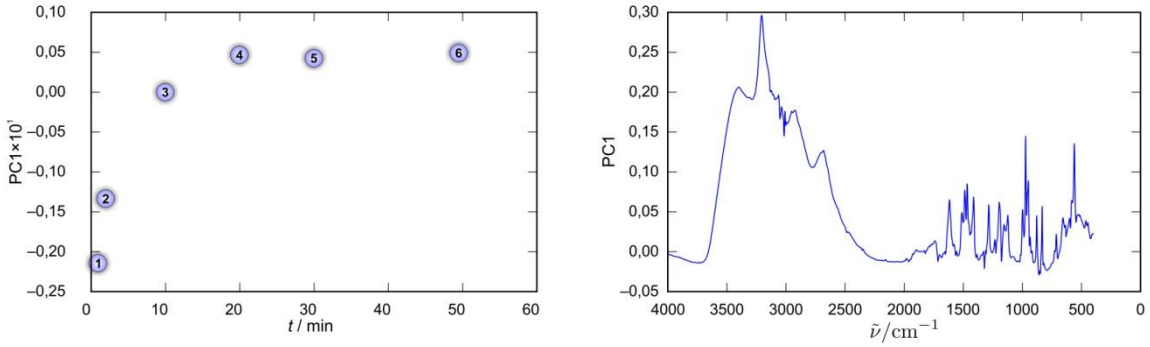
Kvaternizacijom dušikovog atoma *N*,*N*-dimetilaminobenzaldehida dolazi do promjene svojstava dušikovog atoma. Dušikov atom u spoju **B** nema više svojstva baze, ne sudjeluje u reakciji otcjepljujući vodikov atom hidroksilamin hidroklorida, jer nema slobodni elektronski par. U FTIR spektru spoja **B** s kvaterniziranim dušikovim atomom vrpca koja odgovara karbonilnoj skupini je prisutna u FTIR spektru i nakon 110-te minute reakcije, slika 19.



Slika 19. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **B** (plavi spektar), te spoja **B,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 110 minuta mljevenja.

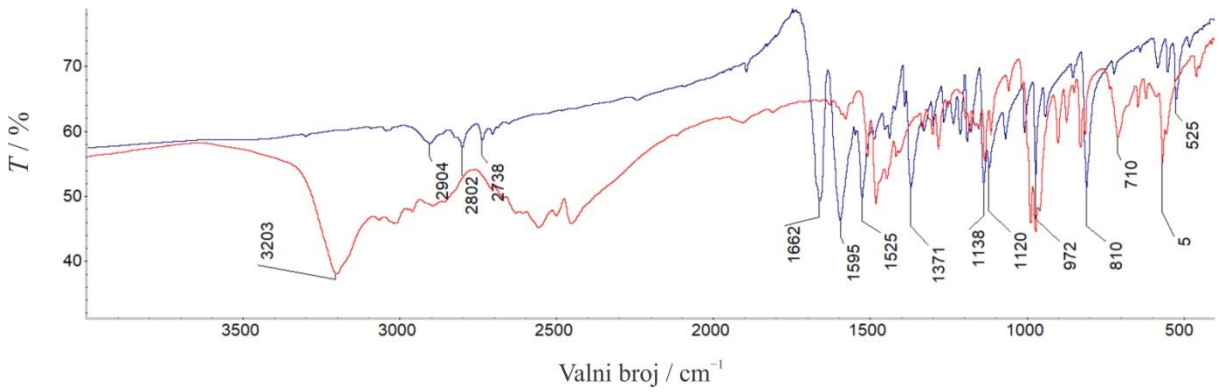
PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja B pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 20 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne brojeve u FTIR spektrima (3207, 1618, 1510, 1487, 1465, 1411, 974, 561), slika 20 b).

a) b)



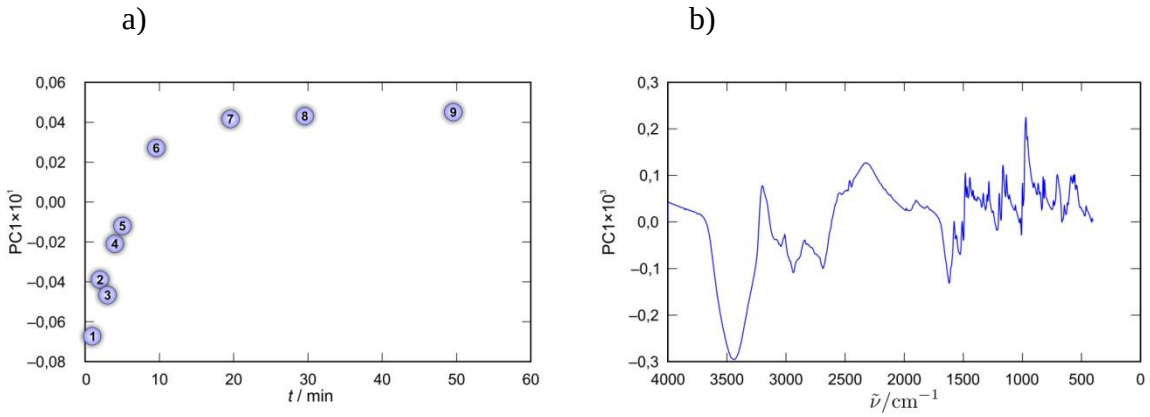
Slika 20. PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **B** (mljevenje, LAG).

Reakcija mehanokemijske sinteze oksima spoja **C** s hidroksilamin hidrokloridom bez prisutnosti baze praćena je FTIR spektroskopijom tijekom 60 minuta. Vidljivo je da je vrpca koja odgovara karbonilnoj skupini na 1661 cm^{-1} potpuno nestala iz spektra, slika 21. Dušikov atom i u ovom slučaju preuzima ulogu baze otcjepljujući vodikov atom hidroksilamin hidroklorida omogućavajući brzu reakciju.



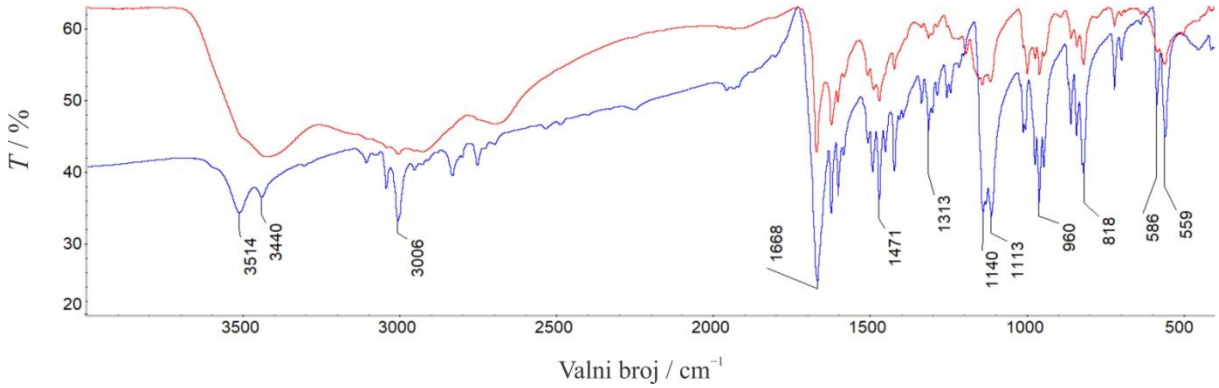
Slika 21. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **C** (plavi spektar), te spoja **C,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 30 minuta mljevenja.

PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **C** pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 22 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne brojeve u FTIR spektrima (najveće promjene: 3441, 1616, 1524, 969 cm^{-1}), slika 22 b).



Slika 22. PCA analiza za spoj **C** (mljevenje, LAG)

Spoj **C** je Menshutkinovom reakcijom kvaternizacije pretvoren u *N*-metilini derivat **D**. Kao i u prethodnom slučaju, kvaternizacijom dušikovog atoma zbog nedostatka slobodnog elektronskog para gube se bazična svojstva koja osiguravaju nukleofilni napad i omogućavaju reakciju. Reakcija sinteze oksima u slučaju kada je polazni spoj **D** nije rezultirala nastankom oksima bez prisutnosti baze niti nakon 110 minuta,slika 23.

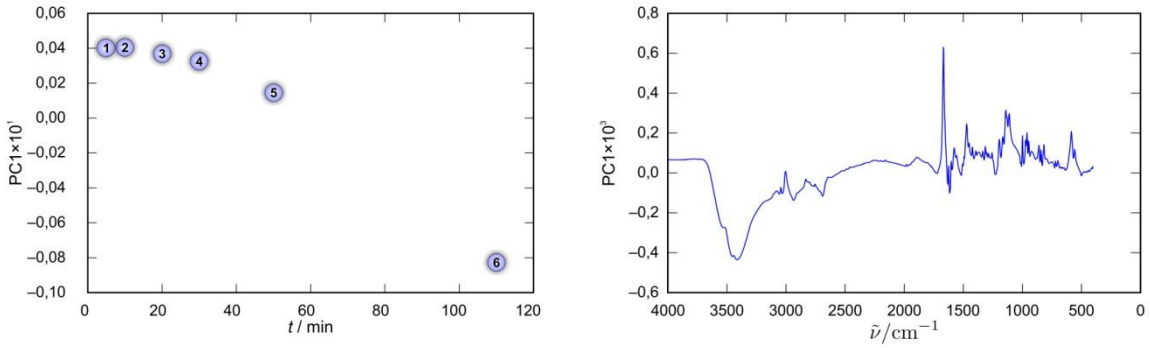


Slika 23. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **D** (plavi spektar), te spoja **D,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 110 minuta mljevenja.

PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **D** pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 24 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne

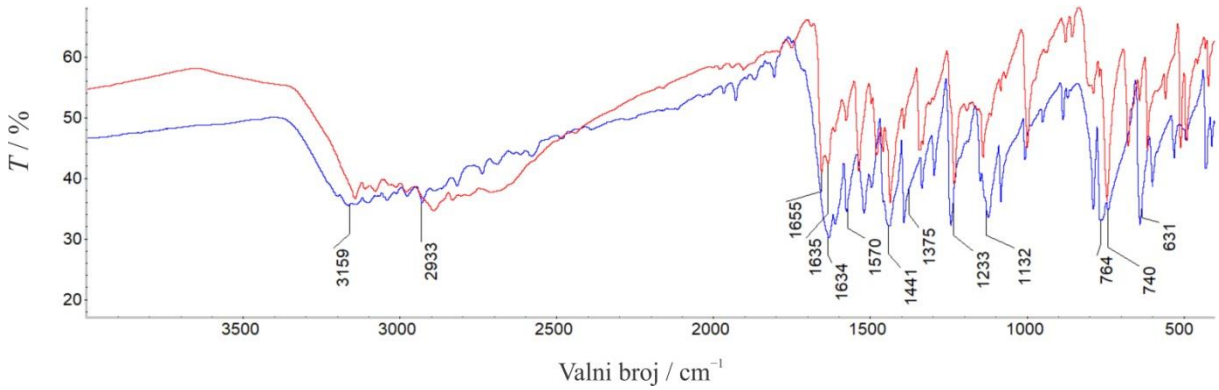
brojeve u FTIR spektrima (najveće promjene: 3418, 1668, 1630, 1614, 1469, 1227, 1139, 1110 cm^{-1}), slika 24 b).

a) b)



Slika 24. PCA analiza za spoj **D** (mljevenje, LAG)

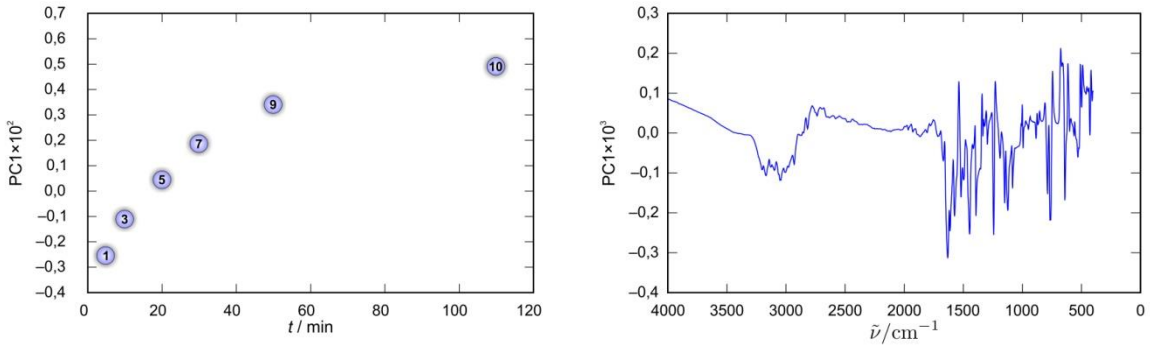
Dušikov atom koji se nalazi u strukturi indola nije bazičan. Stoga u FTIR spektru reakcijske smjese spoja **E** i nakon 110-te minute i dalje je vidljiva vrpca koja odgovara karbonilnoj skupini polaznog spoja, slika 25.



Slika 25. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **E** (plavi spektar), te spoja **E,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 110 minuta mljevenja.

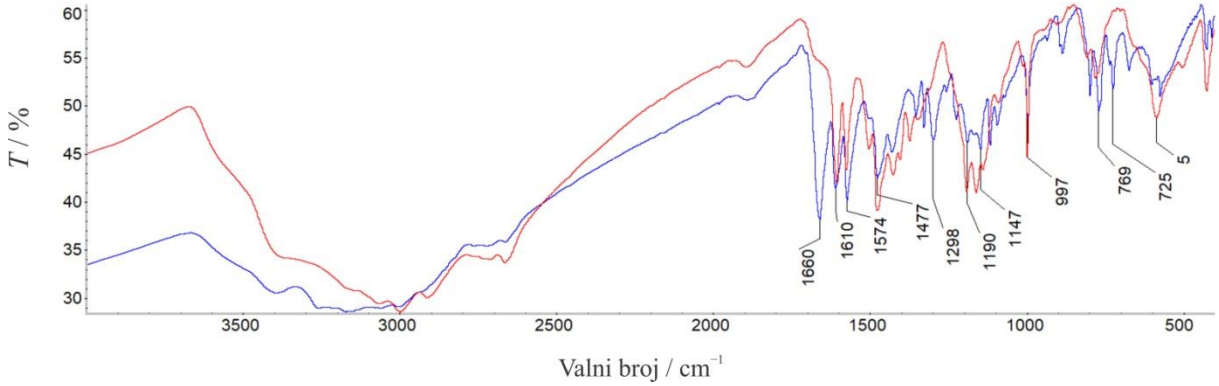
PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **E** pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 26 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne brojeve u FTIR spektrima (najveće promjene: 3046, 1631, 1610, 1574, 1537, 1445, 1390, 1241, 1227, 763 cm^{-1}), slika 26 b).

a) b)



Slika 26. PCA analiza za spoj **E** (mljevenje, LAG)

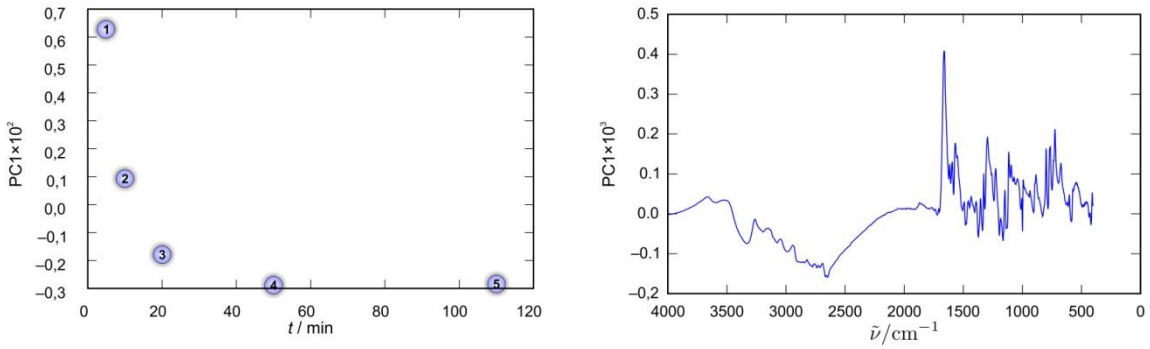
Za razliku od spoja **E**, indolski aldehid **F** uspješno je preveden u oksim mehanokemijskom reakcijom. U FTIR spektru reakcijske smjese spoja **F** nakon 50-te minute nestala je karbonilna skupina polaznog spoja, slika 27.



Slika 27. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **F** (plavi spektar), te spoja **F,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 50 minuta mljevenja.

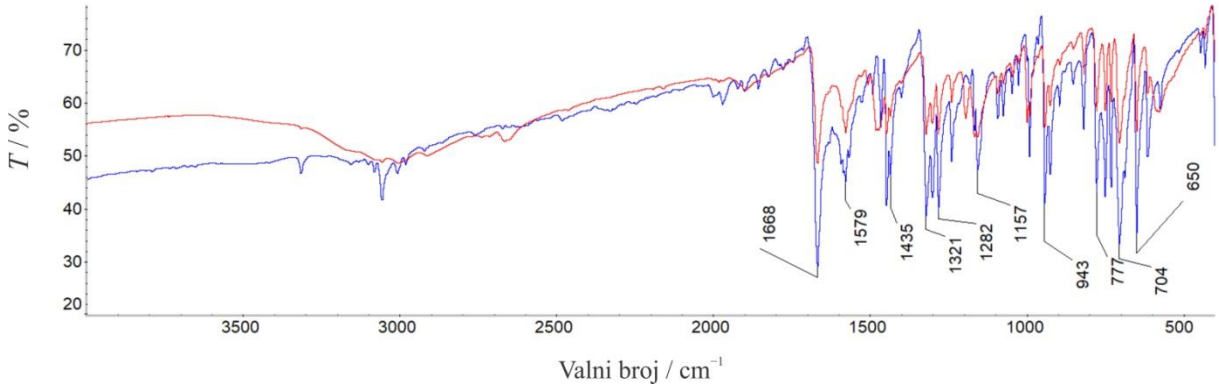
PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **F** pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 28 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne brojeve u FTIR spektrima (najveće promjene: 3334, 1660, 1568, 1476, 1294, 1195, 1163, 998 cm^{-1}), slika 28 b).

a) b)



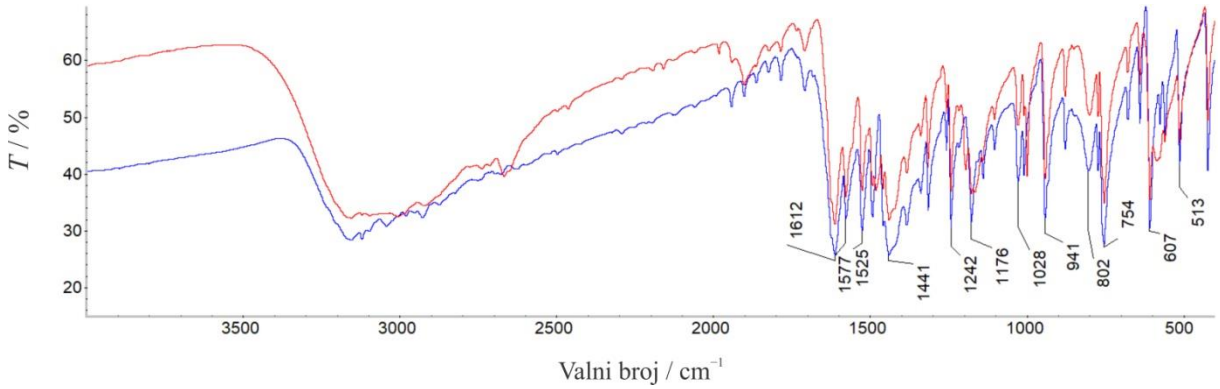
Slika 28. PCA analiza za spoj **F** (mljevenje, LAG)

Za razliku od aldehida, kod ketona pod uvjetima izvođenja mehanokemijske reakcije bez dodane baze nije nastao produkt. Tako, kod piridinskog ketona **G** nije opažena reakcija, slika 29. FTIR spektar je identičan i nakon 110 minuta mljevenja.



Slika 29. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **G** (plavi spektar), te spoja **G,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 110 minuta mljevenja.

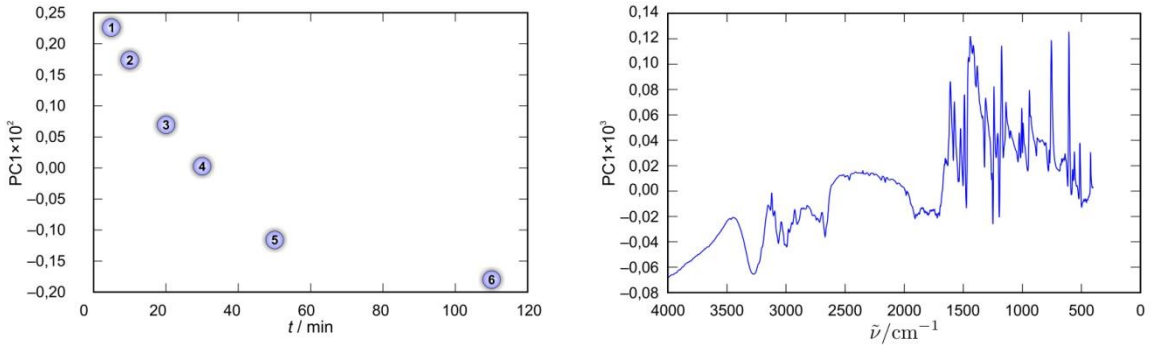
Kod indolskog ketona **H** nije opažena reakcija, slika 30. FTIR spektar je identičan i nakon 110 minuta mljevenja.



Slika 30. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **H** (plavi spektar), te spoja **H,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 110 minuta mljevenja.

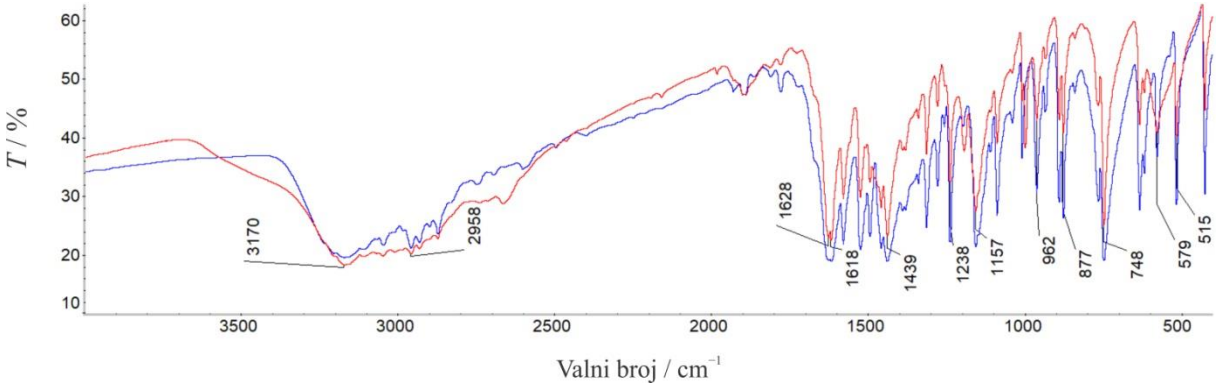
PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **H** pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 31 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne brojeve u FTIR spektrima (najveće promjene: 3276, 1609, 1574, 1474, 1439, 1248, 1194, 1175, 755 cm^{-1}), slika 31 b).

a) b)



Slika 31. PCA analiza za spoj **H** (mljevenje, LAG)

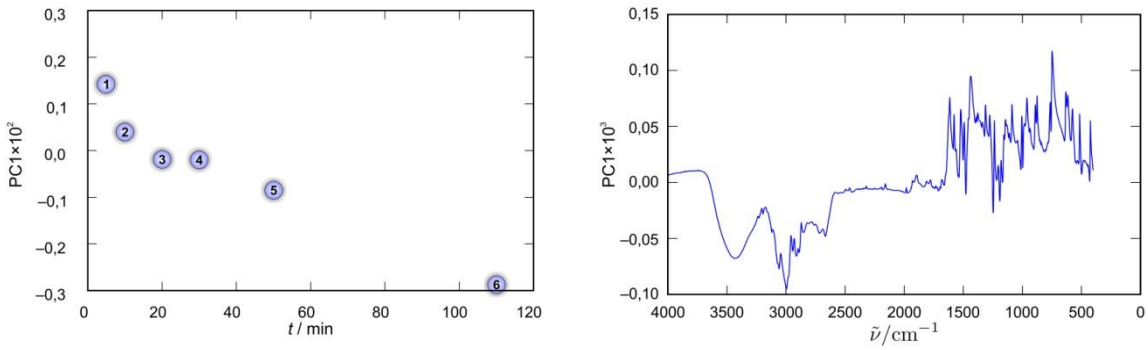
Kod indolskog ketona **I** nije opažena reakcija, slika 32. FTIR spektar je identičan i nakon 110 minuta mljevenja.



Slika 32. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **I** (plavi spektar), te spoja **I,** hidroksilamonijevog klorida i katalitičke količine etanola (crveni spektar) nakon 110 minuta mljevenja.

PCA analiza FTIR spektara za reakciju spoja **I** pokazala je profil promjena koje se događaju tijekom mljevenja, slika 33 a) te promjene koje nastaju vezane za pojedine valne brojeve u FTIR spektrima (najveće promjene: 3433, 2996, 1613, 1478, 1435, 1248, 1190 cm^{-1}), slika 33 b).

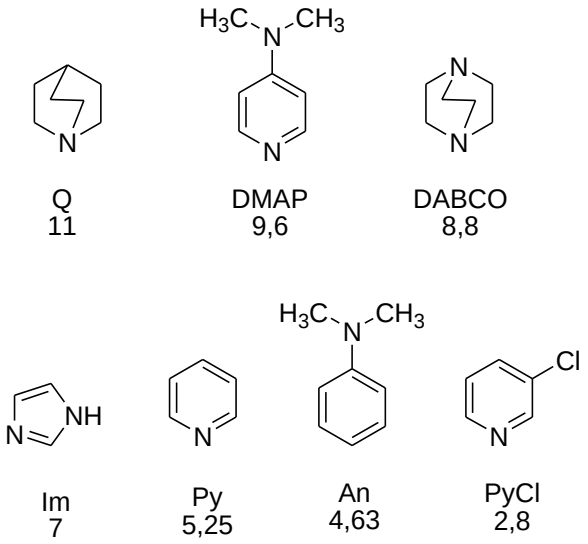
a) b)



Slika 33. PCA analiza za spoj **I** (mljevenje, LAG)

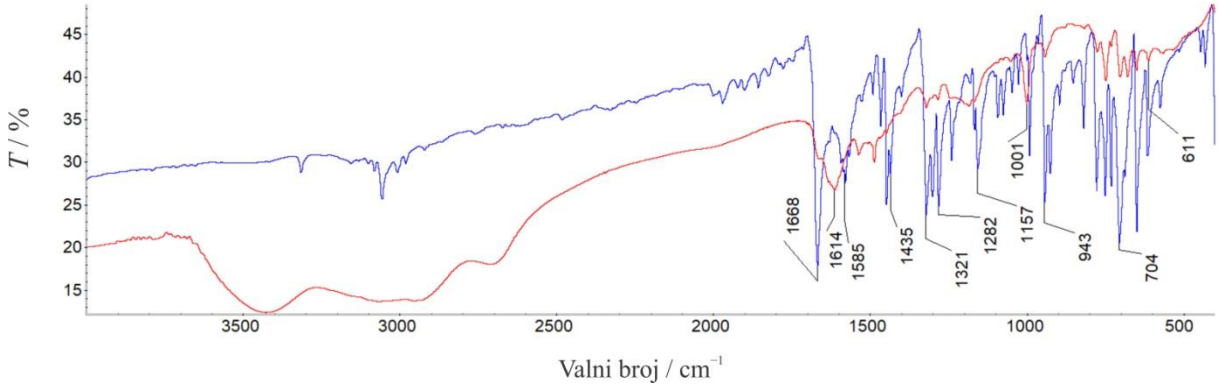
U slučaju mehanokemijske sinteze oksima kod polaznih spojeva koji u svojoj strukturi sadrže bazični dušikov atom, dodatak baze nije potreban. Reakcija mehanokemijske sinteze oksima u slučaju kada je u polaznom spoju bazični dušikov atom protoniran poput spoja QO, reakcija je znatno sporija nego reakcija deprotoniranog oblika polaznog spoja.

Mehanokemijska sinteza oksima polaznih spojeva koji u svojoj strukturi ne sadrže bazični dušikov atom u pravilu nije rezultirala nastajanjem produkta. Vrpca koja odgovara karbonilnoj skupini je i dalje prisutna u FTIR spektru. Stoga je mehanokemijska sinteza izvedena uz dodatak različite količine organskih baza, slika 34. Eksperimentima je provjereno koja od navedenih baza je dovoljno jaka i u kojoj količini je potreban njezin dodatak da bi pretvorba karbonilne skupine u oksim bila kvantitativna.



Slika 34. Popis upotrijebljenih baza s njihovim pK_a vrijednostima

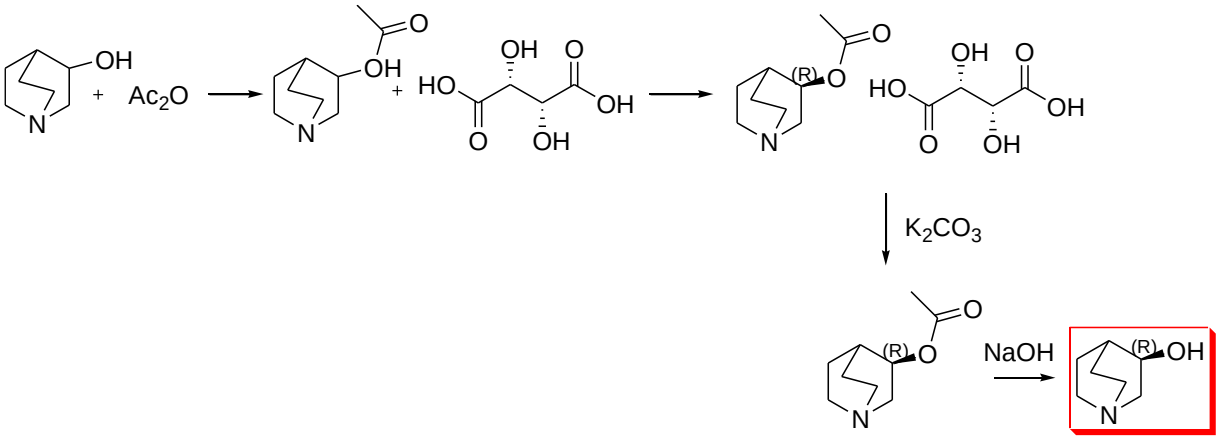
Mehanokemijska reakcija sinteze aldoksima spoja **B** izvedena je uz dodatak jednog ekvivalenta svake od baza navedenih na slici 34. Uočeno je da reakcija s katalitičkom količinom etanola završi već nakon 1 minute mljevenja, te su sve baze sa slobodnim dušikovim atomom pokazale dovoljno dobrima da kataliziraju reakciju. Piridin je odabran kao dodana baza zbog lakog uklanjanja iz reakcijske smjese te su sve reakcije aldehida izvedene uz dodatak piridina bile uspješne već nakon 1 minute mljevenja. No, mehanokemijska sinteza ketoksima se pokazala zahtjevnijom. Tako je na ovaj način dobiven ketoksim spoja **G** uz dodatak jednog ekvivalenta piridina mljevenjem nakon 10 minuta reakcije. U FTIR spektru reakcijske smjese vrpca koja odgovara karbonilnoj skupini na 1668 cm^{-1} je nestala, slika 35. No, ketone **H** i **I** nije bilo moguće dobiti na ovaj način.



Slika 35. FTIR spektri reakcijske smjese spoja **G** (plavi spektar), te spoja **G,** hidroksilamonijevog klorida, katalitičke količine etanola i piridina kao baze (crveni spektar) nakon 10 minuta mljevenja.

4.3. Razdvajanje enantiomera kinuklidin-3-ola

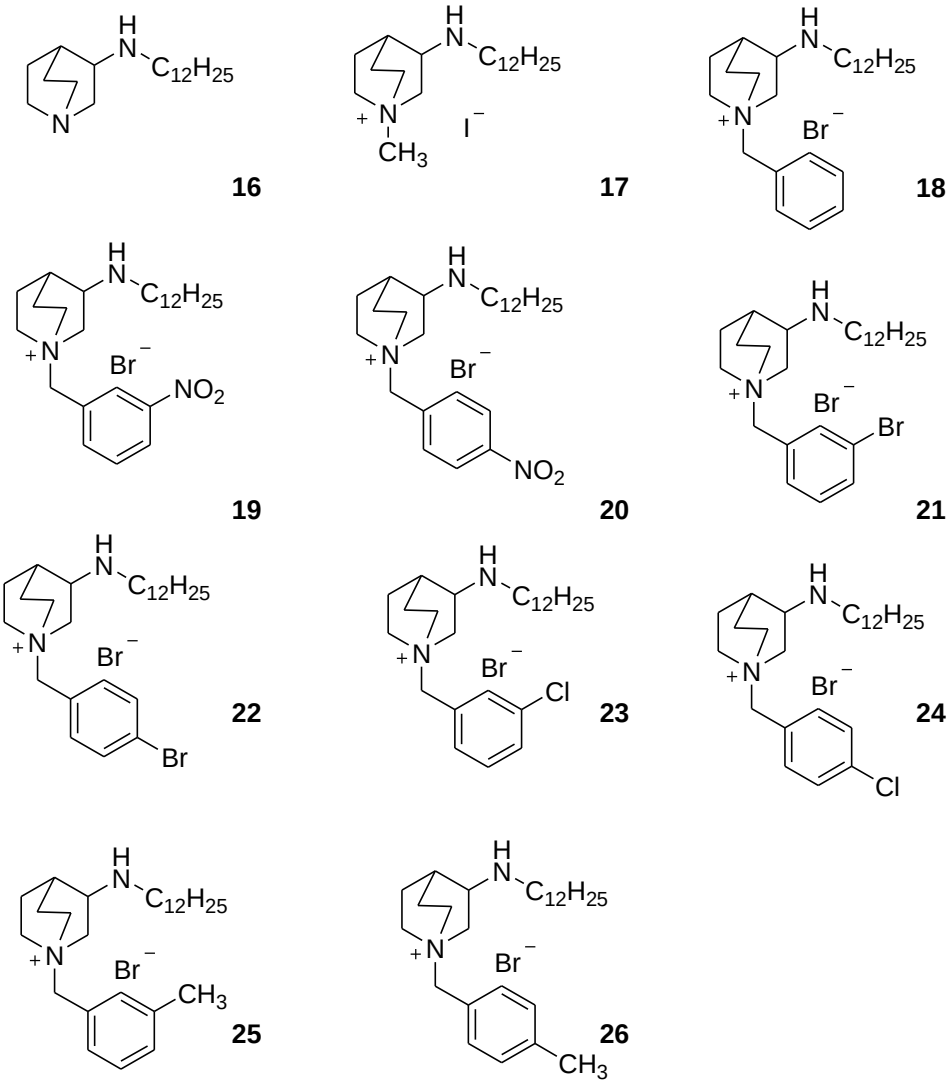
Enantiomeri kinuklidin-3-ola redovito imaju različitu biološku aktivnost zbog kiralnosti bioloških meta pa ih je potrebno razdvojiti. Za razdvajanje je odabrana metoda resolucije racemičnog kinuklidin-3-il-acetata pomoću **L**- i **D**-vinske kiseline, shema 37.[28] Racemične organske baze s **L**- ili **D**-vinskom kiselinom tvore dijastereomere različitih fizičkih svojstava što je temelj njihovog odjeljivanja. Kada se u racemičnu smjesu kinuklidin-3-il-acetata doda ekvimolarna količina **L**-vinske kiseline u 80 % etanolu, nastaje smjesa dijasteromernih tartarata. Nastali dijastereomeri razlikuju se u topljivosti u 80 % etanolu. Kristali (*R*)-3-acetoksikinuklidinijevog **L**-tartarata odvoje se filtracijom dok u matičnici zaostane otopljen (*S*)-3-acetoksikinuklidinijev **L**-tartarat. Bazičnom hidrolizom (*R*)-3-acetoksikinuklidinijevog **L**-tartarata s $NaHCO_3$, nastaje (*R*)-kinuklidin-3-il-acetat, a s NaOH (*R*)-kinuklidin-3-ol. (*S*)-acetat i (*S*)-alkohol mogu se dobiti na isti način reakcijom s **D**-vinskom kiselinom.



Shema 37. Postupak rezolucije enantiomera kinuklidin-3-ola s **L**-vinskom kiselinom.

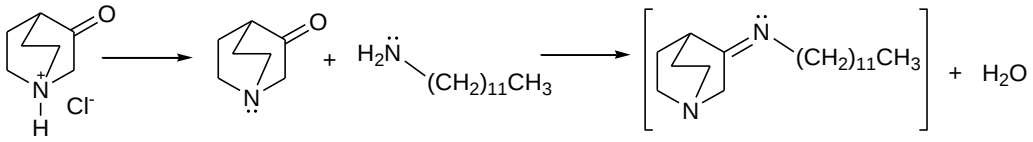
4.4. Sinteza amina

Pripravljen je 3-dodecilaminokinuklidin te serija njegovih derivata, shema 38. Spojevi **17**-**26** do sada nisu opisani u literaturi.



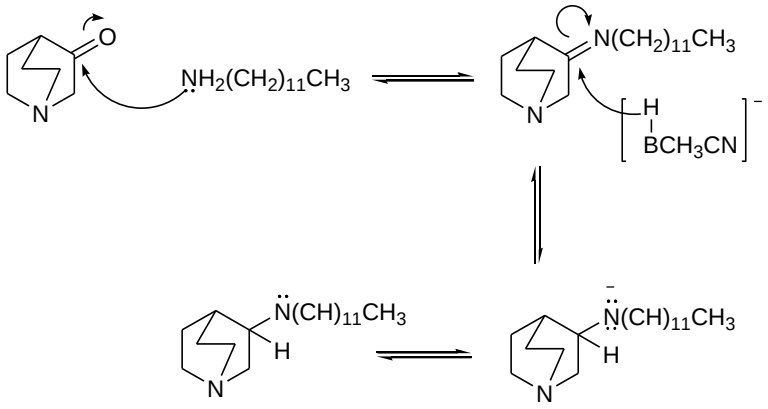
Shema 38. Strukture sintetiziranih 3-dodecilaminokinuklidina.

Reakcija sinteze Schiffove baze izvedena je u etanolu reakcijom dodecilamina i kinuklidin-3-ona, shema 39. Kinuklidin-3-on je pripremljen neutralizacijom komercijalno dostupne hidrokloridne soli. Reakcijom ketona i amina nastaje Schiffova baza koja se pokazala izrazito nestabilna i nije je bilo moguće izolirati iz reakcijske smjese. Ni izvođenje reakcije uz dodatak molekulskih sita nije poboljšalo rezutat reakcije.



Shema 39. Priprava Schiffove baze.

Stoga je amin sintetiziran reduktivnom aminacijom tj. *in situ* redukcijom nastale Schiffove baze, čime je spriječena hidroliza. Kao redukcijsko sredstvo upotrijebljen je natrijev cijanoborhidrid. Mehanizam je prikazan na shemi 40.



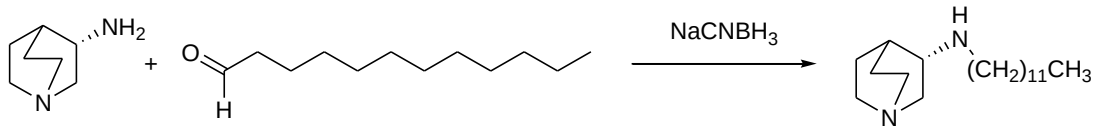
Shema 40. Mehanizam reduktivne aminacije.

Amin je izoliran nakon pročišćavanja kolonskom kromatografijom na stupcu aluminijeva oksida u sustavu kloroform-metanol. Zatim je amin kvaterniziran nizom reakcija s odgovarajućim alkil-halogenidima. Reakcije su zbog dobre topljivosti amina izvedene u suhom acetonu, izuzetno su brze, a produkt taloži iz reakcijske smjese odmah po dodatku alkil-halogenida. Suvišak halogenida odstranjuje se suspendiranjem spojeva ili ispiranjem dietil-eterom u kojoj su soli slabo topljive. Iskorištenja svih reakcija dana su u tablici 12.

Tablica 12. Iskorištenja reakcija nakon izolacije i pročišćavanja produkata za amine **16-26**.

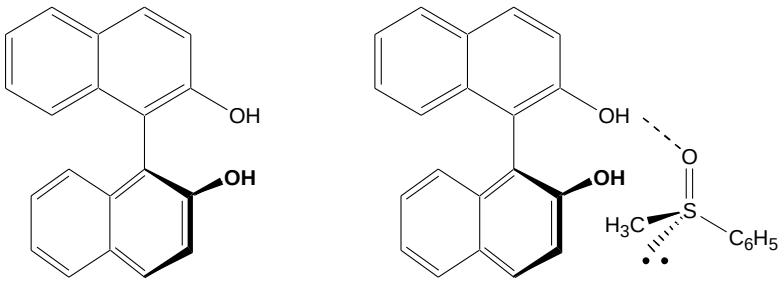
Spoj	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**
ŋ/%	23	80	61	88	87	87	84	66	97	98	65

Na isti način kao i racemični spojevi, reduktivnom aminacijom, pripravljen je i kiralni derivat amina (*S*)-**16**, te njegovi kvaterni spojevi (*S*)-**17** i (*S*)-**18**. Kao polazni spoj upotrijebljen je komercijalno dostupan (*S*)-3-aminokinuklidin, shema 41.



Shema 41. Sinteza spoja (*S*)-**16**.

Istražene su mogućnosti primjene ^{1}H NMR tehnike za određivanje optičke čistoće pripravljenih spojeva upotrebom (*R*)-1,1'-bi-2-naftola (RBN) kao kiralnog solvatirajućeg reagensa[97] (KSR). KSR čine dijastereomerne 'solvatacijske' komplekse s otopljenim enantiomerima kompetirajući s molekulama otapala. Promjena kiralnog i akiralnog okruženja solvata je vrlo brza pa opažene rezonancije predstavljaju vremenski uprosječen signal između enantiomera solvatiranog otapalom i kompleksa s KSR. Položaj signala određuje napučenost populacije kompleksa s kiralnim reagensom. Tako kiralni 1,1'-bi-2-naftol, osim što se koristi i kao kiralni derivatizirajući reagens, pokazao se i kao dobar KSR za određivanje optičke čistoće i apsolutne konfiguracije nekih amina, alkohola, sulfoksida i selenoksida, slika 36.[98] Prednosti ove metode su u brzom i jednostavanom načinu dobivanja informacije o optičkoj čistoći uzorka pri čemu nema problema s kinetičkom rezolucijom ili racemizacijom uzorka kao ni s enantiomernom čistoćom uzorka i KSR.

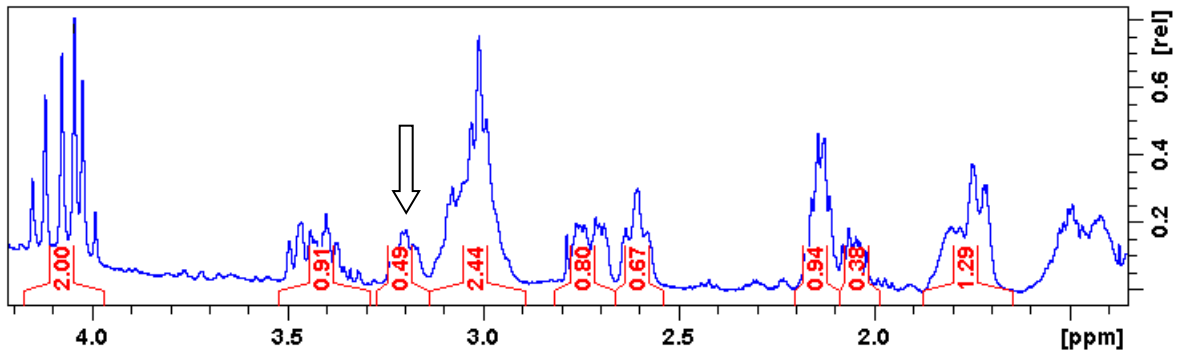


Slika 36. (*S*)-1,1'-bi-2-naftol i kompleks s fenilmetil-sulfoksidom.

Racemičnim i kiralnim aminima **16**, **17** i **18** snimljeni su ^{1}H NMR spektri s (*R*)-1,1'-bi-2-naftolom. Svi spektri snimljeni su u $CDCl_3$ zbog slabe topljivosti (*R*)-1,1'-bi-2-naftola u

polarnijim otapalima. Varirana je količina dodanog kiralnog solvatirajućeg reagensa i primjećeno je da pomak signala ovisi o koncentraciji (*R*)-1,1'-bi-2-naftola u otopini, slike 38 i 39.

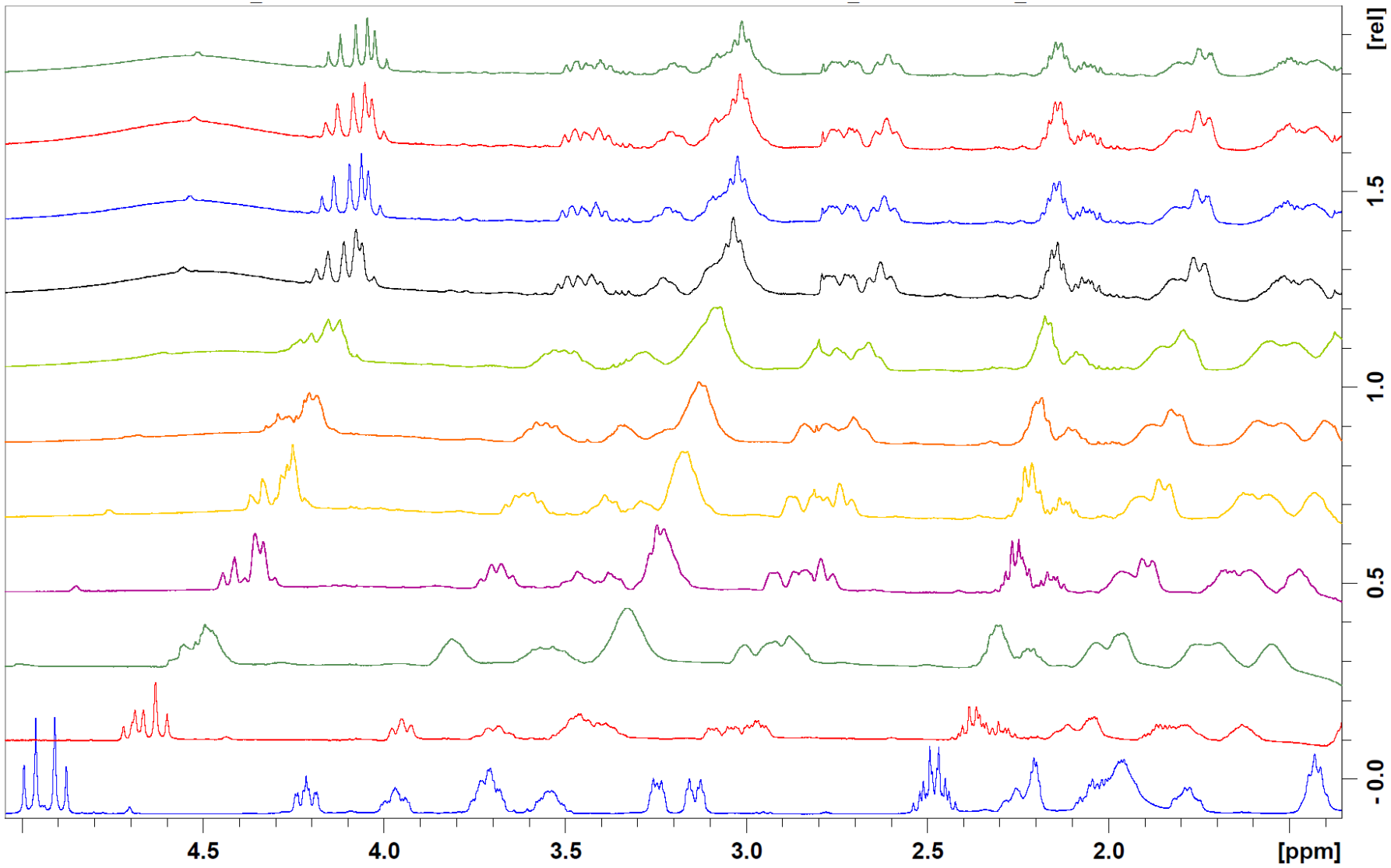
Dodatkom kiralnog reagensa dolazi do zasjenjenja svih vodikovih jezgri u svim spektrima. Iz razlike u kemijskim pomacima može se uočiti da kod sva tri spoja dolazi do stvaranja kompleksa s kiralnim reagensom. No, jedino u spektru racemičnog spoja **18**, bilo je moguće uočiti signal koji odgovara samo jednom protonu što se pripisuje različitim interakcijama pojedinih enantiomera, slika 37.



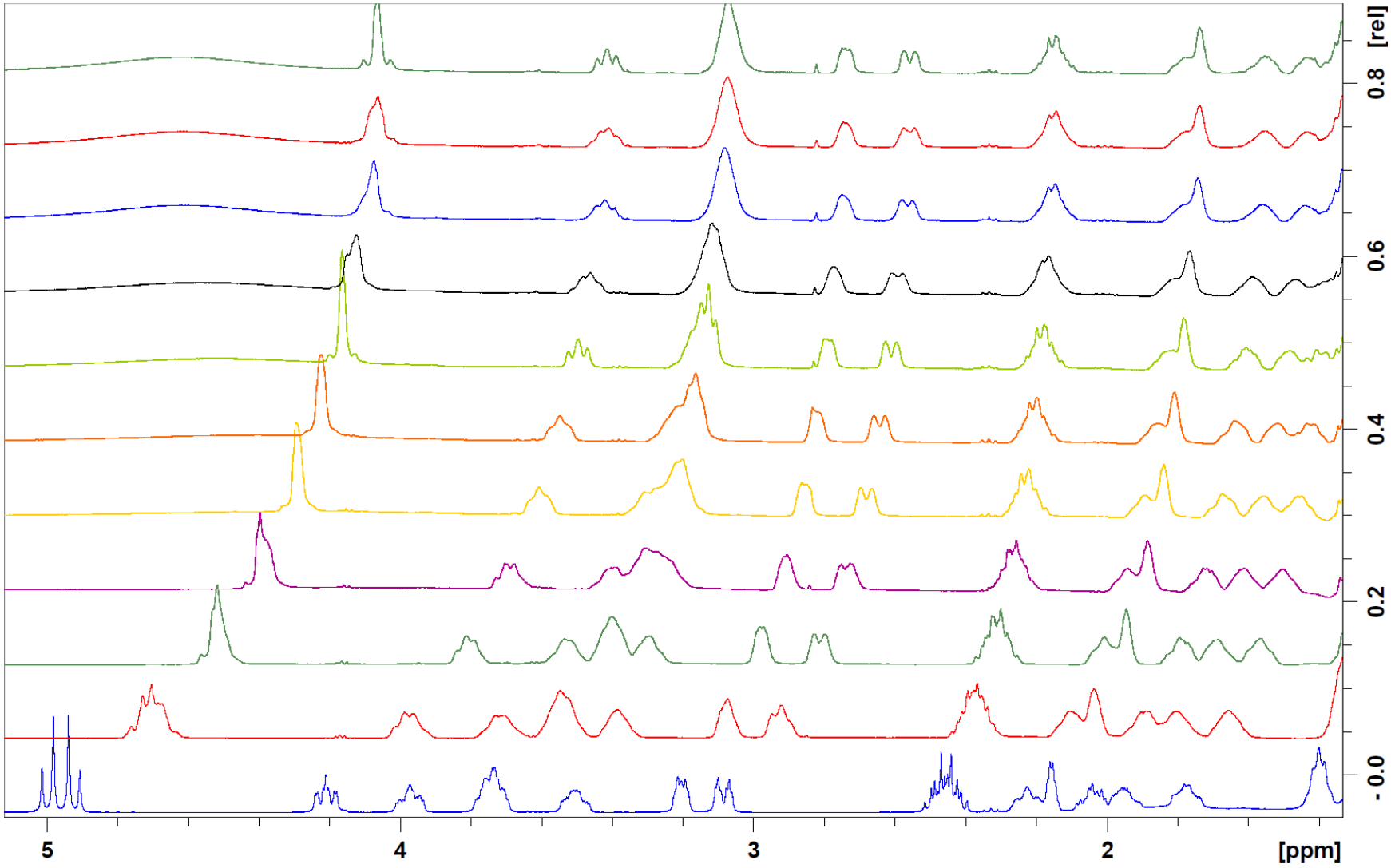
Slika 37. Dio ^{1}H NMR spektra racemata spoja **18** u $CDCl_3$ s kiralnim reagensom (5 ekviv. RBN). Strelicom je označen signal protona jednog od enantiomera.

Efekt RBN kao kiralnog solvatirajućeg reagensa na razdvajanje signala enantiomera kod spoja **18** nije bio dovoljan da bi se dobili dovoljno razdvojeni signali koji bi se mogli zasebno integrirati i tako odrediti optičku čistoću uzorka.

.



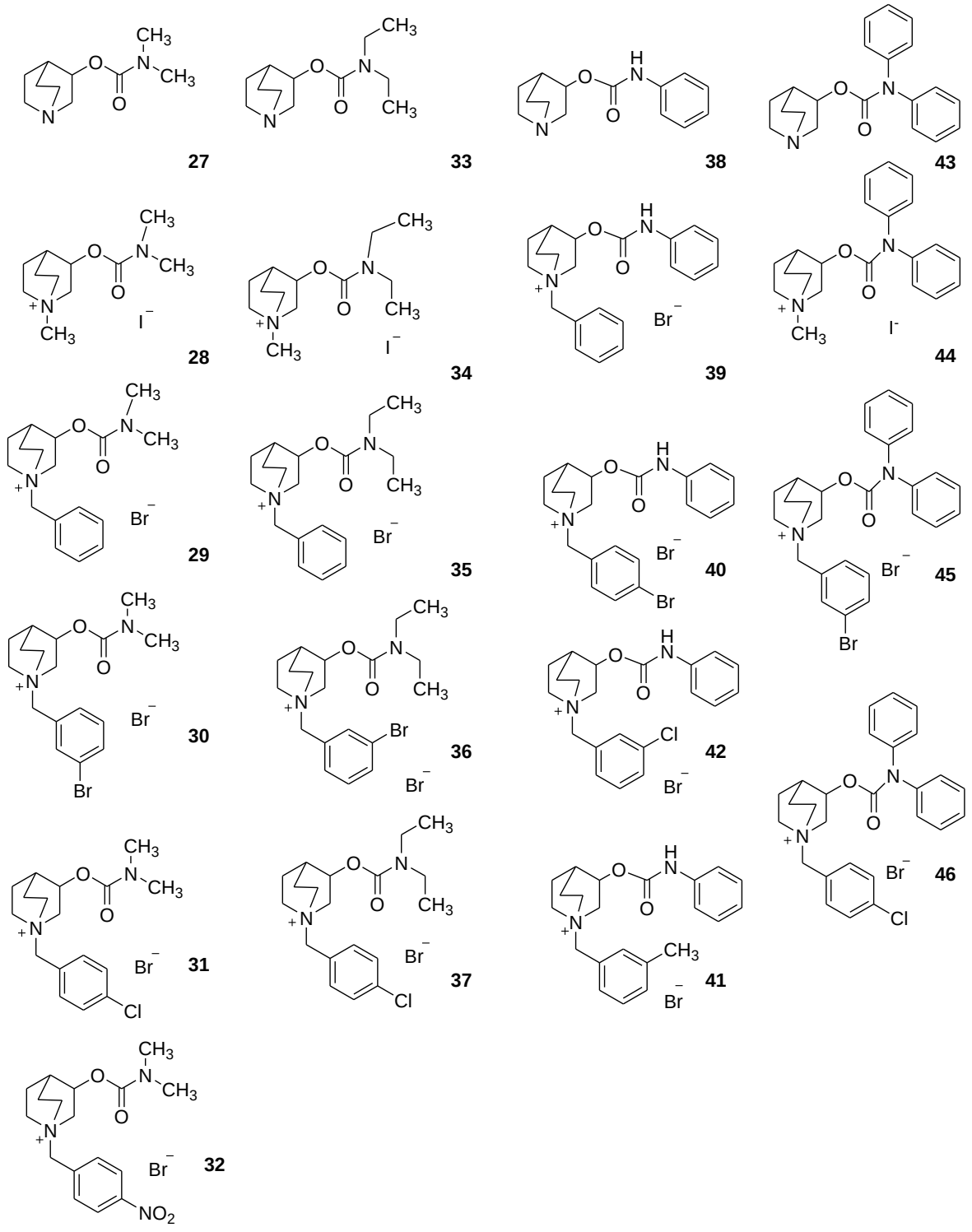
Slika 38. ^{1}H NMR titracija spoja **18** (10 mg/1 mL) s (*R*)-(−)-1,1′-Bi(2-naftolom) (0,5-5 ekvivalenata) u $CDCl_3$



Slika 39. ^{1}H NMR titracija spoja (*S*)-**18** (10 mg/1 mL) s (*R*)-(−)-1,1′-Bi(2-naftol) (0,5-5 ekvivalenata) u $CDCl_3$

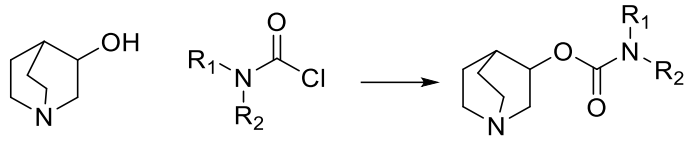
4.5. Sinteza karbamata

Pripravljena su četiri karbamata kinuklidina (27, 33, 38 i 43) te serija njihovih derivata, shema 42. Spojevi **29, 30, 33, 35-37, 39-41, i 44-46** (trinaest spojeva) do sada nisu opisani u literaturi.



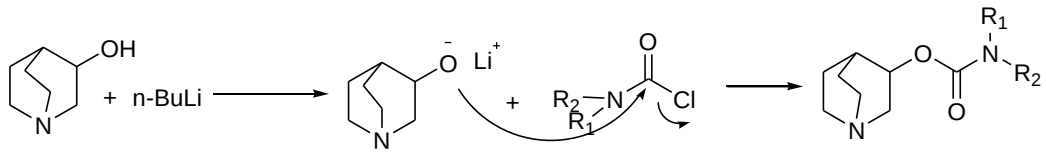
Shema 42. Strukture sintetiziranih karbamata kinuklidin-3-ola.

Kinuklidin-3-il-*N*,*N*-dimetilkarbamat **27** priređen je reakcijom kinuklidin-3-ola s *N*,*N*-dimetilkarbamoil-kloridom u suhom kloroformu, shema 43.



Shema 43. Sinteza karbamata upotrebom derivata karbaminske kiseline.

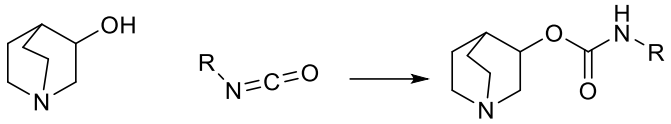
U reakciju se kao baza dodaje još jedan ekvivalent kinuklidin-3-ola koji se tijekom reakcije taloži iz reakcijske smjese kao hidroklorid. Da bi se dobilo bolje ukupno iskorištenje reakcije, reakcija je izvođena i uz dodatak trietilamina, NaH i *n*-butillitija, a varirana su i otapala. Najbolje iskorištenje reakcije postignuto je aktivacijom alkohola dodatkom *n*-butillitija kao jake baze u suhom tetrahidrofuranu, shema 44.



Shema 44. Sinteza karbamata upotrebom *n*-butillitija kao baze.

Reakcija je izvedena u ledenoj kupelji uz dodatak jednog ekvivalenta *n*-butillitija. Nakon 40 minuta, litijevom alkoholatu dodana je otopina odgovarajućeg karbamoil-klorida u suhom tetrahidrofuranu. Reakcija je vrlo brza i nakon izolacije i pročišćavanja kolonskom kromatografijom dobiveni su spojevi **27**, **33** i **43**.

Reakcija sinteze *N*-fenilkarbamata **38** pomoću fenilizocijanata izvedena je u toluenu pri temperaturi refluksa uz azeotropno uklanjanje vode. Reakcija je izvedena uz dodatak 1 ekvivalenta fenilizocijanata, shema 45.



Shema 45. Sinteza karbamata s različitim izocijanatima.

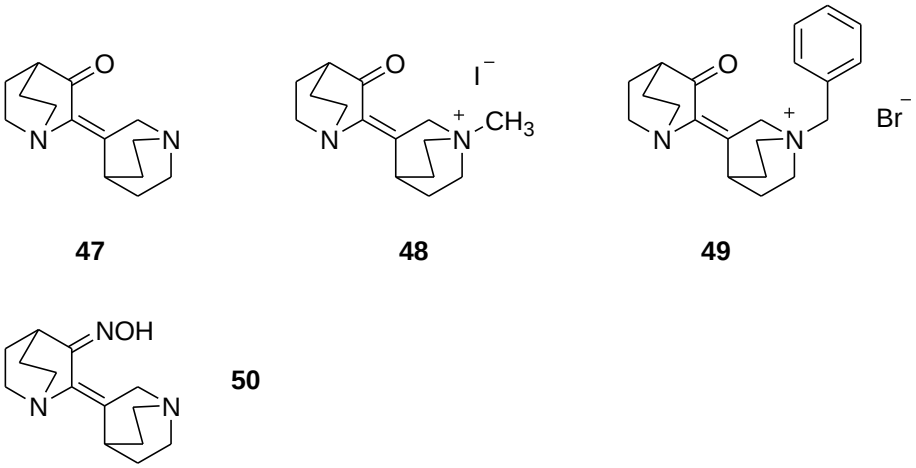
Pripremljeni karbamati **27**, **33, 38** i **43** su Menshutkinovom reakcijom kvaternizirani. Reakcije su izvedene u suhom tetrahidrofuranu pri sobnoj temperaturi. Produkti su pročišćeni digeriranjem u dietil-eteru. Kiralni spoj (*R*)-**27** pripremljen je iz (*R*)-kinuklidin-3-ola. Iskorištenja reakcija nakon izolacije i pročišćavanja produkata za karbamate **27**-**42** dana su u tablici 13.

Tablica 13. Iskorištenja reakcija nakon izolacije i pročišćavanja produkata za karbamate **27**-**42**.

Spoj	**27**	**28**	**29**	**30**	**31**	**32**	**33**	**34**	**35**	**36**	**37**	**38**	**39**	**40**	**41**	**42**
ŋ/%	63	82	78	68	75	95	65	80	86	83	77	31	54	78	92	76

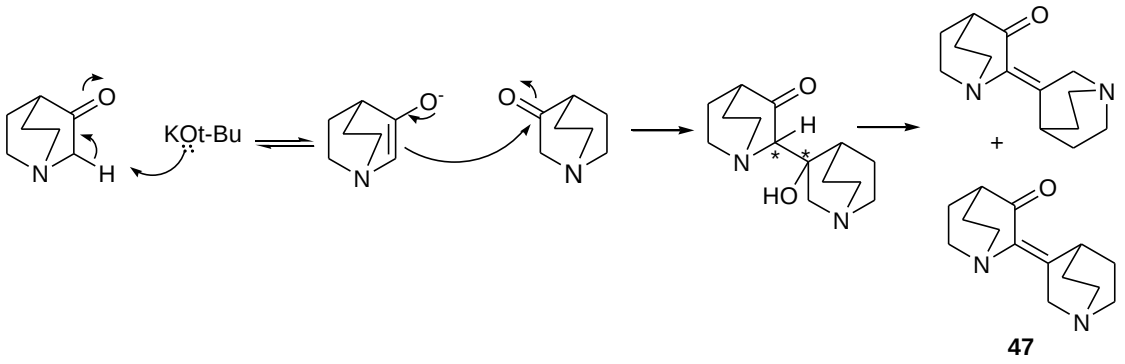
4.6. Sinteza aldola kinuklidin-3-ona

Pripravljen je 2-kinuklidenkinuklidin-3-on **47**, njegova dva kvaterna derivata **48** i **49** te oksim **50**, shema 46. Spojevi **48**-**50** do sada nisu opisani u literaturi.



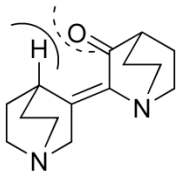
Shema 46. Strukture sintetiziranih aldola kinuklidin-3-ona.

Kao polazni spoj korišten je kinuklidin-3-on hidroklorid. Neutralizacijom hidrokloridne soli kinuklidin-3-ona pomoću kalijevog karbonata pripremljen je kinuklidin-3-on koji je korišten u daljnjim reakcijama. Reakcijom kinuklidin-3-ona uz dodatak baze kalijevog *tert*-butoksida dolazi do reakcije autokondenzacije.[99] Baza stvara enolat koji nukleofilno napada na drugu molekulu kinuklidin-3-ona nakon čega slijedi dehidratacija, shema 47. Iskorištenje reakcije je 30%.

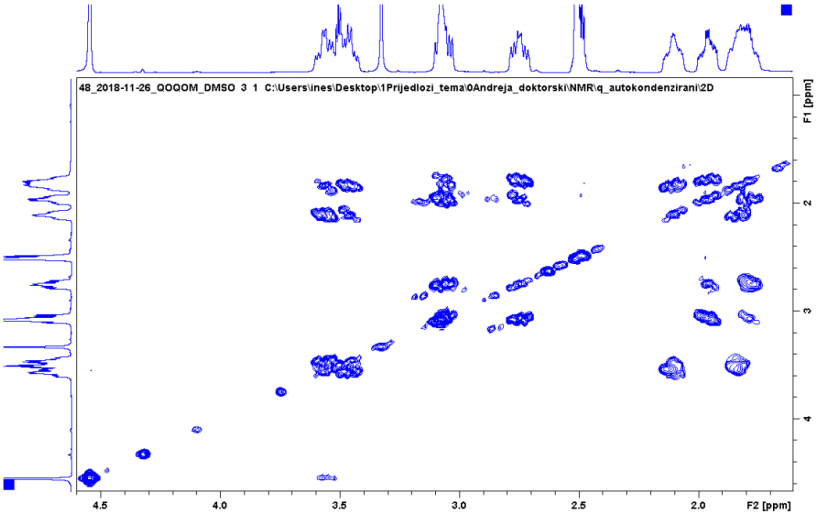


Shema 47. Sinteza oksima produkta autokondenzacije kinuklidin-3-ona.

U ovoj reakciji mogu nastati dva izomera s obzirom na dvostruku vezu. Iz literature je poznato da nastaje samo jedan izomer i to (*E*)-konfiguracije, jer su kod (*Z*)-izomera prisutne steričke smetnje, shema 48.[99] Analizom 1D i 2D NMR spektara nije uočeno postojanje dva izomera, slika 40.



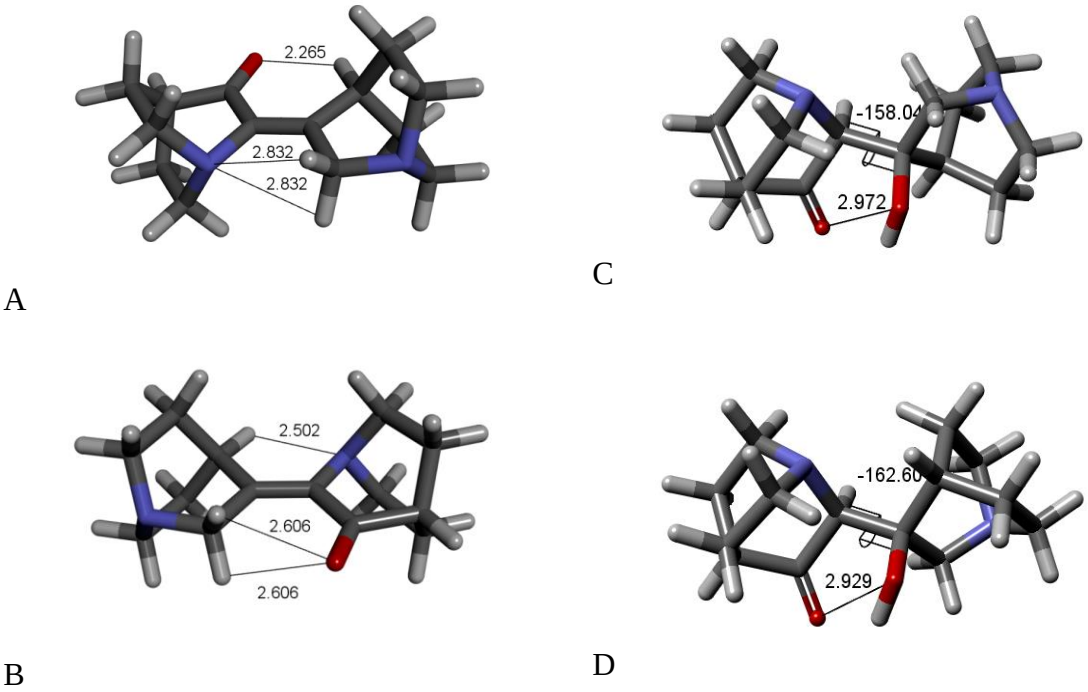
Shema 48. Pretpostavljene steričke smetetnje kod (*Z*)-izomera spoja **47**[99]



Slika 40. 2D COSY NMR spektar spoja **47**

Reakcija autokondenzacije kinuklidin-3-ona studirana je molekulskim modeliranjem korištenjem metode B3LYP-D3/6-311++G(d,p) u kvantno-kemijskom programu Gaussian 16.[100] Definirani su strukturni parametri (*E*) i (*Z*)-izomera spoja **47**, slika 41 A i B. Može se uočiti da je kod (*Z*)-izomera udaljenost između karbonilnog kisika i vodikovog atoma na položaju 4 drugoga kinuklidinskog sustava najbliža i iznosi 2,3 Å, dok su kod (*E*)-izomera najbliže pozicionirani dušikov atom kinuklidin-3-onskog sustava i vodikovog atoma na položaju 4 drugoga kinuklidina te iznosi 2,5 Å. No u oba spoja diedarski kut koji čine dvostruka veza i karbonilna skupina je 180° te ne postoje steričke smetnje koje bi uzrokovale da se dvostruka veza i karbonilna skupina ne pozicioniraju u istoj ravnini kako je navedeno u literaturi.[99] Stoga se može očekivati nastajanje oba izomera, i to više (*E*)-izomera (70%) budući da je niže enegije od (*Z*)-izomera.

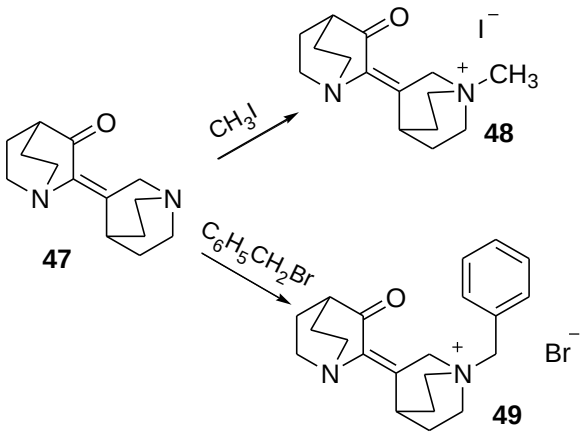
U reakciji nastajanja aldola kinuklidin-3-ona prvo nastaju četiri stereoizomera β-hidroksiketona budući da nastaju dva nova kiralna središta. Dijastereomeri koji nastaju prikazani su na slici 41 C i D. Molekulskim modeliranjem, korištenjem metode B3LYP-D3/ 6-311++G(d,p), određeni su konformeri najniže energije za oba dijastereomera. Može se uočiti su kod oba dijastereomera prisutne vodikove veze između hidroksilne skupine i kisikovog atoma karbonilne skupine (2,9 i 3,0 Å) te se α-proton do karbonilne skupine i hidroksilna skupina nalaze u jednako povoljnom položaju za eliminicijsku reakciju i nastanak dvostruke veze. Ovaj rezultat također sugerira da u reakciji mogu nastati oba geometrijska izomera, te postuliranu stereospecifičnost reakcije treba dodatno potvrditi.



Slika 41. Konformeri i **A**) (*Z*)-izomera i **B**) (*E*)- izomera spoja **47** te konformeri dijastereomera β-hidroksiketona **C**) i **D**) iz kojih nastaje spoj **47**dehidratacijom, određeni molekulskim modeliranjem. Međuatomske udaljenosti izražene su u Å (1Å=10^{-10} m), a diedarski kutevi u stupnjevima

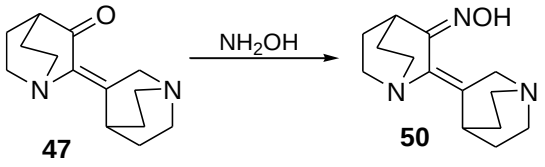
Aldol **47** Menshutkinovom je reakcijom kvaterniziran s metil-jodidom i benzil-bromidom te su dobiveni spojevi **48** i **49**. Reakcije su izvedene u suhom tetrahidrofuranu pri sobnoj temperaturi. Produkti su pročišćeni digeriranjem u dietil-eteru. Budući da je dušikov atom u heterocikličkom prstenu kinuklidin-3-ona sterički zasjenjen vodikovim atomima s

drugoga kinuklidinskog sustava, slika 41 A i B, dobiven je samo produkt monoalkiliranja dušika, shema 49.



Shema 49. Sinteza kvaternih produkata **48** i **49**.

Klasičnom sintezom oksima u otopini uz dodatak natrijevog acetata kao baze, pripravljen je oksim **50**, shema 50. U reakciji nastaje oksim uz iskorištenje od 35 %. Sinteza oksima mehanokemijskim putem nije bila uspješna.



Shema 50. Sinteza spoja **50**.

4.7. Biološka aktivnost novosintetiziranih spojeva

Biokemijski pokusi kojima je određen inhibicijski potencijal svih sintetiziranih karbamata prema kolinesterazama provedeni su u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, u Jedinici za biokemiju i organsku analitičku kemiju pod vodstvom dr. sc. Anite Bosak, zn. sur. Antimikrobni potencijal svih sintetiziranih oksima određen je na Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Mirjane Skočibušić i doc. dr. sc. Renate Odžak, a antimikrobni potencijal svih sintetiziranih amina pod vodstvom doc. dr. sc. Ane Maravić. Citotoksičnost amina prema zdravim humanim staničnim linijama određena je na Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu pod vodstvom doc. dr. sc. Matilde Šprung.

4.7.1. Biološka aktivnost oksima

Svim novosintetiziranim *N*-alkilnim derivatima 3-hidroksiiminokinuklidina **1**-**11** ispitana je antimikrobna aktivnost na široki spektar Gram-pozitivnih bakterija uključujući vrste *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Clostridium perfringens* i Gram-negativnih vrsta baketrija rezistentnih na antibiotike poput *Escherichia coli* FNSST 982, *Klebsiella pneumoniae* FNSST 011 i *Pseudomonas aeruginosa* FNSST 982 primjenom metode difuzije na disku. Kao pozitivne kontrole korišteni su antibiotici cefotaksim i gentamicin. Svi spojevi pokazuju umjerenu do jaku aktivnost prema testiranim sojevima bakterija, tablica 14. Srednje vrijednosti zona inhibicije testiranih spojeva u odnosu na sve bakterijske sojeve su u razmjeru od 6,2±1,3 do 29,9±1,3 mm. Od svih sintetiziranih spojeva najslabiju aktivnost pokazuje nesupstituirani spoj **1**. U slučaju alkilnog supstituenta na dušikovom atomu (spoj **2**) antimikrobna aktivnost se nije značajno promijenila. Međutim spojevi koji sadrže atom klora (**6** i **7**) ili broma (**10** i **11**) u *para* ili *meta* položaju vezanom za benzilnu skupinu pokazuju najjači antimikrobni potencijal prema testiranim sojevima bakterija. Razlog tome je u povećanju lipofilnosti molekule uvođenjem halogenih supstituenata u samu strukturu molekule. Od svih testiranih spojeva **11** pokazuje maksimalnu inhibitornu aktinost prema svim testiranim bakterijskim sojevima. Najjaču antibakterijsku aktivnost pokazuje prema sojevima *Pseudomonas aeruginosa* (29,8 ± 1,3 mm), nakon čega slijedi *Klebsiella pneumoniae* i *Bacillus cereus*.

Tablica 14. Antibakterijska aktivnost spojeva **1**-**11** određena metodom difuzije diska.

Spoj	Promjer zone inhibicije / mm					
	Gram-pozitivne bakterije			Gram-negativne bakterije		
	Bacillus cereus	*Enterococcus faecalis*	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*
1	> 256,00	> 256,00	> 256,00	> 256,00	> 256,00	> 256,00
2	9,9 ± 1,4	6,2 ± 1,3	9,3 ± 0,8	9,6 ± 1,1	8,4 ± 1,1	12,1 ± 1,8
3	12,1 ± 1,8	14,2 ± 2,1	15,7 ± 1,7	14,8 ± 1,2	16,1 ± 0,9	19,2 ± 1,4
4	10,4 ± 1,5	12,7 ± 1,4	13,5 ± 1,7	15,1 ± 1,2	13,7 ± 1,8	16,3 ± 1,5
5	16,1 ± 0,4	15,4 ± 1,2	18,1 ± 1,1	17,7 ± 0,9	14,7 ± 0,4	18,7 ± 0,9
6	18,2 ± 1,2	19,4 ± 1,8	20,8 ± 1,1	20,8 ± 2,1	19,8 ± 0,4	24,8 ± 1,7
7	16,8 ± 0,8	17,4 ± 1,7	17,2 ± 0,3	19,1 ± 1,5	18,1 ± 1,8	20,1 ± 2,1
8	10,8 ± 1,7	6,4 ± 2,1	9,5 ± 1,3	8,1 ± 1,2	7,5 ± 1,4	11,0 ± 0,8
9	7,8 ± 0,3	9,6 ± 1,2	11,4 ± 0,7	6,6 ± 1,1	8,6 ± 1,1	10,6 ± 1,1
10	23,5 ± 1,3	17,3 ± 2,4	27,2 ± 1,3	22,7 ± 0,8	24,7 ± 1,3	27,6 ± 1,7
11	24,0 ± 1,2	23,0 ± 1,4	21,0 ± 0,8	22,4 ± 0,9	25,1 ± 0,6	29,8 ± 1,3

Uspoređujući utjecaj položaja supstituenta u *meta* ili *para* položaju, pokazalo se da položaj supstituenata ne utječe značajno na antimikrobnu aktivnost. Testirani spojevi ne pokazuju samo aktivnost prema Gram-pozitivnim već i prema Gram-negativnim bakterijama. Antimikrobna aktivnost evaluirana je tako da je određena minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) novosintetiziranih spojeva. I u ovom slučaju su kao pozitivna kontrola upotrijebljeni antimikrobni spojevi gentamicin i cefotaksim. Rezultati su prikazani u tablici 15. Rezultati prikazuju izrazit odnos strukture i antimikrobne aktivnosti. Svi testirani spojevi pokazuju umjerenu do izrazito dobru antibakterijsku aktivnost prema testiranim sojevima bakterija s MIK vrijednostima od 0,25 do 256 μg/mL. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da monokvaternizirani derivati 3-hidroksiiminokinuklidina pokazuju bolja antimikrobna svojstva od nesupstituiranih analoga, izuzetak je **2**. Minimalna inhibitorna koncentracija je pokazala da spoj **11** pokazuju najjaču antibakterijsku aktivnost prema Gram-negativnim bakterijama sa MIK od 0,25 do 1,00 μg/mL. Spoj supstituiran atomom broma u *para* položaju pokazao je izvrsnu *in vitro* aktivnost protiv širokog raspona klinički važnih rezistentnih Gram-negativnih bakterija poput *Pseudomonas aeruginosa* (MIK = 0,25 μg /mL) *Klebsiella pneumoniae* (MIK = 0,50 μg /mL) što je 256 puta i 7,5 puta bolje nego gentamicin. Isto tako i spoj **6** pokazuje vrlo jaku sktivnost prema svim testiranim Gram-negativnim bakterijama sa MIK od 0,5 do 1,00 μg/mL.

Rezultati upućuju na to da derivati kinulidina preferiraju supstituente u *meta* u odnosu na *para* položaj. Nesupstituirani benzilni derivat **3** pokazuje najnižu inhibitornu aktivnost

MIK=256 μg/mL prema Gram-pozitivnim bakterijama soja *Staphyococcus aureus* kao i prema Gram-negativnim bakterijama. Vjeruje se da antimikrobni mehanizam kationskih biocida uključuje njihovu destruktivnu interakciju s vanjskom membranom i djeluje kao membranski permeabilizator.

Tablica 15. Antibakterijska aktivnost spojeva **1-11** izražena kao minimalna inhibitorna koncentracija MIK /μg mL^{-1}.

Spoj	MIK / μg mL^{-1}					
	Gram-pozitivne bakterije			Gram-negativne bakterije		
	B. cereus	*E. faecalis*	*S. aureus*	*E. coli*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*
1	> 256,00	> 256,00	> 256,00	> 256,00	> 256,00	> 256,00
2	128,00	256,00	128,00	128,00	256,00	128,00
3	64,00	64,00	32,00	16,00	16,00	8,00
4	64,00	32,00	32,00	16,00	64,00	32,00
5	32,00	16,00	16,00	32,00	32,00	16,00
6	4,00	2,00	1,00	1,00	2,00	0,25
7	8,00	4,00	4,00	4,00	8,00	2,00
8	64,00	128,00	64,00	128,00	256,00	32,00
9	128,00	64,00	64,00	256,00	128,00	128,00
10	1,00	8,00	12,50	25,00	50,00	0,50
11	1,00	4,00	2,00	1,00	0,50	0,25
Gentamicin	4,00	4,00	1,00	32,00	8,00	64,00
Cefotaxime	0,25	0,50	0,50	0,50	0,50	16,00

Smanjena propusnost, visokoučinkovite i raznovrsne efluks pumpe i povećana razina rezistencije velikog broja antibiotika čine *P. Aeruginosa* teškim za liječenje, zbog toga posljednjih godina raste interes za pronalaskom lijeka za tu vrstu patogena. Spojevi aktivni protiv Gram-negativnih organizmima moraju prevladati prodor vanjske lipidne barijere i izbjegavati efluks pumpe. Jedna od glavnih razlika u fizikalno-kemijskim svojstvima između lijekova koji djeluju protiv Gram-pozitivnih i Gram-negativnih patogena je liopofilnost.[101] Spoj **11** je okarakteriziran kao spoj visoke hidrofilnosti što je u skladu s lijekovima koji se koriste za liječenje bolesti uzrokovanih Gram-negativnim bakterijama.

Svim sintetziranim oksimima odredit će se i antidotski potencijal pri trovanju organofosfornim spojevima te odrediti mogućnosti *in vitro* reaktivacije fosforiliranih kolinesteraza.

4.7.2. Biološka aktivnost amina

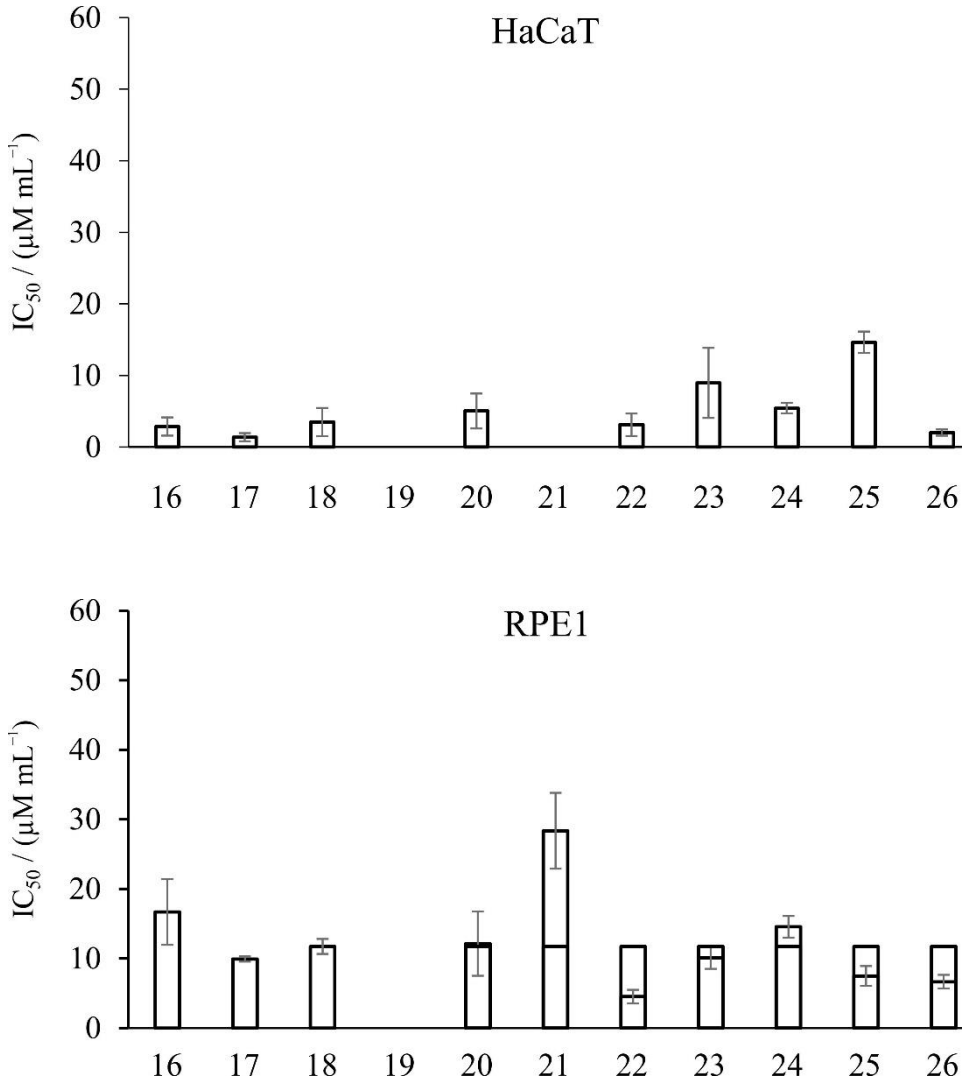
Svim sintetiziranim aminima **16-26** ispitana je antimikrobna aktivnost. Antimikrobna aktivnost spojeva određena je prema različitim sojevima Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija metodom mikrodilucije čime je određena minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) i minimalna baktercidna koncentracija (MBK) spojeva, tablica 16. Svi spojevi pokazuju vrlo široki spektar jake antimikrobne aktivnosti s MIK vrijednostima u rasponu od manjem od 1,95 pa do 3,9 μg/mL.

Tablica 16. *In vitro* antibakterijska aktivnost spojeva **16-26** izražena kao minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) i minimalna baktericidna koncentracija (MBK).

Spoj	*S. aureus ATCC*		*E. coli ATCC*	
	MIK/ μg mL^{-1}	**MBK/ μg mL^{-1}**	**MIK/ μg mL^{-1}**	**MBK/ μg mL^{-1}**
16	3,9	7,8	3,9	3,9
17	3,9	7,8	15,6	15,6
18	≤1,95		≤1,95	
19	≤1,95	7,8	3,9	3,9
20	≤1,95	7,8	≤1,95	
21	≤1,95		≤1,95	
22	≤1,95		≤1,95	
23	≤1,95		≤1,95	
24	≤1,95		≤1,95	
25	≤1,95		≤1,95	
26	≤1,95		≤1,95	

Budući da su spojevi pokazali izniman antibiotski potencijal, određena je i citotoksičnost spojeva na zdravim humanim staničnim linijama HaCaT i RPE1, slika 42. Odabrana je HaCaT stanična linija jer su to epitelne stanice kože (keratinociti), a budući da su novi spojevi potencijalna nova antimikrobna sredstva (antiseptici) važno je odrediti efekt na humane stanice. RPE1 su epitelne stanice retine i korištene su kao dodatni model zdravih humanih stanica. Spoj **19** nije pokazao toksičnost prema HaCaT i RPE1 stanicama u rasponu koncentracija od 50 do 100 μM/mL te spoj **21** prema HaCaT stanicama do koncentracije od 50 do 100 μM/mL.

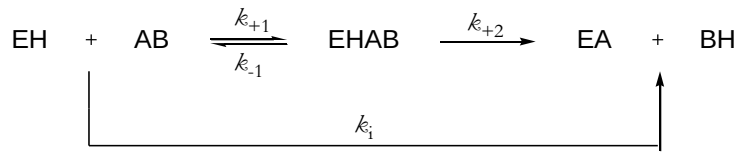
Na temelju svih rezultata, derivati 3-aminokinuklidina s dodecilnim alifatskim lancem na dušikovom atomu na položaju 3 mogu se smatrati perspektivnom novom klasom spojeva s antimikrobnim i antiproliferativnim svojstvima.



Slika 42. Citotoksičnost (IC_{50} / (μ mol dm^{-3} mL^{-1})) spojeva **16-26** za stanične linije HaCaT i RPE1. Spoj **19** nije pokazao toksičnost prema HaCaT i RPE1 stanicama u rasponu koncentracija od 50 do 100 μM/mL te spoj **21** prema HaCaT stanicama do koncentracije od 50 do 100 μM/mL.

4.7.3. Biološka aktivnost karbamata

Inhibicija AChE karbamatima i reakcija sa supstratom procesi su koji se međusobno razlikuju po brzinama pojedinačnih reakcija. Reakcijom AChE [EH] i karbamata [AB] nastaje adicijski kompleks [EHAB], a zatim slijedi nukleofilni napad serinskog kisika i nastaje karbamoilirani enzim [EA] i produkt [BH]. Progresivna inhibicija karbamatima može se opisati shemom 51: k_{+1} k_{-1} i k_2 konstante su brzine pojedinačnih reakcija, a k_i sveukupna konstanta brzine inhibicije. Hidroliza karbamoilirane AChE, u odnosu na jako brzu hidrolizu enzima acetiliranog supstratom, spora je reakcija. Vrijeme spontane hidrolize ($t_{1/2}$) *N*,*N*-dimetilkarbamoilirane AChE je oko 1 sat.[102]



Shema 51. Mehanizam karbamoiliranja enzima EH s karbamatom AB

Progresivna inhibicija AChE i BChE određena je mjerenjem vremenske ovisnosti inhibicije enzima s trinaest karbamata **27**-**39** i **42** te (*R*)- enantiomerom spoja **27**, tablica 17. Konstante brzine inhibicije prvog reda za određenu koncentraciju inhibitora ($k_{[AB]}$) određene su linearnom regresijskom analizom iz ovisnosti logaritma preostale aktivnosti enzima o vremenu inhibicije. Sveukupne konstante brzine inhibicije (k_i) određene su iz ovisnosti konstanti brzine inhibicije prvog reda ($k_{[AB]}$) o koncentraciji inhibitora, [AB]. Svi ispitivani karbamati pokazali su se ireverzibilnim inhibitorima obiju kolinesteraza koji oba enzima inhibiraju sa sveukupnim konstantama inhibicije (k_i) reda veličine 10^3 $dm^3mol^{-1}min^{-1}$. Najbrži inhibitor obiju kolinestraza bio je *N*,*N*-dietilni derivat **35** kojemu je kinuklidinski prsten supstituiran benzilnom skupinom. Zamjena *N*,*N*-dietilnih skupina *N*,*N*-dimetilnima usporava karbamoiliranje BChE oko 4 puta, dok daljnje povećanje supstituenta na karbaminskom dijelu molekule (*N*-fenil i *N*,*N*-difenil) čini se više nema utjecaja na brzinu karbamoiliranje budući da su brzine karbamoiliranja gotovo jednake.

Usporedbom sveukupnih brzina karbamoiliranja za AChE i BChE može se zaključiti da karbamati ne pokazuju naglašenu sklonost ni prema jednom od enzima budući da je najveću selektivnost pokazao je spoj **29** koji je BChE inhibirao oko 4 puta brže nego AChE. Testiran je i (*R*)-enantiomer spoja **27** koji se pokazao kao jedanko dobar supstrat kao i racemat.

Tablica 17. Progresivna inhibicija AChE i BChE iz plazme s karbamatima (*R*)-**27**, **27**-**39 i 42**.

Spoj	k_i 10^3/ $dm^3mol^{-1}min^{-1}$		$k_{i(BChE)}/k_{i(AChE)}$	$k_{i(AChE)}/k_{i(BChE)}$
	BChE	AChE		
27	0,85 ± 0,08	1,42± 0,09		1,67
(*R*)-27	0,93 ± 0,092	1,38 ± 0,1		1,48
28	0,87± 0,05	3,08 ± 0, 31		3,54
29	5,10±1,00	1,31±0,1	3,89	
31	2,07±0,64	1,44±0,15	1,44	
32	2,91±0,21	2,15±0,49	1,35	
33	0,91 ± 0,12	2,02± 0,12		2,22
34	1,07±0,07	1,94± 0,06		1,81
35	23,1± 3,9	24,3 ± 1,9		1,05
36	1,72± 0,23	1,57 ± 0,14	1,10	
37	1,39±0,38	1,38±0,06	1,01	
38	1,05± 0,12	1,3 ± 0,1		1,24
39	2,88 ± 0,23	1,15 ±0,03	2,50	
42	1,72± 0,01	1,13± 0,13	0,66	0,66

Budući da je iz literature poznato da su (*R*)-enantiomeri kinuklidina bolji supstrati kolinesteraza, optimizirane su geometrije za spojeve (*R*)- i (*S*)-**27** i (*R*)- i (*S*)-**28** unutar aktivnog mjesta enzima AChE. Kvantno-kemijski proračuni provedeni su korištenjem dvoslojne metode ONIOM(B3LYP-D3/6-31G(d):PM6). Izračunane standardne Gibbsove energije vezanja dane su u tablicama 18 i 19. Kod oba spoja kompleksi AChE i (*S*)-enantiomera značajno su više energije u odnosu na (*R*)-enantiomere. Razlike su 18,05 i 18,01 kJ mol^{-1} u korist (*S*)-**27** odnosno (*S*)-**28**. Tolika razlika u energijama vezanja ukazuje da se (*R*)-enantiomer jače veže od (*S*)-enantiomera i nakon toga slijedi reakcija. Statistički promatrano, (*R*)-enantiomeri će se vezati za nekoliko redova veličine puta češće od odgovarajućih (*S*)-enantiomera.

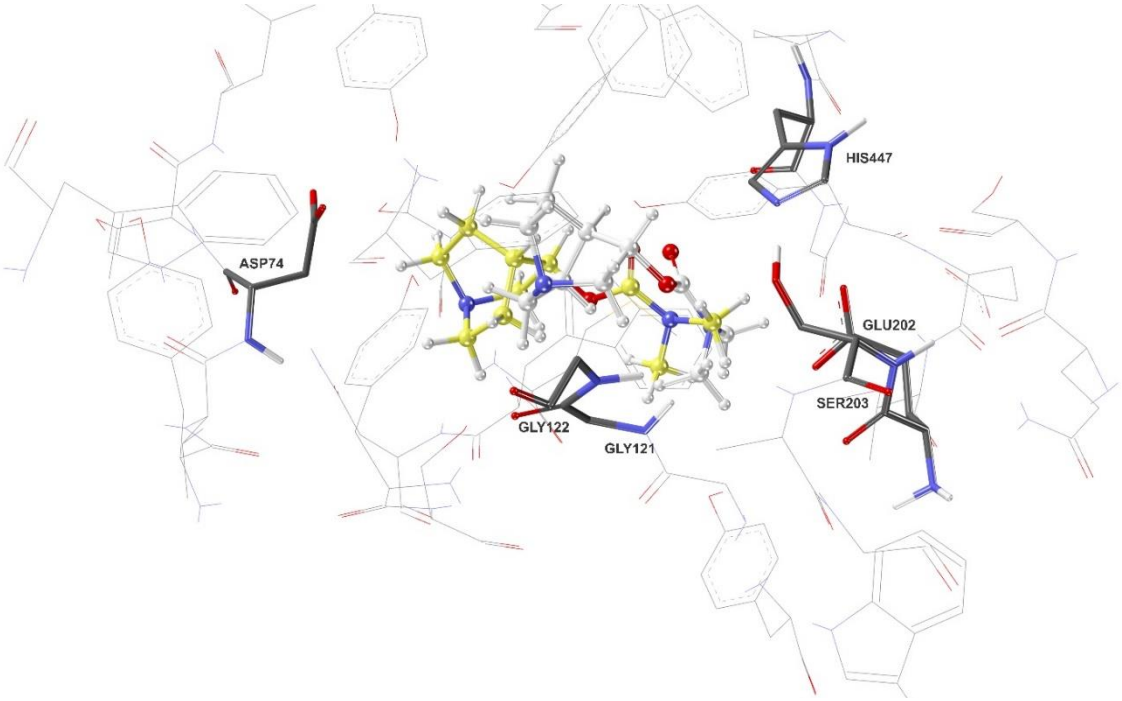
Tablica 18. Relativne standardne Gibbsove energije vezanja \Delta\DeltaGb° za optimizirane geometrije spojeva (*R*)- i (*S*)-**27** unutar aktivnog mjesta enzima AChE korištenjem dvoslojne metode ONIOM(B3LYP-D3/6-31G(d):PM6)

Spoj	Enzim	$\frac{\Delta\Delta G_b^\circ}{\text{kJ mol}^{-1}}$
(*R*)-**27**	AChE	0,00
(*S*)-**27**	AChE	18,05

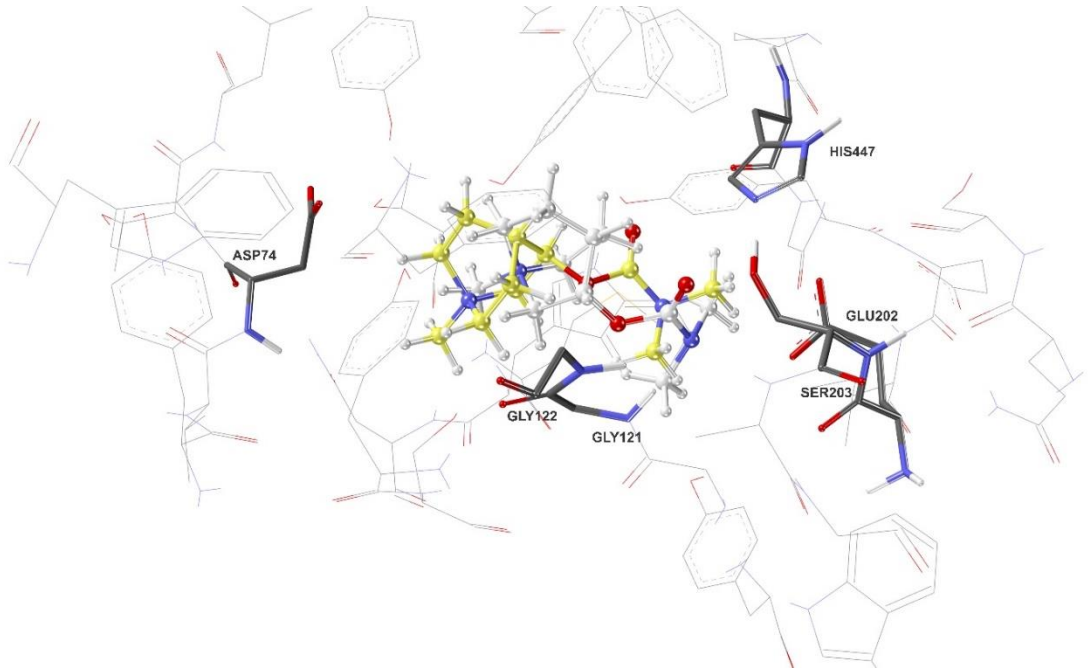
Tablica 19. Relativne standardne Gibbsove energije vezanja \Delta\DeltaGb° za optimizirane geometrije spojeva (*R*)- i (*S*)-**28** unutar aktivnog mjesta enzima AChE korištenjem dvoslojne metode ONIOM(B3LYP-D3/6-31G(d):PM6)

Spoj	Enzim	$\frac{\Delta\Delta G_b^\circ}{\text{kJ mol}^{-1}}$
(*R*)-**28**	AChE	0,00
(*S*)-**28**	AChE	18,01

Analizom struktura optimizirane geometrije spojeva (*R*)- i (*S*)-**27**, slika 43 i (*R*)- i (*S*)-**28**, slika 44 unutar aktivnog mjesta AChE može se zaključiti da je razlog stabilnijeg vezanja (*R*)-enantiomera vezan za usmjerenost dušikovoga atoma kinuklidinskoga prstena, odnosno supstituenta na njemu. Kod (*R*)-**28**, dušikov atom je pozitivno nabijen te blizina negativno nabijene aminokiseline ASP74 stabilizira pozitivan naboj.



Slika 43. Optimizirane geometrije spojeva (*R*)- i (*S*)-**27** unutar aktivnog mjesta enzima AChE korištenjem dvoslojne metode ONIOM(B3LYP-D3/6-31G(d):PM6): (*R*)-**27**: bijela boja, (*S*)-**27**: žuta boja. Vodikovi atomi na aminokiselinama nisu prikazani zbog jasnoće osim polarnih vodika na odabranim aminokiselinama prikazanim štapićastim modelom.



Slika 44. Optimizirane geometrije spojeva (*R*)- i (*S*)-**28** unutar aktivnog mjesta enzima AChE korištenjem dvoslojne metode ONIOM(B3LYP-D3/6-31G(d):PM6): (*R*)-**28**: bijela boja, (*S*)-**28**: žuta boja, vodikovi atomi na aminokiselinama nisu prikazani zbog jasnoće osim polarnih vodika na odabranim aminokiselinama prikazanim štapićastim modelom.

§ 5. ZAKLJUČAK

- Pripravljen je 3-hidroksiiminokinuklidin (**1**) te deset njegovih kvaternih derivata: *N*-but-3-il- (**2**), *N*-benzil- (**3**), *N*-(4-nitro)benzil- (**4**), *N*-(3-nitro)benzil- (**5**), *N*-(4-klor)benzil- (**6**), *N*-(3-klor)benzil- (**7**), *N*-(4-metil)benzil- (**8**), *N*-(3-metil)benzil- (**9**), *N*-(4-brom)benzil- (**10**), te *N*-(3-brom)benzil- (**11**). Spojevi **2**-**11** nisu do sada opisani u literaturi. Ispitana je mogućnost mehanokemijske sinteze oksima 3-kinuklidona, njegovoga *N*-metilnog kvaternog derivata **15**, 4-(dimetilamino)benzaldehida i njegovoga *N*-metilnog kvaternog derivata, (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)akrilaldehida i njegovoga *N*-metilnog kvaternog derivata, indolil-3-karbaladehida, indolil-5-karbaladehida, fenil-(piridin-2-il)-ketona, 3-acetilindola te 3-butiroilindola. Reakcije su izvođene s hidroksilamonijevim kloridom bez dodatka ili uz katalitičku količinu otapala te bez dodatka baze. Uspješno su sintetizirani svi aldoksimi osim kvarenih spojeva i indolil-3-karbaladehida, te ketoksim kinuklidin-3-ona. Pokazano je da se reakcije odvijaju i u slučaju protoniranih bazičnih dušikovih atoma karbonilnih spojeva, no sporije nego kada je prisutan neutralni spoj. Svi ostali oksimi pripravljeni su mehanokemijski uz dodatak piridina kao baze u reakcijama koje su trajale od 1-5 minuta, osim indolskih ketona.

- Pripravljen je 3-dodecilaminokinuklidin (**16**) te deset njegovih kvaternih derivata: *N*-metil- (**17**), *N*-benzil- (**18**), *N*-(3-nitro)benzil- (**19**), *N*-(4-nitro)benzil- (**20**), *N*-(3-klor)benzil- (**21**), *N*-(4-klor)benzil- (**22**), *N*-(3-metil)benzil- (**23**), *N*-(4-metil)benzil- (**24**), *N*-(3-brom)benzil- (**25**), te *N*-(4-brom)benzil- (**26**). Spojevi **17**-**26** nisu do sada opisani u literaturi. Pripravljen je i kiralni derivat amina (*S*)-**16**, te njegovi kvaterni spojevi (*S*)-**17** i (*S*)-**18**. Istražene su mogućnosti primjene spektroskopije nuklearne magnetske rezonancije (^{1}H NMR) za određivanje optičke čistoće pripravljenih spojeva upotrebom (*R*)-1,1'-bi-2-naftola kao kiralnog solvatirajućeg reagensa. Razdvajanje signala enantiomera opaženo je kod *N*-benzilnog derivata **18**, no separacija nije potpuna pa se na ovaj način ne može pouzdano odrediti optička čistoća spoja.

- Pripravljena su četiri karbamata kinuklidin-3-ola te petnaest njihovih kvaternih derivata. Pripravljen je 3-(*N*,*N*-dimetilkarbamoiloksi)kinuklidin (**27)** te pet njegovih kvaternih derivata: *N*-metil- (**28**), *N*-benzil- (**29**), *N*-(3-brom)benzil- (**30**), *N*-(4-klor)benzil- (**31**), *N*-(4-nitro)benzil- (**32**); 3-(*N*,*N*-dietilkarbamoiloksi)kinuklidin (**33)** te četiri njegova kvaterna derivata: *N*-metil- (**34**), *N*-benzil- (**35**), *N*-(3-brom)benzil- (**36**), *N*-(4-klor)benzil- (**37**); 3-(*N*-fenilkarbamoiloksi)kinuklidin (**38)** te četiri njegova kvaterna derivata: *N*-benzil- (**39**), *N*-(4-brom)benzil- (**40**), *N*-(3-metil)benzil- (**41**), *N*-(3-klor)benzil- (**42**); te 3-(*N*,*N*-difenilkarbamoiloksi)kinuklidin (**43)** te tri njegova kvaterna derivata: *N*-metil- (**44**), *N*-(3-brom)benzil- (**45**), *N*-(4-klor)benzil- (**46**). Spojevi **29, 30, 33, 35-37, 39-41, i 44-46** nisu do sada opisani u literaturi. Kiralni spoj (*R*)-**27** pripremljen je iz (*R*)-kinuklidin-3-ola koji je pripravljeni rezolucijom racemata s **L**-vinskom kiselinom. Molekulskim modeliranjem određene su geometrije pojedinih enantiomera spojeva **27** i **28**.

- Pripravljen je 2-(kinuklidin-3-iliden)kinuklidin-3-on (**47)**, njegova dva kvaterna derivata: *N*-metil- (**48)** i *N*-benzil- (**49)** te -ketoksim (**50**). Spojevi **48-50** do sada nisu opisani u literaturi. Ketoksim **50** nije bilo boguće pripremiti mehanokemijski. Struktura sintetiziranih spojeva studirana je 1D (^{1}H, ^{13}C) te 2D NMR (H,H–COSY, NOESY i HETCOR) spektrima te molekuskim modeliranjem.

- Svi spojevi pokazali su bioaktivnost. Oksimima i aminima definiran je antibiotski potencijal, a za karbamate su istražene interakcije s kolinesterazama. Molekulskim modeliranjem određen je najvjerojatniji način vezanja enantiomera spojeva **27** i **28** u aktivnom mjestu enzima AChE. Dobiveni rezultati za standardne Gibbsove energije vezanja pokazali su da se (*R*)-enantiomer veže u aktivno mjesto enzima bolje od (*S*)-enantiomera ($\Delta\Delta G_{\mathrm{b}}^{\circ}$ = 18 kJ mol^{-1}).

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

Kratica	Značenje
AChE	acetilkolinesteraza
ACh	acetilkolin
An	anilin
BChE	butirilkolinesteraza
DABCO	1,4-diazabiciklo[2.2.2]oktan
DEA	*N*,*N*-dietilamin
DIBAL	diizobutilaluminijev hidrid
DMAHCl	*N*,*N*-dimetilamin hidroklorid
DMF	*N*,*N*-dimetilformamid
DMSO	dimetil-sulfoksid
ILAG	ionima i tekućinom potpomognuto mljevenje (engl. *ion- and liquid assisted grinding*)
IM	imidazol
IR	infracrvena spektroskopija
LAG	tekućinom potpomognuto mljevenje (engl. *liquid assisted grinding*)
MeOH	metanol
NMR	nuklearna magnetska rezonancija
OP	organofosforni spojevi
PY	piridin
Sarin	propan-2-il-metilfosfonofluoridat
Soman	1,2,2-trimetilpropil-metilfosfonofluoridat
Tabun	etil-dimetilfosforoamidocijanidat
THF	tetrahidrofuran
TLC	tankoslojna kromatografija

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. *Nomenclature of Organic Chemistry: IUPAC Recommendations and Preferred Names* (Plava Knjiga), Cambridge: The Royal Society of Chemistry, doi:10.1039/9781849733069-FP001. ISBN 978-0-85404-182-4 2013. str. 169.
2. W. S. Hamama, O. M. Abd El-Magid, H. H. Zoorob *J. Heterocycl. Chem.* **43** (2006) 1397-1420.
3. C. E. Song, *Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis, Ligands, Immobilization and Organocatalysis*, Wiley, Weinheim, 2009, str. 1-9.
4. D.Balan; H. Adolfsson, *Tetrahedron Lett.* **44** (2003) 2521-2524.
5. S. D. Lahiri, M. R. Johnstone, P. L. Ross, R. E. McLaughlin, N. B. Oliver, R. A. Alm,, *Antimicrob. Agents Chemother.* **58** (2014) 5704-5713.
6. F. Y.Chan, N. Sun, Y. C. Leung, K. Y. Wong, *J. Antibiot.* **68** (2015) 253-258.
7. R.Gralla, M.Lichinitser, S. Van der Vegt, H.Sleeboom, J. Mezger, C. Peschel, G. Tonini, R. Labianca, A. Macciocchi, M. Aapro, *Ann. Onc.* **14** (2003) 1570-1577.
8. M. D. Mashkovsky, L. N. Yakhontov M. E. Kaminka, E. E. Mikhlina, *Progress in Drug Research* **27** (1983) 9-61.
9. G. H. Sterling, P. H. Doukas, C. Jackson, R. Caccese, K. J. O'Neill, J. J. O'Neill, *Biochem. Pharmacol.* **45** (1993) 465-472.
10. G. Amitai, I. Rabinovitz, G. Zomber, R. Chen, G. Cohen, R. Adani, L. Raveh, *Proceed. 5th Int. Symposium on Protection Against Chem. and Biol. Warfare Agents, Stocholm, Sweden,* (1995) 247-254.
11. D. Consalvo, W. Stahl, *J.Mol. Struct.* **1** (1998) 119-126.
12. M. V. Rubtsov, E. E. Mikhlina, L. N. Yakhontov *Russ. Chem. Rev.* **29** (1960) 37-51.
13. H. C. Brown, S. Sujishi, *J. Am. Chem.* Soc. **70** (1948) 2878.
14. K. Loffler; F. Stitzel, *Chem. Ber.***38** (1909) 124.
15. H. Pracejus, *Chem. Ber.* **98** (1965) 2897.
16. G. Clemo, T. Metcalfe, *J. Chem. Soc.(1937)* 989-991.
17. M. Sola, A. Ledos, M. Duran, J. Bertran, J. L.M. Abboud, *J. Am. Chem. Soc.* **113** (1991) 2873-2879.
18. S. H. Hansen, L.Nordholm, *J. Chromatogr.* **204** (1981) 97-101.

19. A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **61** (1996) 3849-3862.
20. E. M. Dangerfield, C.H. Plunkett, A. L. Win-Mason, B. L. Stocker, M. S. M. Timmer, *J. Org. Chem.* **75** (2010) 5470-5477.
21. K. B. Shaw, *Can. J. Chem. (1965)* 3264-3268.
22. G. E. de Kloe, K. Retra, M. Geitmann, P. Källblad, T. Nahar, R. van Elk, A. B. Smith, J. E. van Muijlwijk-Koezen, R. Leurs, H. Irth, U. H. Danielson, I. J. P. de Esch, *J. Med. Chem.* **53** (2010) 7192-7201.
23. A. Sivakumar, M. Zhang, J. L. Gabriel, M. Bencheriff, D. J. Canney, *Med. Chem.* **12** (2016) 574-584.
24. A. Kalir, E. Sali, E. Shirin, *Isr. J. Chem.* **9** (1971) 267-268.
25. L. H. Sternbach, S. Kaiser, *J. Am. Chem. Soc.*74 (1952) 2215-2218.
26. B. Ringdahl, R. S. Jope, D. J. Jenden, *Biochem. Pharmacol.* **33**(1984) 2819-2822.
27. M. Rehavi, S. Maayani, M. Sokolovsky, *Life Sci.* **21** (1977) 1293-1302.
28. B. Ringdahl, B. Resul, R. Dahlbom, *Acta Pharm. Suec.* **16** (1979) 281-283.
29. D. Takeshita, M. Kataoka, T. Miyakawa, K. Miyazono, S. Kumashiro, T. Nagai, N. Urano, A. Uzura, K. Nagata, S. Shimizu, M. Tanokura *AMB Express* **4** (2014) 1-10.
30. D. C. Muchmore, (Bend Research, Inc.). US Pat. Appl. US 5215918, 1993.
31. P. Bossard, (Lonza, Ltd.). Ger. Offen. DE 19715465, 1997.
32. L. Takacs, *Chem. Soc. Rev.* **42** (2013) 7649-7659.
33. K. Hiratsuka, C. Kajdas, *J. Engineering Tribology* **227** (2013) 1191-1203.
34. P. Baláž *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*, Springer Berlin Heidelberg, 2008.
35. J. L. Howard, Q. Cao, D.L. Browne, *Chem. Sci.* **9** (2018) 3080-3094.
36. J. L. Do, T. Friščić, *ACS Cent. Sci.* **3** (2017) 13-19.
37. T. Friščić, S. L. Childs, S. A. A. Rizvic, W. Jonesa, *Cryst. Eng. Comm,* **11** (2009) 418-426.
38. T. Friščić, D. G. Reid, I. Halasz, R. S. Stein, R. E. Dinnebier, M. J. Duer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49** (2010) 712-715.
39. M. Singh, M. Lakshman, *J. Org. Chem.* **74** (2009) 3079-3084.
40. D. Cinčić, I. Brekalo, B. Kaitner, *Chem. Commun.* **48** (2012) 11683-11685.
41. M. K. Beyer, H. Clausen-Schaumann, *Chem. Rev.* **105** (2005) 2921-2944.

42. A. Avdeef, *J. Pharm. Sci.* **82** (1993)183–190.

43. I. Damljanović, M. Vukićević, R. D. Vukićević, *Monatsh. Chem.* **137** (2006) 301-305.

44. A. Bosak, M. Katalinić, Z. Kovarik, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **62** (2011) 175-190.

45. M.E. Hasselmo, B. P. Anderson, J. M. Bower *J. Neurophysiol.* **67** (1992) 1230-1246.

46. S. B. Dunnett, B. J. Everit,T. W. Robbins *Trends Neurosci.* **14** (1991) 494-501.

47. G. K. Wilcock, M. M. Esiri, D. M. Bowen, C. C. Smith, *J. Neurol. Sci.* **57** (1982) 407-417.

48. C. P. Ferri, M. Prince, C. Brayne, H. Brodaty, L. Fratiglioni, M. Ganguli, K. Hall, K. Hasegawa, H. Hendrie, Y. Huang, A. Jorm, C. Mathers, P. R. Menzes, E. Rimmer, M. Scazufca, *Lancet* **366** (2005) 2112-2117.

49. LY. Sun, M. S. Lai, C. J. Lu, R. C. Chen, *Eur. J. Neurol.* ***15*** (2008) 278-283.

50. P. Raina, P. Santaguida, A. Ismaila, C. Patterson, D. Cowan, M. Levine, L. Booker, M. Oremus, *Ann. Intern. Med.* **148** (2008) 379-397.

51. Protein Data Bank (http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do)

52. J. L.Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, Y. Silman *Science* **253** (1991) 872-879.

53. G. Kryger, M. Harel, K. Giles, *Acta Crystallogr. D* **56** (2000) 1385-1394.

54. M. Cygler, J. D. Schrag, J. L. Susman, I. S. Harel, M. K. Gentry *Protein Sci. (1993)* 366-382.

55. A. Saxena, A. Redman, X. Jiang, O. Lockridge, B. P. Doctor, *Chem. Biol. Interact.***119-120** (1999) 61-69.

56. P. Taylor, Z. Radić, N. A. Hosea, S. Camp, P. Marchot, H. A. Berman, *Toxicol. Lett.* **282/283** (1995) 453-458.

57. A. N. Cokugras, *Turk. J. Biochem.***28** (2003) 54-61.

58. F. Nachon, P. Masson, Y. Nicolet, O. Lockridge, J. C. Fontecilla-Camps, *Comparison of structures of butyrylcholinesterase*, Martin Dunitz Ltd. London:, 2003, str. 39-45.

59. A. Ordentlich, C. Kronman, D. Barak, D. Stein, N. Ariel, D. Marcus, B. Velan, A. Shafferman, *FEBS Lett.* **334** (1993) 215-220.

60. A. Shafferman, A. Ordentlich, D. Barak, D. Stein, N. Ariel, B. Velan, *Biochem. J.* **318** (1996) 833-840.

61. A. Shafferman, D. Barak, C. Kronman, Y. Flashner, M. Leitner, Y. Segall, N. Ariel, S. Cohen, B. Velan *J. Biol. Chem.* **268** (1993) 17083-17095.

62. Z. Radić, N. A. Pickering, D. C. Vellom,S. Camp, P. Taylor *Biochemistry* **32** (1993) 12074-12084.

63. M. Goličnik, G. Šinko,V. Simeon Rudolf, Z. Grubič, J. Stojan, *J. Arch. Biochem. Biophys.* **398** (2002) 23-31.

64. Z. Radić, E. Reiner, P. Taylor, *Mol. Pharmacol.* **39** (1991) 98-104.

65. F. Hobbiger, *Brit. J. Pharmacol.* **6** (1951) 21-31.

66. B. Holmstedt, *Cholinesterase inhibitors:an introduction*, Martin Dunitz, London, 2000, str. 1-8.

67. I. Silman, *Structural studies on acetylcholinesteras*e, Martin Dunitz, London, 2000, str. 9-26.

68. E. Reiner, Z. Radić, *Mechanism of action of cholinesterase inhibitor*, Martin Dunitz, London, 2000, str. 103-119.

69. D. R. Ripoll, C. H. Faerman, P. H. Axelsen, I. Silman, J. L. Sussman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90** (1993) 5128-5132.

70. M. A. Yoshida, *Am. J. Hum. Genet.* **21** (1969) 486-498.

71. A. Bosak *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **57** (2006) 445-457.

72. A. Bosak, I. Primožič, M. Oršulić; S. Tomić, V. Simeon-Rudolf. *Croat. Chem. Acta* ***7*8** (2005) 121-128.

73. F. Worek, L. Szinicz, H. Thiermann, *Chem. Biol. Interact. (2005)* 349-352.

74. I. Primožič;T. Hrenar;S. Tomić ; Z. Meić, *Eur. J. Org. Chem.(2003)* 295-301

75. R.Odžak, S. Tomić, *Bioorg. Chem.* **34 (**2006)90-98.

76. B. Sakilde, I. Mikkelsen, T.B. Stensbal, B. Andersen, S. Ebdrup, P.Krogsgaard-Larsen, E. Falch, *Arch. Pharm. Med. Chem.* **329** (1996) 95-104.

77. A. Vale, M. Lotti, *Handb. Clin. Neurol. **131** (2015)* 149-168.

78. S. Darvesh, K.V. Darvesh, R. S. McDonald, D. Mataija, R. Walsh, S. Mothana, O. Lockridge, E. Martin, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 4200-4212.

79. M. Eddleston, L. Szinicz, P. Eyer, N. Buckley *QJM* **95** (2002) 275–283.

80. E. Horakova, P. Drabina, B. Brož, Š. Štepankova, K. Vorčakova, K. Kralovec, R. Havelek, M. Sedlak, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **31** (2016), 173-179.

81. M. N. Jokanović, *Toxicol. Lett.* **190** (2009) 107-115.

82. E. Groner, Y. Ashani, D. Schorer-Apelbaum, J. Sterling, Y. Herzig, *Mol. Pharmacol.* **71** (2007) 1610-1617.

83. V. Simeon-Rudolf, Z. Kovarik, Z. Radić, E. Reiner, *Chem. Biol. Interact.* **119** (1999)119-128.

84. I. Primožič, S. Tomić Pisarović, *Kem. Ind,* **53** (2004) 401-409.

85. A. Bosak, A. Ramić, T. Šmidlehner, T. Hrenar, I. Primožič, Z. Kovarik, PLoS ONE **1** (2018) 1-18.

86. C. Luo, A. Saxena, M. Smith, G. Garcia, Z. Radić, P. Taylor, B. P. Doctor, *Biochemistry* **38** (1999) 9937–9947.

87. Y. Ashani, A. K. Bhattacharjee, H. Leader, A. Saxena, B. P. Doctor, *Biochem. Pharmacol.* **66** (2003) 191–202

88. F. Worek, P. Eyer, N. Aurbek, L. Szinicz, H. Thiermann, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **219** (2007) 226–234

89. A.Lucić, B. Radić, M. Peraica, M. Mesić, I. Primožič, Z. Binenfeldarch, *Toxicol.***71** (1997) 467-470.

90. R. Bax, D. Griffin, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012, str 1-12.

91. R. J. Worthington, C. Melander, *Trends in Biotechnology, **31** (2013) 177–184.*

92. F. Y.Chan, N. Sun, Y. C. Leung, K. Y. Wong, *The Journal of Antibiotics* **68** (2015) 253-258.

93. E. A. Burilova, T. N. Pashirova, S. S. Lukashenko, A. S. Sapunova, A. D. Voloshina, E. P. Zhiltsova, J. R. Campos, E. B. Souto, L. Y. Zakharova, *J. Mol. Liq.* **272** (2018) 722-730.

94. M. Skočibušić, R. Odžak, Z. Štefanić, I. Križić, L. Krišto, O. Jović, T. Hrenar, I. Primožič, D. Jurašin, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **140** (2016) 548-559.

95. L. Bazina, A. Maravić, L. Krce, B. Soldo, R. Odžak, V. B. Popović, I. Aviani, I. Primožič, M. Šprung, *Eur. J. Med. Chem.* **163** (2019) 626-635.

96. R. Odžak, M. Šprung, B. Soldo, M. Skočibušić, M. Gudelj, A. Muić, I. Primožič, *Open Chem.* **15** (2017) 320-331.

97. W. H. Pirkle, *J. Am. Chem. Soc.* **88** (1966) 1837-1837.

98. F. Toda, K. Mori, A. Sato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **61** (1988) 4167-4169.

99. R. A. Sandmann, W, C. Jr. McHugh, *J Pharm Sci.* **66** (1977) 890-891.

100. Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

101. H. E. Moser, O'Shea R, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 2871-2878.

102. E. Reiner, *Bull. Wld. Hlth. Org.* **44** (1971) 109-112.

§ 8. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI:

Ime i prezime: Andreja Radman Kastelic

Datum i mjesto rođenja: 07. kolovoza 1987., Novo Mesto, Slovenija

E-mail: radman.andreja@gmail.com

RADNO ISKUSTVO:

2012.-danas	Samostalni istraživač, Istraživanje i razvoj lijekova, Krka d.d. Novo Mesto, Slovenija.
2011.-2012.	Pripravnik, Galapagos Ltd., Zagreb.

OBRAZOVANJE:

2014.-danas	Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet, poslijediplomski studij Kemija.
2009.-2011.	Magistra kemije; Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, diplomski studij Kemija-istraživački, smjerovi biokemija i organska kemija.
2006.-2009.	Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, preddiplomski studij Kemija.
2002.-2006.	Opća gimnazija Karlovac.

NAGRADE:

2011. Krkina nagrada za diplomski rad pod nazivom: *Priprava peptida s potencijalnom antitumorskom aktivnošću.*

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima:

- Odžak, Renata; Šprung, Matilda; Soldo, Barbara; Maravić, Ana; Bazina, Linda; Radman Kastelic, Andreja; Hrenar, Tomica; Primožič, Ines. Synthesis and biological activity of quaternary salts of 3-*N*-dodecylaminoquinuclidine JMMC 2019 –Joint Meeting on Medicinal Chemistry. Prag, 2019.

- Radman, Andreja; Odžak, Renata; Skočibušić, Mirjana; Primožič, Ines. An efficient procedure for the synthesis of bioactive indole oximes, *18th Tetrahedron symposium-New development in organic chemistry*, Programme book, Elsevier, 2017.

- Radman, Andreja; Odžak, Renata; Skočibušić, Mirjana; Primožič, Ines; Hrenar, Tomica. Preparation and bioactive conformations of quinuclidine ketoximes, *18th Tetrahedron symposium-New development in organic chemistry*, Programme book, Elsevier, 2017.

- Ramić, Alma; Radman, Andreja; Hrenar, Tomica; Primožič, Ines. Characterization of oximes containing heterocyclic aromatic and/or non-aromatic substructures, 25th Croatian Meeting of Chemists and Chemical Engineers Book of Abstracts, Šantić, Ana ; Đaković, Marijana (ur.). - Zagreb : Hrvatsko kemijsko društvo HKD/CCS, 2017.

- Sović, Karlo; Radman, Andreja; Primožič, Ines; Hrenar, Tomica. Postersko izlaganje, Conformational Analysis of β-Lactamase Inhibitors, 25th Croatian Meeting of Chemists and Chemical Engineers, Book of Abstracts / Šantić, Ana ; Đaković, Marijana (ur.). - Zagreb : Hrvatsko kemijsko društvo HKD/CCS. 2017.

Znanstveni radovi:

1. Radman Kastelic, Andreja; Odžak, Renata; Pezdirc, Iskra; Sović, Karlo; Hrenar, Tomica; Čipak Gašparović, Ana; Skočibušić, Mirjana; Primožič, Ines: New and potent quinuclidine based antimicrobial agents, *Molecules* **24** (2019) 2675-2692.

2. Radman, Andreja; Gredičak, Matija; Kopriva, Ivica; Jerić, Ivanka, Predicting antitumor activity of peptides by consensus of regression models trained on a small data sample. *International journal of molecular sciences* **12** (2011) 8415-8430.