



Univerzitet u Novom Sadu
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Departman za hemiju, biohemiju i
zaštitu životne sredine



Sinteza i biomedicinska ispitivanja novih
bioizostera stiril-laktona i antitumorskog
agensa tiazofurina

Doktorska disertacija

Mentor:

Dr Mirjana Popsavin

Kandidat:

Mr Miloš Svirčev

Ova disertacija je urađena u laboratoriji za hemiju prirodnih proizvoda i medicinsku hemiju, Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, pod mentorstvom prof. dr **Mirjane Popsavin**.

Profesorka Popsavin je bila ne samo glavni NMR analitičar i idejni tvorac sintetskih puteva koji su u radu opisani, nego vrlo često i eksperimentator, dobavljač pomoći u vidu ljudstva, opreme i hemikalija, psiholog, psihijatar, trener, kritičar, sagovornik, slušalac, uzor, kao i uvek pouzdani a vrlo često i glavni (i ponekad jedini) katalizator koji je spuštao energetske prepreke i olakšavao prevođenje polaznih jedinjenja u finalna. Ne postoje reči koje mogu da obuhvate moju zahvalnost prema njoj, i zato ih neću uzalud trošiti, ali se zato nadam da ću jednom biti u situaciji da svojim delima pokažem da njen ogroman trud i živci potrošeni na ovu tezu (i mene) nisu bili protraćeni.
Hvala Vam, profesorka.

Takođe, moju veliku zahvalnost imaju profesori i kolege:

Prof. dr **Velimir Popsavin**, dopisni član SANU, zbog velike i nezaslužene blagonaklonosti, prenesenog znanja, poverenja i strpljenja.

Dr **Vesna Kojić** (Institut za onkologiju Vojvodine, Sremska Kamenica), zbog pomoći pri određivanju biološke aktivnosti, kao i zbog interesovanja pokazanog za ovaj rad u vidu korisnih predloga.

Dr **Boris Popović** (Poljoprivredni fakultet), zbog posvećenog dragocenog vremena i sugestija.

Prof. dr **Svetlana Trivić**, zbog poverenja i velike pomoći pružene tokom pisanja poglavlja o IMPDH.

Kolege iz IHTM, Centra za hemiju pod nekadašnjim rukovodstvom dr **Vlatke Vajs**:

Dr **Milka Jadranić**, zbog neprocenjive pomoći pružene tokom maratonskih polarimetrijskih merenja, zbog snimanja mnogobrojnih (ispravnih!) TOF spektara, kao i zbog osmeha kojim je uvek dočekivala naše novosadske ekspedicije.

Dr **Snežana Trifunović**, zbog urađenih mikroanaliza.

Dr **Nina Todorović**, zbog snimljenih NMR spektara.

Dr **Biljana Božin** (Medicinski fakultet, Novi Sad), zbog ustupanja polarimetra.

Prof. dr **Vladimir Divjaković** i dr **Marko Rodić**, zbog urađenih rendgenostrukturnih analiza.

Dr **Žika Lepojević** i laborant **Slavica Ostojić** (Tehnološki fakultet, Novi Sad) zbog pozajmljenih hemikalija.

Dr **Aleksandar Pavić** (Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, LMGEM, Beograd) zbog in vivo toksikoloških testova, kao i zbog strpljenja i dobre volje pokazanih tokom pregovora o primopredaji uzoraka. Živele nam zebrice!

Dr **Kristina Tešanović** (Institut za biološka ispitivanja Siniša Stanković, Beograd), zbog posredovanja između Aleksandra i mene, kao i zbog ljudske topline i kolegijalnosti.

Dr **Tatjana Srdić-Rajić** (Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd), kao i dr **Gordana Bogdanović** i dr **Dimitar Jakimov** (Institut za onkologiju Vojvodine, Sremska Kamenica) zbog pomoći pri određivanju biološke aktivnosti.

Dr **Igor Opsenica** (Hemijski fakultet, Beograd), zbog predusretljivosti i pozajmljenih hemikalija.

Dr **Branislav Jović** i Ms **Branko Kordić**, zbog snimanja i tumačenja FTIR spektara.

Dr **Vukadin Leovac**, zbog ustupanja uređaja za određivanje tačke topljenja.

Prof. dr **Marija Sakač**, kao i cela Katedra za organsku hemiju na čelu sa prof. dr **Janošem Čanadijem**, zbog bliske saradnje i uvek spremne pomoći u vidu laboratorijskog pribora, hemikalija i dobronamernih saveta.

Dr **Srđan Bjedov**, zbog snimanja i tumačenja FTIR spektara, ali i gostoprimstva, kulinarskog umeća, popravki gitare, inspirativnih razgovora i prijateljstva.

Drage kolege zaposlene na projektu 172058 na čelu sa dr **Nedom Mimicom-Dukić**, i to u prvom redu dr **Dejan Orčić**, zbog pomoći u vidu laboratorijske opreme i hemikalija, kao i zbog poverenja, druženja i lepih trenutaka koje smo delili svih ovih godina.

Vredne, vesele i vokalne kolege iz laboratorije za hemiju prirodnih proizvoda i medicinsku hemiju:
Dr Bojana Srećo Zelenović, zbog iskrene naklonosti i drugarstva dugog kao put od Torina do Bergena (i dalje).

Dr Jovana Francuz, zbog snalažljivosti u svemu, rešavanja mojih problema, vedrog duha i vrcavog humora.

Dr Goran Benedeković, zbog dobrote, kapitalnog iskustva i spremnosti da ga uvek podeli sa mnom ("Imaš to u mojoj tezi").

Dr Ivana Kovačević, učenik, učenjak, učitelj i prijatelj, zbog neprebrojivog skupa razloga, između ostalog i zato što me još uvek uporno tretira kao svetu kravu, iako to nikada nisam zaista zaslužio.

Ms Jelena Kesić, **Ms Sanja Đokić** i **Ms Slađana Kekezović**, mladi, pametni i vredni izdanci naše laboratorije, zbog zarazne vedrine i entuzijazma.

Dr Saša Spaić, veliki i plemenit čovek, zbog toga što je bio (i ostao) taktičan, kolegijalan, vrlo duhovit i prebogot znanjem. Bilo je uživanje deliti laboratoriju sa njim.

Ms Kristina Bekvalac, **Ms Ivana Krstić** i viši laboranti **Ružica Marušić** i **Jasmina Erdei-Popović**, zbog dobrote, organizovanosti i divne saradnje koju smo imali na vežbama.

Dipl. hem. **Arcson Ottó**, zbog velike pomoći u rešavanju laboratorijskih problema koji su nadilazili moj IQ.

Dr Tatjana Pivac, prodekan za nastavu, svi zaposleni u studentskoj službi na čelu sa sjajnom **Tamarom Zorić**, kao i nekadašnji i trenutni zaposleni u Sekretarijatu departmana, **Neda Knežević**, **Jela Virijević**, **Ms Saša Horvat** i **Jelena Petrović**, zbog razumevanja i takta pokazanih u radu sa administrativno beznadežnim slučajevima poput mene.

Studenti, diplomci, masteri i doktorandi koji su me učili da budem bolji predavač i čovek.

Pored profesora i kolega, veliku zahvalnost dugujem i prijateljima i porodici koji su me bodrili, među kojima se izdvajaju:

Ratko i **Dušan Rakić** i **Nikola Odadžić**, STIG, zbog pametnih i inspirativnih razgovora, sparingovanja i prijateljstva. PKVS!

Željko Vučinić, **Ms Nemanja Nikolić**, **Slobodan Vilovski**, **Ms Milan Radičić** i **Nebojša Marković**, zbog navijanja, nerviranja, podrške, pobeda, poraza, prvih i poslednjih mesta, treninga, sparinga i drugarstva. Zbog našeg kolektiva. Vreme prolazi a mi sve jači. Napred **Senectus!**

Srđan Ercegan, zbog šetnji, razgovora, ispijanja piva, analiziranja i brušenja slike stvarnosti, poređenja i razmimoilaženja pogleda na svet, gajenja kritičkog stava i vraćanja psihe u normalu. Zbog toga što će mi uprkos svemu čuvati leđa kad svi drugi dignu ruke od mene. Uspeli smo, velepoštovani i uvaženi kume. Pređimo sada na nove projekte.

Ilona i **Jelena Jovin**, zbog toga što su moja porodica i saveznici.

Dragica i **Milenko Svirčev**, zbog žrtava koje su podneli i ljubavi koju su mi pružili.

Emilija Svirčev. Ti i ja protiv sveta, zauvek. I **Kukana**.

Duboko se klanjam.

Miloš Svirčev

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Opšti deo	2
2.1. Goniofufuron	2
2.1.1. Rod goniothalamus. Furano-furonski prirodni proizvodi	2
2.2. Pristupi sintezi furano-furonskog skeleta – THF prsten ³⁸	4
2.2.1. Oksi-Michael-ova ciklizacija	4
2.2.2. Oksidativna radikalna ciklizacija	6
2.2.3. S _N 2 supstitucija	6
2.2.4. Radikalna ciklizacija	7
2.2.5. Intramolekulska selenoeterifikacija alkena	7
2.2.6. Intramolekulska haloeterifikacija alkena	8
2.2.7. Ketalizacija	8
2.2.8. Reakcije katalizovane prelaznim metalima	11
2.3. Pristupi sintezi furano-furonskog skeleta – laktonizacija ³⁸	11
2.3.1. Intramolekulska transesterifikacija	11
2.3.2. Domino oksidacija/ketalizacija/oksidacija	12
2.3.3. Dieckmann-ova kondenzacija	12
2.3.4. Wittig-ova ciklizacija	13
2.3.5. RCM	14
2.3.6. Oksidativna laktonizacija	15
2.3.7. Oksidacija THF prstena pomoću RuO ₄	15
2.3.8. Metode zasnovane na formiranju i raskidanju tročlanih prstenova	16
2.4. Kombinovane/domino metode sinteze THF i laktonskog prstena ³⁸	17

2.4.1.	Kontrakcija prstena (translaktonizacija)	17
2.4.2.	Intramolekulska oksikarbonilacija	18
2.4.3.	Intramolekulska konjugovana domino adicija uz DBU	20
2.4.4.	Ozonoliza (Schreiber-ova metoda)	21
2.4.5.	Domino Wittig/laktonizacija/Michael-ova reakcija ili Wittig + domino laktonizacija/Michael-ova reakcija	21
2.4.6.	Laktonizacija/Michael-ova adicija	23
2.4.7.	Meldrum-ova reakcija	24
2.4.8.	Radikalska ciklizacija u THF/laktonizacija	25
2.5.	IMPDH.....	26
2.5.1.	Funkcija.....	26
2.5.2.	Humana IMPDH	27
2.6.	Tiazofurin.....	28
2.7.	Tiazolni prsten	30
2.8.	Pristupi sintezi tiazolnog prstena	32
2.8.1.	Hantzsch-ova ($C_2 + SCN$) i Tcherniac-ova (C_2SCN , $C_2S + CN$ i $C_2 + SCN$) sinteza	32
2.8.2.	Cook-Heilbron-ova sinteza ($C_2N + CS$)	34
2.8.3.	Gabriel-ova sinteza (C_2NCS i SC_2NC)	35
2.8.4.	Građenje tiazola iz propargil-bromida i tiouree ($SCN + C_2$)	38
2.8.5.	Građenje tiazola iz vinil bromida (C_2NCS).....	38
2.8.6.	Građenje tiazola iz α -nitroepoksida i derivata tiouree ($SCN + C_2$)	39
2.8.7.	Građenje tiazola iz α -halometil ketimina ($C_2N + CS$)	39
2.8.8.	Građenje tiazola iz oksima, anhidrida i tiocijanata ($C_2N + C + S$, SC_2NC).....	40
2.8.9.	Građenje tiazola iz ditiokarboksilata i metilen izocijanida ($CNC + CS$, CNC_2S)	41
2.8.10.	Građenje tiazola iz terminalnih alkina, sulfonil azida i tionoestara ($C_2N + SC$)	42

2.8.11. Građenje tiazola iz vinil azida i KSCN (C ₂ N + SC).....	43
3. Naši radovi.....	45
3.1. Sinteza jedinjenja 1-3 i 7-9	46
3.2. Alternativna sinteza jedinjenja 1, 2, 7 i 8	52
3.3. Sinteza jedinjenja 4-6	53
3.4. Sinteza jedinjenja 10 i 11 i alternativno dobijanje jedinjenja 6	56
3.5. Sinteza jedinjenja 12-15	57
3.6. Sinteza jedinjenja 16	62
3.7. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti jedinjenja 1-3 i 6-15	64
3.8. Uspostavljanje korelacionih odnosa između strukture sintetisanih jedinjenja i antiproliferativne aktivnosti (SAR)	68
3.9. Ispitivanje apoptotičke aktivnosti jedinjenja 12-15	74
3.10. Ispitivanje <i>in vivo</i> toksičnosti jedinjenja 6	78
4. Eksperimentalni deo.....	83
4.1. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropiliden- α -D-glukofuranoza (3.1).....	83
4.2. 3- <i>O</i> -Benzil-1,2:5,6-di- <i>O</i> -izopropiliden- α -D-glukofuranoza (3.2)	84
4.3. 3- <i>O</i> -Benzil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>ksilo</i> -pentodialdo-1,4-furanoza (3.3)	84
4.4. 2-((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)-2-hidroxiacetonitril (3.4)	84
4.4.1. Procedura A	84
4.4.2. Procedura B	85
4.5. (<i>R</i>)-((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)(cijano)metil benzoat (3.5a) i (<i>S</i>)-((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)(cijano)metil benzoat (3.5b)	86
4.5.1. Procedura A	86
4.5.2. Procedura B	86

4.5.3.	Procedura C	86
4.6.	Etil 2-((S)-((3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)-4,5-dihidrotiazol-4-karboksilat (3.7a) i 2-((R)-((3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)-4,5-dihidrotiazol-4-karboksilat (3.7b) 88	
4.6.1.	Procedura A	88
4.6.2.	Procedura B	88
4.7.	Etil-2-((S)-((3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksilat (3.8a), etil-2-((R)-((3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksilat (3.8b) i etil-2-(((3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)metil)tiazol-4-karboksilat (3.9).....	89
4.7.1.	Procedura A	89
4.7.2.	Procedura B	89
4.8.	Etil-2-((2S,3S,4S,5R)-4-(benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahidro-2H-piran-2-il)tiazol-4-karboksilat (3.10a).....	91
4.9.	Etil-2-((2R,3S,4S,5R)-4-(benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahidro-2H-piran-2-il)tiazol-4-karboksilat (3.10b).....	92
4.10.	Etil 2-(((2R,3R,4R)-3-(benziloksi)-4,5-dihidroksitetrahidrofuran-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (3.11).....	92
4.11.	Etil-2-((S)-((2R,3S,3aS,6aR)-3-(benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksilat (7).....	93
4.12.	Etil-2-((R)-((2R,3S,3aS,6aR)-3-(benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksilat (8).....	94
4.13.	Etil 2-(((2R,3S,3aS,6aR)-3-(benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (9).....	94
4.14.	Etil 2-((S)-hidroksi((2S,3S,3aR,6aR)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (1)	95

4.15.	Etil 2-((<i>R</i>)-hidroksi((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i>)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (2).....	96
4.16.	Etil 2-(((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i>)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (3).....	96
4.17.	(3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-5-((<i>R</i>)-2,2-Dimetil-1,3-dioksolan-4-il)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-6-il benzoat (3.12).....	97
4.18.	(3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-5-((<i>R</i>)-Cijano(hidroksi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-6-il benzoat (3.14a) i (3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-5-((<i>S</i>)-cijano(hidroksi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-6-il benzoat (3.14b).....	97
4.18.1.	Procedura A.....	97
4.18.2.	Procedura B.....	98
4.19.	2-((<i>S</i>)-Hidroksi((3 <i>aR</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-hidroksi-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)metil)tiazol-4-karboksamid (3.18a), 2-((<i>R</i>)-hidroksi((3 <i>aR</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-hidroksi-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)metil)tiazol-4-karboksamid (3.18b) i 2-(((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-hidroksi-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)metil)tiazol-4-karboksamid (3.19).....	99
4.20.	2-((<i>S</i>)-Hidroksi((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i>)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (4).....	101
4.21.	2-((<i>R</i>)-Hidroksi((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i>)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (5).....	101
4.22.	2-(((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i>)-3-Hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (6).....	102
4.22.1.	Procedura A.....	102
4.22.2.	Procedura B.....	102
4.23.	2-((<i>S</i>)-((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksamid (3.22a).....	103
4.24.	2-((<i>R</i>)-((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksamid (3.22b).....	104

4.25.	2-(((3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3- <i>d</i>][1,3]dioksol-5-il)metil)tiazol-4-karboksamid (3.23).....	104
4.26.	2-((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-4-(Benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahidro-2 <i>H</i> -piran-2-il)tiazol-4-karboksamid (3.24a).....	105
4.27.	2-((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-4-(Benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahidro-2 <i>H</i> -piran-2-il)tiazol-4-karboksamid 3.24b	105
4.28.	2-(((2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-3-(Benziloksi)-4,5-dihidroksitetrahidrofuran-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (3.25).....	105
4.29.	2-((<i>S</i>)-((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>aR</i>)-3-(Benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksamid (10).....	106
4.30.	2-((<i>R</i>)-((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>aR</i>)-3-(Benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksamid (11).....	106
4.31.	2-(((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,6 <i>aR</i>)-3-(Benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (3.26).....	107
4.32.	(3 <i>aR</i> ,3 <i>bS</i> ,7 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-2,2-Dimetiltetrahidro-7 <i>H</i> -[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-ol (3.29).....	107
4.32.1.	Procedura A.....	107
4.32.2.	Procedura B.....	108
4.33.	(3 <i>aR</i> ,3 <i>bS</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-2,2-Dimetiltetrahidro-7 <i>H</i> -[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-il benzoat (3.32) i (3 <i>aR</i> ,3 <i>bS</i> ,7 <i>S</i> ,7 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-2,2-dimetiltetrahidro-7 <i>H</i> -[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-il benzoat (3.33).....	108
4.34.	(4 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-7-Oksoheksahidro-4 <i>H</i> -furo[2',3':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-4-il benzoat (12).....	109
4.34.1.	Procedura A.....	109
4.34.2.	Procedura B.....	109
4.34.3.	Procedura C.....	109
4.35.	(3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-5-((<i>R</i>)-1,2-Dihidroksietil)-6-hidroksitetrahidrofuro[3,2- <i>b</i>]furan-2(3 <i>H</i>)-on (3.28)	110

4.35.1.	Procedura A	110
4.35.2.	Procedura B	110
4.36.	(4 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-4-Hidroksiheksahidro-7 <i>H</i> -furo[2',3':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-on (3.30a)	111
4.36.1.	Procedura A	111
4.36.2.	Procedura B	111
4.37.	(4 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-4-Fluoroheksahidro-7 <i>H</i> -furo[2',3':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-on (13)	111
4.38.	(4 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-4-Hloroheksahidro-7 <i>H</i> -furo[2',3':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-on (14)	112
4.38.1.	Procedura A	112
4.38.2.	Procedura B	112
4.38.3.	Procedura C	113
4.39.	(3 <i>aR</i> ,3 <i>bR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-7-Hloro-2,2-dimetiltetrahidro-7 <i>H</i> -[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin (3.31)	113
4.39.1.	Procedura A	113
4.39.2.	Procedura B	113
4.40.	(3 <i>aR</i> ,3 <i>bS</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-7-Azido-2,2-dimetiltetrahidro-7 <i>H</i> -[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin (3.34)	114
4.41.	(4 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i> ,8 <i>bR</i>)-4-Azidoheksahidro-7 <i>H</i> -furo[2',3':4,5]furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-7-on (15)	115
4.42.	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-5,5-Bis(etiltio)pentan-1,2,3,4-tetraol (3.37)	115
4.43.	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-5,5-Bis(etiltio)pentan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (3.38)	116
4.44.	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-5-Oksopentan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (3.39)	117
4.45.	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> , <i>E</i>)-5-(Hidroksimino)pentan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (3.40)	117
4.46.	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-1-Cijanobutan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (3.41)	117

4.47.	(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-1-(4-(Etoksikarbonil)-4,5-dihidrotiazol-2-il)butan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (3.42)	118
4.48.	(<i>S,E</i>)-4-(4-(Etoksikarbonil)tiazol-2-il)but-3-en-1,2-diol dibenzoat (3.43)	119
4.48.1.	Procedura A	119
4.48.2.	Procedura B	119
4.49.	(<i>S</i>)-4-(4-(Etoksikarbonil)tiazol-2-il)butan-1,2-diol dibenzoat (3.44) i etil 2-butiltiazol-4- karboksilat (3.45).....	120
4.50.	(<i>S</i>)-2-(3,4-Dihidroksibutil)tiazol-4-karboksamid (16).....	121
5.	Zaključak.....	122
6.	Summary.....	127
7.	Skraćenice.....	132
8.	Literatura	136
9.	Biografija.....	149

1. Uvod

Uprkos snažnoj antitumorskoj aktivnosti, neki prirodni proizvodi često ispoljavaju štetne sporedne efekte, pa se u cilju poboljšanja njihovih farmakoloških osobina pristupa optimizaciji koja podrazumeva sistematske promene njihove strukture. Prirodni ili sintetički proizvod koji je predmet optimizacije zove se osnovni molekul (*engl.* lead compound).

Rad medicinskih hemičara se zasniva na otkriću novih osnovnih jedinjenja sa specifičnim biološkim osobinama. Ovaj rad uključuje razvoj efikasnijih i bezbednijih analoga, kako iz poznatih tako i iz novih osnovnih molekula. Pod ovim se danas podrazumeva sinteza i testiranje na stotine jedinjenja pre otkrića odgovarajućeg novog leka. Procenjuje se da na svakih 10000 ciljano sintetisanih jedinjenja jedno postaje prikladno za kliničku upotrebu.¹

Goniofufuron (**GF**), jedan od značajnijih predstavnika prirodnih citotoksičnih furano-furonskih stiril-laktona, kao i njegovi derivati, zajedno sa derivatima sintetskog citotoksičnog tiazolnog C-nukleozida tiazofurina (**TF**) već duži niz godina se uspešno sintetišu u našoj laboratoriji.²⁻⁵

Istraživanja obuhvaćena ovom disertacijom usmerena su prvobitno na dobijanje hibridnih derivata **GF** i **TF**, tačnije 7-tiazolnih furano-furonskih struktura, a kao pogodan hiralni prekursor za ovu sintezu je predviđena D-glukoza.

Koristeći sporednu reakciju zatvaranja trećeg, dioksanskog prstena prilikom rutinske oksidacije izopropilidenskih derivata sa slobodnom C₃-OH grupom, zamišljeno je da se u nastavku broj sintetisanih finalnih furano-furonskih jedinjenja proširi za određen broj tricikličnih C-7 analoga koji mogu da se posmatraju kao kruti, defenilovani derivati **GF**.

Takođe, budući da je tokom dobijanja određenih derivata došlo do sporedne reakcije deoksigenacije u položaju C-7 (tj. C-5 u izopropilidenskim derivatima), predviđeno je da njen mehanizam bude ispitan na modelu sinteze prethodno već opisanog jedinjenja.^{6,7}

Jedan od završnih zadataka ove disertacije bilo je i ispitivanje *in vitro* citotoksičnosti finalnih jedinjenja, kao i samog antitumorskog mehanizma njihovog delovanja.

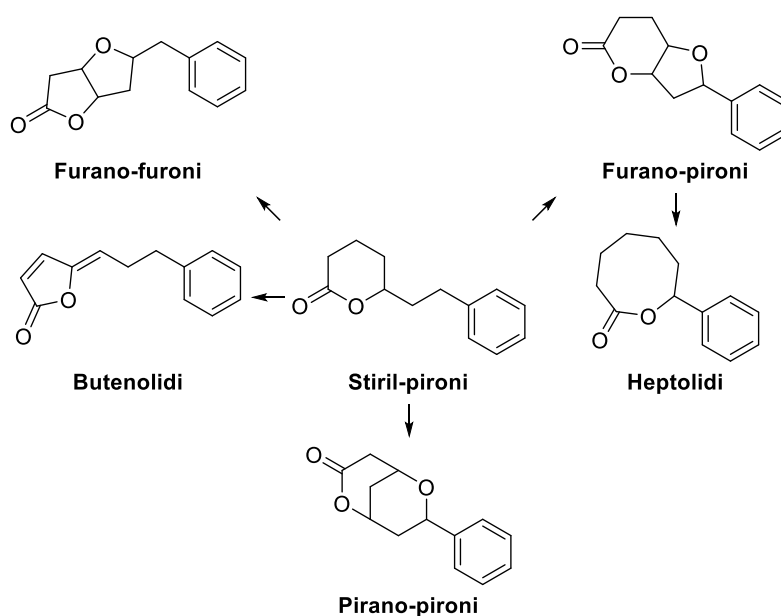
Konačno, zamišljeno je da se toksičnost najaktivnijeg finalnog jedinjenja ispita i *in vivo*, na modelu zebrice (*Danio rerio*).

2. Opšti deo

2.1. Goniofufuron

2.1.1. Rod goniothalamus. Furano-furonski prirodni proizvodi

Rod *Goniothalamus* (Annonaceae) se sastoji od oko 160 biljnih vrsta geografski uglavnom raspoređenih na području duž Indo-Malezije i Okeanije.⁸ Ove biljke su često korišćene u azijskoj tradicionalnoj medicini za tretiranje edema, reumatizma, groznice, analgezije i zapaljenja.⁹ Takođe, zabeležena je njihova upotreba kao abortifacijenata.¹⁰ Pored acetogenina i indolnih alkaloida, među najbitnije sastojke ekstrakata pripadnica ovog roda ubrajaju se i međusobno metabolički povezani stiril-laktoni (Slika 2.1).¹¹⁻¹³



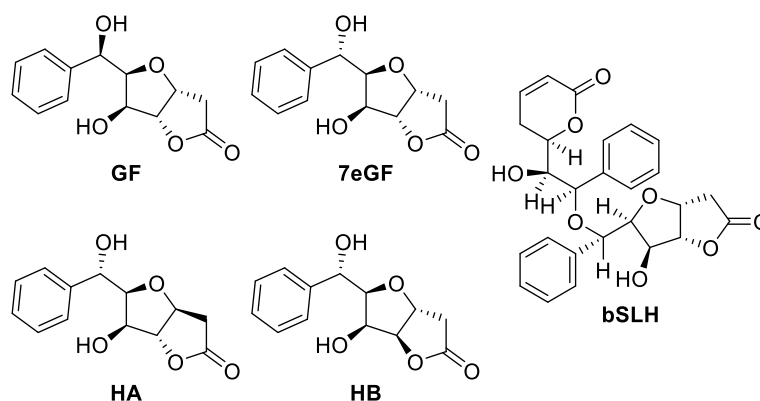
Slika 2.1. Klase i metabolička povezanost stiril-laktona.

Osobnost furano-furonskih stiril laktona, po kojoj su i dobili ime, je biciklični tetrahidrofuro[3,2-b]furan-2(3H)-onski sistem.^a

Goniofufuron (**GF**, Slika 2.2) je furano-furonski stiril-lakton izolovan iz kore stabla *G. giganteus* 1990. godine, a njegovo prisustvo potvrđeno je i u vrstama *G. arvensis* i *G. borneensis*.¹⁴⁻¹⁶ Epimer goniofufurona, (+)-7-*epi*-goniofufuron (**7eGF**, Slika 2.2), izolovan je takođe iz kore stabla *G. giganteus*,

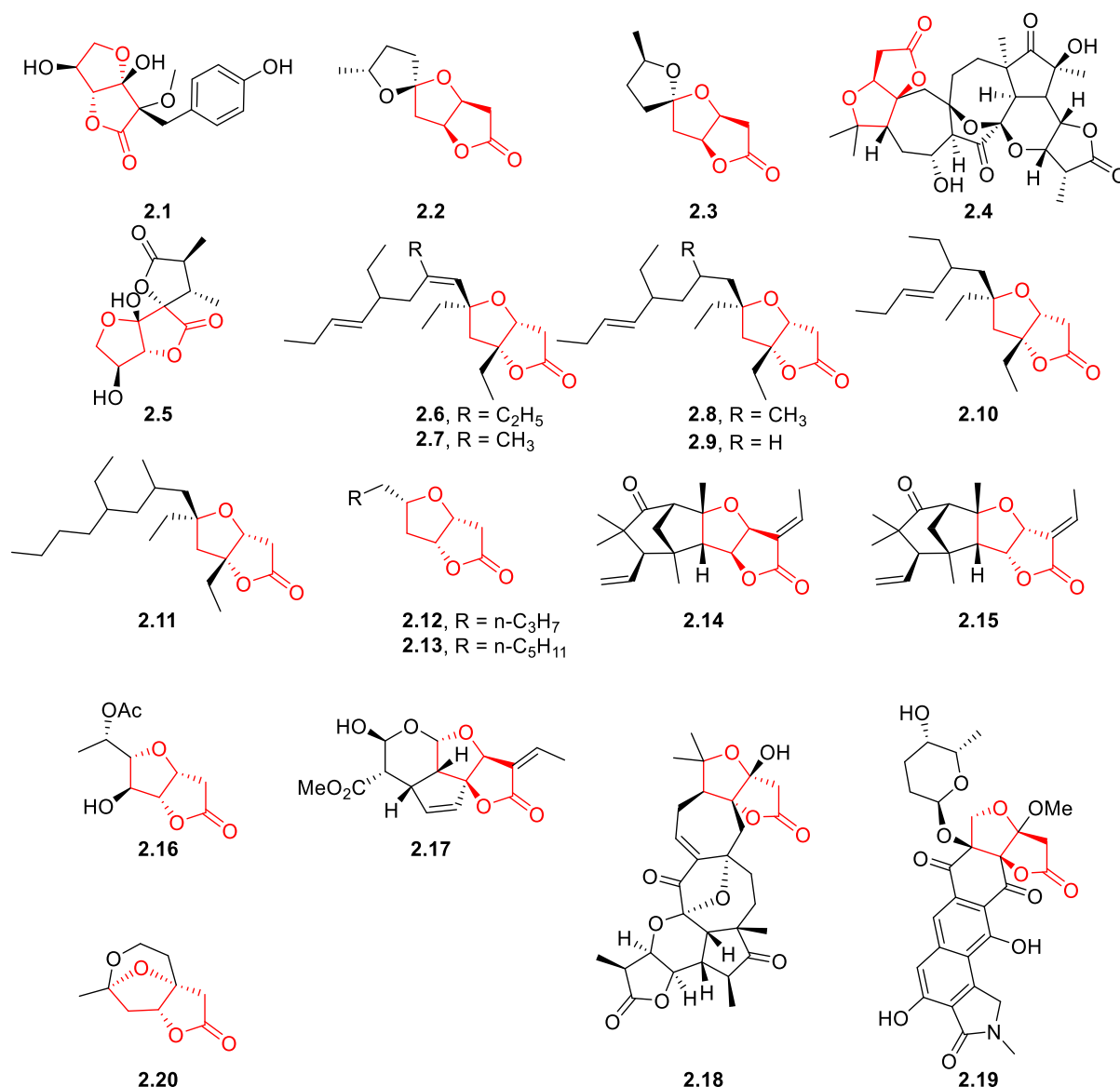
^a Alternativno: 3,6-anhidro-2-deoksialdono-1,4-laktonski sistem.

1991. godine.¹⁷ Tri novija furano-furona, (+)-helienzin A, (+)-helienzin B (**HA** i **HB**, respektivno, Slika 2.2) i bis-stiril-lakton H (**bSLH**, Slika 2.2) su 2011. godine izolovani od strane Jiang *et al* iz *G. cheliensis*.^{18,19}



Slika 2.2. Prirodni furano-furonski stiril-laktoni.

Iako se furano-furonska struktura relativno retko sreće u prirodi, mogu se izdvojiti određene vrste poput gljiva ili morskih organizama u među čijim prirodnim proizvodima su nađena jedinjenja sa ovakvim strukturnim motivom (Slika 2.3).



Slika 2.3. Prirodni furano-furoni: **2.1** deleserin,²⁰ **2.2** i **2.3** cefalosporolidi E i F,²¹ respektivno, **2.4** mikrandilakton A,²² **2.5** ptiptozidin,²³ **2.6-2.11** plakortoni A-E,^{24,25} respektivno, **2.12** i **2.13** laktone Hagenove žlezde,²⁶ **2.14** i **2.15** palavicinin i neopalavicinin,^{27,28} respektivno, **2.16** protulakton A,^{29,30} **2.17** alamanadin,³¹ **2.18** šindilakton A,³² **2.19** laktonamicin,^{33,34} **2.20** buergerinin G.³⁵

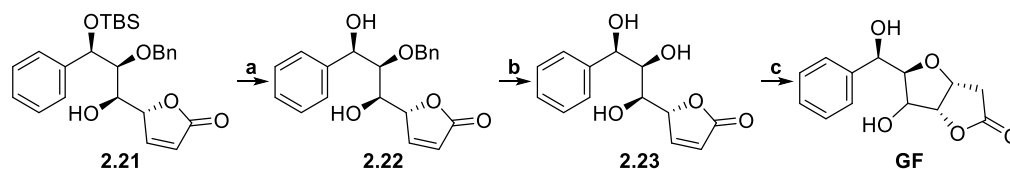
S obzirom da **GF** pokazuje značajnu *in vitro* citotoksičnu aktivnost prema nekim ćelijskim linijama poput mijelogene leukemije (K562), on predstavlja pogodnu polaznu strukturu za derivatizaciju i poboljšanje/proširenje biološke aktivnosti/selektivnosti.^{36,37}

2.2. Pristupi sintezi furano-furonskog skeleta – THF prsten³⁸

2.2.1. Oksi-Michael-ova ciklizacija

U sintezi furano-furonskog skeleta oksi-Michael-ova adicija je po pravilu intramolekulska adicija bazom aktivirane hidroksilne grupe na β -C enonskog sistema α,β -nezasićene karbonilne funkcije butenolidnog prstena.

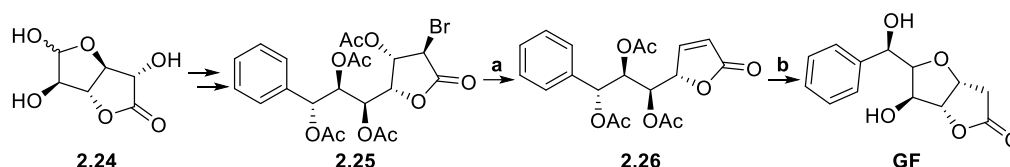
Grupa Hanaoka *et al.* je 1996. godine izvršila sintezu **GF** tako što je u pretposlednjoj fazi uklonjena benzilna zaštita sa butenolida (**2.22**), nakon čega je u poslednjem koraku došlo do oks-Michael-ove ciklizacije u baznoj sredini (Shema 2.1).³⁹



Shema 2.1. Reagensi i uslovi: (a) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2 / \text{CH}_3\text{CN}$, NaI, 0 °C, 30 min, 92%; (b) CH_2Cl_2 , SnCl_4 , st, 30 min, 99%; (c) TBAF/THF, st, 30 min, 87%.

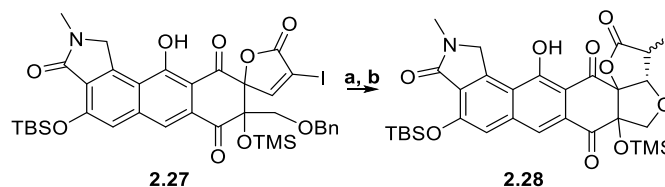
Zanimljivo je da je butenolid **2.23** u baznoj sredini podlegao izomerizaciji do stabilnijeg epimera (**2.127**, Shema 2.32) pre nego što je stupio u ciklizaciju.

Sličnu transformaciju butenolida u **GF** izvršili su i Li *et al.* 1998. godine tako što su prvo u pretposlednjoj fazi γ -butirolakton (**2.25**) podvrgli reduktivnoj eliminaciji do butenolida (**2.26**) da bi u poslednjem koraku uklonivši acetil estarsku zaštitu aktivirali C_6 -OH grupe što je dovelo do *in situ* zatvaranja furanskog prstena u kiselj sredini. Laktonski prsten je bio prisutan u polaznom jedinjenju, komercijalno dostupnom D-glukurono-6,3-laktonu (**2.24**, Shema 2.2).⁴⁰



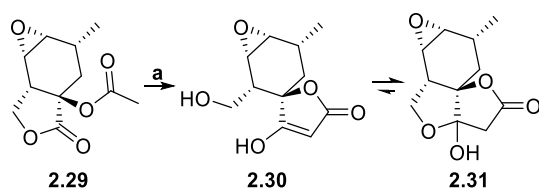
Shema 2.2. Reagensi i uslovi: (a) $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaHSO}_3/\text{Na}_2\text{SO}_3$, st, 3 h; (b) $\text{HCl}(\text{g})/\text{MeOH}$, st, 2 d, 44%.

U jednom od neuspelih pokušaja dobijanja heksacikličnog jezgra strukture laktonamicinona, heksacikličnog aglikona antibiotika laktonamicina (**2.19**, Slika 2.3), grupa Danishefsky *et al.* izvršila je oks-Michael-ovu adiciju debenzilovane hidroksilne grupe na enonski sistem (Shema 2.3).⁴¹ Zanimljivo je da reakcija nije tekla bez jodidnog supstituenta kao aktivatora enona (Shema 2.14).



Shema 2.3. Reagensi i uslovi: (a) BBr_3 , CH_2Cl_2 , -78 °C; (b) Al_2O_3 , CHCl_3 , 65%.

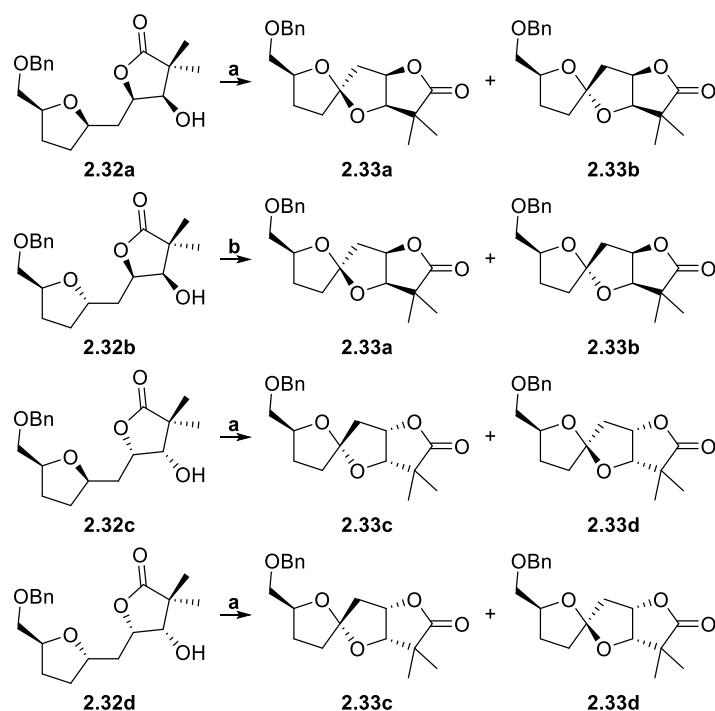
Oksi-Michael-ova ciklizacija spominje se i kao sporedna reakcija u radu grupe Maier *et al.* usmerenom ka sintezi skeleta spirotetronatnog antibiotika abisomicina, a struktura furanofuronskog proizvoda (**2.31**) potvrđena je rendgenostrukturalnom analizom (Shema 2.4).⁴²



Shema 2.4. Reagensi i uslovi: (a) LDA, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min \rightarrow st, 10 min, HCl (1 M), 81%.

2.2.2. Oksidativna radikalna ciklizacija

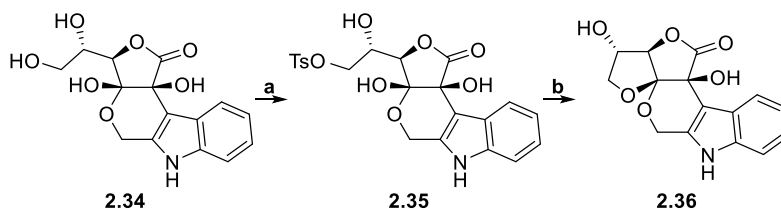
Jodosobenzen diacetat je reagens koji se koristi za sintezu spiroketala iz diola ili etarskih analoga pogodne konfiguracije,⁴³ a grupa Brimble *et al.* ga je upotrebila u reakciji sa diastereomernim laktonima **2.32a-b** i **2.32c-d** u prisustvu joda, dobivši tako četiri diastereomerna furanofuronska spiroketala (**2.33a-d**, Shema 2.5).⁴⁴



Shema 2.5. Reagensi i uslovi: $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, I_2 , CH_2Cl_2 , heksan, 75 W, 1 h, **2.33a:2.33b** (1:1), **2.33c:2.33d** (1:1), (a) 51%; (b) 52%.

2.2.3. $\text{S}_{\text{N}}2$ supstitucija

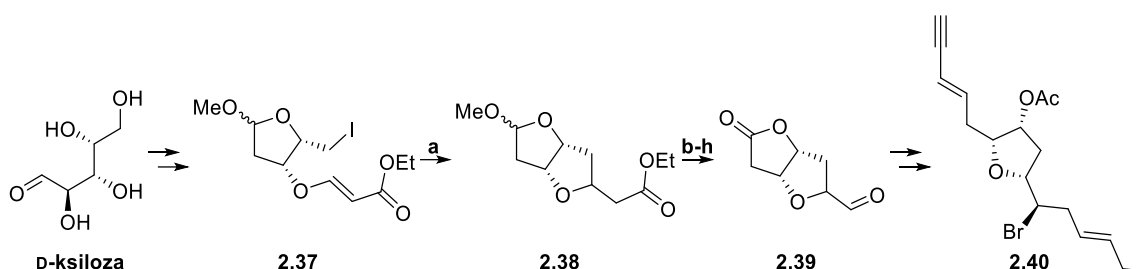
U sintezi usmerenoj ka dobijanju novih kondenzovanih tetrahidropiranoindolnih struktura kao gradivnih jedinica u daljoj sintezi određenih antiinflamatornih jedinjenja, grupa Preobrazhenskaya *et al.* je primetila prisustvo furanofurona (**2.36**) nakon prečišćavanja tozilata (**2.35**) na silikagelu (Shema 2.6).⁴⁵



Shema 2.6. Reagensi i uslovi: (a) TsCl, Py, st, 4 h; (b) SiO₂ (prep. TLC), 63% u odnosu na **2.34**.

2.2.4. Radikalaska ciklizacija

Koristeći u svojoj laboratoriji razrađenu metodu zatvaranja THF struktura iz β-alkoksiakrilata radikalnim ciklizacijama u prisustvu BuSnH,⁴⁶ grupa Lee *et al.* je u okviru sinteze (–)-trans-kumausina (**2.40**) iz D-ksiloze, uspela da dobije biciklični THF intermedijer (**2.38**) iz odgovarajućeg β-alkoksiakrilata (**2.37**, Shema 2.7).⁴⁷

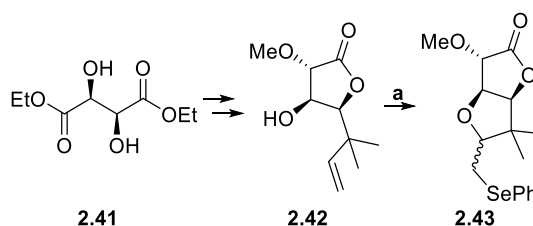


Shema 2.7. Reagensi i uslovi: (a) BuSnH, AIBN, C₆H₆, ↑↓, 4 h, 86%; (b) LAH, THF, 0 °C; (c) p-TsCl, Py, 0 °C; (d) PhSeNa, EtOH, ↑↓; (e) H₂O₂, EtOH, ↑↓; (f) Jones-ov reagens, aceton; (g) OsO₄, NMO, aceton/H₂O; (h) Pb(OAc)₄, Na₂CO₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 37% u odnosu na **2.38**.

U opisu daljih transformacija autori šturo navode da je **2.38** preveden u furano-furon (**2.39**) sedmofaznom sintetskom sekvencom.

2.2.5. Intramolekulska selenoeterifikacija alkena

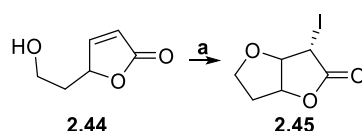
Koristeći metodu selenoeterifikacije nezasićenih alkohola pomoću N-fenilselenoftalimida razrađenu od strane Nicolau *et al.*,⁴⁸ grupa Rawal *et al.* je u svojoj studiji usmerenoj ka sintezi trioksidekalinskih gradivnih jedinica mikalamida i srodnih prirodnih proizvoda dobila furano-furonski fenilselena derivat u obliku smese diastereomera (**2.43**, Shema 2.8).⁴⁹



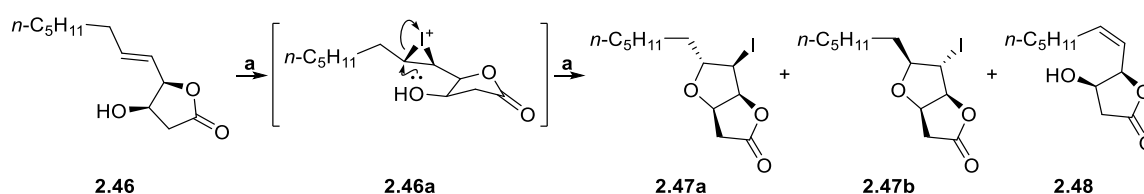
Shema 2.8. Reagensi i uslovi: (a) NPSP, CSA, CH₂Cl₂, st, 100% (1.1:1).

2.2.6. Intramolekulska haloeterifikacija alkena

Na veoma sličan način kao u prethodnom poglavlju, ciklizacijom nezasićenih alkohola ali u prisustvu joda, grupe Labelle i Guindon kao i Fernandes i Kattanguru uspele su da butenolidne (**2.44**, Shema 2.9) odnosno butirolaktonske (**2.46**, Shema 2.10) prekursore prevedu u odgovarajuće furanofurone (**2.45** i **2.47a,b**, respektivno).^{50,51}



Shema 2.9. Reagensi i uslovi: (a) NaHCO₃, I₂, THF, 0 °C, 30%.

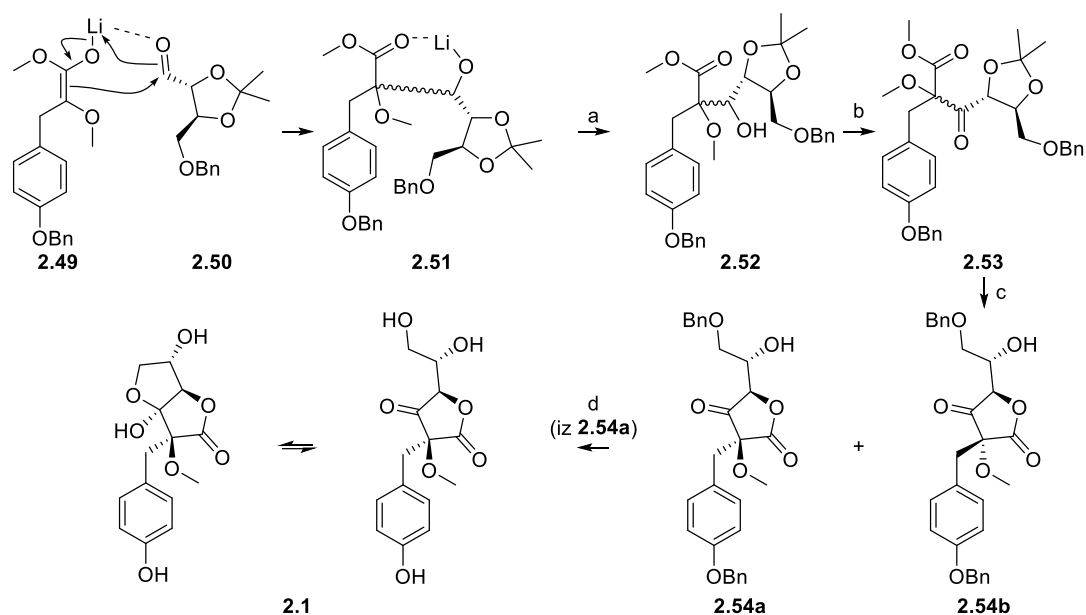


Shema 2.10. Reagensi i uslovi: (a) NaHCO₃, I₂, CH₃CN, 0 °C, 3 h, 68% (**2.47a**), 5% (**2.47b**), tragovi **2.48**.

2.2.7. Ketalizacija

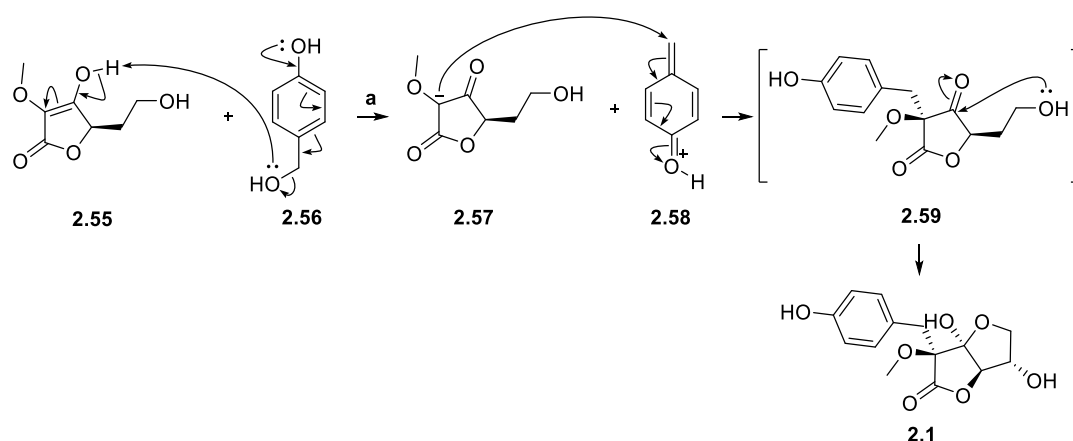
Seebach *et al.* su 1984. godine sintetisali deleserin, metabolit crvenih morskih algi (**2.1**, Slika 2.3).⁵² Kao polazna jedinjenja za građenje C-C veze autori su iskoristili litijum-enolat fenolnog derivata mlečne kiseline (**2.49**) i acetonid benzilovane^b L-treoze (**2.50**). Nastala četiri diastereomera (**2.52**) su oksidovana do dva diastereomerna β-keto estra (**2.53**), nakon čega je usledila hidroliza izopropilidenske funkcije praćena laktonezicijom, dajući dva diastereomerna keto-laktona (**2.54a** i **2.54b**). Hidrogenacijom i ketalizacijom koja je usledila, **2.54a** je preveden furano-furon deleserin **2.1**, za koji je primećeno da u rastvoru postoji u ravnoteži između furano-furonskog i oksilaktonskog oblika.

^b U originalnom radu autori su benzilnu grupu obeležili sa „Bz“ što je uobičajena oznaka za benzoil funkciju.



Shema 2.11. Reagensi i uslovi: (a) LDA u THF, $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$; (b) DMSO, $(\text{COCl})_2$, Et_3N , CH_2Cl_2 62% računato na **2.49**; (c) TsOH, MeOH, 91%. (d) Pd/C u MeOH, 90%.

Poss i Belter su 1987. godine sintetisali deleserin iz 2-O-metil-askorbinske kiseline (**2.55**, Shema 2.12).⁵³

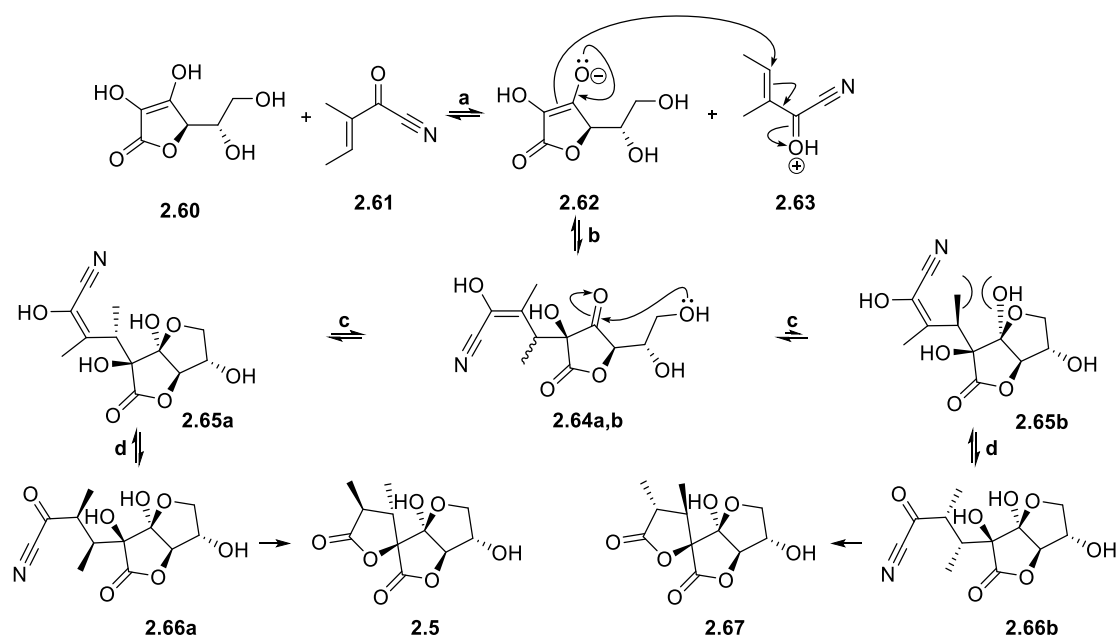


Shema 2.12. Reagensi i uslovi: (a) H_2O , $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3 dana, 80%.

U vodenom rastvoru **2.55** protonuje benzilnu^c OH-grupu 4-hidroksi-benzil-alkohola (**2.56**) usled čega se gradi katjon hinonskog metida (**2.58**), nakon čega sledi 5-egzo-trig⁵⁴ hemiketalizacija sa sterno nezaštićenije α -strane čime se dobija deleserin **2.1**.

Poss i Smyth 1987. godine na sličan način sintetisali piptoizidin (**2.5**, Slika 2.3) u reakciji vitamina C (**2.60**) sa tigloil-cijanidom (**2.61**, Shema 2.13).⁵⁵

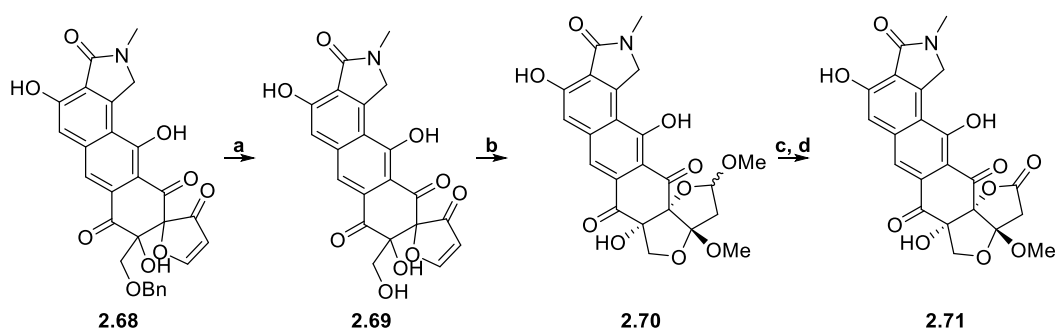
^c Fenolna funkcija je kiselija od benzilne i zato pod ovim uslovima ne podleže protonovanju.



Shema 2.13. Reagensi i uslovi: (a) H₂O, st, 36 h, 36% (**2.5** : **2.67** 4:1); (b) Michael-ova adicija; (c) ketalizacija; (d) tautomerizacija.

Građenje nove C-C veze je pratilo mehanizam Michael-ove adicije, nakon čega je usledila cikloadicija tj. hemiketalizacija čiji su rezultat bili hemiketali **2.65a** i **b**, koji su nakon povratne^d keto-enolne tautomerije podlegli intramolekulskoj cikloadiciji OH-grupe sa C-4 na karbonilni C-atom.

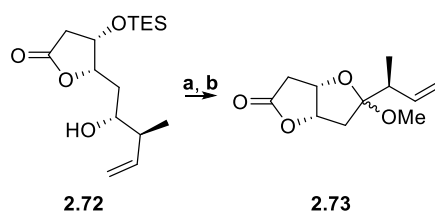
U već spomenutoj totalnoj sintezi laktonamicinona (poglavlje 2.2.1), grupa Danishefsky *et al.* morala je upravo da izgradi furano-furonski sistem iz već sintetisanog tetracikličnog skeleta.⁵⁶ U tome su i uspeali oslonivši se na reakciju ketalizacije, nakon koje je dobijena smesa ketala (**2.70**) hidrolizovana do anomernih laktola koji su podlegli oksidaciji dajući finalni proizvod (**2.71**, Shema 2.14).⁴¹



Shema 2.14. Reagensi i uslovi: (a) BBr₃, CH₂Cl₂, -78 °C; (b) HCl (4.0 N), dioksan/MeOH, 65 °C, 51% (u odnosu na **2.68**; takođe, reakcija je ponovljena sa regenerisanim **2.69**); (c) HCl (1 N)/THF, 100%; (d) TEMPO, Phi(OAc)₂, CH₂Cl₂, 58%.

^d Zapravo, prve četiri faze sinteze su reverzibilne. Autori su mnogo veći prinos ptiptozidina u odnosu na epimerno jedinjenje **2.67** pripisali nepovoljnim sternim interakcijama između metil-grupe na C-3 i OH-grupe na C-5 jedinjenja **2.65b**, zbog čega su pretpostavili da su ravnoteže u toj sintetskoj grani pomerene ka polaznim jedinjenjima.

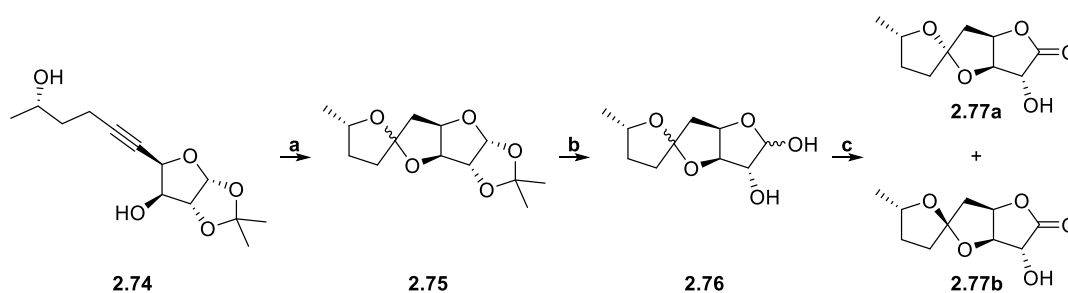
U totalnoj sintezi dela jezgra heksacikličnog poliketida spirastelolida A, grupa Paterson *et al.* je u jednoj etapi posegnula za ketalizacijom kao oruđem za kondenzaciju THF prstena na već postojeći lakton (**2.72**, Shema 2.15).⁵⁷



Shema 2.15. Reagensi i uslovi: (a) DMP, NaHCO₃, CH₂Cl₂; (b) PPTS, MeOH, 50 °C, 88%.

2.2.8. Reakcije katalizovane prelaznim metalima

Princip spiroketalizacije katalizovane paladijumom razrađen od strane Utimoto-a⁵⁸ primenila je grupa Ramana *et al.* u totalnoj sintezi cefalosporolida E i F (**2.2** i **2.3**, Slika 2.3) 2009. godine.⁵⁹

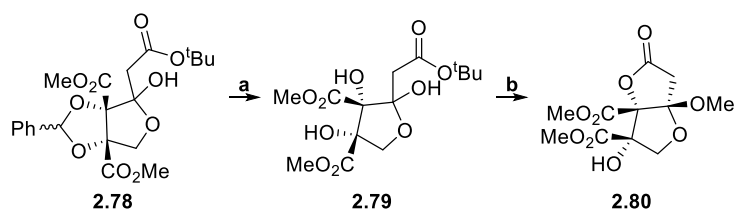


Shema 2.16. Reagensi i uslovi: (a) Pd(CH₃CN)₂Cl₂, CH₃CN, st, 4 h, 62% (1:1); (b) 40% AcOH, 80 °C, 4 h, 65%; (c) Ag₂CO₃/celit, toluen, ↑↓, 3 h, 77%.

2.3. Pristupi sintezi furano-furonskog skeleta – laktonizacija³⁸

2.3.1. Intramolekulska transesterifikacija

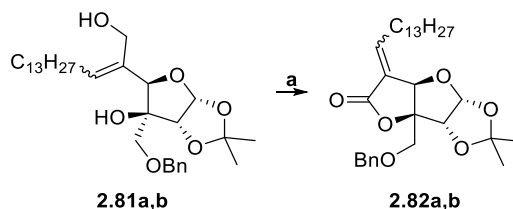
U nastojanju da sintetiše furano-furonski sistem prstenova karakterističan za laktinomicin, grupa Kelly *et al.* je u poslednjem koraku planiranog sintetskog puta izvršila laktonizaciju estera (**2.79**) u prisustvu CSA (Shema 2.17).⁶⁰



Shema 2.17. Reagensi i uslovi: (a) H₂, Pd/C, MeOH, st, 24 h; (b) CSA, MeOH, ↓↑, 24 h, 63% (iz **2.78**).

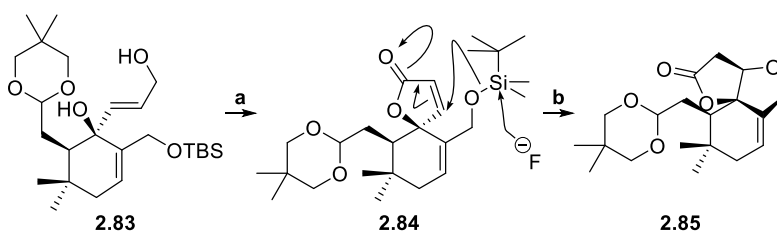
2.3.2. Domino oksidacija/ketalizacija/oksidacija

Koristeći prisustvo povoljno orijentisane sekundarne OH grupe u izomerima **2.81a** i **b**, grupa Marquez *et al.* je oksidovavši terminalnu OH grupu do karbonilne pokrenula ketalizaciju nakon koje je novonastali laktol odmah podlegao novoj oksidaciji do laktona (**2.82a,b**, Shema 2.18).⁶¹



Shema 2.18. Reagensi i uslovi: (a) MnO_2 , CH_2Cl_2 , st, 36 h, 94%.

Inspirisani domino sekvencom oksidacija/ketalizacija/oksidacija, Mehta i Bhat su 2009. godine u toku sinteze tricikličnog jezgra neovibsanina A i B izgradili butenolidnu strukturu (**2.84**) koja je u sledećem koraku izložena oks-Michael-ovoj adiciji dajući furano-furonski motiv (**2.85**, Shema 2.19).⁶²

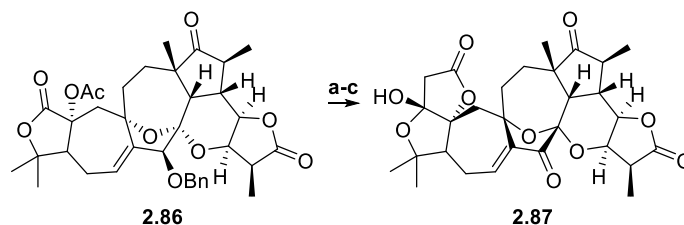


Shema 2.19. Reagensi i uslovi: (a) MnO_2 , CH_2Cl_2 , st, 24 h, 92%; (b) TBAF, THF, st, 20 min, 88%.

Kao alternativni oksidansi u literaturi su zabeleženi i sistemi TEMPO/ $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ ^{63,64} kao i NaIO_4/NIS .⁶⁵

2.3.3. Dieckmann-ova kondenzacija

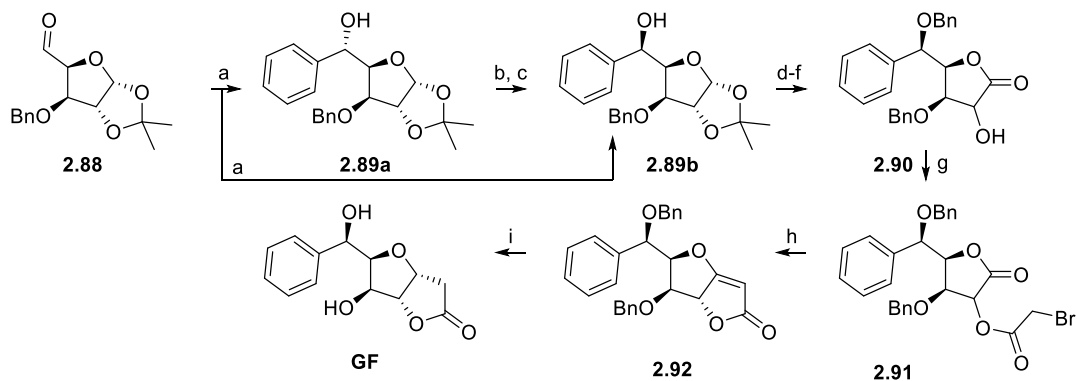
Grupa Yang *et al.* je ostvarila prvu totalnu sintezu šindilaktona A (**2.18**, Slika 2.3) 2011. godine tako što je u pretposlednjem koraku izgradila laktonski prsten iz diestra (**2.86**) Dieckmann-ovom kondenzacijom (Shema 2.20).^{66,67}



Shema 2.20. Reagensi i uslovi: (a) $\text{Pd}(\text{OH})_2$, H_2 , EtOAc, st, 1,5 h, 90%; (b) LiHMDS, THF, $-78^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 1 h; (c) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , st, 1 h, 60 (za 2 koraka).

2.3.4. Wittig-ova ciklizacija

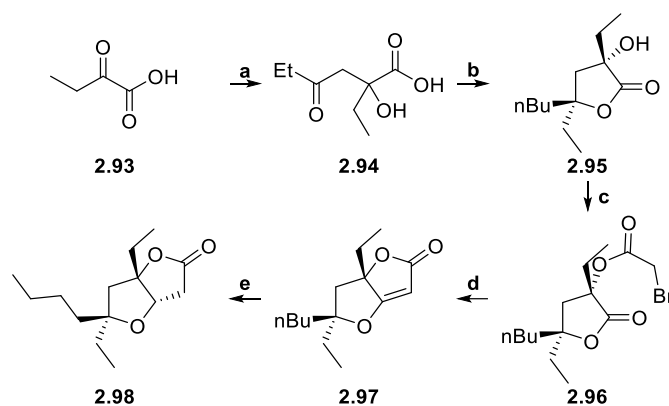
Murphy je 1992. godine objavio prvu totalnu sintezu **GF**, polazeći iz aldehidnog derivata 3-*O*-benzil-1,2-*O*-izopropiliden- α -D-ksilofuranoze (**2.88**, Shema 2.21).^{68,69}



Shema 2.21. Reagensi i uslovi: (a) PhMgBr, Et₂O, $\uparrow\downarrow$, 78%; (b) PCC, CH₂Cl₂; (c) NaBH₄, CeCl₃·7H₂O, MeOH, -78 °C, 67%; (d) BnBr, THF, NaH, 87%; (e) CF₃CO₂H/H₂O (7:3), 85%; (f) Br₂, BaCO₃, dioksan, H₂O, 54%; (g) BrCOCH₂Br, Py, Et₂O, 87%; (h) PPh₃, MeCN, DBU, $\uparrow\downarrow$, 30 min, 88%; (i) H₂, Pd/C (10%), 58%.

Aldehidna grupa jedinjenja **2.88**, dobijenog u 4 faze iz D-glukoze,⁷⁰ podvrgnuta je Grignard-ovoj adiciji, nakon čega je dobijena smeša epimernih alkohola (**2.89a** i **b** u odnosu 14:1, respektivno). Nepovoljni odnos epimera je poboljšan kombinacijom dve oksido-redukcijske faze pri čemu su **2.89a** i **2.89b** dobijeni u odnosu 1:8. Nakon prevođenja hidroksilne grupe na C-5 u odgovarajući benzil-etar i hidrolize izopropilidenske zaštite, usledila je oksidacija hemiacetalnog ugljenika čime je dobijen α -hidroksi-butanololakton (**2.90**), koji je odmah povrnut bromoacetilovanju čime je izgrađen α -bromoestar (**2.91**), koji je zatim podlegao Wittig-ovoj ciklizaciji dajući butenolidnu strukturu (**2.92**), naknadno hidrogenovanu do **GF**.

Murphy *et al.* su 1999. godine primenili Wittig-ovu ciklizaciju i na sintezu potencijalnih prekursora/analoga plakortona (Shema 2.22).⁷¹

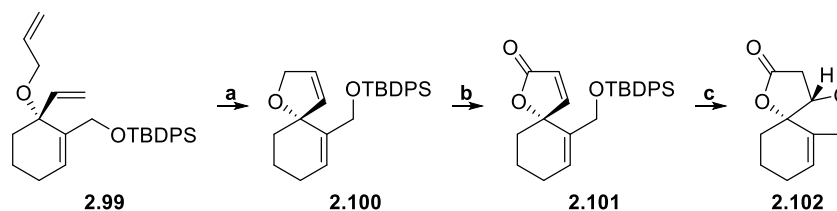


Shema 2.22. Reagensi i uslovi: (a) EtCOMe, NaOH, MeOH, H₂O, 83%; (b) i) n-BuMgBr, THF 0 °C → st, 48 h, 68%; ii) vinska kiselina (aq), 68%; (c) BrCOCH₂Br, Py, DMAP, CH₂Cl₂, 0 °C → rt, 16 h, 67%; (d) PPh₃, MeCN, 40 °C, 90 min, zatim DBU, MeCN, 0 °C → ↑↓, 90 min, 68%; (e) H₂, Pd/C, EtOAc, 10min, 90%.

Autori su predložili uvođenje ugljovodoničnog niza karakterističnog za plakortone preko pogodnog Grignard-ovog reagensa, a kao potvrdu ostvarivosti tog principa, u γ -oksokarboksilatni prekursor (**2.94**) uveli su n-butilnu funkciju. Nastanak OH grupe izazvao je laktonizaciju, posle čega je usledila esterifikacija do bromoacetil-bromida (**2.96**). Nastali α -bromoestar je u prisustvu PPh₃ podlegao Wittig-ovoj ciklizaciji nakon čega je usledilo hidrogenovanje dobijenog butenolida (**2.97**) u prisustvu Pd/C.

2.3.5. RCM

Lone *et al.* su 2013. godine predložili opšti način sinteze furano-furonskog skeleta pomoću ciklične metateze (RCM, Shema 2.23).⁷²

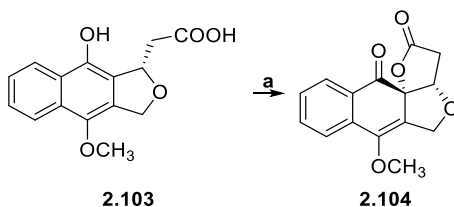


Shema 2.23. Reagensi i uslovi: (a) Grubbs I, CH₂Cl₂, st, 2 h, 93%; (b) Jones-ov reagens, (CH₃)₂O, 0 °C → st, 1 h, 80%; (c) TBAF, THF, st, 30 min, 95%.

Do butenolida se u ovom slučaju došlo metatetičkom ciklizacijom praćenom oksidacijom dihidrofuronskog jedinjenja (**2.100**) Jones-ovim reagensom (CrO₃/H₂SO₄(aq)). Nakon uklanjanja sililne zaštite fluoridom došlo je do intramolekulske oksi-Michael-ove adicije oslobođene OH-grupe na β -ugljenik butenolida što je rezultovalo formiranjem furano-furona (**2.102**).

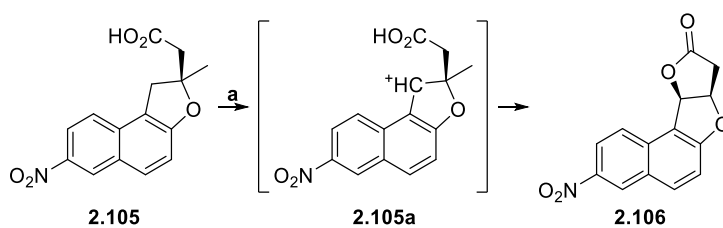
2.3.6. Oksidativna laktonizacija

U već spominjanim pokušajima da dođu do pogodnih prekursora policikličnog antibiotika laktomicina, Danishevsky i Cox su za sintezu furanofuronskog motiva iskoristili Wessely-ovu *orto*-oksidativnu laktonizaciju (Shema 2.24).^{73,74}



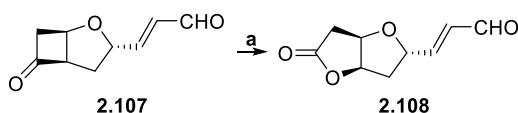
Shema 2.24. Reagens i uslovi: (a) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, CH_2Cl_2 , st, 2,5 h, 74%.

Vrlo sličan sistem (**2.105**) tretiran je od strane grupe Taylor *et al.* oksidansom DDQ, dajući furano-furon (**2.106**, Shema 2.25).⁷⁵



Shema 2.25. Reagens i uslovi: (a) DDQ, benzen, $\uparrow\downarrow$, 16 h, 91%.

Grupa Balci *et al.* je 2000. godine uspela da prevede kondenzovani furano-ciklobutanon (**2.107**) u furano-furonski (**2.108**) oblik pomoću Baeyer-Villiger-ove oksidacije.⁷⁶

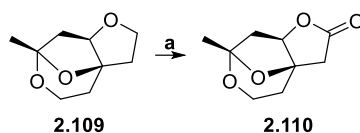


Shema 2.26. Reagens i uslovi: (a) *m*-CPBA, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , 12 h, 65%.

Ovaj pristup je ponovljen od strane grupe Mihovilovic *et al.* 2004. godine, međutim u prisustvu dve Baeyer-Williger monooksigenaze (BVMO) iz organizma *Brevibacterium*.⁷⁷

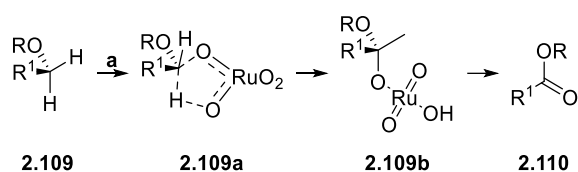
2.3.7. Oksidacija THF prstena pomoću RuO_4

Lowary i Han su 2003. godine oksidovali THF prsten buergerinina F (**2.109**) u laktone pomoću *in situ* generisanog RuO_4 , dobivši tako buergerinin G (**2.110**, Shema 2.27).⁷⁸



Shema 2.27. Reagensi i uslovi: (a) $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaIO_4 , NaHCO_3 , CCl_4 , CH_3CN , H_2O , st, 22 h, 77%.

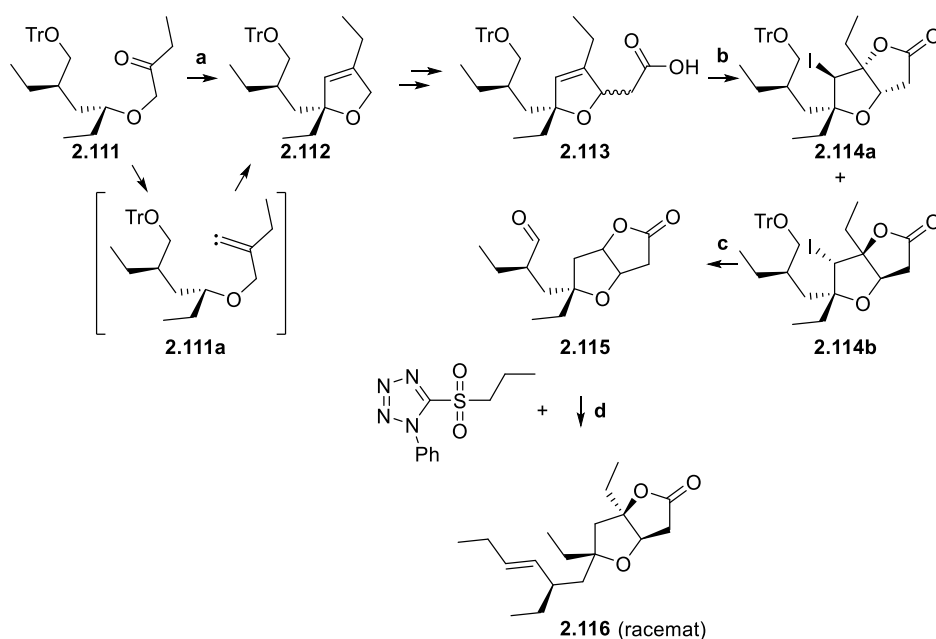
Autori su pretpostavili da je uzrok visoke regioselektivnosti ove reakcije dobijanje planarnije konformacije u prelaznom stanju u slučaju oksidacije furanskog prstena (**2.109a**) lakše nego što bi bilo u slučaju piranskog, kada bi se oksidovao položaj C-7 (Shema 2.28).^{79,80}



Shema 2.28. Predloženi mehanizam oksidacije etara u laktone pomoću RuO_4 .

2.3.8. Metode zasnovane na formiranju i raskidanju tročlanih prstenova

Akiyama i saradnici su 2006. godine objavili totalnu sintezu plakortona E (**2.11**, Slika 2.3), kao i njegovog epimera (**2.116**, Shema 2.29) u racemskom obliku.⁸¹

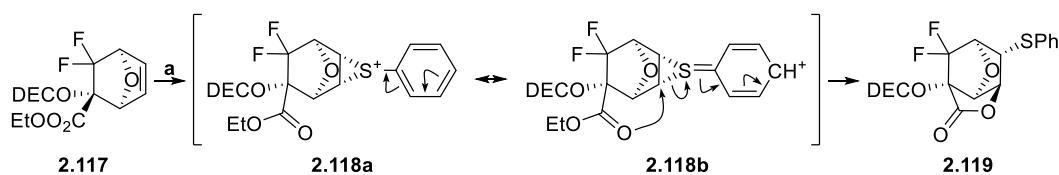


Shema 2.29. Reagensi i uslovi: (a) TMSCHN_2 , BuLi , THF , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 0\text{ }^\circ\text{C}$, 81%; (b) I_2 , NaHCO_3 , CH_2Cl_2 - H_2O , st, 94%; (c) Bu_3SnH , AIBN , C_6H_6 , $\uparrow\downarrow$; (d) KHMDS , THF , $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{st}$, 60% računato na **2.114b**.

Autori su prvo sintetisali dihidrofuranski prekursor u reakciji odgovarajućeg karbonila (**2.111**) sa *in situ* generisanim $\text{TMSC}(\text{Li})\text{N}_2$. Ova reakcija je tekla preko građenja reaktivnog karbenskog intermedijera (**2.111a**) koji se zatim ciklizovao u DHF strukturu (**2.112**).^{82,83} Nakon serije transformacija, smesa

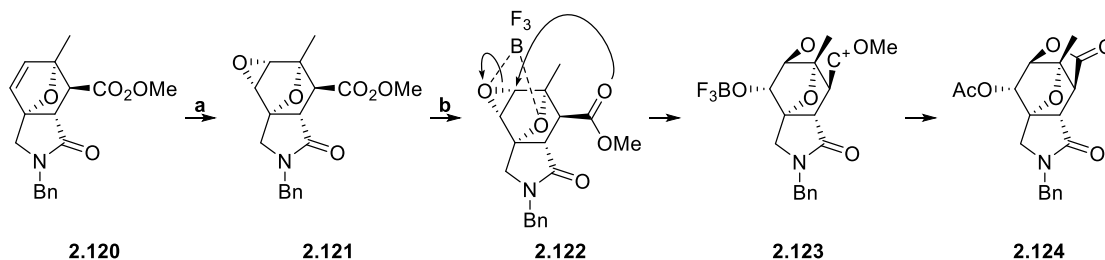
karboksilnih epimera (**2.113**) podvrgnuta je jodolaktonizaciji. Diastereomer željene konfiguracije (**2.114b**) je zatim izložen dejstvu Bu_3SnH , što je rezultovalo ne samo radikalskim uklanjanjem joda⁸⁴ nego i transformacijom zaštitne tritil-grupe u aldehydnu (**2.115**), što je pripisano dejstvu radikala formiranog na THF prstenu. Aldehyd **2.115** je zatim kuplovan sa 1-fenil-1*H*-tetrazol-5-il sulfonom u reakciji Julia olefinacije,⁸⁵ čime je dobijen racemat epimera plakortona E **2.116**.

U nastojanjima usmerenim ka sintezi hidroksimetilnih alkena, grupa Salafia *et al.* je 2002. godine otkrila da estar (**2.117**) može biti preveden u lakton (**2.119**) dejstvom fenilsulfenil hlorida (Shema 2.30).⁸⁶



Shema 2.30. Reagensi i uslovi: (a) fenilsulfenil hlorid, CHCl_3 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{st}$, 72 h, 89%.

Konačno, nezaobilazni tročlani prsten u organskoj sintezi, epoksidni, dobijen iz olefina (**2.120**) iskoristila je grupa Varlamov *et al.* 2011. godine i pomoću $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ upotrebila oksiranski napon za intramolekulski nukleofilni napad estarske funkcije (**2.122**) što je dovelo do formiranja furano-furonskog motiva (**2.124**, Shema 2.31).⁸⁷

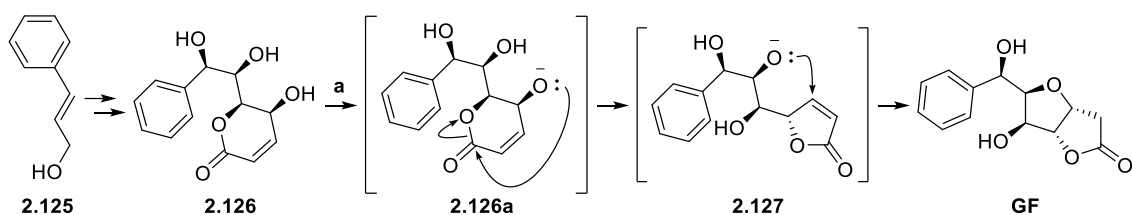


Shema 2.31. Reagensi i uslovi: (a) *m*-CPBA/ CH_2Cl_2 , st, 2 dana, 74%; (b) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ / Ac_2O , $5\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 25\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h, 43%.

2.4. Kombinovane/domino metode sinteze THF i laktonskog prstena³⁸

2.4.1. Kontrakcija prstena (translaktonizacija)

U totalnoj sintezi **GF** iz cinamil alkohola (**2.125**), Yang i Zhou su 1995. godine finalno jedinjenje dobili iz (+)-goniotriola (**2.126**) kontrakcijom šestočlanog laktonskog prstena (Shema 2.32).⁸⁸

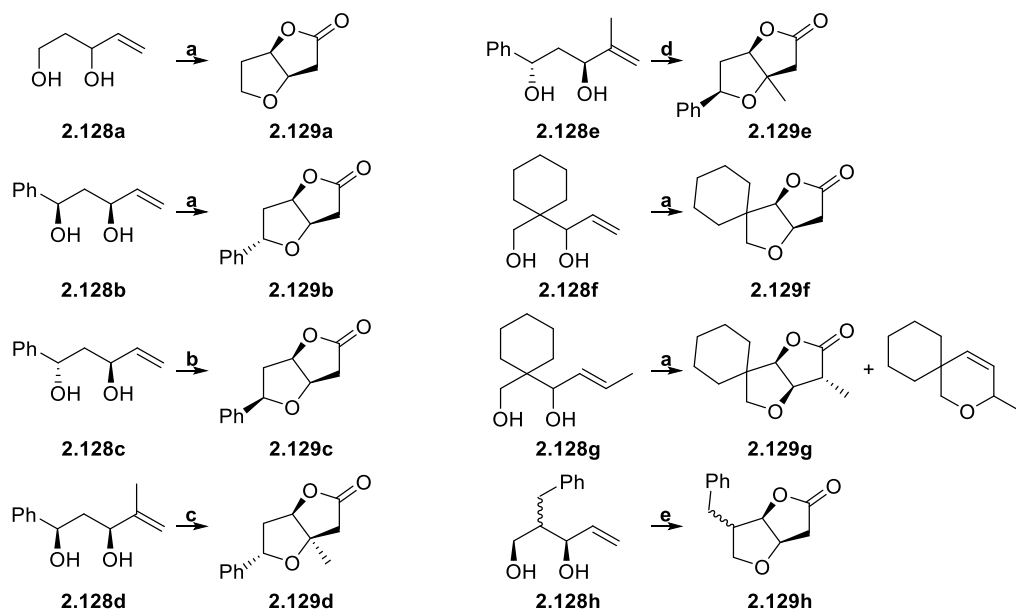


Shema 2.32. Pretpostavljeni mehanizam kontrakcije pentenolidnog prstena. Reagensi i uslovi: (a) THF, DBU (kat), st, 4 dana, 56%.

Pretpostavlja se da DBU deprotonuje alilnu OH grupu koja zatim nukleofilno napada pentenolidnu karbonilnu funkciju čime se raskida šestočlani i formira petočlani prsten. Novonastali butenolid (**2.127**) predstavlja elektrofilnu metu za OH grupu u položaju 6, koja u intramolekulskoj oks-Michael-ovoj adiciji zatvara THF prsten čime se dobija finalno jedinjenje, **GF**.⁸⁹

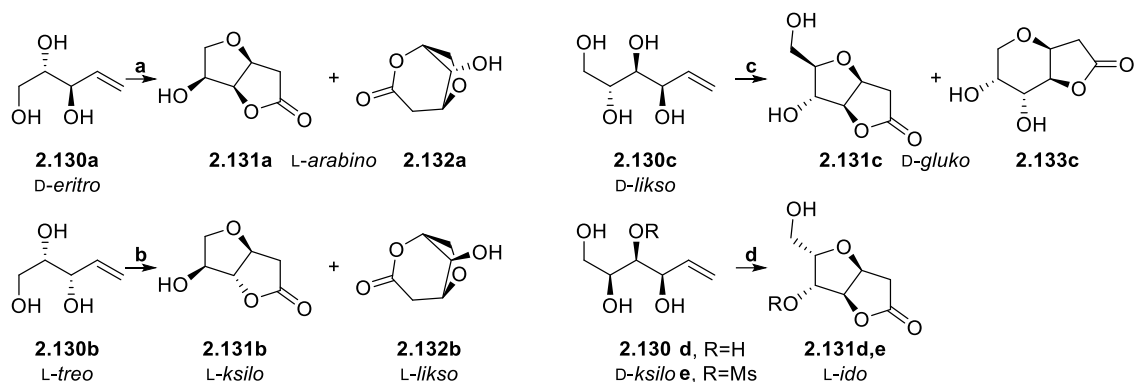
2.4.2. Intramolekulska oksikarbonilacija

Intramolekulska Pd(II)-katalizovana oksikarbonilacija pod blagim uslovima⁹⁰ prvi put je primenjena na sintezu furano-furona 1985. godine od strane Tamaru *et al.* (Shema 2.33)⁹¹ i do danas se svrstava u omiljene strategije za dobijanje ovih heterobikličnih jedinjenja.⁹²



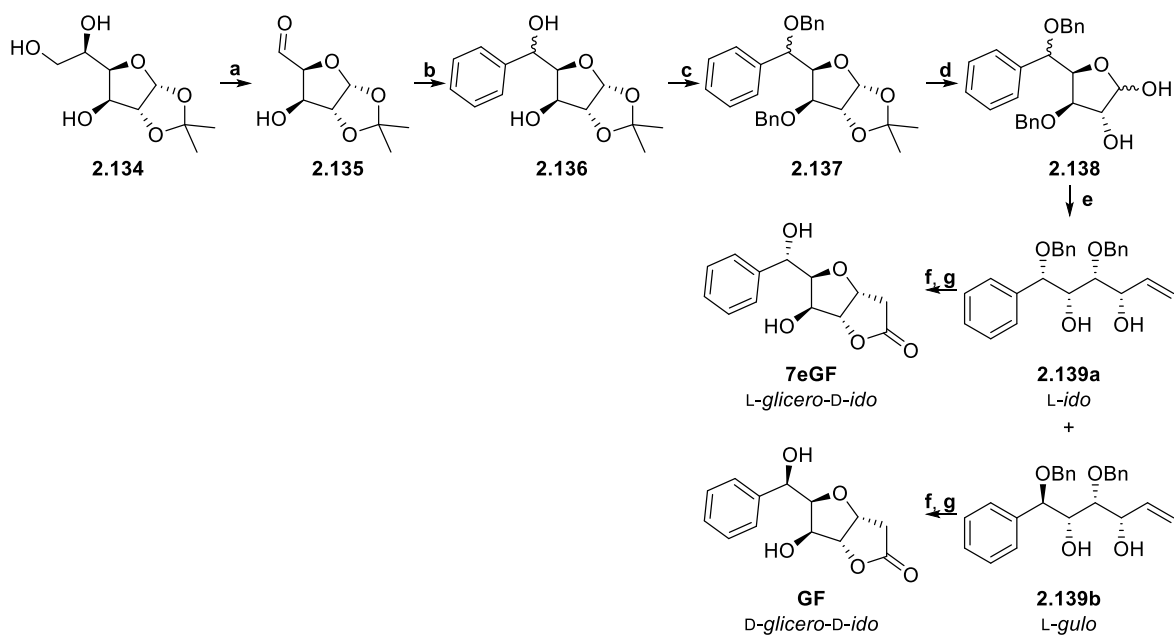
Shema 2.33. Reagensi i uslovi: PdCl₂, CuCl₂, AcONa, AcOH, CO; (a) st, 24 h; (b) 35 °C, 5 h; (c) 35 °C, 24 h; (d) 40 °C, 8 h; (e) 35 °C, 7 h.

Gracza *et al.* su 1991. godine objavili rad koji se oslanja na prethodno pomenutu reakciju, u kojem su takođe sistematski ispitivali uticaj konfiguracije polaznog jedinjenja (odabrani C₅ i C₆ enitoli **2.130a-e**, Shema 2.34) na konfiguraciju proizvoda.⁹³

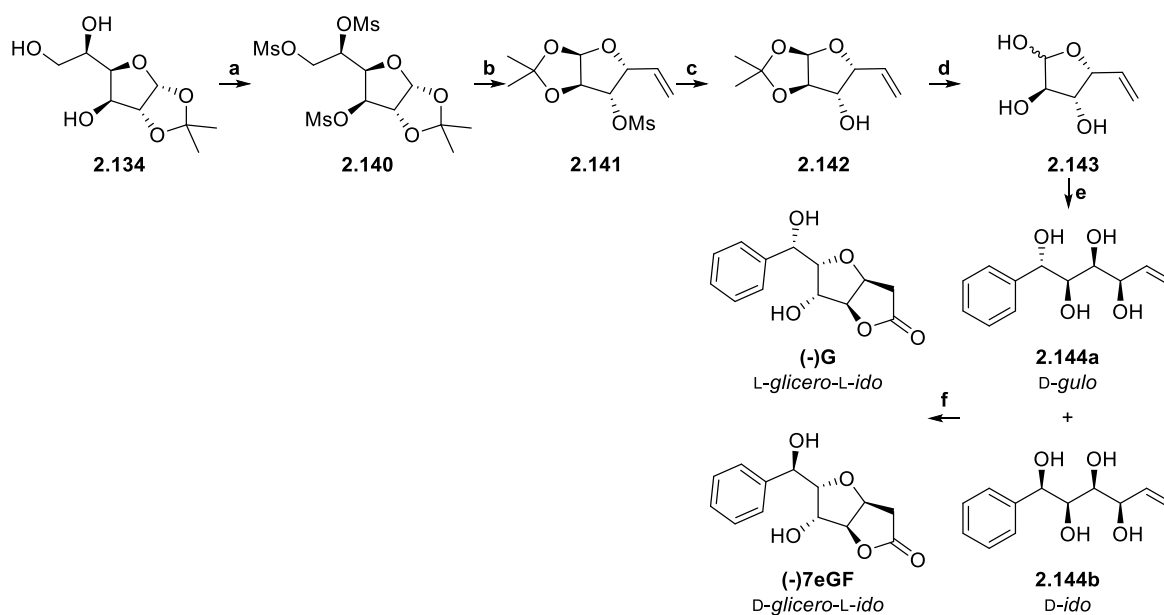


Shema 2.34. Reagensi i uslovi: CO/PdCl₂, CuCl₂, NaOAc, AcOH, st; (a) 16 h, 68%; (b) 48 h, 77%; (c) 41 h, 63%; (d) 21-48 h, 53% (**2.130d**), 67% (**2.130e**).

Gracza i Jager su 1994. godine objavili sintezu **GF** i **7eGF** (Shema 2.35), kao i njihova dva sintetička (–)-enantiomera ((–)**GF** i (–)**7eGF**, Shema 2.36) oksikarbonilacijom nezasićenih poliola u prisustvu Pd(II) kao katalizatora, polazeći iz 2-acetonida D-glukoze (**2.134**, Shema 2.35 i Shema 2.36).⁹⁴

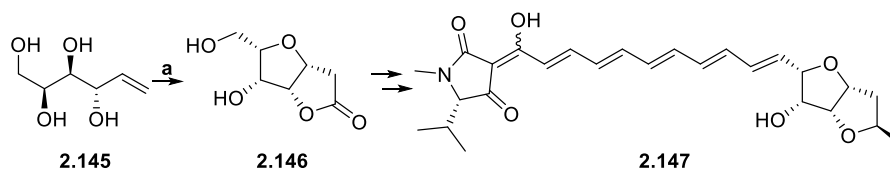


Shema 2.35. Reagensi i uslovi: (a) NaIO₄, H₂O, MeOH, 0 °C, 2 h; (b) PhMgBr, THF, 0 °C, 4 h, st, 20 h, 69% računato na **2.134**; (c) BnBr, NaH, DMF, 0 °C → st, 5 h, 70%; (d) AcOH/H₂O (1:1), 70-90 °C, 10 h, 97%; (e) CH₃PPh₃Br, BuLi, THF 0 °C → st, 40 h, 55% (**2.139a**), 17% (**2.139b**); (f) CO, PdCl₂, CuCl₂, NaOAc, AcOH, st, 8 h, 85% (iz **2.139a**), 89% (iz **2.139b**); (g) Pd/C (10%), H₂, MeOH, st, 15 h, 82% (**7eGF**), 84% (**GF**).



Shema 2.36. Reagensi i uslovi: (a) MeSO_2Cl , Py, 83%; (b) NaI, $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, $\downarrow \uparrow$, 15 h, 92%; (c) LiAlH_4 , Et_2O , CH_2Cl_2 , $\downarrow \uparrow$, 15 h, 94%; (d) AcOH, H_2O , 90 °C, 9 h, 87%; (e) PhMgBr , THF, 0 °C, 4 h, st, 20 h, 54% (**2.144a**:**2.144b** 40:60); (f) CO, PdCl_2 , CuCl_2 , NaOAc, AcOH, st, 16 h, 33% (**(-)7eGF**), 49% (**(-)G**).

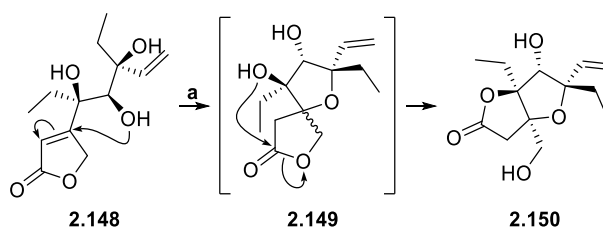
Dixon *et al.* su 1999. godine objavili totalnu sintezu mikotoksina eritroskirina (**2.147**, Shema 2.37). Iako ovo složeno jedinjenje nije furano-furon, jedan od njegovih prekursora jeste. Furano-furon (**2.146**) je sintetisan kada je iz D-galaktoze dobijeni tetraol (**2.145**) podlegao Pd(II)-katalizovanoj intramolekulskoj oksikarbonilaciji.⁹⁵



Shema 2.37. Reagensi i uslovi: (a) PdCl_2 , CuCl_2 , AcONa, CO, AcOH, st, 33 h.

2.4.3. Intramolekulska konjugovana domino adicija uz DBU

Wong *et al.* su 2010. godine tokom sinteze plakortona B (**2.7**, Slika 2.3) primetili da, umesto tretiranja butenolida pomoću Et_3N a zatim HCl, „one-pot“ reakcija sa DBU daje mnogo bolji prinos furano-furonskog jedinjenja (**2.150**, Shema 2.38).⁹⁶

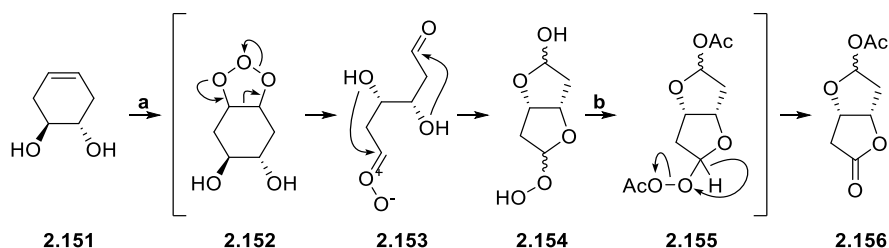


Shema 2.38. Reagensi i uslovi: (a) DBU/toluen, $\uparrow \downarrow$, 72 h, 90%.

Zanimljivo je da se poliolni bočni niz jedinjenja butenolida (**2.148**) nalazi u β -položaju u odnosu na karbonilnu funkciju što ukazuje na građenje spiro jedinjenja (**2.149**) usled oks-Michael-ove adicije.^e Intermedijer međutim podleže transesterifikaciji usled čega se formira novi laktonski prsten kao deo furano-furonskog skeleta.⁹⁷

2.4.4. Ozonoliza (Schreiber-ova metoda)

Oslanjajući se na pionirske radove od strane Criegee *et al.*⁹⁸ kao i na kasnije rezultate Scheiber *et al.*⁹⁹ grupa Burke *et al.* je 2003. godine iz cikloheksenskog diola (**2.151**) ozonolizom proizvela smesu epimernih furano-furona (**2.156**, Shema 2.39).¹⁰⁰



Shema 2.39. Reagensi i uslovi: (a) O_3 ; (b) Ac_2O , Et_3N , DMAP, 75% (S:R 4:1).

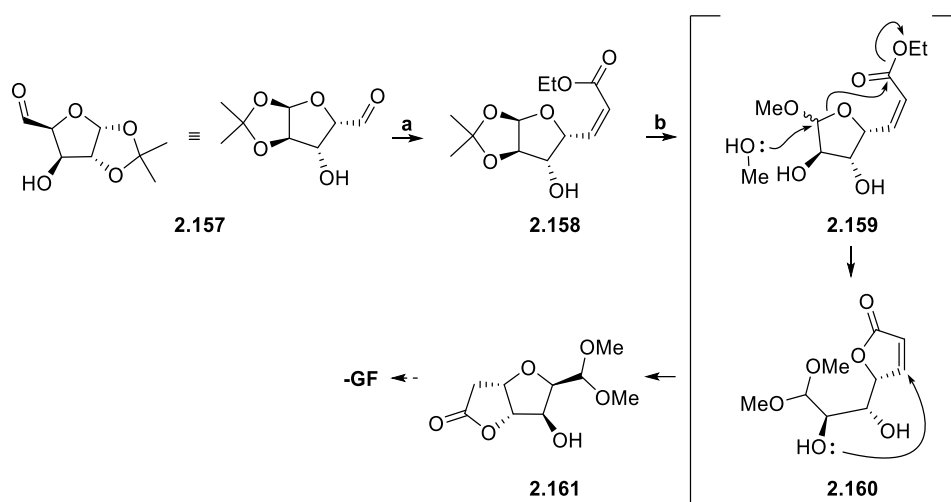
Pretpostavljeni mehanizam reakcije uključuje građenje ozonida (**2.152**), njegovu fragmentaciju do terminalnog karbonil/karbonil oksidnog intermedijera (**2.153**), dvostruku ciklizaciju u odgovarajuće kondenzovane laktole (**2.154**), acetilovanje obe OH grupe, te bazno katalizovanu eliminaciju do laktona, tj. furano-furona (**2.156**).

2.4.5. Domino Wittig/laktonizacija/Michael-ova reakcija ili Wittig + domino laktonizacija/Michael-ova reakcija

Prakash i Rao su 1991. godine predložili zanimljiv prilaz problemu sinteze furano-furonskog skeleta.¹⁰¹ U ovom radu, autori su do α,β -nezasićenog enonskog sistema spremnog za oks-Michael-ovu adiciju stigli Wittig-ovom reakcijom na slobodnoj aldehidnoj grupi jedinjenja pogodne konfiguracije (**2.157**),^f nakon čega je usledila metanolizom izazvana laktonizacija praćena intramolekulskom oks-Michael-ovom adicijom (Shema 2.40).

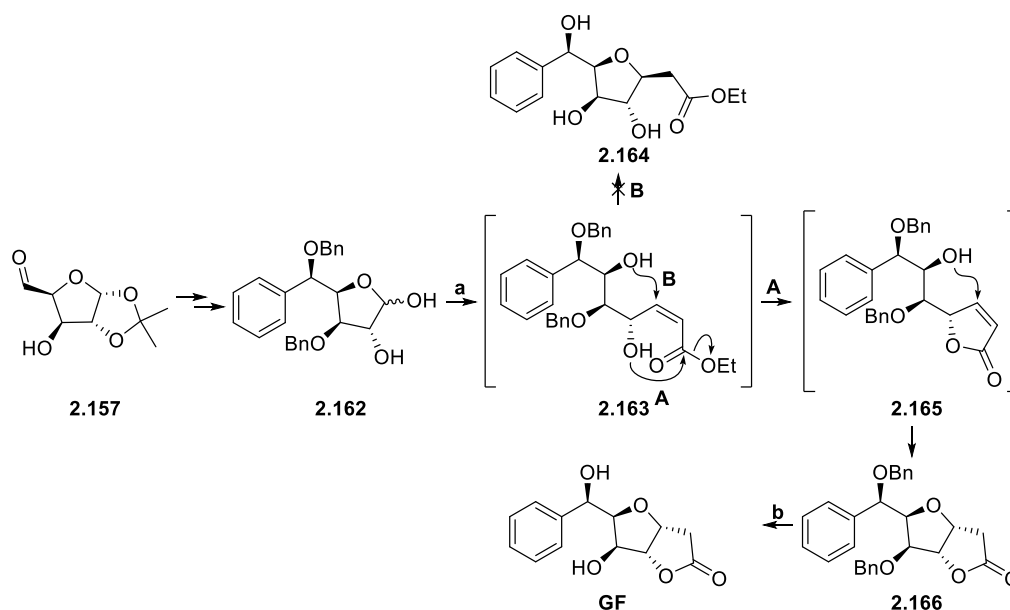
^e Uporediti sa poliolima koji stupaju u oks-Michael-ovu adiciju u poglavlju 2.2.1 gde je bočni niz u γ -položaju.

^f U ovom slučaju u pitanju je D-ksilo struktura za u to vreme pogrešno pretpostavljenu konfiguraciju (+)-goniofufurona koja je zapravo odgovarala njegovom enantiomeru.



Shema 2.40. Reagens i uslovi: (a) $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Et}$, MeOH, 0 °C, 2 h, 75%; (b) $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$ (2.5%), $\uparrow\downarrow$, 2 h, 40%.

Ova ideja je kasnije razrađena od strane iste grupe, a krunisana je 1993. godine sintezom **GF** iz istog polaznog jedinjenja kao i u prethodnom radu, **2.157**. Autori su međutim ovog puta iskoristili laktolnu grupu za početak domino Wittig/laktonizacija/Michael sekvence pa je time i finalni proizvod, **GF**, dobijen u ispravnoj konfiguraciji (Shema 2.41).¹⁰²



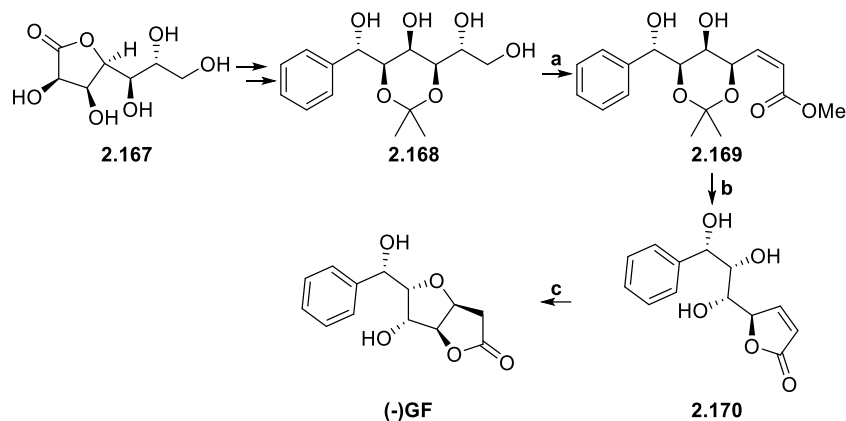
Shema 2.41. Reagens i uslovi: (a) $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Et}$, MeOH, 0 °C, 2 h, 75%; (b) MeOH, Pd-C/ H_2 , 12 h, 86,2%.

Autori su pretpostavili je da je u njihovom slučaju do spontane bis-ciklizacije^g došlo zato što je prvo nastao laktonski prsten (**2.163**, put A). Enonski sistem butenolida (**2.165**) je služio kao dobar elektrofil za slobodnu OH grupu u položaju 6, a oksi-Michael-ova adicija koja je spontano usledila rezultirala je

^g Za razliku od uobičajenih situacija kada je za oksi-Michael-ovo zatvaranje prstena potrebno prisustvo baze.

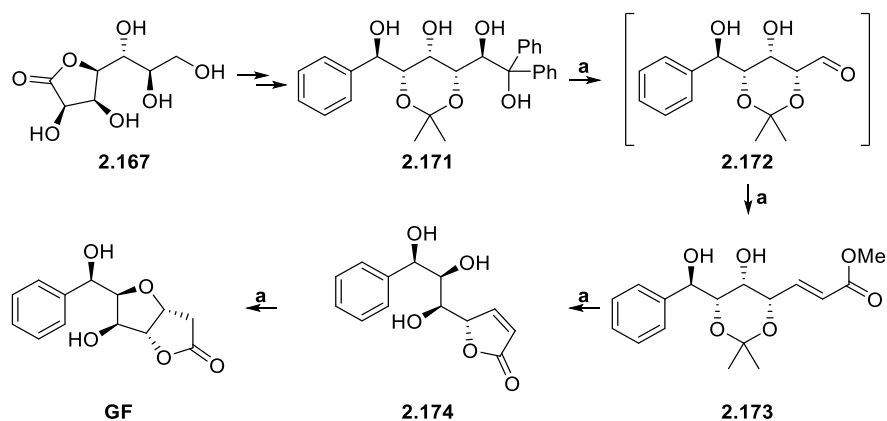
građenjem furano-furonskog motiva (**2.166**). Kao dokaz za svoju tvrdnju, Prakash i Rao su naveli odsustvo tragova β -C-furanozida (**2.164**, put B), potencijalnog proizvoda koji ne bi mogao da se laktonizuje usled sternih faktora.

Grupa naučnika iz Hong Konga Zhou *et al.* je 1992. godine koristeći analognu strategiju sintetisala (-)GF počevši od D-glicero-D-gulo-heptono- γ -laktona (**2.167**, Shema 2.42).¹⁰³



Shema 2.42. Reagensi i uslovi: (a) NaIO₄, MeOH, H₂O, zatim Ph₃P=CHCOOMe, MeOH; (b) 80% AcOH, st, 2 dana, 83%; (c) THF, DBU (kat), st, 1 dan, 71%.

Ista grupa naučnika je primenila istu strategiju, Wittig/laktonizacija/Michael, i isto iz D-glukoze¹⁰⁴ dobijeno polazno jedinjenje, **2.167**, u sintezi GF i 7eGF 1995. godine (Shema 2.43).¹²

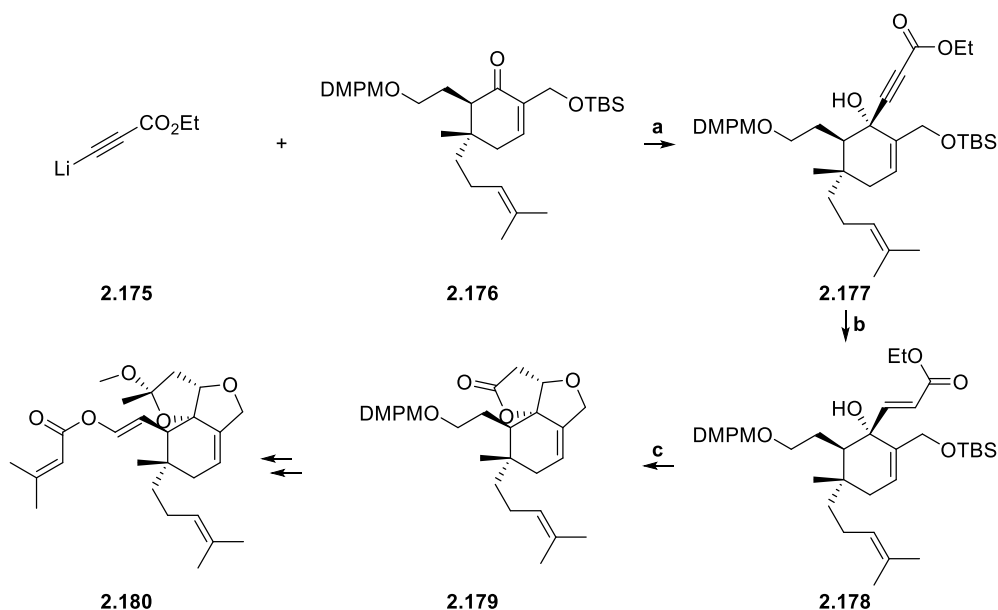


Shema 2.43. Reagensi i uslovi: (a) NaIO₄, MeOH/H₂O 4:1, st, 30 min; (b) Ph₃PCHCO₂Me, MeOH, st, 2 h, 79%; (c) AcOH/H₂O 1:1, st, 24 h, 89%; (d) THF, DBU (kat), st, 24 h, 74%.

2.4.6. Laktonizacija/Michael-ova adicija

Osim Wittig-ovom reakcijom, pogodni dienonski prekursori furano-furona mogu da se dobiju i na druge načine. Jedno od rešenja predložila je grupa Imagawa *et al.* 2008. godine u sintezi neovibsanina B.¹⁰⁵ Neovibsanini A i B, izolovani 1996. godine,¹⁰⁶ nisu furano-furonska jedinjenja, međutim u toku sinteze

jedan od prekursora je imao upravo pomenutu bicikličnu^h strukturu. Do nje se došlo pomoću adicije odgovarajućeg alkinil-litijumskog reagensa (**2.175**) na karbonilnu grupu enona (**2.176**), čija je alkinska funkcija zatim podvrgnuta redukciji do alkenske čime je izgrađena α,β -nezasićena estarska struktura (**2.178**), nakon čega je usled uklanjanja TBS zaštite na nukleofilnoj OH grupi došlo do kombinovane laktonizacije (intramolekulske transesterifikacije) i intramolekulske oks-Michael-ove adicije (Shema 2.44).

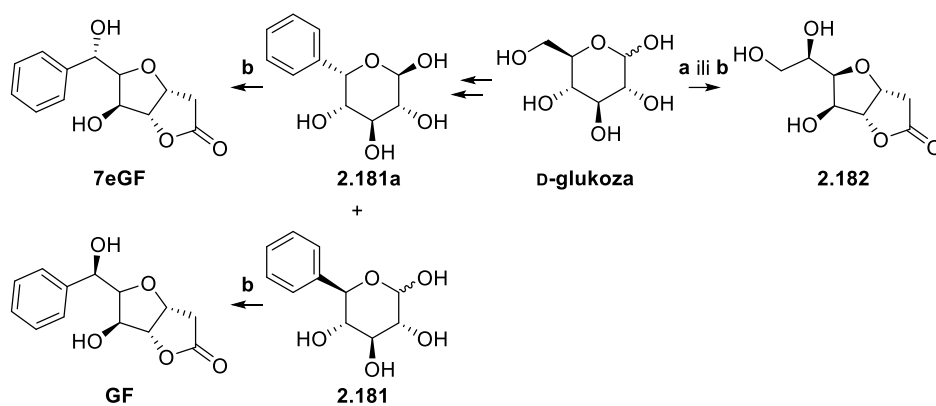


Shema 2.44. Reagensi i uslovi: (a) toluen, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 h, 87%; (b) Red-Al, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min, 89%; (c) TBAF, THF, st, 10 h, 87%.

2.4.7. Meldrum-ova reakcija

Postoji očigledna sličnost između gore navedenih reakcija i mehanizma Meldrum-ove reakcije (Shema 3.6) koju smo i mi koristili za sintezu svih finalnih furano-furonskih struktura. Bitna specifičnost Meldrum-ove reakcije je redosled ciklizacija. Naime prvo se dešava Michael-ova adicija kojom nastaje THF prsten nakon čega dolazi do laktonizacije. Ova strategija je u totalnoj sintezi furano-furonskog skeleta prvi put primenjena od strane Köll *et al.* Ova grupa naučnika je, oslanjajući se na metodu prvobitno objavljenu od strane Galbis Perez *et al.* (a, Shema 2.45)¹⁰⁷, i razradivši je u sopstvenoj laboratoriji na nekoliko D-aldoza,¹⁰⁸ 1999. godine iz D-glukoze sintetisala **GF** i **7eGF** (b, Shema 2.45).¹⁰⁹

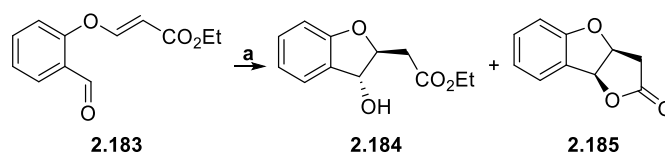
^h Tačnije tricikličnu.



Shema 2.45. Reagensi i uslovi: (a) Meldrum-ova kiselina, TEA, DMF, 46 °C, 7 d, 40%; (b) Meldrum-ova kiselina, TBA, DMF, 40 °C, 5 d, 90%.

2.4.8. Radikalaska ciklizacija u THF/laktonizacija

U vrlo sličnim uslovima kao u primeru iz poglavlja 2.2.4 (Shema 2.7) ista grupa naučnika, Lee *et al.* je iz α,β -nezasićenog estera (**2.183**) ne samo uspela da zatvori laktonski prsten, nego i da izgradi ceo furano-furonski skelet (**2.185**, Shema 2.46).¹¹⁰

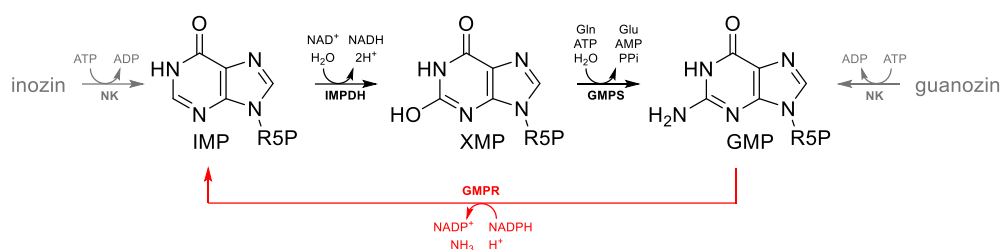


Shema 2.46. Reagensi i uslovi: (a) BuSnH, AIBN, C₆H₆, ↑↓, 8 h, 92% (**2.184**:**2.185** 3:2).

2.5. IMPDH

2.5.1. Funkcija

Inozin monofosfat (IMP) je poslednji zajednički intermedijer tj. mesto grananja *de novo* biosinteze purinskih nukleotida guanozin monofosfata (GMP) i adenozin monofosfata (AMP).¹¹¹ Inozin monofosfat dehidrogenaza (IMPDH, EC 1.1.1.205) je veoma važan enzim za većinu organizama jer katalizuje NAD-zavisnu oksidaciju IMP u ksantin monofosfat (XMP), reakciju koja predstavlja najsporiji i ključni korak u *de novo* biosintezi GMP (Shema 2.47). XMP se potom prevodi u GMP dejstvom GMP sintetaze (GMPS, EC 6.3.5.2), dok je mehanizam za recikliranje IMP iz GMP obezbeđen dejstvom još jedne oksidoreduktaze, GMP reduktaze (GMPR, EC 1.7.1.7). Smatra se da je IMPDH/GMPS metabolički put zastupljen u gotovo svim organizmima. Oko 20 organizama, međutim, poseduje IMPDH ali ne i GMPS gen, što može da znači da oni koriste drugačiju strategijuⁱ dobijanja/razgradnje GMP.^{112–114}



Shema 2.47. *De novo* biosinteza GMP.

Guaninski nukleotidi mogu da se biosintetišu i alternativnim, „reciklirajućim“ metaboličkim putevima (engl. *salvage pathways*), dejstvom fosforiboziltransferaza i/ili nukleozid fosfotransferaza/kinaza. Relativni odnos između efikasnosti *de novo* i reciklirajućih metaboličkih puteva je jedan od faktora koji određuju osetljivost organizma/tkiva na IMPDH inhibitore.¹¹⁵

Guaninski nukleotidi, osim toga što služe kao prekursori DNK i RNK, predstavljaju i energetske izvore translacije, kofaktore G-proteina, prekursore za glikozilaciju i sintezu tetrahidrobiopterina, kao i alosterične efektore i signalne molekule. IMP dehidrogenaze ćelija koje imaju veliku potrebu za guaninskim nukleotidima jer rastu brzo i/ili nekontrolisano (kancer, virusi), kao i onih ćelija koje se

ⁱ Postoji pretpostavka da je prvobitna fiziološka uloga GMPR zapravo bila prevođenje IMP u GMP u sredini bogatoj amonijakom, te da je postepenim smanjivanjem koncentracije amonijaka došlo do evolutivnog prilagođavanja i nastanka IMPDH/GMPS puta. U prilog hipotezi o „GMPR-pretku“ ide kako postojanje mikroorganizama koji nemaju IMPDH/GMPS gene, tako i činjenica da jedan od ključnih aminokiselinskih ostataka u GMPR, Glu289, u IMPDH gde je prisutan kao Glu431 nema presudan uticaj na katalizu jer je deo alternativnog, prvobitnog mehanizma aktivacije molekula vode. Štaviše, u eukariotama je Glu431 zamenjen amidnim Gln. Zbog svega navedenog, postoji sumnja da spomenutih dvadesetak mikroorganizama, kojima je pripisano postojanje IMPDH gena bez GMPS, zapravo biosintetišu GMPR.

uglavnom oslanjaju na *de novo* biosintezu guaninskih nukleotida kao što su limfociti¹¹⁶ i neke fotoreceptorske ćelije,¹¹⁷ izdvajaju se kao naročito interesantne mete za inhibiciju. Pritom, osim smanjenja guaninskog, inhibicija IMPDH za posledicu ima i promenu^j stanja adeninskog depoa. Dodatno, purinski nukleotidi su alosterni efektori fosforibozil pirofosfat (PRPP) sintaze i ribonukleotid reduktaze, pa se, imajući u vidu da je prisustvo PRPP neophodno i u anabolizmu pirimidinskih nukleotida,¹¹⁸ nameće zaključak da inhibicija IMPDH ima mnogo dalekosežnije i sveobuhvatnije posledice po celokupan metabolizam od pukog smanjenja koncentracije jednog metabolita, XMP.^{119,120}

2.5.2. Humana IMPDH

Sisari poseduju dva IMPDH-kodirajuća gena smeštena na različitim hromozomima.¹²¹ Osnovni, „kanonski“ oblici oba ljudska izozima, hIMPDH1 i hIMPDH2, sadrže 514 AK ostataka, pokazuju podudarnost sekvenci od oko 84% i imaju vrlo slične kinetičke osobine. Međutim, njihove razlike se primećuju na nivou ekspresije u tkivima. Uopšteno posmatrano, hIMPDH1 je konstitutivni enzim koji je u većini tkiva^k prisutan u malim koncentracijama, dok je hIMPDH2 inducibilni enzim čija ekspresija se pojačava u toku proliferacije i transformacije a umanjuje u toku diferencijacije.^{116,122,123} Nokaut IMPDH2 gena u miševima izaziva smrt embriona, dok isecanje IMPDH1 gena ne utiče na razvoj miša ali smanjuje aktivaciju limfocita.¹¹⁶ Smanjenje depoa guaninskih nukleotida dejstvom IMPDH inhibitora izaziva pojačanu transkripciju IMPDH u nekim ćelijama.^{119,124} Široko je rasprostranjeno mišljenje da je hIMPDH2 glavna meta za terapiju kancera, iako postoje relativno novi podaci da je i hIMPDH1 antiangiogena meta.¹²⁵

Razlike u sekvenci dva kanonska oblika humanih izozima obuhvataju 84 AK ostatka od čega su 52 supstitucije konzervativne dok se u 32 izmene beleže značajne razlike u hemijskim osobinama bočnih nizova.^{121,126} Grupa Thomas *et al.* je nakon analize obe ljudske izoforme, kao i nekolicine himernih oblika izozima sintetisanih od komplementarnih delova dva izozima, došla do rezultata koji ukazuju na presudan uticaj prva 244 AK ostatka u sekvenci (koji obuhvataju i CBS domene^l) na sposobnost enzima da gradi makrostrukture, tj. oligomere sastavljene od više od osam lanaca, kao i na veći afinitet IMPDH1 za spontano građenje makrostrukture.^{122,127} Takođe, utvrđeno je da različiti molekuli delimično štite

^j Ova promena je složena. GTP je kofaktor adenilosukcinat sintaze, enzima odgovornog za prvi korak dvofazne transformacije IMP u AMP. S druge strane, inhibicijom IMPDH blokira se grana koja „troši“ IMP za biosintezu GMP, rezervišući ga kao sirovinu za AMP.

^k Osim u tkivima pankreasa, mozga, bubrega, slezine, timusa, mrežnjače i pluća.

^l IMPDH je tetramer ili oktamer čije se monomerne podjedinice sastoje od katalitičkog (β/α)₈ domena nazvanog još i „TIM barrel“ i parova CBS domena (CBS1 i CBS2) poznatih i kao Bejtmenov (Bateman) modul (BM), za koji se pretpostavlja da igra ključnu ulogu u regulaciji aktivnosti/multimernosti.

izozime od dejstva elastaze. U pitanju su ATP (zaštita od 31% za IMPDH1) i AMP (zaštita od 30% za IMPDH2), što upućuje na zaključak da dva nukleotida, vezujući se za odgovarajuće izoforme IMPDH, menjaju njihove konformacije, čime smanjuju izloženost određenih AK ostataka delovanju proteaze. U slučaju para ATP/IMPDH1 vezivanje je i direktno dokazano, dok je u slučaju AMP/IMPDH2 mesto vezivanja posredno utvrđeno izvođenjem proteaznog eksperimenta sa rekombinantnom verzijom IMPDH2 bez Bejtmenovih domena, His-Core2. His-Core2 je, kao i divlji tip IMPDH2, bila uspešno zaštićena građenjem kompleksa sa supstratima IMP i NAD, međutim preinkubacija sa AMP nije dovela do smanjenja stepena hidrolize ovog proteina. Autori nisu primetili uticaj AMP/ATP na aktivnost IMPDH.¹²²

Zabeleženi izozimski afiniteti prema različitim nukleotidima, njihove različite sklonosti ka građenju makrostruktura, kao i različit obim njihovog ispoljavanja u tkivima, predstavljaju do sada najizraženije poznate razlike između IMPDH1 i IMPDH2.¹²² Dodatno, postoje nagoveštaji da su mRNK za hIMPDH2 nestabilne jer imaju visok AU sadržaj između stop kodona i poli(A) repa.¹²¹

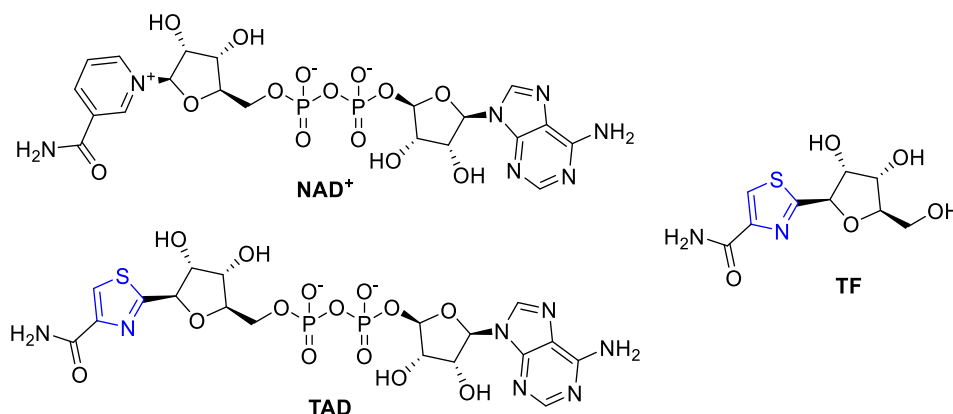
Vrlo bitna činjenica je da se obe ljudske, kao i IMPDH ostalih sisara, u znatnoj meri razlikuju po strukturi i aktivnosti od bakterijskih i parazitskih IMPDH.^{128,129} Poznato je naime da prosečne razlike u k_{cat} za IMPDH između ovih grupa organizama prelaze jedan red veličine što ovaj enzim postavlja na bitno mesto u potrazi za novim antiinfekcijskim agensima.¹³⁰

2.6. Tiazofurin

Inhibitori IMPDH se trenutno koriste ili ispituju kao imunosupresanti i kao antikanceri, antivirusni i, onedavno, kao potencijalni antimikrobijalni agensi i mogu se po mestu vezivanja za enzim podeliti u tri grupe: a) inhibitori koji se vezuju za IMP-vezujuće mesto; b) inhibitori koji se vezuju za NAD/NADH-vezujuće mesto; c) inhibitori koji se vezuju za mesto izvan aktivnog centra.^{131–135}

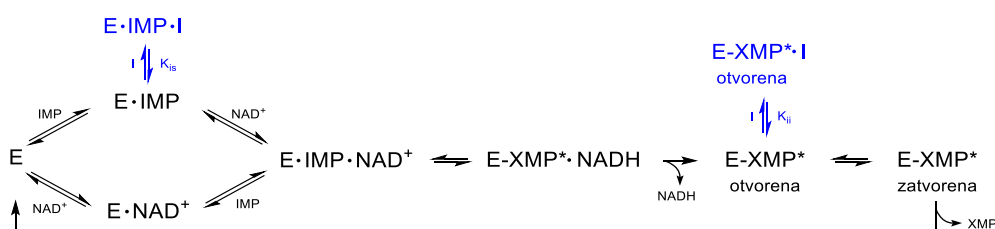
Tiazofurin (TF, Slika 2.4), tiazolni C-nukleozid sintetisan 1977. godine, spada u drugu grupu IMPDH inhibitora.¹³⁶ Ovo jedinjenje je prvobitno bilo zamišljeno i testirano kao antivirusni agens, međutim nakon pozitivnih rezultata antitumorskih testova u kojima je uočeno *in vivo* dejstvo na određene oblike leukemije kod miševa, TF je doveden u vezu sa IMPDH i, posredno, sa metabolizmom GMP.¹³⁷ Tačnije, utvrđeno je da se TF u organizmu prevodi u aktivni oblik, tiazol-4-karboksamid adenin dinukleotid (TAD, Slika 2.4), dejstvom nekoliko enzima. Prvi korak u ovoj transformaciji je fosforilovanje TF u tiazofurin monofosfat (TFMP) dejstvom nikotinamid ribozid kinaze (NRK, EC 2.7.1.22),¹³⁸ slično kao i nikotinamid ribozid, ali i dejstvom adenozin kinaze (EC 2.7.1.20)¹³⁹ ili 5'-nukleotidaze (EC 3.1.3.5).¹⁴⁰ Nakon fosforilovanja sledi prenos adenilatne grupe na TFMP koji je katalizovan NAD-fosforilazom (nikotinamid-nukleotid adenililtransferaza, NMNAT, EC 2.7.7.1) čime se gradi TAD.^{119,141,142} Ovaj

polusintetski dinukleotidni inhibitor deluje kao analog NAD/NADH i vezuje se za koenzimsko mesto, međutim ne može da učestvuje u hidridnom transferu, a za IMPDH se vezuje jače od prirodnog koenzima izazivajući nekompetitivnu inhibiciju u odnosu i na NAD i na IMP.^{119,143}



Slika 2.4. Strukture NAD, TF i TAD.

Razlog za nekompetitivnu inhibiciju u odnosu na NAD leži u kinetičkom mehanizmu inhibicije IMPDH reakcije, u kojem se TAD sa podjednakim afinitetom vezuje i za E·IMP i za E·XMP* oblik (E i ES, respektivno, Shema 2.48).¹¹⁹



Shema 2.48. Kinetički mehanizam reakcije transformacije IMP u XMP i inhibicije (obeleženo plavom bojom) IMPDH analogizma NAD.

TAD je međutim metabolički nestabilan, degradira se nazad u TF i ATP dejstvom ćelijskih fosfodiesteraza i fosfataza, te je koncentracija TAD u ćeliji posledica dinamičke ravnoteže TF, TFMP i TAD. Štaviše, otpornost na TF se često pripisuje pojačanoj aktivnosti TAD fosfodiesteraze, te je jedan od dugogodišnjih sintetičkih ciljeva istraživačkih grupa dizajn i sinteza stabilnijih analoga TAD.¹⁴²

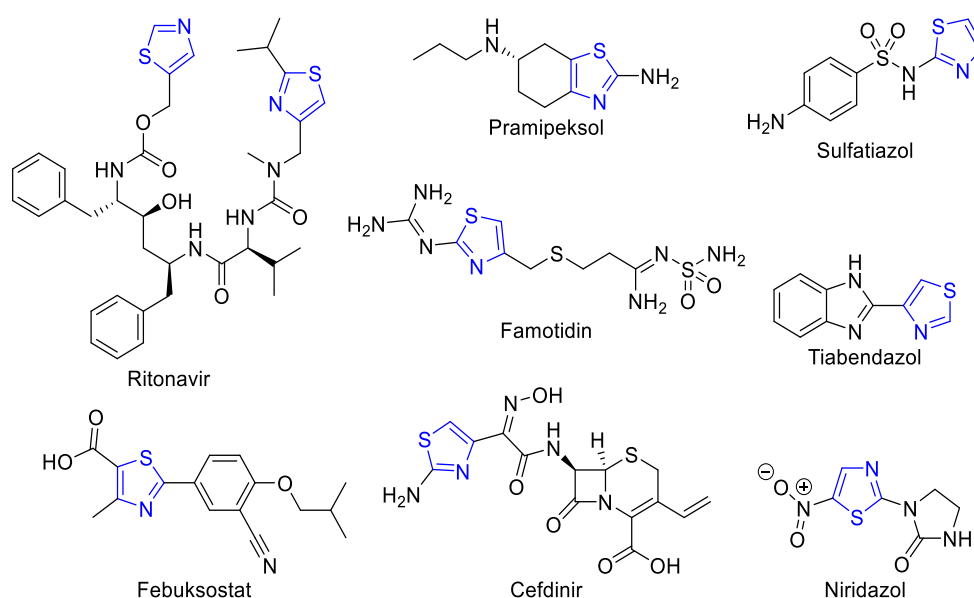
TAD zauzima neobičnu konformaciju u aktivnom centru usled elektrostatičkog međudejstva tiazolnog sumpora i kiseonika iz furanoznog prstena, što je mogući razlog njene neočekivane selektivnosti prema IMPDH uprkos velikoj rasprostranjenosti NAD-zavisnih enzima.¹⁴⁴

Iako je razvoj TF kao antikancerog leka trenutno stopiran u fazi 2 zbog njegove neselektivne citotoksičnosti, postoje preporuke da se ovo jedinjenje kao i njegovi manje toksični analozi ponovo razmotre kao antivirusni i/ili antikancerne agensi.^{145–147}

2.7. Tiazolni prsten

Upotreba izosternih ekvivalenata prstena je jedna od klasičnih bioizosteričnih metoda korišćenih u medicinskoj hemiji, a zamena fenolnog prstena tiazolnim je, prema bazi podataka SwissBioisostere, u skoro 20% od 264 obrađena slučaja značajno poboljšala aktivnost ispitivanih molekula.^{148,149}

Tiazolni je jedan od najzastupljenijih petočlanih heterocikličnih motiva prisutnih u farmaceutskim jedinjenjima.^{150,151} Jedinjenja koja ga sadrže pokazuju antiinflamatorne,^{152,153} antioksidativne,^{154–156} antibakterijske,^{157–159} antihiperглиkemijske,¹⁶⁰ antikancerne^{161–163} i mnoge druge terapijske i preventivne osobine.^{164–167} Među dobro poznata tiazolna jedinjenja koja se koriste kao lekovi spadaju Ritonavir, Pramipeksol, Famotidin, Cefdinir, Febuksostat, Sulfatiazol, Tiabendazol, Niridazol i mnogi drugi aktivni molekuli (Slika 2.5).^{148,168,169}

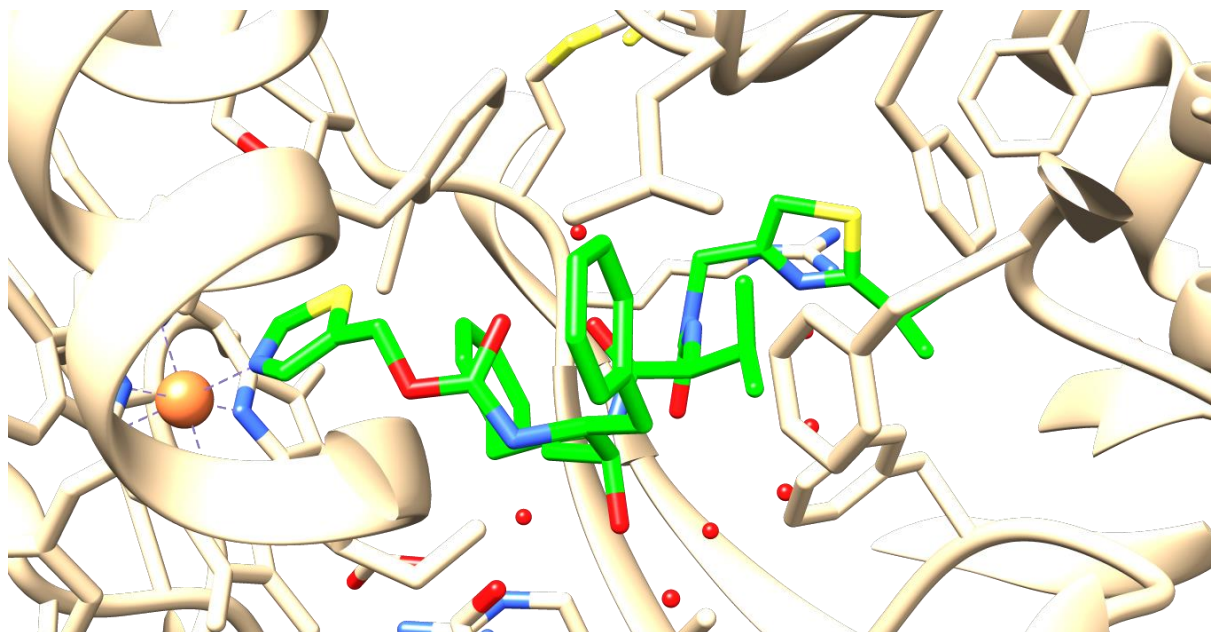


Slika 2.5. Neki komercijalni lekovi koji sadrže tiazolni prsten.

Štaviše, fiziološko dejstvo nekih od ovih molekula može da se pripíše interakcijama koje se ostvaruju upravo preko tiazolnog prstena, kao što se to pretpostavlja za Ritonavir, jedinjenje koje je široku primenu našlo u pojačavanju dejstva drugih lekova protiv HIV-a.¹⁷⁰ Poznato je da Ritonavir u kombinaciji sa drugim HIV-proteaznim inhibitorima (PI) dramatično pojačava i produžava njihovo dejstvo. Ovaj sinergijski efekat objašnjava se inhibicijom citohroma P-450 (CYP-450), enzima koji metaboliše većinu PI. CYP-450 izozim CYP3A4, koji se nalazi u ljudskom probavnom traktu i crevima, je citohrom najpodložniji inhibiciji Ritonavirom.

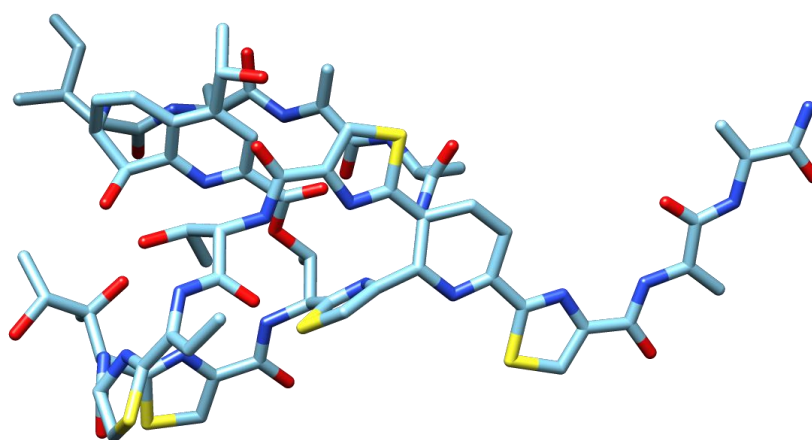
Uprkos važnosti Ritonavira u anti-HIV terapiji, precizan mehanizam njegovog dejstva još uvek nije poznat. Postoje međutim dokazi da dolazi do ireverzibilnog vezivanja azota iz nesupstituisanog tiazola

za Fe iz hema enzima, pri čemu se ligand orijentiše tako da se onemogućava redukcija Fe od strane citohrom P-450 reduktaze (CPR). Na ovaj način se gvožđe, a time i sam enzim, blokira u oksidovanom stanju (Slika 2.6).^{171,172} Iako je ovo samo jedno od objašnjenja za aktivnost Ritonavira, postoji opšta saglasnost da je za inhibiciju CYP-450 neophodno prisustvo i tiazolnog i izopropil-tiazolnog prstena u strukturi.¹⁷³



Slika 2.6. Prikaz interakcija između tiazolnog azota molekula Ritonavira (zelena struktura) i Fe (narandžast) iz hema enzima CYP3A4. PDB šifra: 3NXU.

Takođe, tiazolni prsten može da se sretne i u složenijim prirodnim proizvodima poput tiopeptidnih antibiotika od kojih je jedan od najpoznatijih predstavnika nonadekapeptid tiostrepton koji u svojoj strukturi sadrži čak pet tiazolnih prstenova (Slika 2.7).¹⁷⁴⁻¹⁷⁶

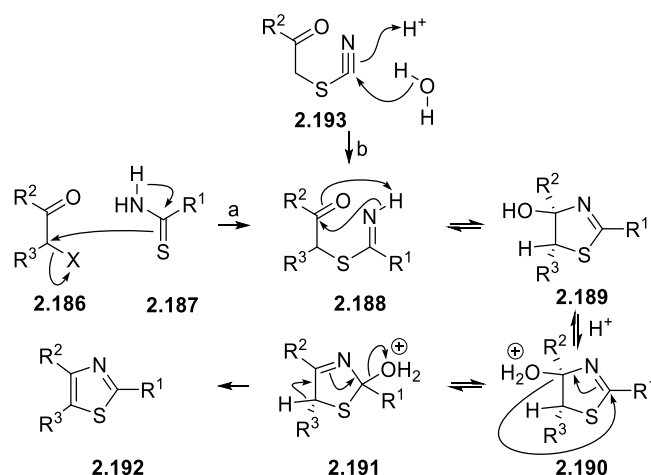


Slika 2.7. Trodimenzionalni prikaz strukture tiostreptona. PDB šifra: 2L2W.

2.8. Pristupi sintezi tiazolnog prstena

2.8.1. Hantzsch-ova ($C_2 + SCN$) i Tcherniac-ova (C_2SCN , $C_2S + CN$ i $C_2 + SCN$) sinteza

Hantzsch-ova ciklizacija¹⁷⁷ je jedna od najkorisnijih i najraznovrsnijih metoda sinteze kako tiazola tako i mnogih drugih heterocikala. Ova sintetska strategija se zasniva na kondenzaciji α -halokarbonila sa tioamidima (**2.186** i **2.187**, respektivno, Shema 2.49).

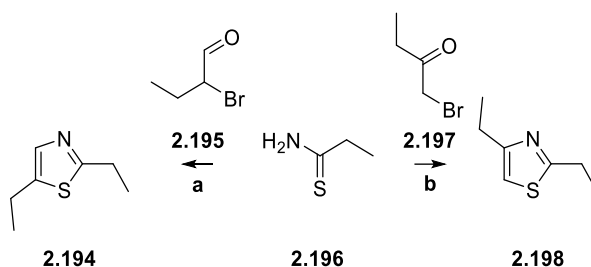


Shema 2.49. Mehanizam Hantzsch-ove (a) i Tcherniac-ove (b) ciklizacije.

Prvi korak mehanizma je nukleofilni napad sumpora na halogenovani ugljenik nakon čega dolazi do ciklizacije novonastalog tioimina (**2.188**) usled intramolekulske adicije azota na karbonilni ugljenik. Tiazol (**2.192**) se dobija usled kiselo katalizovane dehidratacije tiazolina (**2.189**).

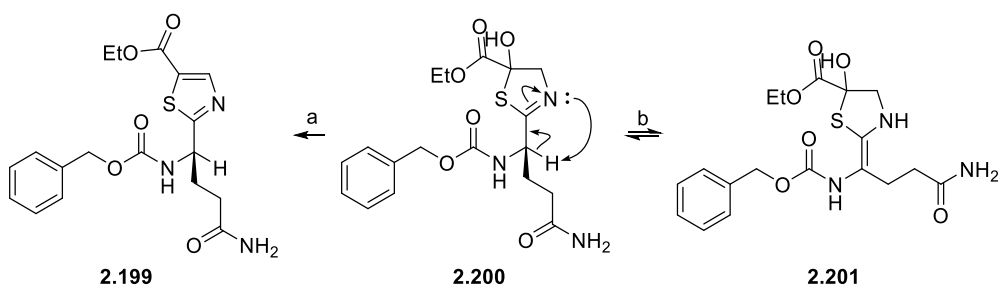
Tcherniac-ova metoda se oslanja na Hantzsch-ov model jer je ključni trenutak sinteze ponovo ciklizacija tioimina **2.188**, međutim u ovoj varijaciji polazno jedinjenje je α -tiocijanoketon (**2.193**), do koga može da se dođe kondenzacijom α -halo ketona i barijum tiocijanata (originalna metoda) ili α -tioketona i nitrila.^{169,178}

Pogodnim izborom reaktanata je omogućeno uvođenje supstituenata u sva tri položaja u prstenu, iako je dobijanje 2,5-supstituisanih derivata donekle otežano neophodnošću upotrebe hemijski nestabilnih α -haloaldehida (**2.195**, Shema 2.50).^{179,180} Imajući u vidu veliku popularnost Hantzsch-ove ciklizacije, možda ne čudi podatak iz 2014. godine da su 2,5-supstituisani tiazoli bili zastupljeni sa samo 7, dok su 2,4-supstituisani tiazoli bili zastupljeni sa čak 52 kristalografski okarakterisane strukture u PDB.¹⁸¹



Shema 2.50. Reagensi i uslovi: MgCO_3 , dioksan, 75–80 °C, zatim 100 °C, 3 h, (a) 38%; (b) 57 %.

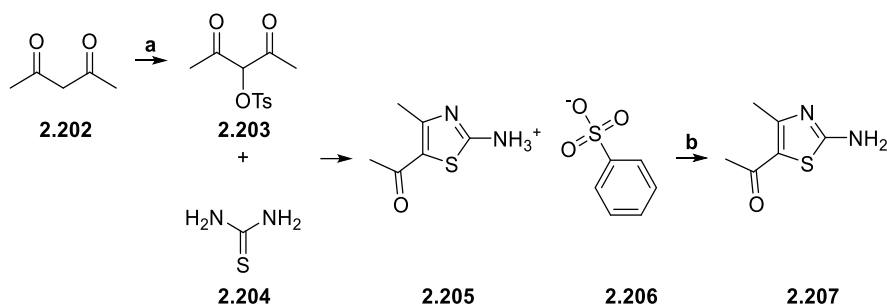
Pored otežanog dobijanja 2,5-supstituisanih derivata, jedan od osnovnih problema Hantzsch-ove ciklizacije je opasnost od racemizacije hiralnih centara u položaju C-1'. Racemizacija je posledica imin-enaminske ravnoteže (b, Shema 2.51) koja može da se pojavi kad se formira tiazolin (2.200), a njoj su podložni svi tiazolini koji na C-1' atomu imaju enolizabilni proton. Dodatni faktor koji otežava dobijanje čistih C-1' enantiomera je činjenica da je reakcija oksidacije (a, Shema 2.51) obično spora.¹⁸²



Shema 2.51. Spora oksidacija (a), odnosno tautomerizacija/racemizacija (b) C-1' hirlnih tiazolina.

Takođe, α -halokarbonilna jedinjenja su poznati lakrimatori, tako da se u nekim radovima mogu sresti pokušaji njihove zamene drugim, hemijski sličnim jedinjenjima poput α -toziloksi karbonila (2.203) generisanih *in situ* u *one pot* reakciji dikarbonilnih jedinjenja sa Koser-ovim^m reagensom (Shema 2.52).^{183,184}

^m [Hidroksi(toziloksi)jodo]benzen.



Shema 2.52. Reagensi i uslovi: (a) MeCN, PhI(OH)OTs, $\uparrow\downarrow$, 45 min, $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$, $\uparrow\downarrow$, 4 h; (b) NaHCO_3 , st, 2 h, 78%

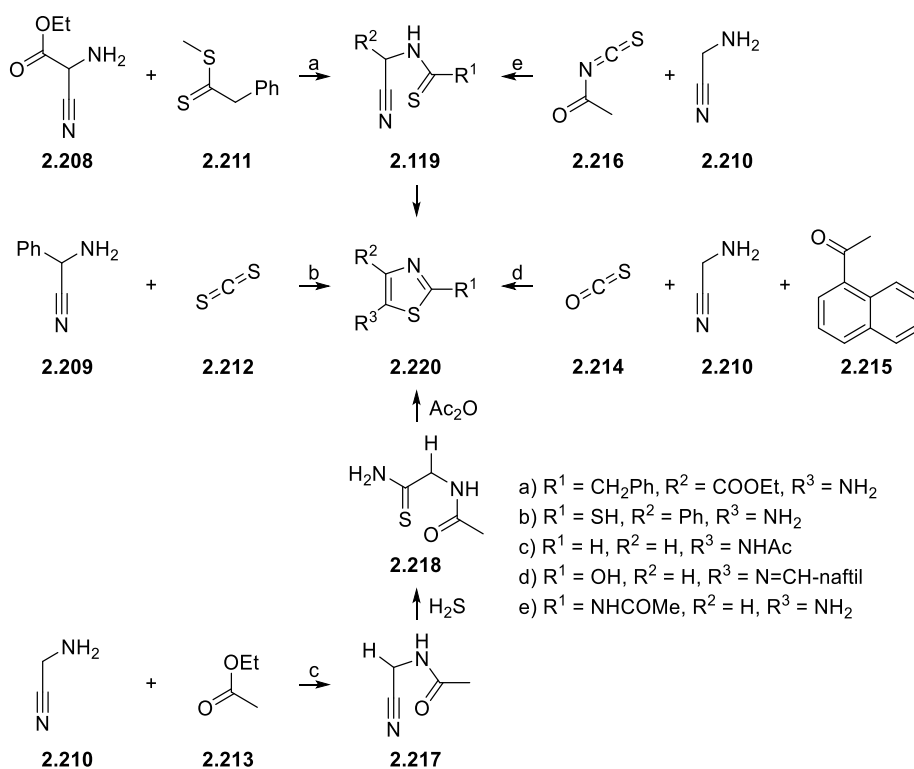
I pored navedenih nedostataka, Hantzsch-ova heterociklizacija kao strategija dobijanja tiazola ne gubi na aktuelnosti, pa se tako u literaturi mogu pronaći zanimljive varijacije ove metode, poput „suve“ⁿ sinteze¹⁸⁵ i sinteze 2-aminotiazola u vodi,¹⁸⁶ kao i opštije sinteze tiazola u prisustvu β -ciklodekstrina,¹⁸⁷ sinteze tiazola pomoću in situ generisanog α -bromokarbonila takođe u prisustvu β -ciklodekstrina,¹⁸⁸ sinteze u jonskim tečnostima,¹⁸⁹ itd.

2.8.2. Cook-Heilbron-ova sinteza ($\text{C}_2\text{N} + \text{CS}$)

Ovaj pristup je pogodan za sintezu 5-aminotiazola, a zasniva se na reakciji između α -aminonitrila (**2.208-2.210**) i soli/estara ditiokarboksilata (**2.211**) ili karboksilnih kiselina (**2.213**), CS_2 (**2.212**), OCS (**2.214**) ili izotiocijanata (**2.216**) pod izuzetno blagim uslovima.^{190,191}

Kondenzacije uglavnom dovode do nastanka tioamidnog intermedijera (**2.119**), koji zatim podleže ciklizacijama usled intramolekulskog napada sumpora na nitrilni ugljenik. Izuzetak je reakcija α -aminonitrila sa estriima karboksilnih kiselina (c, Shema 2.53), gde u okviru ciklizacije α -acilaminotioamida (**2.218**) dolazi do nukleofilnog napada tioamidnog sumpora na karbonilni ugljenik. Ova varijacija delimično liči na Gabriel-ovu sintezu (Poglavlje 2.8.3).

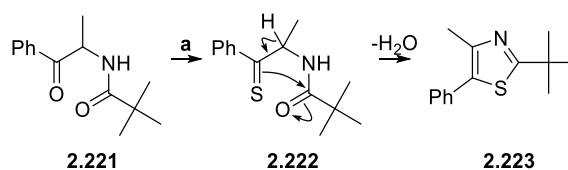
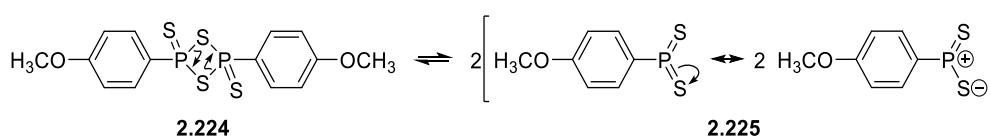
ⁿ Tačnije reakcije izvedene u rastopima nekoliko različitih derivata 2-bromoacetofenona (48-51 °C u slučaju samog 2-bromoacetofenona).



Shema 2.53. Pregled varijacija Cook-Heilbron-ovih reakcija.

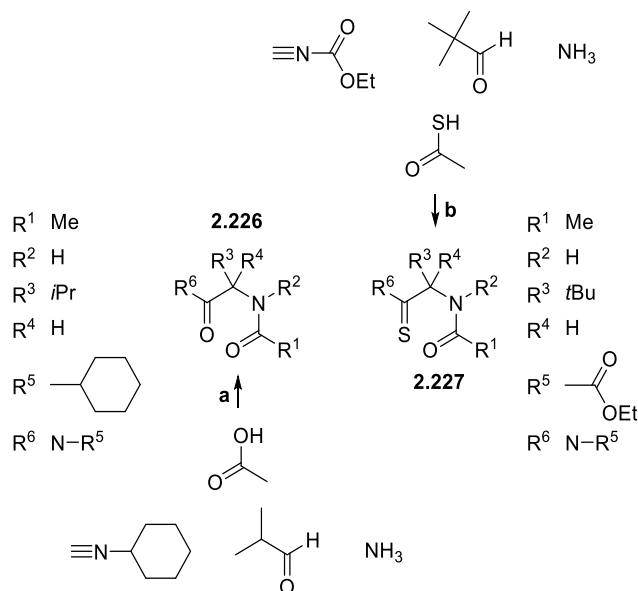
2.8.3. Gabriel-ova sinteza (C_2NCS i SC_2NC)

U svojevrsnoj varijaciji Paal–Knorr-ove sinteze tiofena,¹⁹² tiazoli mogu da nastanu i ciklizacijom α -acilaminotioketona (**2.222**, Shema 2.54) dobijenih u reakciji α -acilaminoketona (**2.221**) sa fosfor pentasulfidom.^{193–196} Za tionaciju 1,4-dikarbonila, pored P_2S_5 , može da se upotrebi i Lawesson-ov reagens (**2.224**, Shema 2.55) kao popularna alternativa za P_2S_5 .^{197–199}

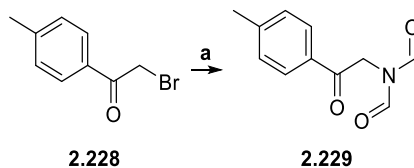
Shema 2.54. Reagensi i uslovi: (a) P_2S_5 , toluen, $\uparrow\downarrow$, Ar, 15 min, 92%.

Shema 2.55. Lawesson-ov reagens i njegov mehanizam disocijacije.

Polazna 1,4-dikarbonilna jedinjenja (**2.226**), kao i sami α -acilaminotioketoni (**2.227**), dostupni su preko četvorokomponentne Ugi-jeve reakcije (Shema 2.56),^{151,200–203} kao i u reakciji natrijum diformilamida (**2.228**) sa α -bromoketonima (**2.229**, Shema 2.57).^{196,204}

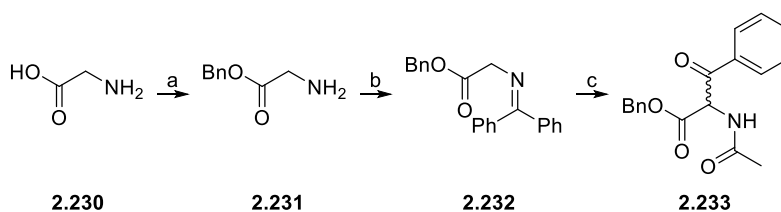


Shema 2.56. Reagensi i uslovi: (a) 80% MeOH, $\uparrow\downarrow$, 10 h, 52%; (b) EtOH, 0 °C, 15 min, zatim st, preko noći, 31%.



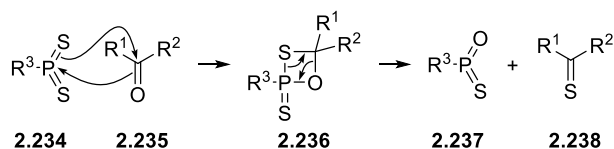
Shema 2.57. Reagensi i uslovi: (a) NaN(CHO)₂, MeCN, st, 2 h, 90%.

Alternativno, α -amido- β -ketoestri (**2.233**) takođe mogu da se upotrebe kao polazna jedinjenja za dobijanje 4-karboksitiazola, a dostupni su iz glicina (**2.230**, Shema 2.58).^{205,206}



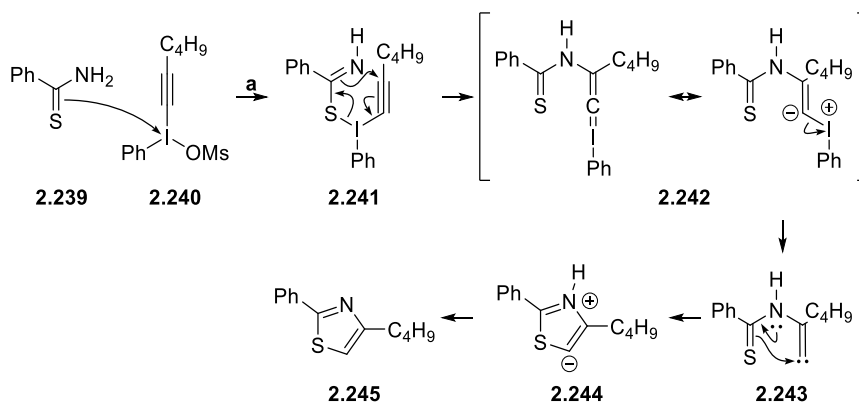
Shema 2.58. Reagensi i uslovi: (a) BnOH/*p*-TsOH, toluen; (b) benzofenon imin, CH₂Cl₂, st, 24 h, 80%; (c) i) NaHMDS, THF, PhC(O)Cl, ii) H₃O⁺, iii) NMM, THF, MeC(O)Cl, 80%.

Mehanizam tionacije karbonilne funkcije uključuje građenje četvoročlanog heterocikla (**2.236**) koji nakon raskidanja daje tioketonsku grupu (**2.238**, Shema 2.59).²⁰⁷ Građenje i razgradnja tiaoksafosfetanskog intermedijera **2.236** donekle podseća na deo mehanizma Wittig-ove reakcije.



Shema 2.59. Opšti mehanizam tionacije karbonilne grupe.

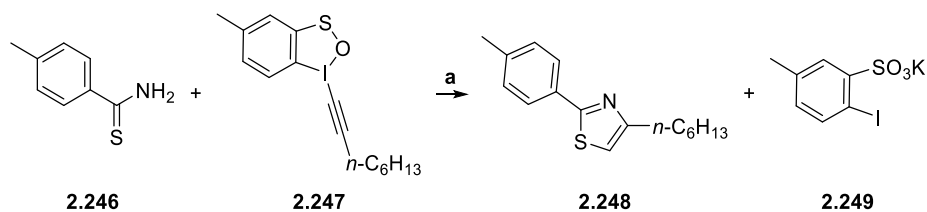
Jedna od varijacija Gabriel-ove sinteze,^o sa karbonskim ugljenikom kao elektrofilom umesto karbonilnog, ostvarena je 1996. godine (Shema 2.60).²⁰⁸



Shema 2.60. Pretpostavljeni mehanizam sinteze tiazola preko karbena. Reagensi i uslovi: (a) Et₂O, 0 °C, 15 min, K₂CO₃, 25 °C, 3 h, 57%.

Pretpostavlja se da nakon reakcije tioamida (**2.239**) i jodonijum soli (**2.240**) dolazi do polihetero-Claisen-ovog premeštanja unutar adicionog proizvoda (**2.241**) što rezultuje građenjem N-alkenilovanog tioamida (**2.242**), koji nakon 1,1-eliminacije prelazi u elektrofilni karben (**2.243**). Konačno, nakon cikloaromatizacije dolazi do građenja tiazola (**2.245**).

Slično kao na gornjoj shemi, hipervalentni jod može da se koristi i u vidu cikličnih 1-alkiniljodonijum jedinjenja (**2.247**, Shema 2.61).¹⁸⁴

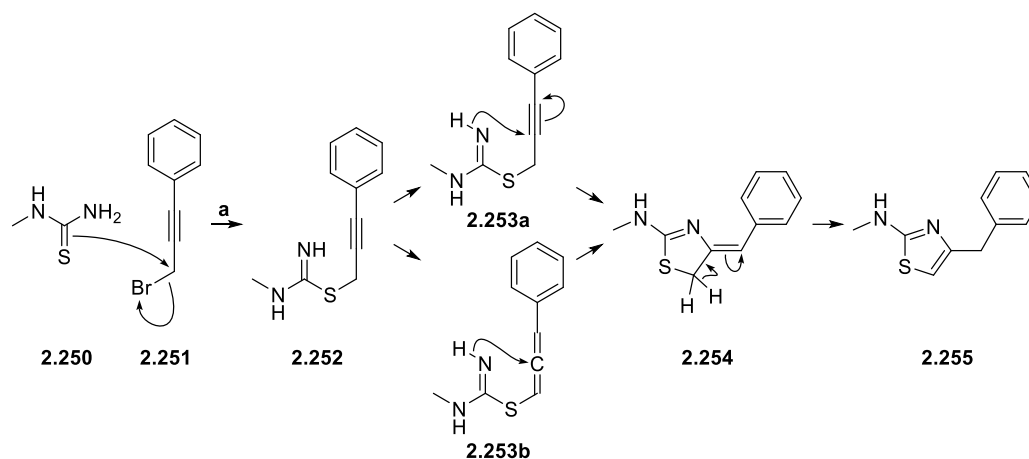


Shema 2.61. Reagensi i uslovi: (a) THF, K₂CO₃, 45 °C, Ar, preko noći, 84%.

^o Iako autori navode Robinson-Gabriel-ovu sintezu oksazola kao inspiraciju za svoju sintetsku strategiju, treba naglasiti da intermedijer **2.243** zapravo više podseća na intermedijere iz Cook-Heilbron-ove metode (**2.119**, Shema 2.53).

2.8.4. Građenje tiazola iz propargil-bromida i tiouree (SCN + C₂)

Naizgled sličan pristup, kombinaciju tioamida i haloalkina (Shema 2.60 i Shema 2.61), međutim u ovom slučaju sa homo-bromidnim derivatima (**2.251**) i po potpuno drugačijem mehanizmu, predložila je grupa Botta *et al.* (Shema 2.62).²⁰⁹

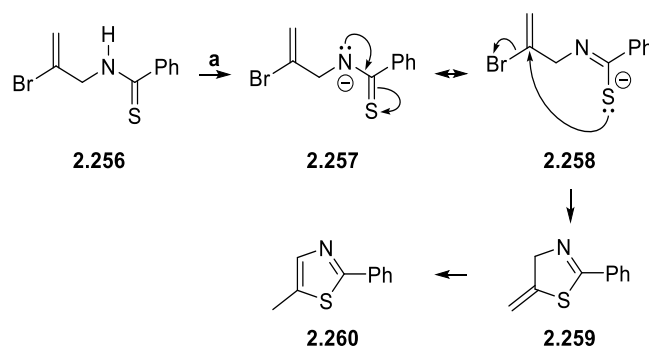


Shema 2.62. Reagens i uslovi: (a) DMF, K₂CO₃, MW, 2 × 5 min, 130 °C, 73%.

Autori su sa propargil-bromidima **2.251** pored tiourea (**2.250**) kondenzovali i tiopirimidinone, čime su dobili seriju tiazolopirimidinona.

2.8.5. Građenje tiazola iz vinil bromida (C₂NCS)

Umesto nitrilnog ugljenika kao u Cook-Heilbron-ovoj sintezi, za dobijanje tiazola kao elektrofilni centri mogu da se koriste i halovinilni delovi molekula tioamida (**2.256**, Shema 2.63).²¹⁰

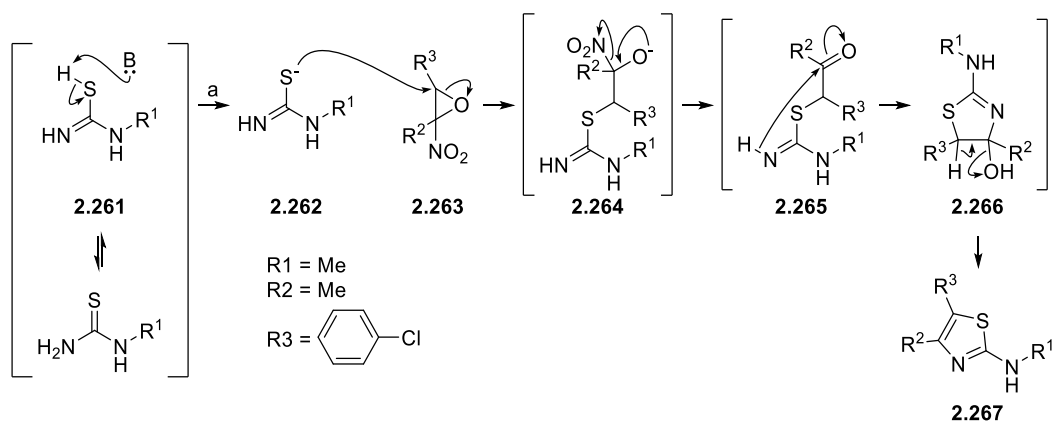


Shema 2.63. Reagens i uslovi: (a) K₂CO₃, DMF, 80 °C, 17 h, 79%.

S-napad koji daje tiazolin (**2.259**) koji se naknadno izomerizuje u tiazol (**2.260**) je zbog stabilnosti proizvoda favorizovan u odnosu na N-napad koji bi u teoriji mogao dati aziridinsko jedinjenje.

2.8.6. Građenje tiazola iz α -nitroepoksida i derivata tiouree (SCN + C₂)

Iako se i u ovoj sintetskoj strategiji koriste derivati tiouree (**2.261**) kao kod Hantzsch-ove sinteze, specifičnost joj daje upotreba nitroepoksida (**2.263**), koji igraju ulogu elektrofila za tiolni anjon (**2.262**, Shema 2.64).²¹¹



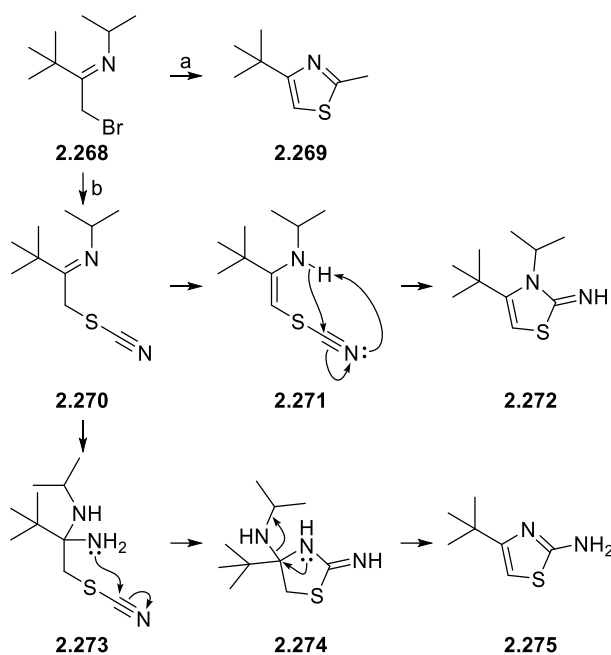
Shema 2.64. Pretpostavljeni reakcioni mehanizam. Reagensi i uslovi: (a) MeONa, MeOH, 25 °C, 6 h, 96%.

Pretpostavlja se da se pod uticajem baze tiourea **2.261** deprotonuje, te da novonastali intermedijer **2.262** napada epoksid **2.263** koji podleže raskidanju prstena. Nakon eliminacije usled prisustva dobre odlazeće nitro grupe dolazi do ciklizacije nastalog karbonila (**2.265**), nakon čega tiazolinski intermedijer (**2.266**) podleže dehidraciji što rezultuje građenjem aminotiazola (**2.267**).

Ustanovljeno je da tiouree sa elektron-donorskim supstituentima daju veće prinose odgovarajućih tiazola.

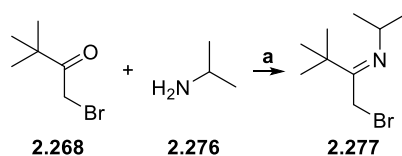
2.8.7. Građenje tiazola iz α -halometil ketimina (C₂N + CS)

Kondenzacijom α -halometil ketimina (**2.268**) sa pogodnim bidentatnim nukleofilima poput tioacetamida ili amonijum tiocijanata mogu da se sintetišu 2-metil tiazoli (**2.269**), kao i 2-amino tiazoli (**2.275**), odnosno 2-imino tiazolini (**2.272**, Shema 2.65).²¹²



Shema 2.65. Reagensi i uslovi: (a) tioacetamid, MeOH, 60-70 °C, 90 min, 74%; (b) NH_4SCN , MeCN, 55 °C, 3 h, 90% i 10% 2.275 i 2.272, respektivno.

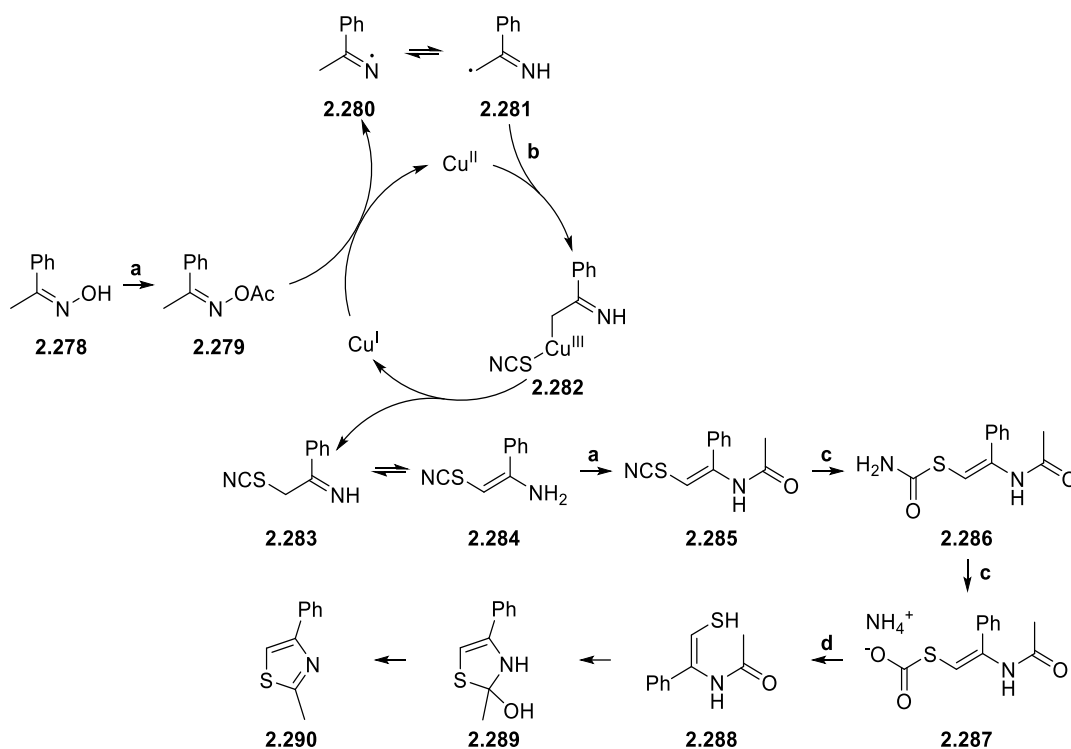
α -Halometil ketimini su dostupni iz standardnih sirovina za Hantzsch-ovu ciklizaciju tiazola, α -halometil ketona (Shema 2.66).²¹³



Shema 2.66. Reagensi i uslovi: (a) TiCl_4 , Et_2O , st, 1 h, 73%.

2.8.8. Građenje tiazola iz oksima, anhidrida i tiocijanata ($\text{C}_2\text{N} + \text{C} + \text{S}$, SC_2NC)

Oksimi, pored toga što su prekursori amida i nitrila, mogu da posluže i kao glavna sirovina za dobijanje tiazola u bakrom katalizovanoj reakciji sa anhidridima i KSCN (Shema 2.67).^{214,215}



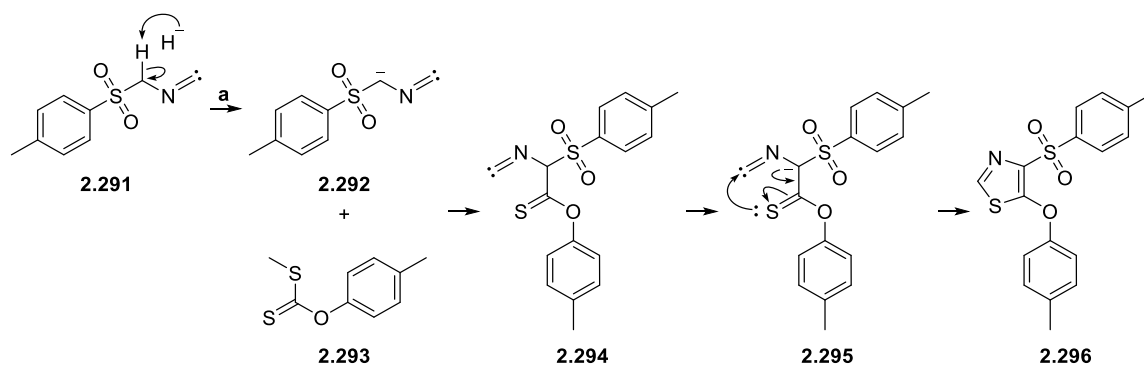
Shema 2.67. Reagensi i uslovi: (a) Ac_2O , toluen, N_2 ; (b) KSCN; (c) H_3O^+ ; (d) 120°C , 24 h, 54%.

U veoma složenom mehanizmu koji u nekoliko stupnjeva uključuje i radikalske reakcije, ključnu ulogu igra α -acilaminotienolska struktura (**2.288**)^P koja podleže ciklizaciji dajući tiazolin (**2.289**) koji na kraju dehidratacijom gradi tiazol (**2.290**).

2.8.9. Građenje tiazola iz ditiokarboksilata i metilen izocijanida ($\text{CNC} + \text{CS}$, CNC_2S)

Već spomenuti ditiokarboksilati (**2.293**, Shema 2.68 i **2.211**, Shema 2.53, poglavlje 2.8.2), osim sa α -aminonitrilom, tiazole mogu da grade i sa aktiviranim metilen izocijanidima (**2.292**).²¹⁶ Ova metoda je pogodna za sintezu 4- i 5-supstituisanih tiazola (**2.296**).

^P Keto-enolni tautomer α -acilaminotioketonskih intermedijera iz Gabriel-ove sinteze.

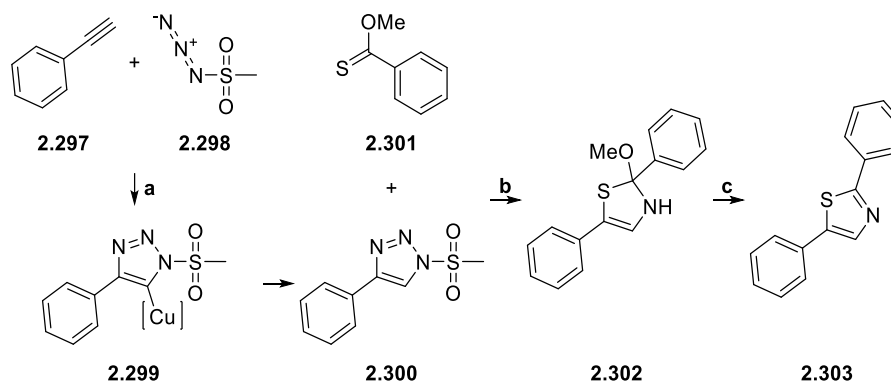


Shema 2.68. Reagensi i uslovi: (a) NaH, DMF, 0 °C, zatim st, 12 min, 95%.

Pretpostavlja se da se i u ovom mehanizmu gradi karbensi ugljenik (**2.294**, Shema 2.68 i **2.243**, Shema 2.60, poglavlje 2.8.3) koji ponovo služi kao meta nukleofilnom sumporu, s tom razlikom da se u ovom slučaju karben formira na budućem C-2 tiazolnog prstena (**2.296**).

2.8.10. Građenje tiazola iz terminalnih alkina, sulfonil azida i tionoestara (C₂N + SC)

Moguć odgovor na problematično dobijanje 2,5-supstisuanih tiazola Hantzsch-ovom metodom ponudila je grupa japanskih naučnika Murakami *et al.* 2015. godine kombinujući dva katalitička koraka: 1,3-dipolarnu cikloadiciju terminalnih alkina (**2.297**, dipolarofili) sa sulfonilazidima (**2.298**, 1,3-dipoli) katalizovanu pomoću Cu(I), a zatim reakciju dobijenih 1,2,3-triazola^q (**2.300**) sa tionoestrima^r (**2.301**) katalizovanu pomoću Rh(II) (Shema 2.69).¹⁷⁹

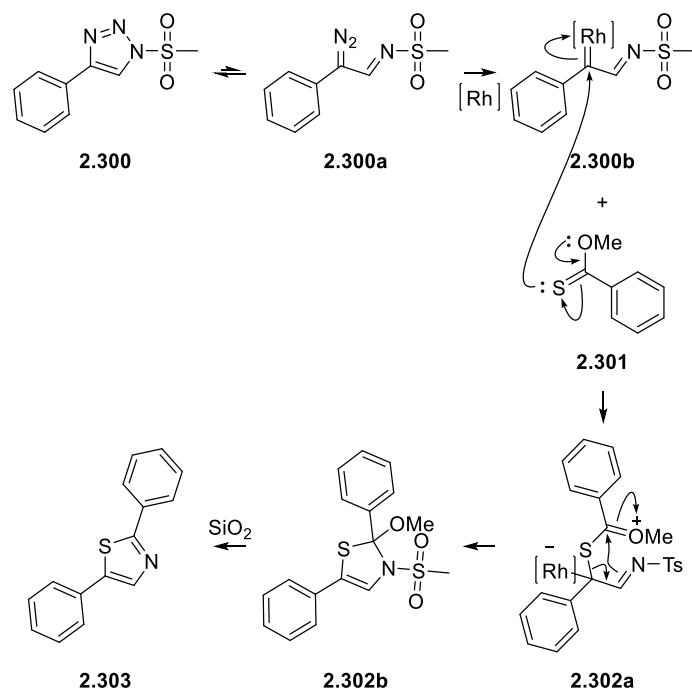


Shema 2.69. Reagensi i uslovi: (a) CuTC, toluen, st, 3.5 h, 89%; (b) (tBuCO₂)₄Rh₂, CHCl₃, MS, 70 °C, 1 h; (c) SiO₂, st, 4h, 90%.

Pretpostavljeni mehanizam građenja tiazola uključuje reverzibilnu prsten-lanac tautomerizaciju u kojoj se iz triazola (**2.300**) gradi α -diazoinimin (**2.300a**, Shema 2.70).

^q 1,2,3-triazoli zatim grade α -imino metalne komplekse sa Rh(II), a ovi kompleksi se ponovo ponašaju kao 1,3-dipoli jer imaju elektrofilni karben i nukleofilni iminski azot.

^r U radu je pokazano da se tionoestri pak mogu ponašati kao dipolarofili.

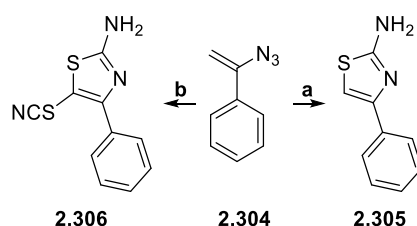


Shema 2.70. Pretpostavljeni mehanizam građenja tiazolnog prstena iz triazola.

Ova reaktivna vrsta sa Rh(II) gradi Rh(II)-iminokarben (**2.300b**), koji u zavisnosti od izbora nukleofila^s može da posluži za građenje ne samo tiazola, nego i srodnih azotnih heterocikala poput imidazola ili pirola.²¹⁷ Nakon ciklizacije tiazolin (**2.302b**) se aromatizuje dejstvom kiselog silikagela.

2.8.11. Građenje tiazola iz vinil azida i KSCN ($C_2N + SC$)

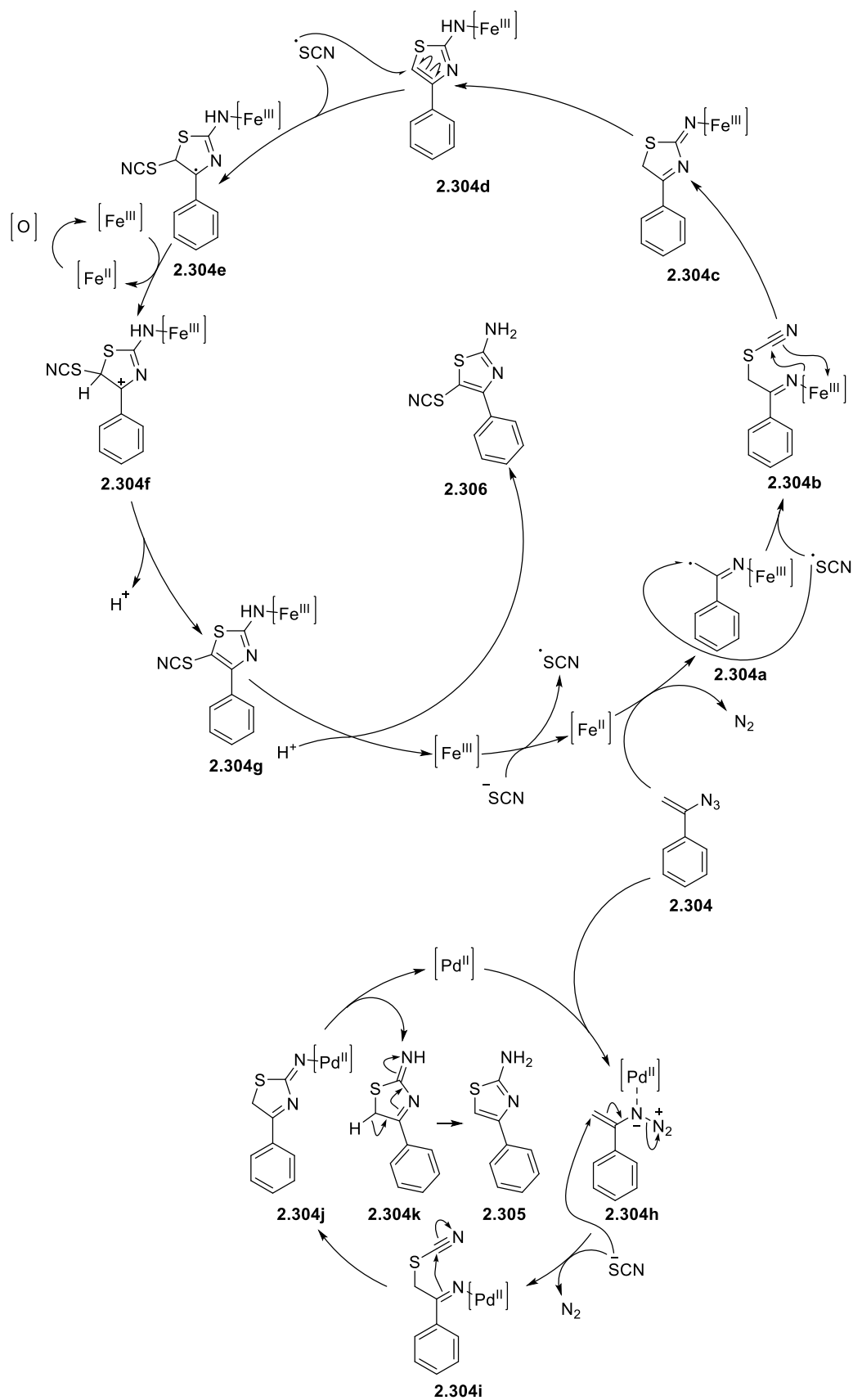
Sinteza 4-supstituisanih 2-aminotiazola sa opcionom 5-tiocijanatom funkcijom u zavisnosti od izbora katalizatora omogućena je u reakciji vinil azida (**2.304**) i KSCN (Shema 2.71).²¹⁸



Shema 2.71. Reagensi i uslovi: (a) KSCN, Pd(Oac)₂, PrOH, 80 °C, 12 h, 90%; (b) KSCN, FeBr₃, CH₃CN, 80 °C, 12 h, 90%.

Pretpostavlja se da se reakcije odvijaju po jonskom (sa Pd(II)), odnosno radikalskom (sa Fe(III)) mehanizmu (Shema 2.72).

^s Tj. dienofila, kao što navode Murakami *et al.*

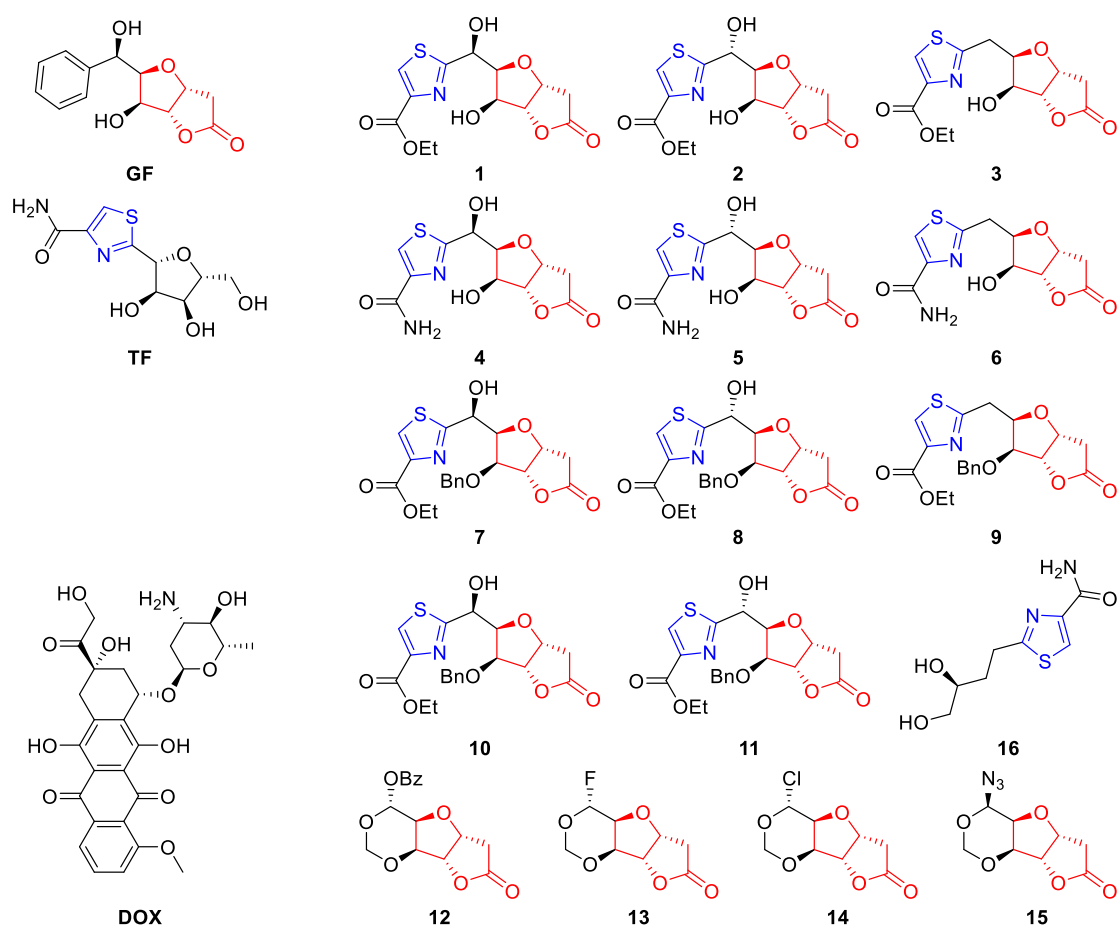


Shema 2.72. Radikalni (sa Fe(III)) i jonski (sa Pd(II)) mehanizam ciklizacije vinil azida sa tiocijanatom.

3. Naši radovi

U ovom poglavlju je prikazana sinteza 11 himernih tiazolnih izostera goniofufurona (**GF**) (**1-11**), 4 konformaciono kruta analoga goniofufurona (**12-15**) i jednog acikličnog mimetika tiazofurina (**16**). Takođe, predstavljeni su rezultati ispitivanja i poređenja bioloških aktivnosti sintetisanih analoga **1-3** i **6-15** prema ćelijskim linijama odabranih tumora sa aktivnošću i selektivnošću kako **GF** i tiazofurina (**TF**) tako i doksorubicina (**DOX**), komercijalnog citostatika (Slika 3.1). U nastavku je izvršena analiza apoptotičkog uticaja jedinjenja **12-14** na ćelije K562. Konačno, ispitana je toksičnost jedinjenja **6** na modelu zebrice.

Hiralni prekursor novosintetisanih jedinjenja **1-15** bila je D-glukoza, a jedinjenja **16** D-arabinoza.

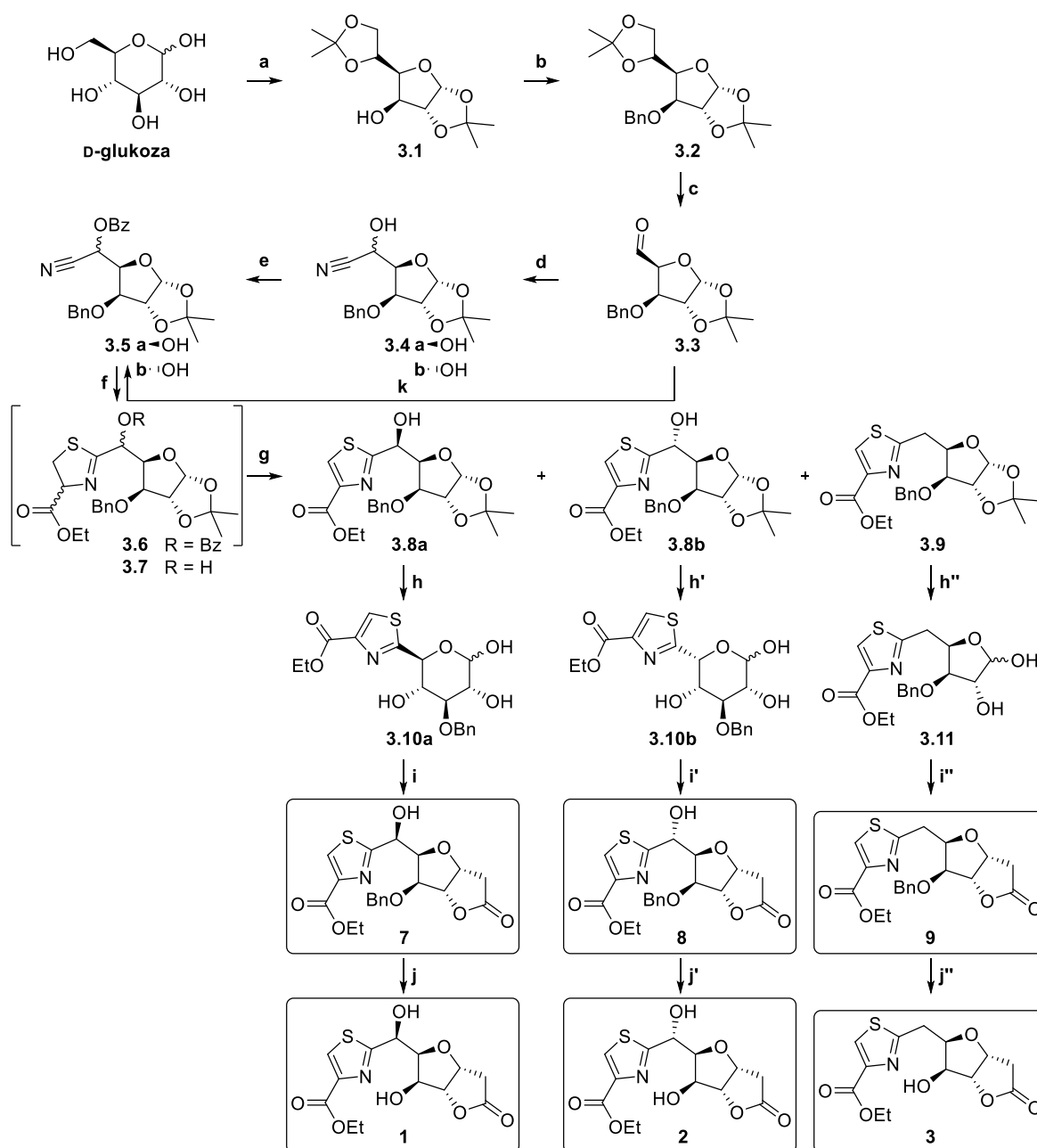


Slika 3.1. Pregled struktura **GF**, **TF**, **DOX** i novosintetisanih analoga **1-16**.

3.1. Sinteza jedinjenja **1-3** i **7-9**

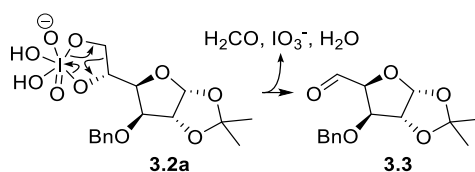
Jedinjenja **1-3** i **7-9** su sintetisana u našoj laboratoriji u po 10 (**1-3**)[†] odnosno 9 (**7-9**) sintetskih faza, polazeći iz D-glukoze, u ukupnim prinosima od 0.33%, 0.68% i 0.49% (**1-3**, respektivno), odnosno 1.08%, 1.29% i 0.75% (**7-9**, respektivno, Shema 3.1). Tačke divergencije su bile reakcija d (odnosno k u varijaciji sintetskog puta), kada je došlo do formiranja dva epimera u položaju 5 (C-7 u finalnim jedinjenjima) kao i reakcija g, nakon koje su novonastalo 5-deoksi jedinjenje (**3.9**) i 5-hidroksi epimeri (**3.8a** i **3.8b**) razdvojeni posle obrade sirove reakcione smese.

[†] Odnosno 9 ako posmatramo skraćeni sintetski put sa reakcijom k.



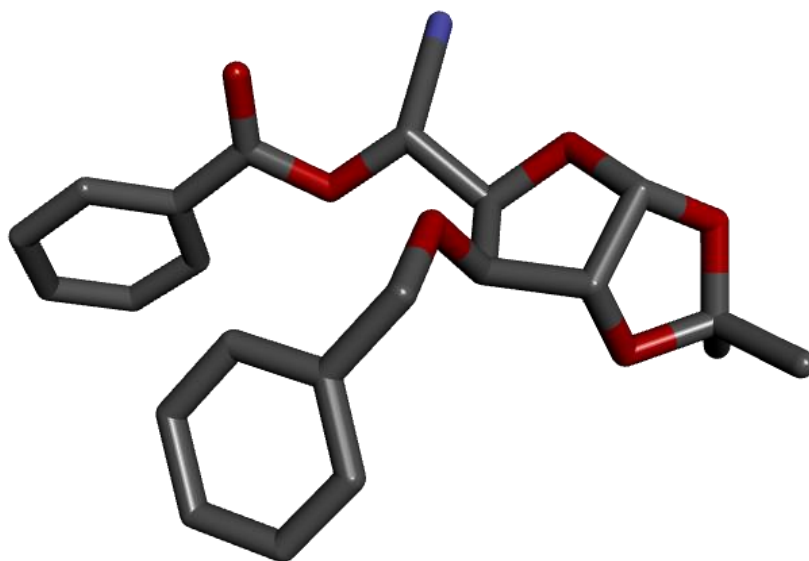
Shema 3.1. Reagensi i uslovi: (a) cc. H_2SO_4 , aceton, st, 5 h, 44%; (b) NaH, BnBr, DMF, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{st}$, 2 h, 92%; (c) H_5IO_6 , EtOAc, st, 3 h; (d) TMSCN, Ph_3PMel , CH_2Cl_2 , st, 48 h, 59% (u odnosu na **3.2**); (e) Py, CH_2Cl_2 , BzCl, st, 47 h, 53% (**3.5a**), 29% (**3.5b**); (f) LCEEH, MeOH, Et_3N , st, 3.5 h; (g) CBrCl_3 , DBU, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow +4^\circ\text{C}$, 48 h, 22% (**3.8a**), 25% (**3.8b**) i 8% (**3.9**), sve u odnosu na **3.5**; (h) 90% aq TFA, 0°C , 0.5 h, 59%; (h') 90% aq TFA, 0°C , 3 h, 67%; (h'') 90% aq TFA, 0°C , 3 h, 78%; (i) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , $46\text{--}50^\circ\text{C}$, 76 h, 40%; (i') Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , $46\text{--}48^\circ\text{C}$, 73 h, 37%; (i'') Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , $46\text{--}48^\circ\text{C}$, 48 h, 58%; (j) TiCl_4 , CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow +4^\circ\text{C}$, 173 h, 31%; (j') TiCl_4 , CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow +4^\circ\text{C}$, 22.5 h, 53%; (j'') TiCl_4 , CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow +4^\circ\text{C}$, 73 h, 65%; (k) DMSO, BzCN, MS 4 \AA , st, 8.5 h, 32% (u odnosu na **3.2**).

Nakon zaštite dve terminalne diolne sekvence glukoze građenjem 1,2:5,6-diacetonida **3.1** reakcijom sa acetonom u kiseloj sredini i benzilovanja slobodne hidroksilne grupe na C-3, jedinjenje **3.2** je podvrgnuto selektivnom oksidativnom raskidanju terminalne C-C veze pomoću perjodne kiseline (c, Shema 3.1), koje je teklo preko građenja i raskidanja cikličnog perjodatnog estra (**3.2a**, Shema 3.2).



Shema 3.2. Mehanizam razgradnje cikličnog perodatnog estra.

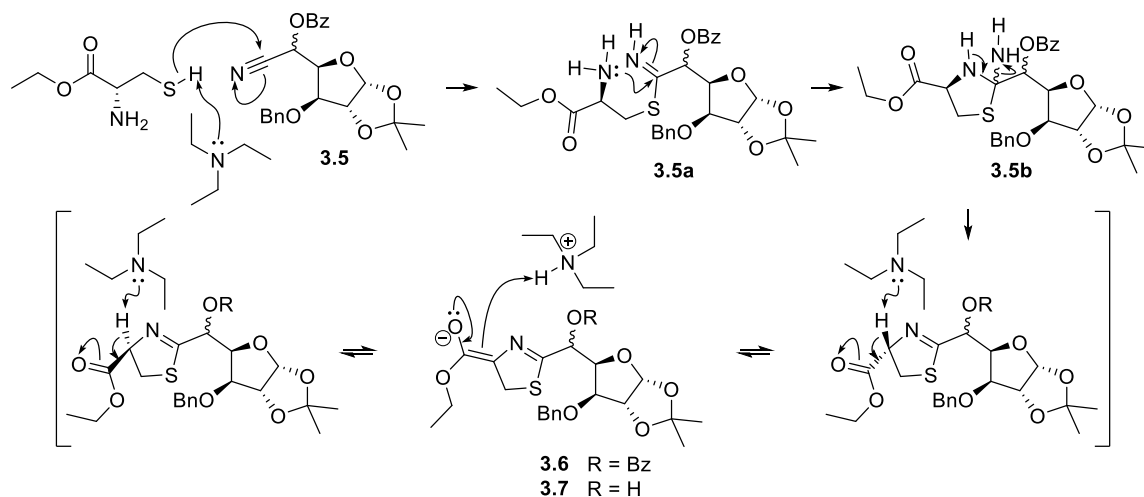
Uvođenje nitrilne funkcije izvedeno je pomoću TMSCN u prisustvu Ph_3PMel , a nastala smesa epimera **3.4** podvrgnuta je benzoilovanju u pokušaju dobijanja lakše razdvojivih epimera **3.5**, što je i postignuto (e, Shema 3.1). Struktura (*R*)-epimera **3.5a** dokazana je kristalografski (Slika 3.2).



Slika 3.2. Molekulska struktura jedinjenja **3.5a**.

Smesa benzoata **3.5** dobijena je i na alternativni način, direktno iz aldehida **3.3** (k, Shema 3.1).

Zatim je usledila veoma bitna dvofazna etapa građenja tiazolnog prstena (f i g, Shema 3.1), čiji je prvi korak bila adicija tiolne funkcije etil-estra hidrohlorida L-cisteina na nitrilni ugljenik *O*-benzoil-cijanohidrina **3.5** (C + SC_2N tip reakcije, Shema 3.3).



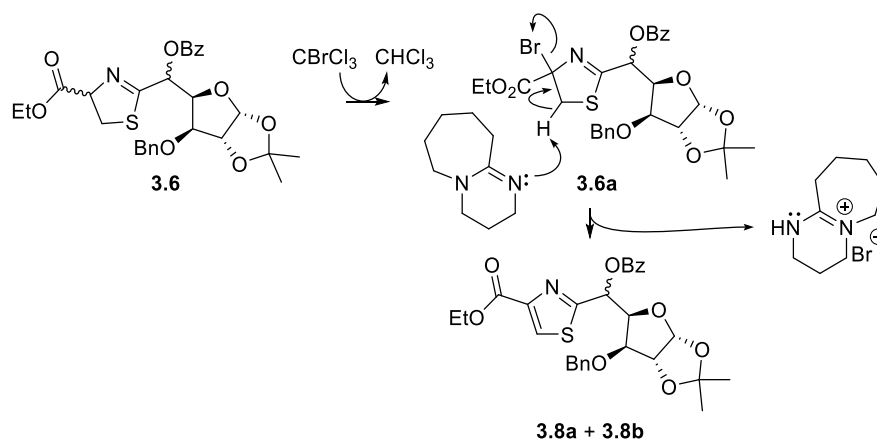
Shema 3.3. Mehanizam građenja tiazolinskih intermedijera **3.6** i/ili **3.7** i njihove epimerizacije u baznoj sredini.

Nakon građenja C-S veze usled bazno-katalizovanog napada tiolne grupe hidrohlorida etil-estra L-cisteina na ugljenik nitrilne grupe *O*-benzoil-cijanhidrina (**3.5**), došlo je do ciklizacije usled intramolekulskog nukleofilnog napada pogodno postavljene amino-funkcije aminokiseline na ugljenik iminskog intermedijera (**3.5a**), nakon čega je došlo do eliminacije amonijaka i bazno katalizovane epimerizacije tiazolina (**3.6** i/ili **3.7**).

Takođe, s obzirom na činjenicu da su dva (**3.8a** i **3.8b**) od tri krajnja proizvoda ove dvofazne sekvence imali slobodnu OH grupu u položaju 5, postoji pretpostavka da je u jednoj od faza (ciklizacija i/ili oksidacija) došlo do bazno katalizovanog uklanjanja benzoil-estarske funkcije sa određenog procenta molekula. U slučaju da se to desilo u fazi ciklizacije, sastav reakcione smese je potencijalno dodatno zakomplikovan mogućim prisustvom tiazolinskih C-5 alkohola **3.7** (Shema 3.1).

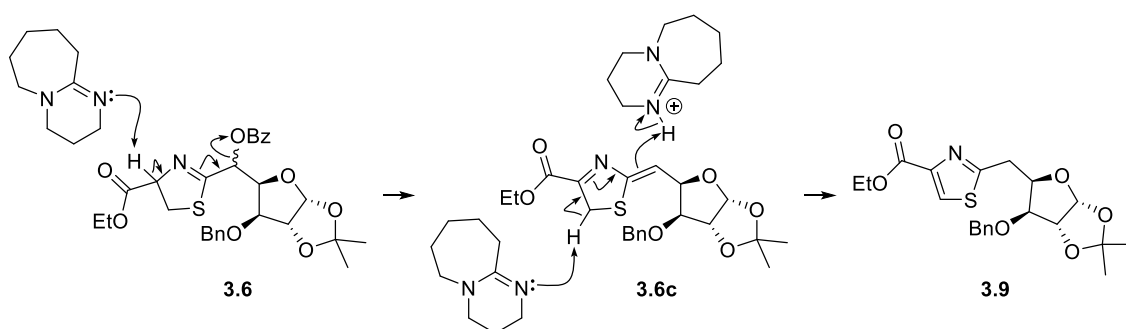
Sirova smesa četiri^u diastereomerna tiazolina **3.6** je zatim podvrgnuta oksidaciji pomoću DBU/BrCCl₃ (Shema 3.4).^{219,220}

^u Ili dva puta po četiri (i **3.6** i **3.7**) u slučaju delimičnog debenzoilovanja.



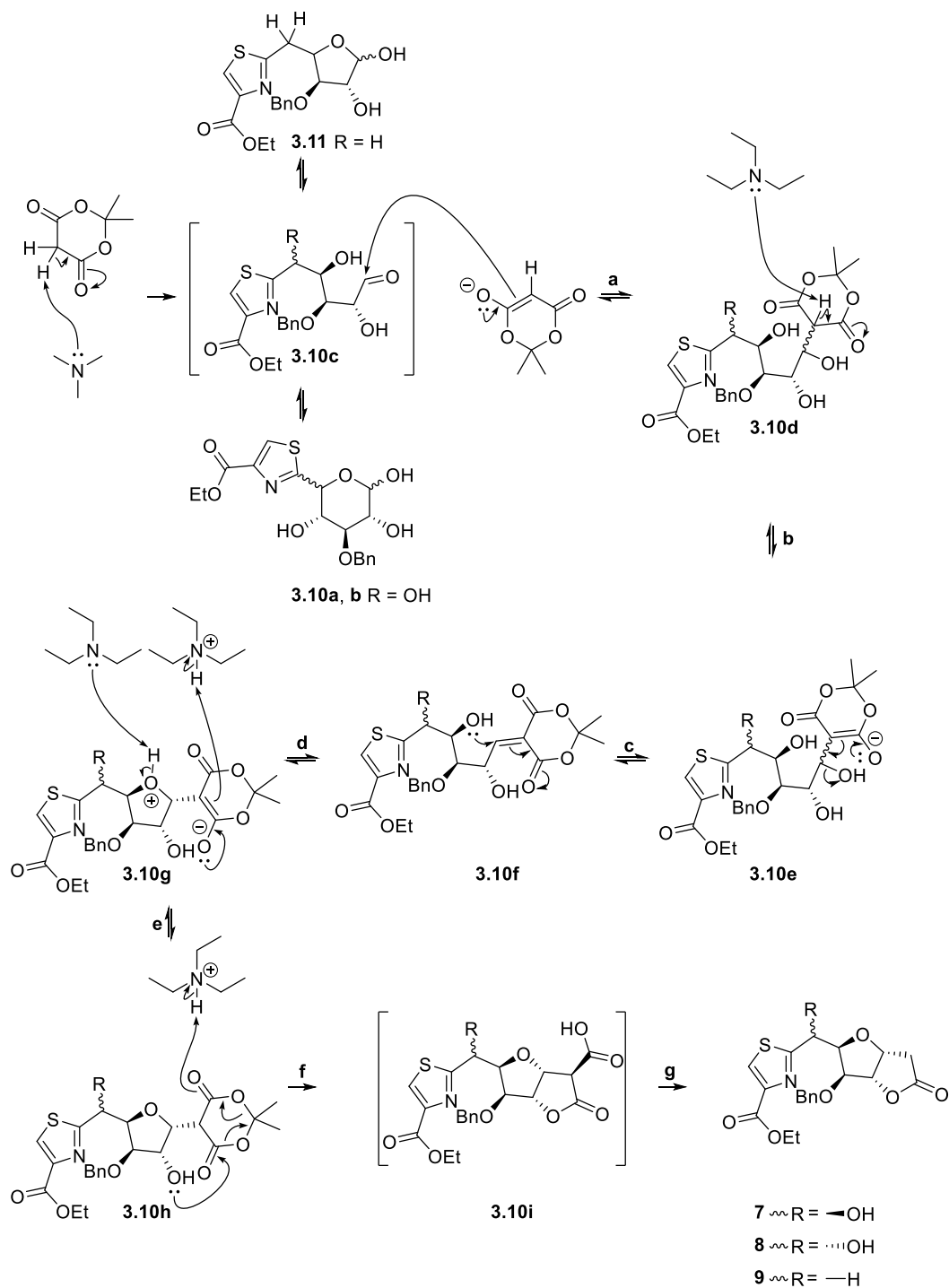
Shema 3.4. Mehanizam oksidacije tiazolina u tiazol na primeru benzoilovanog tiazolina iz smese **3.6**.

Prva faza mehanizma oksidacije bila je apstrakcija hidridnog anjona praćena građenjem bromida (**3.6a**). Nakon eliminacije HBr dejstvom DBU dobijena je smesa tiazola **3.8a** i **3.8b**. Međutim, nakon obrade reakcione smese utvrđeno je i prisustvo 5-deoksi tiazola (**3.9**). Na osnovu nekih naših ranijih radova, pretpostavlja se da je ovaj nusproizvod nastao kao posledica uzastopne apstrakcije protona sa C-4' i C-5' iz smese benzoilovanih tiazolina (**3.6**) od strane baze DBU, usled čega je došlo do eliminacije dobre odlazeće grupe OBz (Shema 3.5, takođe Shema 3.14).⁷



Shema 3.5. Pretpostavljeni mehanizam sporedne reakcije deoksigenacije na primeru benzoilovanog tiazolina iz smese **3.6**.

Posle razdvajanja, sva tri tiazola su prevedena u furano-furonski oblik uvođenjem C₂O fragmenta, pri čemu je formiran laktonski prsten.¹⁰⁹ Ovo je izvedeno u dve faze (h i i, Shema 3.1). U prvoj etapi je uklonjena izopropilidenska zaštita sa acetonida (**3.8a**, **3.8b** i **3.9**) kiselom hidrolizom, a zatim su novonastali 1,2-dioli (**3.10a**, **3.10b** i **3.11**) kondenzovani sa Meldrum-ovom kiselinom u baznoj sredini prateći složen mehanizam (Shema 3.6).

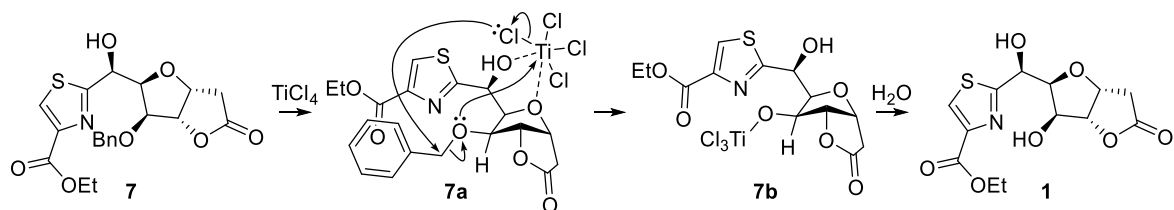


Shema 3.6. Složeni mehanizam Meldrum-ove reakcije: a-c) Knoevenagel-ova kondenzacija; d-e) Michael-ova ciklizacija; f) laktonizacija/fragmentacija; g) dekarboksilacija.

Reakcija je počela deprotonacijom Meldrum-ove kiseline, uz građenje enolatnog anjona, koji je zatim nukleofilno napao karbonilni ugljenik acikličnih oblika hidrolizata (**3.10c**, Shema 3.6) gradeći tako novu C-C vezu. Nakon deprotonacije i dehidratacije, nastali su konjugovani en-dioni **3.10f**, čiji alkenski ugljenik je zbog blizine dva elektron-privlačna karbonilna ugljenika predstavljao dobru elektrofilnu metu za intramolekulski napad OH-grupe sa C-4. Nakon keto-enolne tautomerizacije molekul je

podlegao laktonizaciji, usled čega je došlo do izdvajanja acetona, a zatim i dekarboksilacije kao poslednje etape kondenzacije. Na ovaj način su dobijena finalna benzilna jedinjenja **7-9** koja su poslužila i kao prekursori finalnim jedinjenjima **1-3**.

Poslednji korak bilo je uklanjanje benzil-etarske zaštite sa jedinjenja **7-9** pomoću TiCl_4 (Shema 3.7).



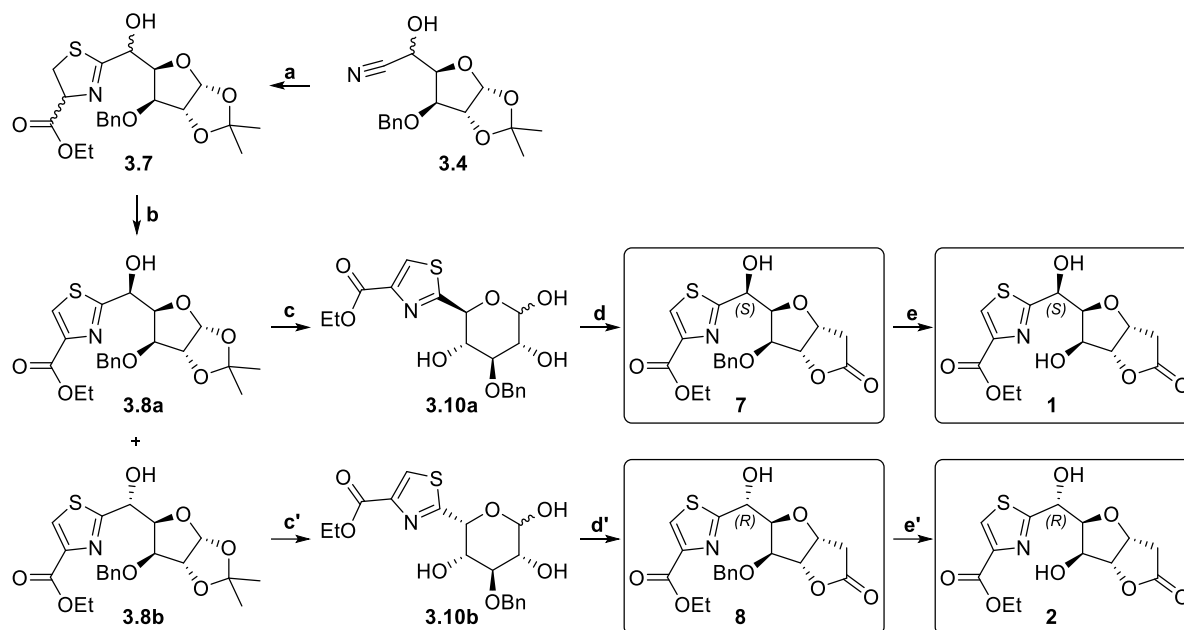
Shema 3.7. Pretpostavljeni mehanizam uklanjanja benzil-etarske zaštite iz **7**.

Titanijum(IV)-tetrahlorid se ponaša kao Lewis-ova kiselina, i pretpostavlja se da je u reakcionoj smesi izgradio heksakoordinirani bipiramidalni kompleks sa dva pogodno orijentisana kiseonika (**7a**).^v Benzil-etarski kiseonik je zatim napao i raskinuo ovaj kompleks, pri čemu je oslobođeni hlorid uklonio benzilnu zaštitu sa pomenutog kiseonika.²²¹ Finalna jedinjenja **1-3** dobijena su nakon tretiranja smese vodom i hromatografskog prečišćavanja.

3.2. Alternativna sinteza jedinjenja **1**, **2**, **7** i **8**

U pokušaju da se izbegne građenje 5-deoksi-intermedijera **3.9** i na taj način poveća prinos tiazola **3.8a** i **3.8b**, a samim tim i finalnih laktona **1** i **2**, i imajući u vidu da je prisustvo benzoil-grupe u položaju C-5 bilo najverovatniji razlog za deoksigenovanje određene količine intermedijera **3.6** u tom položaju, iz alternativnog sintetskog puta je izostavljena reakcija benzoilovanja cijanhidrina **3.4**, te je na ovom jedinjenju direktno izvedena ciklizacija. Ostvareni prinosi su poboljšani u slučaju (*S*) derivata, 0.51% i 1.63% (**1** i **7**, respektivno), dok su prinosi (*R*) derivata ostali približno isti kao i u prethodnom reakcionom putu, 0.65% i 1.22% (**2** i **8**, respektivno, Shema 3.8).

^v U slučaju jedinjenja **9** može se pretpostaviti da se kompleks gradi između furanskog O i jednog od heteroatoma iz tiazolnog prstena.



Shema 3.8. Reagensi i uslovi: (a) LCEEH, MeOH, Et₃N, st, 3 h, 59% (ili 5 h, 79%);^w (b) CBrCl₃, DBU, CH₂Cl₂, 0 °C, 5 h → +4 °C, 5 dana, 49% (**3.8a**), 35% (**3.8b**); (c) 90% aq TFA, 0 °C, 0.5 h, 59%; (c') 90% aq TFA, 0 °C, 3 h, 67%; (d) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et₃N, 46–50 °C, 76 h, 40%; (d') Meldrum-ova kiselina, DMF, Et₃N, 46–48 °C, 73 h, 37%; (e) TiCl₄, CH₂Cl₂, 0 °C, 110 min → +4 °C, 171 h, 31%; (e') TiCl₄, CH₂Cl₂, 0 °C, 1 h → +4 °C, 21.5 h, 53%.

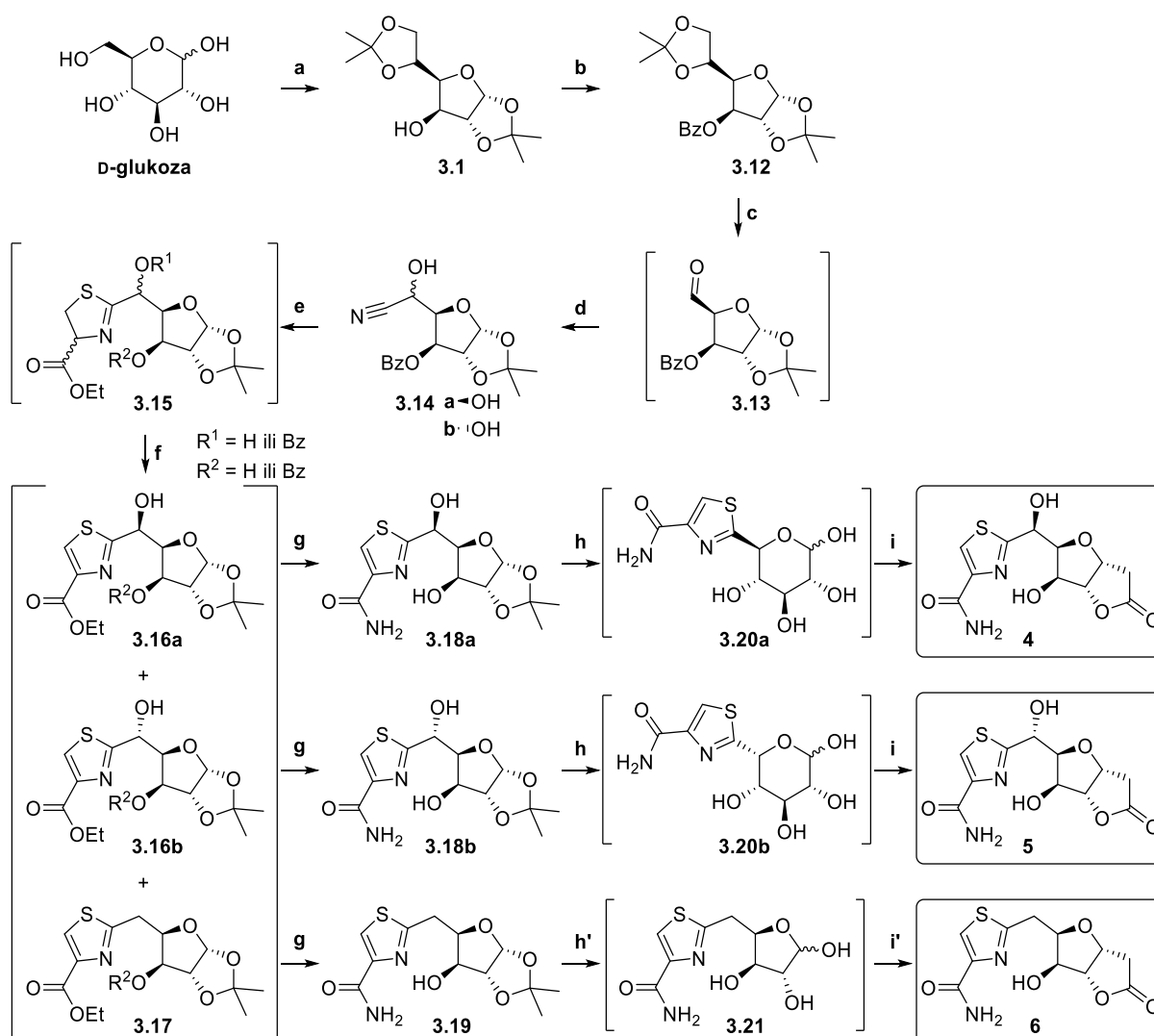
Nakon uvođenja nitrilne funkcije u aldehyd (**3.3**) pomoću TMSCN u prisustvu Ph₃PMel, odmah je izvršena dvofazna etapa građenja tiazolnog prstena čiji mehanizam je potpuno analogan mehanizmu ciklizacije opisanom u prethodnom poglavlju (Shema 3.3).

Smesa tiazolina je zatim rutinski oksidovana već opisanom metodom (Shema 3.4), nakon čega je utvrđeno da u smesi proizvoda reakcije nema deoksigenovanog tiazola **3.9**. Tiazolni epimeri su zatim podvrgnuti hidrolizi izopropilidenske funkcije i Meldrum-ovoj reakciji dajući finalna benzilna jedinjenja **7** i **8** (c/c' i d/d', respektivno, Shema 3.1 i Shema 3.8). Benzilni derivati su zatim izloženi dejstvu TiCl₄ čime je uklonjena benzilna grupa dajući finalne epimere **1** i **2**.

3.3. Sinteza jedinjenja 4-6

Amidni derivati **4-6** su sintetisani u našoj laboratoriji u 9 sintetskih faza, polazeći iz D-glukoze u prinosima od 0.09%, 0.06% i 0.08%, respektivno (Shema 3.9).

^w Iako je ukupan prinos smese tiazolina povećan sa produženjem reakcionog vremena, iz prinosa tiazola koji su dobijeni iz respektivnih šarži tiazolina vidi se da je sa produženjem reakcionog vremena takođe smanjen odnos epimernih tiazola **3.8a:3.8b** (poglavlje 4.6)

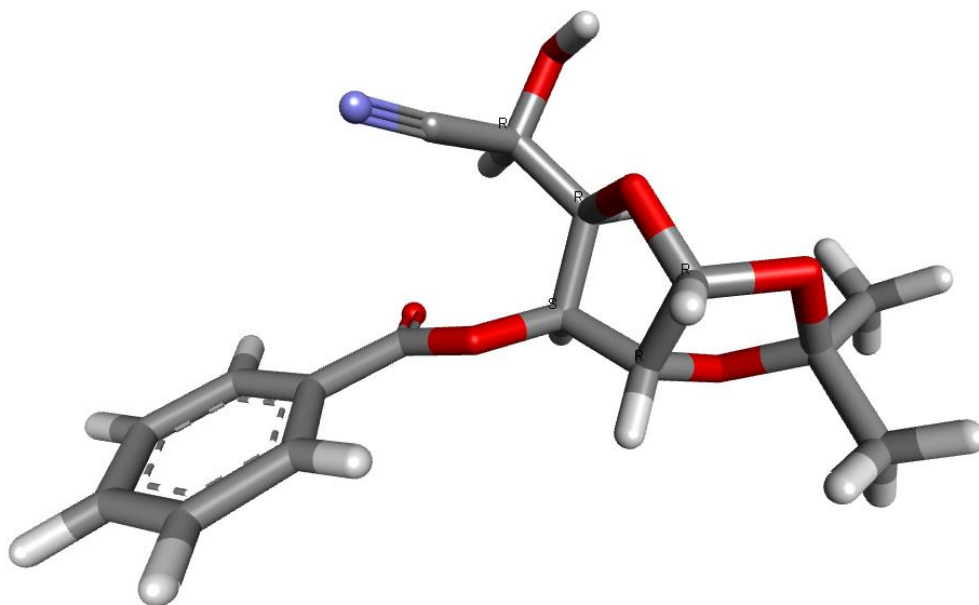


Shema 3.9. Reagensi i uslovi: (a) cc. H_2SO_4 , aceton, st, 5 h, 44%; (b) Py, CH_2Cl_2 , BzCl, 0°C , 15 min \rightarrow st, 72 h, 89%; (c) H_5IO_6 , EtOAc, st, 6 h; (d) DMSO, H_2O , BzCN, st, 72 h, 55% (u odnosu na **3.12**); (e) LCEEH, MeOH, Et_3N , st, 48 h; (f) CBrCl_3 , DBU, CH_2Cl_2 , 0°C , 5 h $\rightarrow +4^\circ\text{C}$, 140 h; (g) NH_3/MeOH , st, 12 dana, 6% (**3.18a**), 13% (**3.18b**), 13% (**3.19**); (h) 90% aq TFA, 0°C , 1 h \rightarrow st, 1.5 h; (h') 90% aq TFA, 0°C , 2.5 h; (i) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , $46\text{--}50^\circ\text{C}$, 48 h, 7% (**4**), 2% (**5**); (i') Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , $46\text{--}48^\circ\text{C}$, 72 h, 3%.

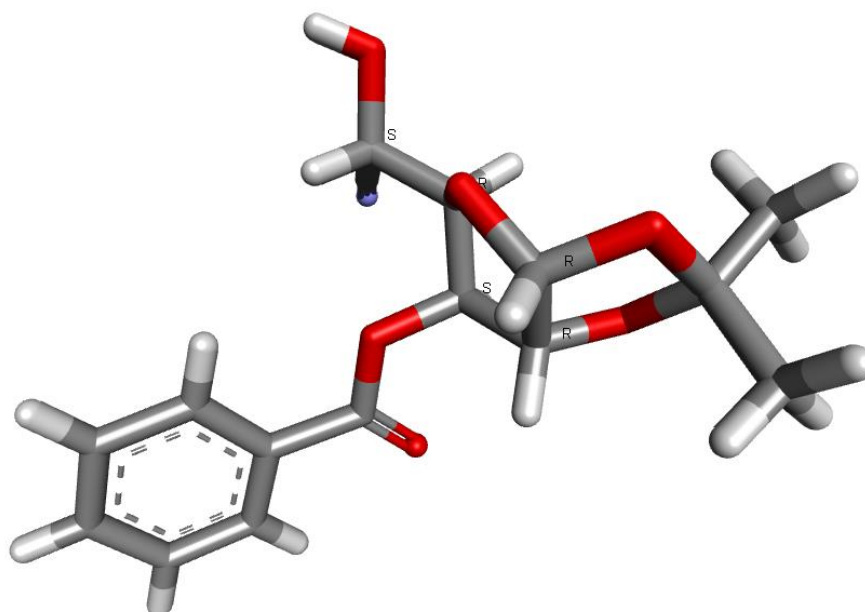
Kao i u slučaju već spomenutih etilestarskih analoga **1-3** i **7-9**, prvi sintetski korak je bio usmeren ka dobijanju diacetona (3.1). Pošto je u ranijim, neuspešnim pokušajima sinteze finalnih amida, poslednji korak, uklanjanje benzoilne funkcije sa C-3 (tj. C-5), predstavljalo nepremostivu prepreku, ispitana je strategija zaštite hidroksilne grupe u ovom položaju estarskom funkcijom umesto etarske. Kao najperspektivniji kandidat za zaštitu izabrana je benzoil grupa, budući da je u prethodnom radu u laboratoriji pokazala najmanju sklonost ka migraciji, odnosno najveću stabilnost. Pretpostavljeno je da će se u toku amonolize ova benzoilna zaštita rutinski ukloniti.

Nakon uspešne esterifikacije usledila je dvofazna sekvenca oksidacija/cijanacija. Kako pokušaji cijanacije aldehida **3.13** pomoću TMS-CN (analogno d, Shema 3.1) nisu dali značajne prinose, pribegnuto je metodi hidrocijanacije predloženoj od strane Oriyama *et al.* koja je zapravo modifikacija reakcije

koju smo već koristili pri dobijanju jedinjenja **3.5** iz aldehida **3.3** (k, Shema 3.1).²²² Modifikacija se sastoji u prisustvu vode u reakcionoj smesi koja je predviđena da blokira građenje benzoatnog estra u položaju C-5, čime bi se izbegla mogućnost deoksigenovanja u tom položaju. Ovo smo želeli da postignemo jer smo već imali put (iako ne potpuno razrađen) za finalno jedinjenje **6** (Shema 3.10). U toku dugotrajnih i samo delimično uspešnih pokušaja izolovanja dobijenih epimernih cijanhidrina (**3.14a**, Slika 3.3 i **3.14b**, Slika 3.4), ispostavilo se da benzoil funkcija ipak najverovatnije migrira na slobodnu hidroksilnu grupu u položaju C-5 (odnosno C-7), te se u narednim fazama radilo sa prečišćenom smesom epimera.



Slika 3.3. Molekulska struktura jedinjenja **3.14a**.



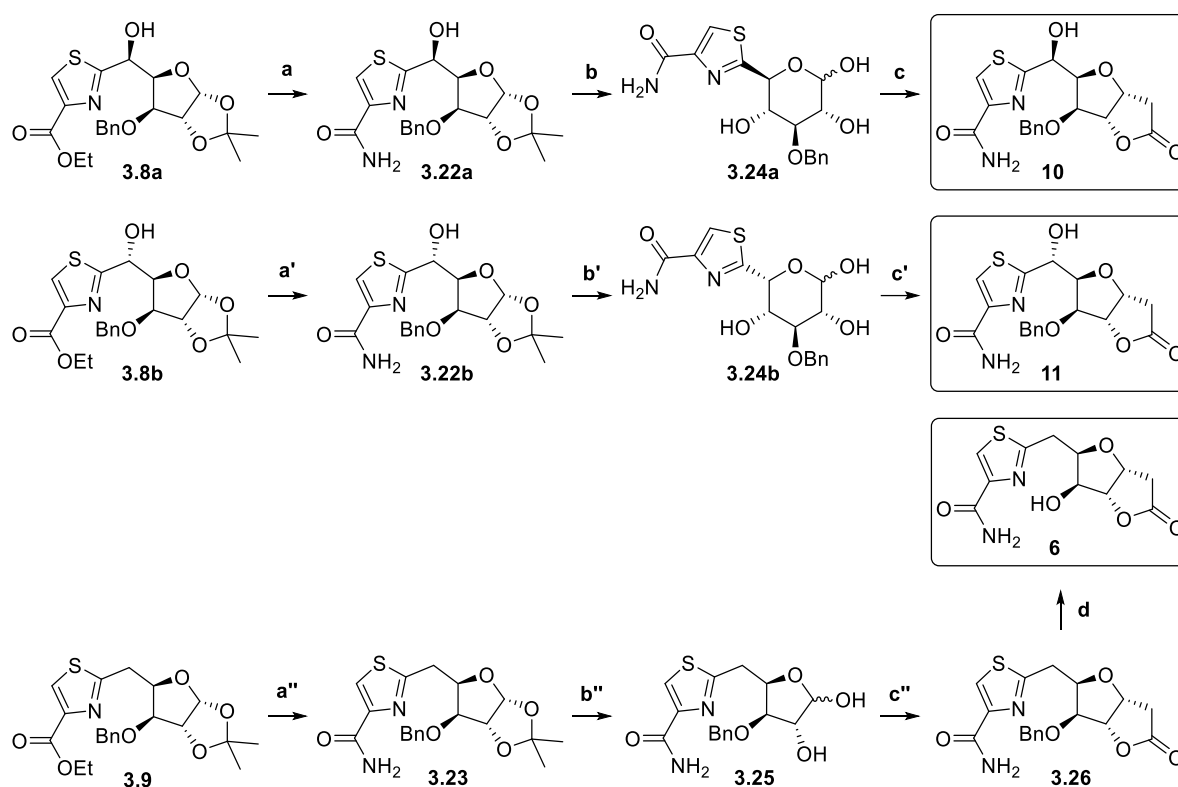
Slika 3.4. Molekulska struktura jedinjenja **3.14b**.

Pretpostavljena migracija benzoatne funkcije na problematično, deoksigenaciji sklono mesto C-5 je i posredno dokazana u narednim etapama. Naime, naredna dvofazna sekvenca, ciklizacija/oksidacija, takođe već opisana u ovom radu (f i g, Shema 3.1), je proširena trećim korakom, amonolizom, čime je istovremeno dobijen željeni tiazol-4'-karboksamidni motiv ali i uklonjena estarska zaštita na C-3/C-5, te je eliminisanjem dalje opasnosti od migracije benzoatnih grupa sastav reakcione smese uprošćen. Međutim, pored dva očekivana derivata (**3.18a** i **3.18b**) iz reakcione smese je izolovan i deoksi-proizvod (**3.19**) koji je nastao usled verovatnog prisustva C-5 benzoata.

Zatim je pristupljeno krajnjim dvema sintetskim fazama, hidrolizi i Meldrum-ovoj reakciji, nakon čega su posle prečišćavanja izolovana jedinjenja **4** i **6**, dok epimer **5** nije uspešno prečišćen. Jedinjenje **4** nije sintetisano u dovoljnoj količini da bi bilo ispitano na ćelijskim linijama.

3.4. Sinteza jedinjenja **10** i **11** i alternativno dobijanje jedinjenja **6**

U delimično uspelom pokušaju prilagođavanja sintetskog puta dobijanja 4'-etoksikarbonil-tiazolnih motiva (**1-3**) sintetskom putu dobijanja amidnih derivata (**4-6**) proširenjem za reakciju amonolize, dobijeni su benzilni derivati **10** i **11** koji nisu uspešno debenzilovani, kao i analogni deoksi derivat **3.26** koji jeste uspešno debenzilovan u **6**, međutim ovo finalno jedinjenje nije prečišćeno u zadovoljavajućoj meri (Shema 3.10).



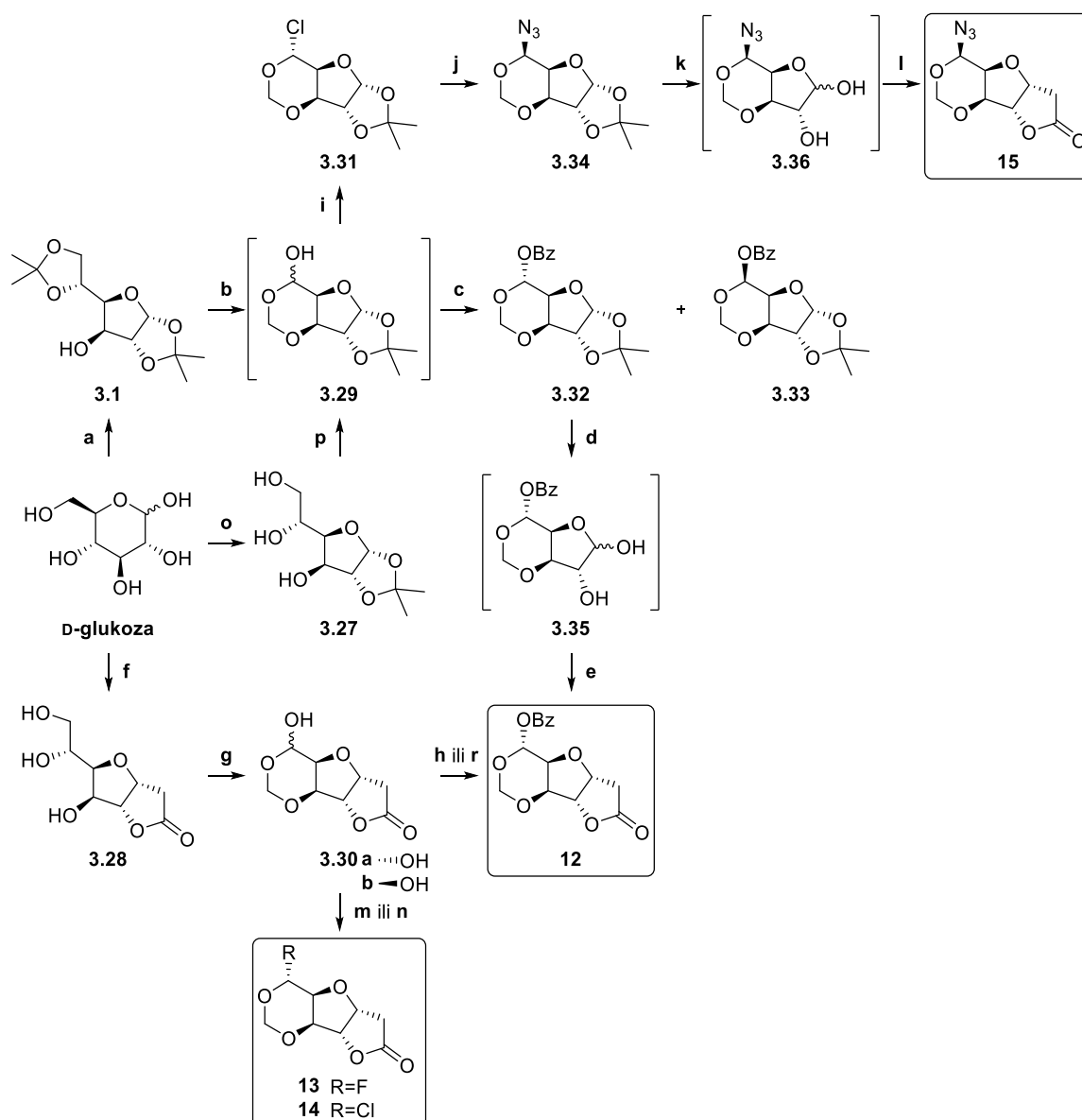
Shema 3.10. Reagensi i uslovi: (a) NH_3/MeOH , st, 9 dana, 75%; (a') NH_3/MeOH , st, 12 dana, 98%; (a'') NH_3/MeOH , st, 10 dana, 72%; (b) 90% aq TFA, 0 °C, 3 h, 72%; (b') 90% aq TFA, 0 °C, 3 h, 40%; (b'') 90% aq TFA, 0 °C, 3.5 h, 95%; (c) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , 46–50 °C, 72 h, 45%; (c') Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , 46–50 °C, 72 h, 68%; (c'') Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , 46–48 °C, 48 h, 23%; (d) TiCl_4 , CH_2Cl_2 , 0 °C → +4 °C, 48 h, 18%.

Rutinskom amonolizom dobijeni amidi (**3.22a**, **3.22b** i **3.23**) podvrgnuti su već razrađenoj hidrolizi pomoću 90% TFA, nakon čega je sa novoformiranim laktolima (**3.24a**, **3.24b** i **3.25**) izvedena Meldrum-ova reakcija.

Poslednji korak, uklanjanje benzilne zaštite, bio je uspešan samo za deoksi derivat (**3.26**), pa su benzilovani prekursori (**10** i **11**) ispitani na biološku aktivnost umesto predviđenih finalnih jedinjenja **5** i **4**. Jedinjenje **6** dobijeno na ovaj način, pak, nije dobijeno u dovoljnoj količini niti je bilo dovoljno čisto za ispitivanje biološke aktivnosti.

3.5. Sinteza jedinjenja 12-15

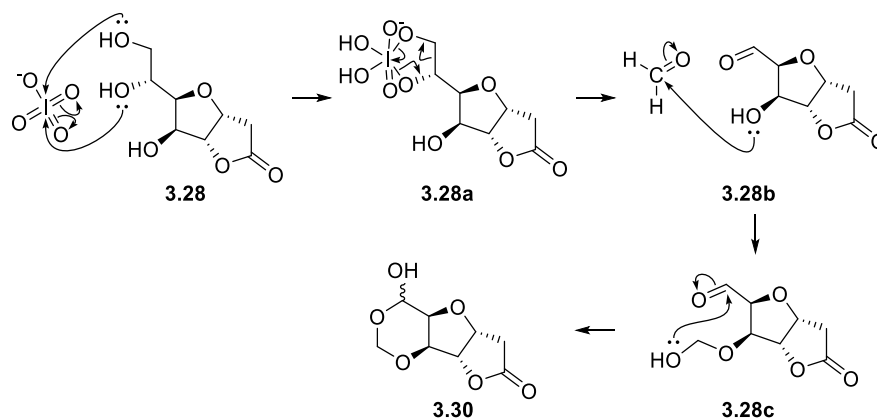
Ponovo se služeći goniofufuronom kao osnovnim jedinjenjem, konformaciono kruti 5,7-metilidenski furano-furoni **12-15** su sintetisani u našoj laboratoriji u 5 (alternativno 3), 3, 3 i 6 sintetskih faza, respektivno, polazeći iz D-glukoze (Shema 3.11). Sintetske strategije dobijanja navedenih finalnih proizvoda mogu da se grubo podele na one u kojima je korišćena izopropilidenska zaštita na C-1 i C-2 (i naknadno hidroliza iste) i one u kojima je odmah pribegnuto građenju furano-furonskog skeleta Meldrum-ovom reakcijom sa D-glukozom.



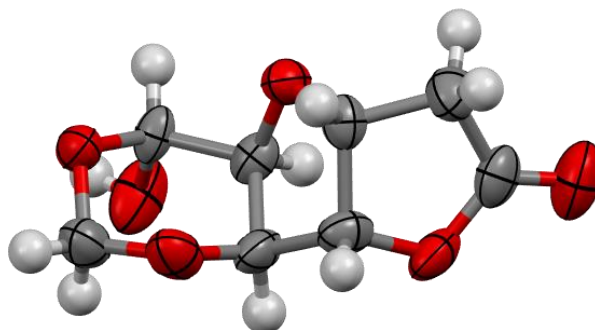
Shema 3.11. Reagensi i uslovi: (a) cc. H_2SO_4 , aceton, st, 5 h, 44%; (b) H_5IO_6 , EtOAc, 6 h, st, 57%; (c) BzCN, DMSO, MS 4 Å, st, 24 h, 60% i 10% za **3.32** i **3.33**, respektivno; (d) 90% TFA, 0 °C, 3 h, zatim st, 0,5 h, 47%; (e) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , 46 °C, 70 h, 13%; (f) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , 46–48 °C, 66 h, 36% (na manjoj skali 50%); (g) H_5IO_6 , CH_3CN , st, 22 h, 75%; (h) BzCl, Py, st, 2 dana, 13%; (i) 2,6-lutidin, CH_2Cl_2 , Ph_3P , CCl_4 , 0 °C, 30 min, zatim st, 24 h, 21% iz **3.27**, prečišćavanjem **3.29** 41% iz **3.27**; (j) NaN_3 , DMSO, 90 °C, 1 h, 57%; (k) 90% TFA, 0 °C, 30 min, zatim st, 8 h; (l) Meldrum-ova kiselina, DMF, Et_3N , 46–48 °C, 2 dana, 22% iz **3.34**; (m) CH_2Cl_2 , MeCN, DAST, 0 °C, 30 min, zatim st, 3 h, 36% iz **3.30**; (n) i) MsCl, CH_2Cl_2 , Et_3N , 0 °C, 2 dana, 20% iz **3.30** ili ii) 2,6-lutidin, CH_2Cl_2 , Ph_3P , CCl_4 , st, 24 h, 80% iz **3.30** ili 14% iz **3.28**; (o) i) cc. H_2SO_4 , aps. Me_2CO , H_3BO_3 , st, 5h, zatim ii) MeOH, 50%; (p) H_5IO_6 , CH_3CN , st, 22 h; (r) BzCN, DMSO, MS 4 Å, st, 60 h, 45%.

Halogenovani dioksani **13** i **14**, kao i *O*-benzoil-analog **12**, dobijeni su u 3 sintetske faze. Furano-furonski skelet je izgrađen odmah u prvoj reakciji kondenzacije anhidrovane D-glukoze i Meldrum-ove kiseline po već prikazanom složenom mehanizmu (analogno Shema 3.6), nakon čega je dobijeno jedinjenje **3.28** podvrgnuto dejstvu perjodne kiseline što je rezultovalo građenjem dioksanske strukture (**3.30a**), koja je predstavljala prekursor kako za oba finalna halogenovana derivata, tako i za benzoilovani analog **12**.

Pretpostavlja se da ova reakcija teče po složenom mehanizmu (Shema 3.12) koji uključuje građenje cikličnog perjodatnog estra (**3.28a**). Za razliku od mehanizma građenja aldehida jedinjenja koja imaju zaštićenu hidroksilnu grupu na C-3/C-5^x (npr. **3.2a**, Shema 3.2), u slučaju novonastalog aldehida **3.28b** slobodna OH grupa može da reaguje sa oslobođenim formaldehidom gradeći prvo hemiacetal (**3.28c**), a zatim, usled intramolekulske ketalizacije, i smesu epimernih dioksana **3.30**. Iz ove smese izolovan je jedino (*S*)-derivat **3.30a**, a njegova apsolutna konfiguracija potvrđena je rendgenskom strukturnom analizom (Slika 3.5).



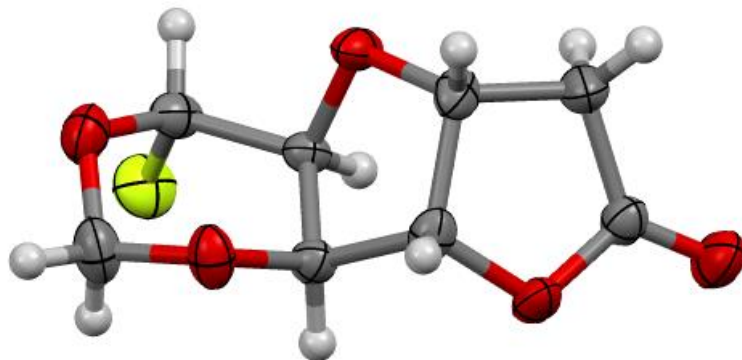
Shema 3.12. Mehanizam građenja dioksanskog prstena.



Slika 3.5. ORTEP prikaz 3D strukture jedinjenja **3.30a**.

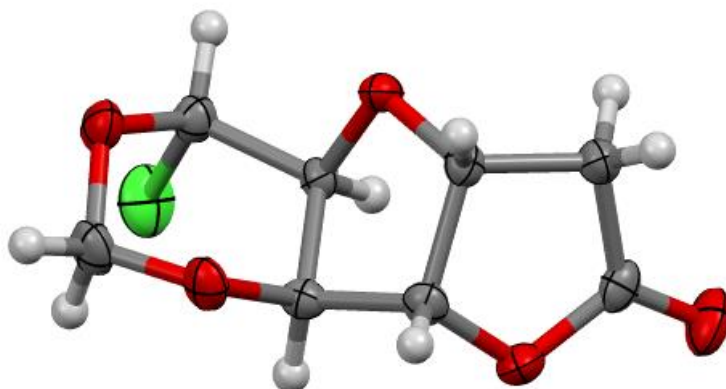
Fluorid **13** je dobijen dejstvom DAST na smesu **3.30**, a njegova apsolutna konfiguracija je potvrđena rendgenskom strukturnom analizom (Slika 3.6). Budući da je polazno jedinjenje bila smesa epimera, ne može se sa sigurnošću govoriti koji tip supstitucije je diktirao mehanizam ove reakcije.

^x U suštini ovo je isti C atom, ali numeracija je različita za različita jedinjenja. U slučaju izopropilidenskih derivata (**3.1** i **3.27**) u pitanju je položaj C-3, dok je u slučaju laktona (tj. furano-furona, **3.28**) reč o C-5 položaju.



Slika 3.6. ORTEP prikaz 3D strukture jedinjenja **13**.

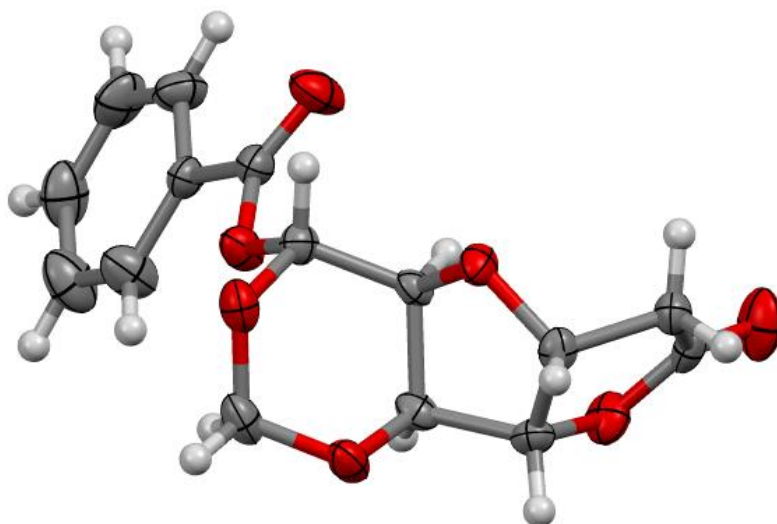
Hlorid **14** dobijen je na 2 načina. U oba slučaja u pitanju je bila supstitucija hloridom dobre odlazeće grupe u koju je prevedena OH funkcija. Prvi je zasnovan na supstituciji mezilovanog intermedijera dobijenog u reakciji smese **3.30** sa mezil-hloridom, dok je u drugom primenjena Appel-ova reakcija^y u kojoj je hlorid supstituisao oksifosfonijumsku grupu.^{223,224} Apsolutna konfiguracija jedinjenja **14** je potvrđena rendgenskom strukturnom analizom (Slika 3.7).



Slika 3.7. ORTEP prikaz 3D strukture jedinjenja **14**.

Konačno, iz smese **3.30** dobijen je i benzoatni derivat **12**, dejstvom BzCl u apsolutnom piridinu. Jedino je (*R*)-proizvod dobijen u dovoljnoj količini da bi mogao da se prečisti (13.49% iz **3.28**). Alternativno, dejstvom BzCN u anhidrovanom DMSO na prečišćeni **3.30a** prinos je poboljšan na 79.64% (odnosno na 59.73% iz **3.28**). Apsolutna konfiguracija jedinjenja **14** je potvrđena rendgenskom strukturnom analizom (Slika 3.8).

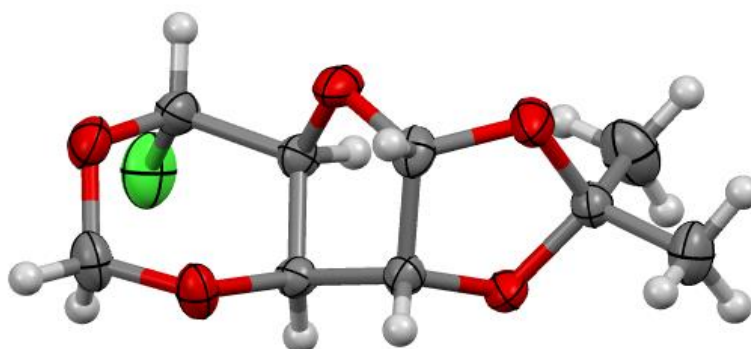
^y Tj. Whistler–Anisuzzaman-ova reakcija.



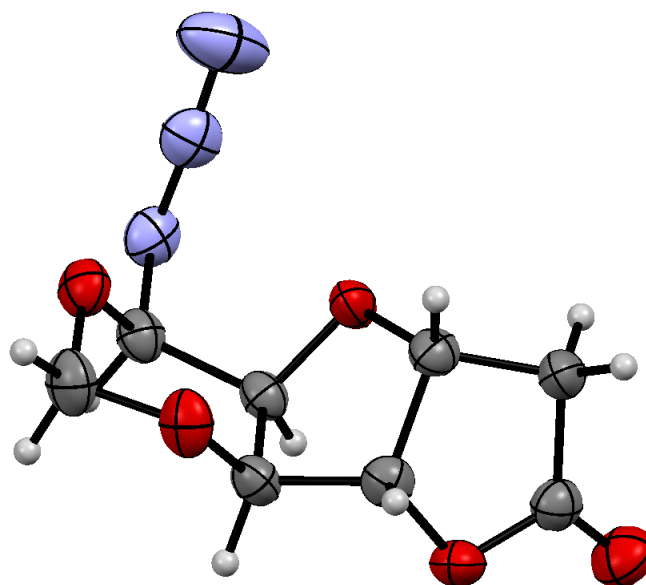
Slika 3.8. ORTEP prikaz 3D strukture jedinjenja **12**.

Putevi za sintezu azidnog finalnog jedinjenja (**15**), kao i alternativni put za benzoat **12**, obuhvatili su zajednički intermedijer, tj. smesu epimera **3.29**, koja je dobijena na dva načina – preko diizopropilidenskog (**3.1**) odnosno monoizopropilidenskog (**3.27**)²²⁵ derivata. U oba slučaja smesa **3.29** je dobijena dejstvom perjordne kiseline na izgrađene (di)acetonide pri čemu je u oba slučaja za nastajanje dioksanskog prstena ključno bilo prisustvo nezaštićene 3-OH grupe (Shema 3.12).

Hlorid **3.31**, čija apsolutna konfiguracija je potvrđena rendgenskom strukturnom analizom (Slika 3.9), je sintetisan supstitucijom 5-OH grupe jedinjenja **3.29** hlorom pod veoma sličnim uslovima kao i u reakciji dobijanja **14**. Nakon nove C-5 supstitucije usled dejstva NaN_3 na **3.31**, novonastali azid (**3.34**) izložen je hidrolizi, posle čega je dobijena smesa anomera **3.36** podlegla Meldrum-ovoj reakciji dajući finalni azidni derivat **15**. Apsolutna konfiguracija jedinjenja **14** je potvrđena rendgenskom strukturnom analizom (Slika 3.10).



Slika 3.9. ORTEP prikaz 3D strukture jedinjenja **3.31**.

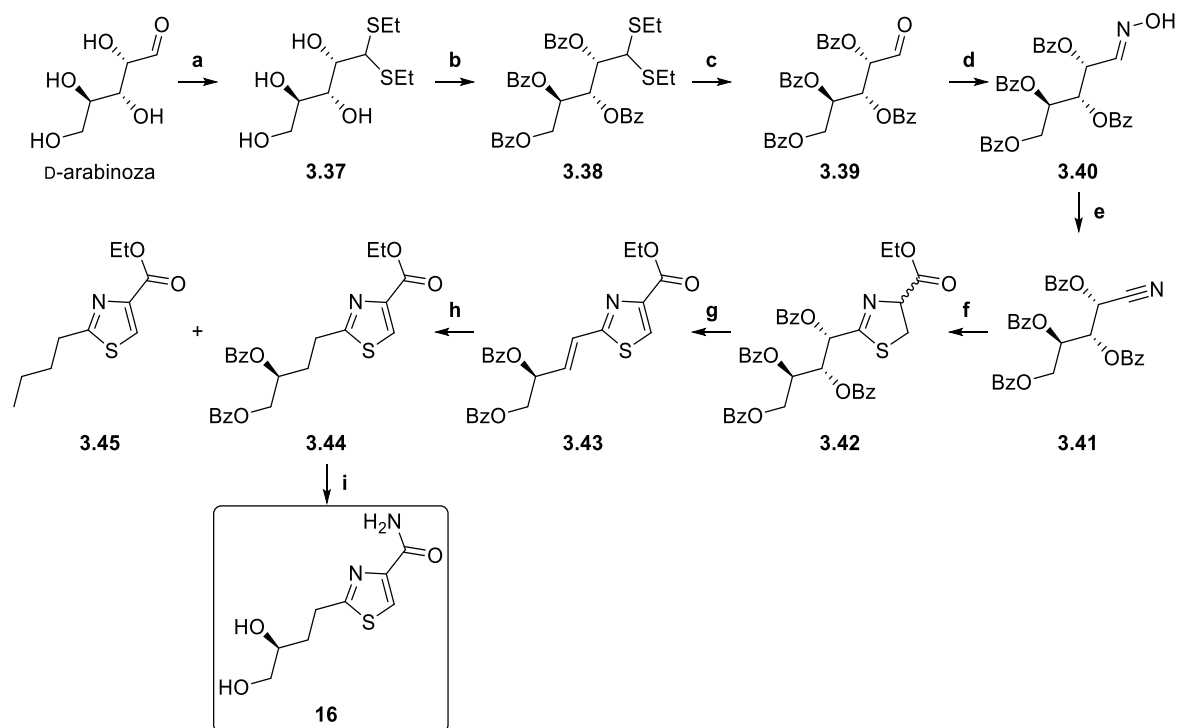


Slika 3.10. ORTEP prikaz 3D strukture jedinjenja **15**.

Benzoatni derivat **12**, pak, je dobijen iz **3.29** prvo reakcijom sa BzCN čime je uvedena benzoatna funkcija, a zatim je izopropilidenska grupa novonastalog **3.32** podvrgnuta hidrolizi dajući smesu anomera **3.35** koja je u poslednjem koraku izložena dejstvu Meldrum-ove kiseline.

3.6. Sinteza jedinjenja **16**

Konačno, jedan od zadataka naših radova obuhvatio je i sintezu novog C-nukleozida sa tiazolnom heterocikličnom bazom i acikličnim butandiolnim fragmentom (**16**). Sintetski put sastojao se od trofazne hemijske transformacije D-arabinoze u pogodno funkcionalizovani aciklični derivat koji sadrži reaktivnu aldehidnu funkciju (**3.39**). Višefazna izgradnja heterocikličnog aglikona uključila je oksiminovanje, dehidrataciju, ciklizaciju i na kraju oksidaciju tiazolina (**3.42**). Kritična faza sintetskog puta, hidrogenizacija 1',2'-dvostruke veze, osim što je zahtevala stehiometrijske količine katalizatora, kao sporedni proizvod dala je butanski derivat (**3.45**), pa je kao posledica toga i prinos željenog zasićenog dibenzoata (**3.44**) bio samo 54% (Shema 3.13). Sve tri estarske veze su uklonjene u poslednjem koraku amonolizom, što je dalo finalno jedinjenje **16** u konačnom prinosu od 1.24%.



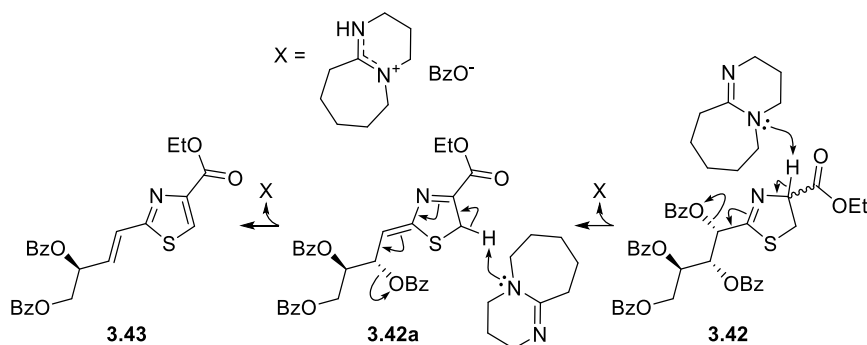
Shema 3.13. Reagensi i uslovi: (a) cc. H_2SO_4 , etilmerkaptan, 0°C , do pojave kristala $\rightarrow -7^\circ\text{C}$, 30 min, 44%; (b) Py, BzCl, 0°C \rightarrow st, 48 h, 96%; (c) aceton/ H_2O (87:13), HgO, HgCl_2 , st, 3.5 h, 61%; (d) EtOH, NaOAc, $\text{HONH}_2\cdot\text{HCl}$, st, 2 h, 36%; (e) Py, -15°C , 30 min, $\text{MeClO}_2\text{S}/\text{Py}$, 82%; (f) MeOH, LCEEH, Et_3N , st, 2 h; (g) CH_2Cl_2 , DBU, BrCCl_3 , 0°C , 5 h (N_2), $+4^\circ\text{C}$, 17 h, 47% (u odnosu na **3.41**); (h) EtOH (96%), Pd/C (10%), H_2 , st, 72 h, 54%; (i) NH_3/MeOH , st, 16 dana, 71%.

Dietilditioacetal (**3.37**) dobijen po literaturnom postupku iz D-arabinoze,²²⁶ podvrgnut je benzoilovanju. Tioacetalna funkcija je iz nastalog tetrabenzoata (**3.38**) uklonjena dejstvom smese HgO/HgCl_2 , usled čega je dobijen aldehid (**3.39**). Oksiminovanjem aldehida nastala je smesa *E* i *Z*-oksima (**3.40**), koja je nakon dehidratacije dala nitril (**3.41**).

Pomoću već pomenute metode Liang *et al*, u molekul je dvofaznom sintetskom sekvencom uveden heterociklični aglikon u obliku tiazolnog prstena.²²⁷ U toku oksidacije smese tiazolina (**3.42**) u tiazol (**3.43**) došlo je do sporedne eliminacione reakcije u kojoj se formirala dvostruka veza u acikličnom delu. Kako je nakon prvog izvođenja ciklizacije rađeno sa sirovom reakcionom smesom **3.42**, u cilju razjašnjenja mehanizma eliminacije, posle ponavljanja ciklizacije stereoizomeri **3.42** su prečišćeni te je asignacijom njihovih spektara utvrđeno odsustvo dvostruke veze u butanskom delu, kao i odnos C-4 stereoizomera 9:1.² Zaključak koji je izveden je da je do eliminacionog koraka verovatno došlo u toku oksidacije pomoću DBU. Ova pretpostavka je stavljena na probu kada je oksidacija pokušana bez prisustva aktivatora BrCCl_3 , i iako je ona i dalje tekla dajući tiazolne derivate, takođe je tekla i

² Zbog uklanjanja pomenutog hiralnog centra u sledećem koraku, nismo odredili konfiguracije stereoizomera.

eliminacija. Ovim je dokazano da je glavni (i najverovatnije jedini) činilac eliminacije baza DBU. U skladu s tim, izveden je mogući mehanizam ove reakcije (Shema 3.14).⁷



Shema 3.14. Pretpostavljeni mehanizam deoksigenacije izazvane dejstvom baze DBU.

U nastavku sinteze butenski niz je podvrgnut katalitičkom hidrogenovanju u etanolu uz 10% Pd/C pri čemu su nastali željeni dibenzoat (**3.44**) i, usled eliminacije i hidrogenolize, butil-analog (**3.45**).

Konačno, rutinskom amonolizom dobijen je finalni diol **16**.

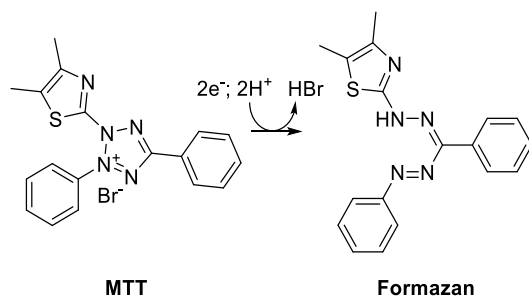
3.7. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti jedinjenja 1-3 i 6-15

Efikasnost inhibicije proliferacije tumorskih ćelija kvantitativno se izražava kao IC_{50} vrednost, odnosno kao koncentracija ispitivane supstance pri kojoj se broj tretiranih ćelija smanjuje za 50% u odnosu na netretiranu kontrolu. U komentaru citotoksičnosti sub-nanomolarne vrednosti IC_{50} su smatrane veoma snažnim, sub-mikromolarne vrednosti značajnim, mikromolarne vrednosti (do 10 μ M) dobrim, a vrednosti 10-100 μ M umerenim aktivnostima.

Ispitana je aktivnost sintetisanih jedinjenja na rast sledećih ćelijskih linija (Tabela 3.1): K562 (hronična mijelogeno leukemija), HL60 (promijelocitna leukemija), Jurkat (leukemija T-limfocita), Raji (Burkitt-ov limfom), PC3 (kancer prostate), HT29 (adenokarcinom debelog creva), MCF-7 (adenokarcinom dojke (Er+)), MDA-MB-231 (adenokarcinom dojke (Er-)), HeLa (kancer grlića materice), Hs 249T (melanom), A549 (adenokarcinom pluća) i MRC-5 (normalni humani fetalni fibroblasti pluća). Poslednja ćelijska linija je poslužila za ispitivanje selektivnosti dobijenih derivata. *In vitro* citotoksičnost je određena kolorimetrijskim MTT testom.^{228,229}

Princip metode se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid] u plavo obojeni proizvod (formazan), u prisustvu mitohondrijalnog enzima sukcinat-dehidrogenaze (Shema 3.15). Količina nagrađenog formazana direktno je proporcionalna broju živih ćelija, a apsorbancija je određena na mikročitaču na dve talasne dužine: test talasnoj dužini od 540 nm i referentnoj talasnoj dužini od 690 nm. Eksperimenti su izvedeni tako što su kulture ćelija

izlagane dejstvu rastućih koncentracija ispitivanog jedinjenja u toku 72 h. Kao referentna jedinjenja upotrebljeni su **TF**, **GF**, kao i komercijalni antitumorski agens **DOX** (Tabela 3.1).



Shema 3.15. Redukcija tetrazolnog MTT u formazansku strukturu.

Tabela 3.1. Poređenje *in vitro* citotoksičnosti jedinjenja 1-3 i 6-15, kao i GF, TF i DOX.

Supstanca	Ćelijska linija/IC50 vrednost [μ M], 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC3	HT29	MCF-7	MDA-MB-231	HeLa	Hs 249T	A549	MRC-5
1	6.88	0.09	4.43	5.61	>100	>100	10.54	1.96	7.38	>100		>100
2	4.67	7.67	7.67	14.14	>100	>100	5.34	2.01	6.34	>100		>100
3	2.31	14.32	1.02	1.34	21.64	22.13	13.24	>100	1.21	22.64	1.25	>100
6	1.45	0.65	1.02			69.21	0.00031	29.45	1.08		1.59	>100
7	22.57	9.87	18.54	15.86	>100	>100	11.01	24.13	5.99	>100	8.64	>100
8	12.54	7.64	22.47	21.54	>100	>100	14.32	22.01	1.02	>100	15.64	>100
9	1.93	5.61	0.25	0.979	34.61	34.14	48.92	>100	12.87	>100	45.32	>100
10	0.34	14.67	18.87	8.34	80.71	27.94	42.35	8.67	3.77	>100	5.69	>100
11	0.26	10.33	15.36	4.69	78.37	6.94	1.09	11.23	0.01	>100	15.32	>100
12	0.75	0.24	1.01	0.08	>100	9.54	>100	7.42	17.49	>100	14.33	>100
13	0.75	4.44	6.54	0.61	31.71	93.21	2.93	2.20	7.79	87.05	4.87	>100
14	0.01	9.15	2.02	>100	12.06	21.45	0.85	1.01	0.81	>100	29.99	>100
15	5.96	14.33	10.56	17.36	21.01	79.61	>100	4.11	33.37	>100	2.11	>100
TF	1.89	0.19	0.04	5.28	>100	0.26	1.78	0.79	3.82	>100		0.36
GF	0.41	>100	32.45	18.45	>100	0.59	16.59	75.34	8.32	>100	35.21	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

Jedinjenje **1** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama HL60 (više od 1111 puta veću od **GF**, više od 10 puta veću od **DOX** i 2 puta veću od **TF**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562, Jurkat, Raji, MDA-MB-231 i HeLa, kao i umerenu aktivnost prema MCF-7.

Jedinjenje **2** je pokazalo dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562, HL60, Jurkat, MCF-7, MDA-MB-231 i HeLa, kao i umerenu aktivnost prema Raji.

Jedinjenje **3** je pokazalo dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562, Jurkat, Raji, HeLa i A549, kao i umerenu aktivnost prema HL60, PC3, HT29, MCF-7 i Hs 249T.

Jedinjenje **6** je pokazalo veoma snažnu, sub-nanomolarnu aktivnost prema ćelijama MCF-7 (53516 puta veću od **GF**, više od 5 742 puta veću od **TF** i 645 puta veću od **DOX**), značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama HL60 (više od 153 puta veću od **GF**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema K562, Jurkat, Raji, HeLa i A549, kao i umerenu aktivnost prema HT29 i MDA-MB-231.

Jedinjenje **7** je pokazalo dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama HL60, HeLa i A549, kao i umerenu aktivnost prema K562, Jurkat, Raji, MCF-7 i MDA-MB-231.

Jedinjenje **8** je pokazalo dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama HL60 i HeLa, kao i umerenu aktivnost prema K562, Jurkat, Raji, MCF-7, MDA-MB-231 i A549.

Jedinjenje **9** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama Jurkat (130 puta veću od **GF**) i Raji (skoro 19 puta veću od **GF**, 5 puta veću od **TF** i 3 puta veću od **DOX**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562 i HL60, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama PC3, HT29, MCF-7, HeLa i A549.

Jedinjenje **10** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562 (5 puta veću od **TF**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama Raji, MDA-MB-231, HeLa i A549, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama HL60, Jurkat, PC3, HT29 i MCF-7.

Jedinjenje **11** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562 (7 puta veću od **TF**) i HeLa (832 puta veću od **GF**, 382 puta veću od **TF** i 7 puta veću od **DOX**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama Raji, HT29, MCF-7, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama HL60, Jurkat, PC3, MDA-MB-231 i A549.

Jedinjenje **12** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562 (2 puta veću od **TF**), HL60 (416 puta veću od **GF** i skoro 4 puta veću od **DOX**) i Raji (230 puta veću od **GF**, 66 puta veću od **TF** i 37 puta veću od **DOX**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama Jurkat, HT29 i MDA-MB-231, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama HeLa i A549.

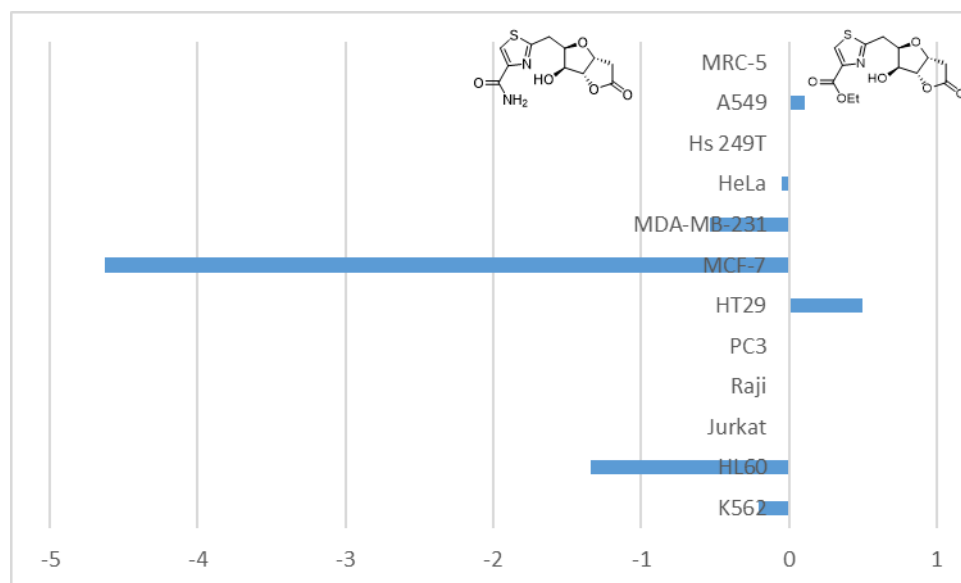
Jedinjenje **13** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562 (2 puta veću od **TF**) i Raji (30 puta veću od **GF**, 8 puta veću od **TF** i skoro 5 puta veću od **DOX**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama HL60, Jurkat, MCF-7, MDA-MB-231, HeLa i A549, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama PC3, HT29 i Hs 249T.

Jedinjenje **14** je pokazalo značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562 (189 puta veću od **TF**, 41 put veću od **GF** i 25 puta veću od **DOX**), MCF-7 (skoro 20 puta veću od **GF** i 2 puta veću od **TF**) i HeLa (10 puta veću od **GF** i skoro 5 puta veću od **TF**), dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama HL60, Jurkat i MDA-MB-231, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama PC3, HT29 i A549.

Jedinjenje **15** je pokazalo dobru, mikromolarnu aktivnost prema ćelijama K562, MDA-MB-231 i A549, kao i umerenu aktivnost prema ćelijama HL60, Jurkat, Raji, PC3, HT29 i HeLa.

Nijedno od ispitanih finalnih jedinjenja **1-3** i **6-15** se nije pokazalo toksičnim prema zdravoj ćelijskoj liniji MRC-5.

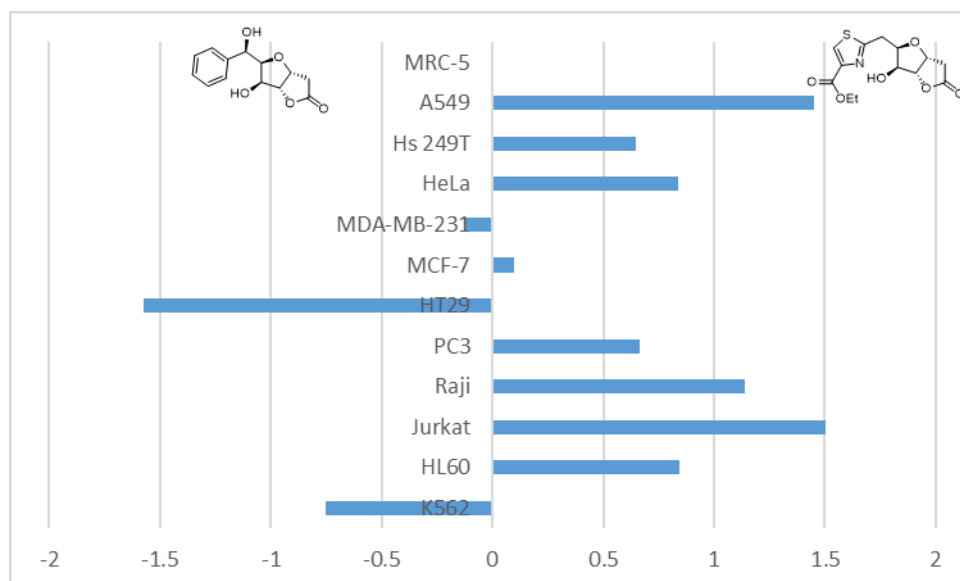
3.8. Uspostavljanje korelacionih odnosa između strukture sintetisanih jedinjenja i antiproliferativne aktivnosti (SAR)



Slika 3.11. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **3** (desno) i **6** (levo).

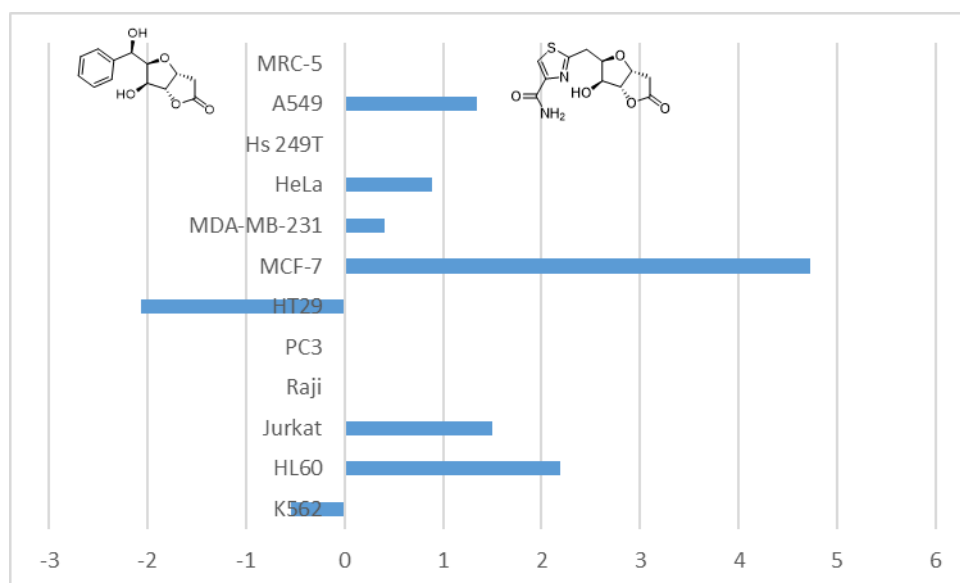
Analozi **3** i **6** su zabeležili relativno slične antiproliferativne profile, sa ključnom razlikom u slučaju MCF-7. Naime, amidni analog **6** je prema ovoj ćelijskoj liniji pokazao više od 4 reda veličine (RV) jaču aktivnost u odnosu na umereno citotoksični etilestar **3**. Takođe, jedinjenje **6** je za više od jednog RV bilo aktivnije prema HL60, dok je blago poboljšanje izazvano prisustvom amidne funkcije (< 1 RV)

registrovano u slučaju MDA-MB-231. Aktivnosti oba analoga na K562, HeLa i A549 su bile uporedive (i u μM opsegu), dok je analog **3** imao blago veću aktivnost na HT29 (Slika 3.11).



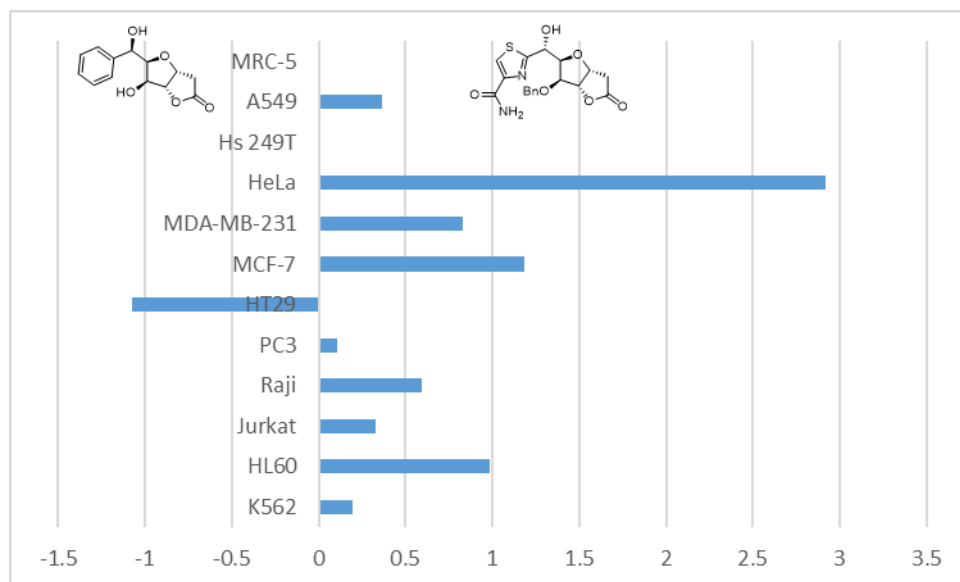
Slika 3.12. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **3** (desno) i **GF** (levo).

Zamena fenolnog prstena etiltiazolkarboksilatnim i uklanjanje $\text{C}_7\text{-OH}$ rezultovali su umerenim povećanjem aktivnosti (> 1 RV) u slučaju Jurkat, Raji i A549, dok je blaže povećanje aktivnosti (< 1 RV) zabeleženo u slučaju HL60, PC3, HeLa i Hs 249T. U slučaju MCF-7 i MDA-MB-23, i analog **3** i **GF** imali su uporedive (mada umerene do slabe) aktivnosti. Iako je analog **3** pokazao slabiju aktivnost od **GF** prema K562, ona je ipak ostala u μM opsegu. S druge strane, analog **3** je zabeležio umeren pad aktivnosti prema HT29 u odnosu na **GF** (≈ 1 RV, Slika 3.12).



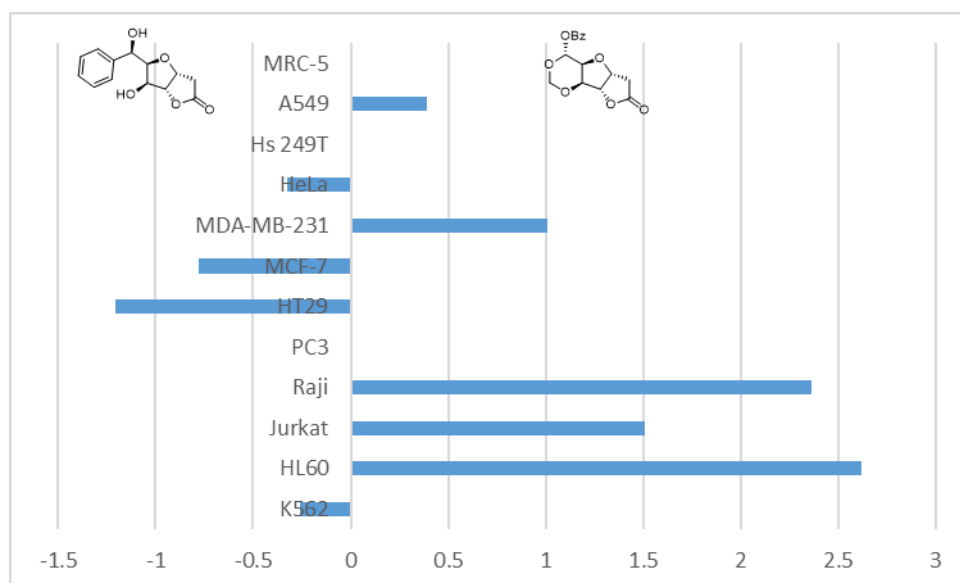
Slika 3.13. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **6** (desno) i **GF** (levo).

Zamena fenolnog prstena tiazolkarboksamidnim i uklanjanje C₇-OH, pak, rezultovali su dramatičnim (MCF-7, > 4 RV), kao i značajnim (HL60, > 2 RV), odnosno umerenim (Jurkat, A549, > 1 RV) do blagim (MDA-MB-231, HeLa, < 1 RV) povećanjem aktivnosti prema većini ispitanih ćelijskih linija. Izuzetak su bile K562, gde je primećen blagi (< 1 RV), i HT29, gde je zabeležen osetan (≈ 2 RV) pad aktivnosti analoga **6** u odnosu na **GF** (Slika 3.13).



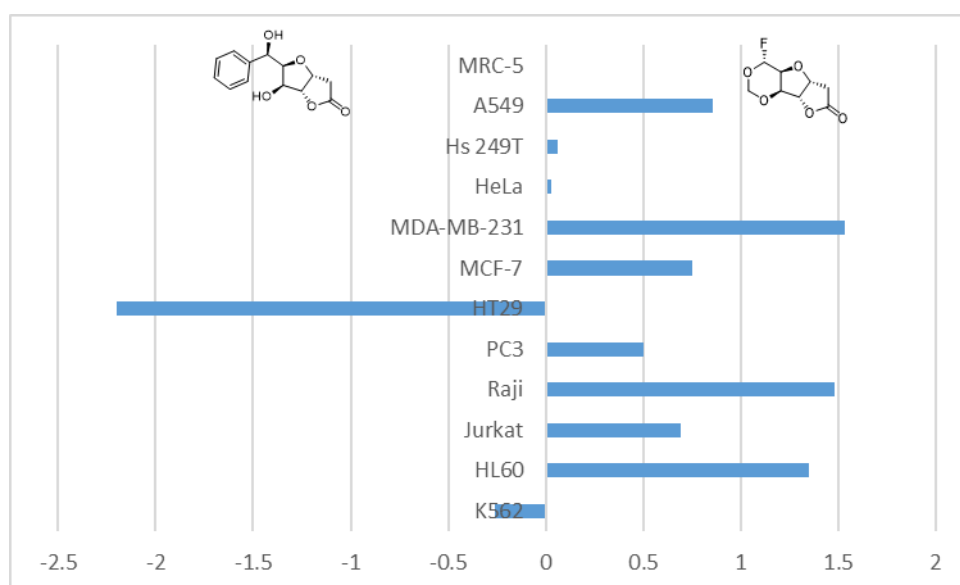
Slika 3.14. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **11** (desno) i **GF** (levo).

Poboljšanja aktivnosti **GF** izazvana zamenom fenolnog prstena tiazolkarboksamidnim, promenom konfiguracije na C-7 i povećanjem nepolarnosti i voluminoznosti molekula prevođenjem C5-OH u benzilni etar koja se ogledaju u strukturi analoga **11**, ispoljila su se značajno u slučaju HeLa (≈ 3 RV), kao i umereno (≈ 1 RV) u slučaju HL60, MCF-7 i MDA-MB-231, odnosno blago (< 1 RV) u slučaju Raji. Uporedive aktivnosti izmerene su u slučaju K562, Jurkat, PC3 i A549, dok je jedina ćelijska linija na koju je **GF** bio umereno aktivniji od **11** bila HT29 (≈ 1 RV, Slika 3.14).



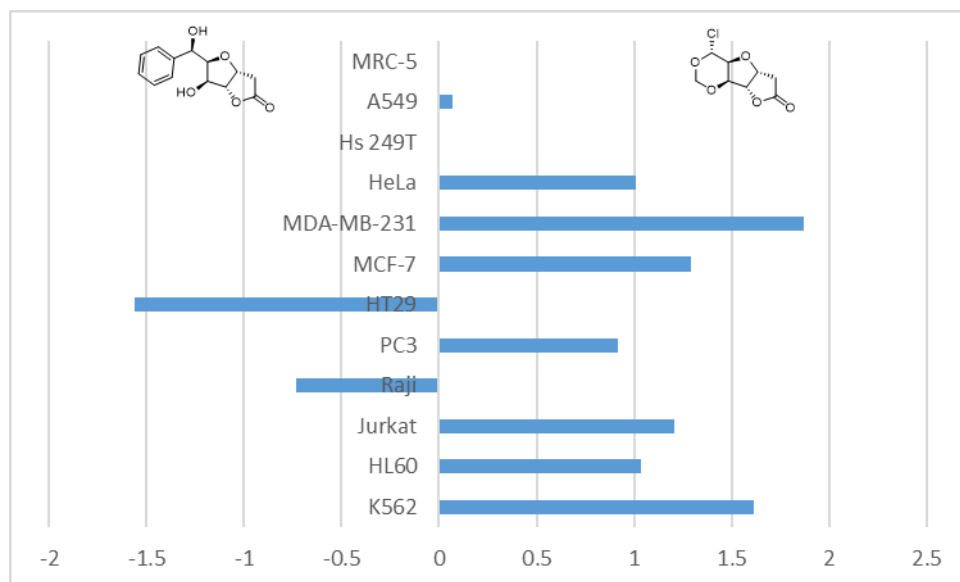
Slika 3.15. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **12** (desno) i **GF** (levo).

Fiksiranje strukture furano-furonskog molekula uvođenjem trećeg, dioksanskog prstena, praćeno uklanjanjem fenolne funkcije uz nadogradnju (i izmenu konfiguracije) C₇-OH do benzoilne grupe, rezultovalo je značajnim povećanjem aktivnosti prema HL60 i Raji (≈ 2.5 RV), dok je prema Jurkat (≈ 1.5 RV) odnosno MDA-MB-231 (≈ 1 RV) zabeleženo umereno povećanje aktivnosti. Prema ćelijskim linijama K562, HeLa i A549 oba jedinjenja imala su uporedive (u slučaju K562 submikromolarne) aktivnosti, dok je fleksibilnija struktura, fenolni prsten i slobodna OH grupa na C-7 imala uticaj na veću aktivnost **GF** prema HT29 i MCF-7 (≈ 1 RV, Slika 3.15).



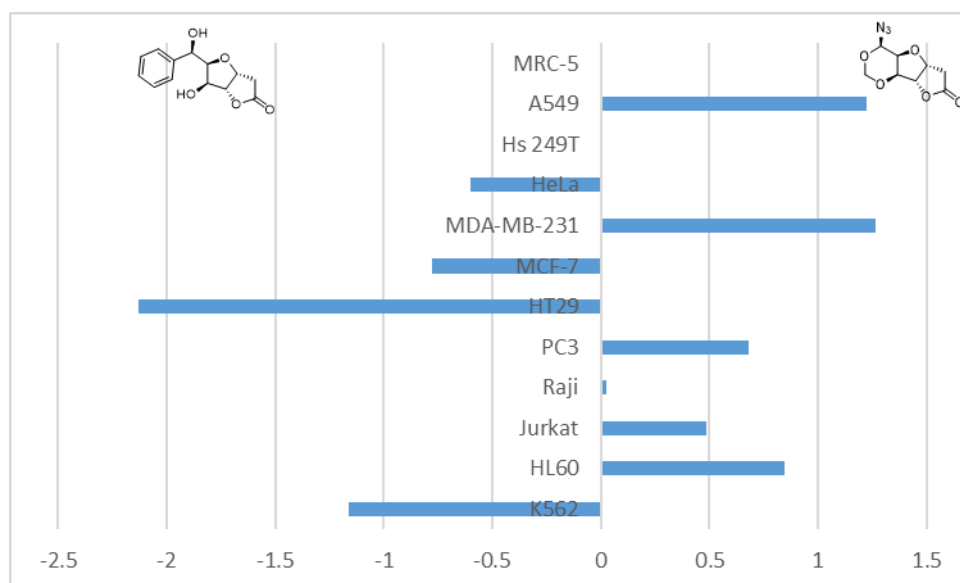
Slika 3.16. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **13** (desno) i **GF** (levo).

Slične strukturne izmene kao i u prethodnom slučaju, sa fluorom na C-7 umesto benzoatne funkcije, rezultovale su značajnim do umerenim povećanjima aktivnosti jedinjenja **13** prema HL60, Raji, MDA-MB-231 (≈ 1.5 RV), MCF-7 i A549 (≈ 1 RV), dok su aktivnosti oba jedinjenja prema K562, Jurkat, PC3, HeLa i Hs 249T bila na uporedivom nivou. GF se pokazao izrazito aktivnijim prema HT29 (≈ 2 RV, Slika 3.16).



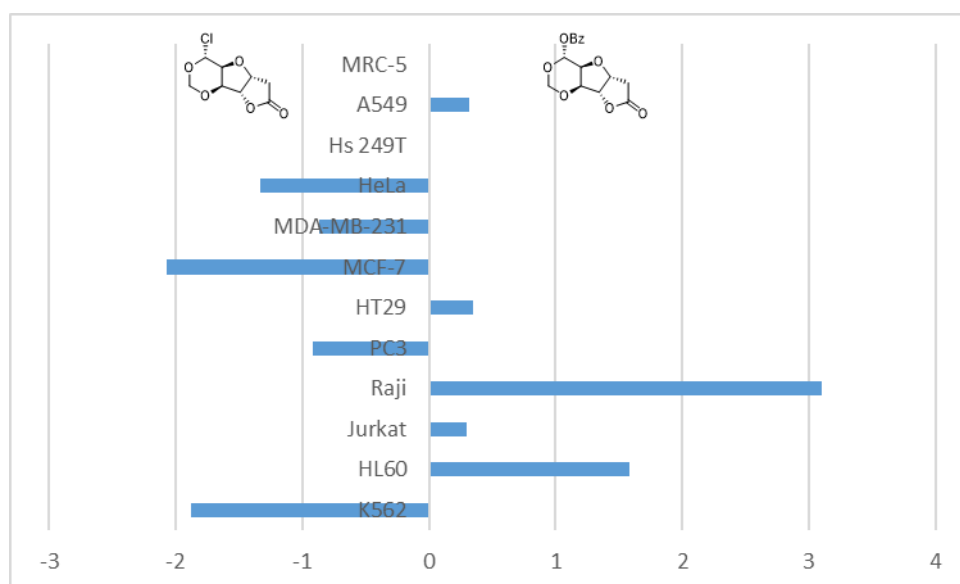
Slika 3.17. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **14** (desno) i **GF** (levo).

Drugi ispitani halogenid, hlorid **14**, pokazao je značajno povećanje aktivnosti prema MDA-MB-231 (≈ 2 RV), dok je umerenije povećanje zabeleženo prema K562 i MCF-7 (≈ 1.5 RV). Blago povećanje aktivnosti analoga **14** izmereno je u slučaju HL60, Jurkat, PC3 i HeLa (≈ 1 RV), dok je utvrđena skoro jednaka aktivnost oba jedinjenja prema A549. **GF** je bio blago aktivniji prema Raji i osetno aktivniji prema HT29 (Slika 3.17).



Slika 3.18. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **15** (desno) i **GF** (levo).

Četvrti u nizu krutih analoga **GF**, azid **15** na kome je zadržana konfiguracija na C-7, pokazao je kako najslabija poboljšanja aktivnosti tako i njihov najmanji broj, i to umereno u slučaju HL60, MDA-MB-231 i A549 (≈ 1 RV). Aktivnosti prema Jurkat, Raji, PC3 i HeLa bile su uporedive za oba jedinjenja, dok **GF** bio blago aktivniji prema K562 i MCF-7 (≈ 1 RV), kao i značajno aktivniji prema HT29 (≈ 2 RV, Slika 3.18).



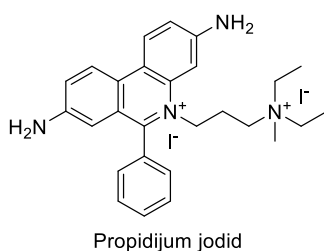
Slika 3.19. Korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti analoga **12** (desno) i **14** (levo).

Poređenje dva najaktivnija kruta analoga GF, benzoata **12** i hlorida **14** ukazalo je na izrazito pozitivan uticaj benzoatne funkcije na C-7 na aktivnost prema Raji (≈ 3 RV) kao i na umeren uticaj na aktivnost prema HL60 (≈ 1.5 RV). Hlor je, pak, imao značajan pozitivan uticaj na aktivnost prema K562 i MCF-7 (\approx

2 RV) kao i umeren uticaj na aktivnost prema PC3, MDA-MB-231 i HeLa (≈ 1 RV). Oba analoga imala su uporedive aktivnosti prema Jurkat, HT29 i A549 (Slika 3.19).

3.9. Ispitivanje apoptotičke aktivnosti jedinjenja **12-15**

Kancer je oboljenje koje uključuje abnormalno nagomilavanje ćelija koje izaziva poremećaj ravnoteže proliferacije i programirane ćelijske smrti (PCD).²³⁰ Upravo se otežavanje apoptoze, odnosno izbegavanje PCD, smatra jednom od glavnih osobina kancera.²³¹ Pošto je izazivanje PCD jedan od poželjnih načina delovanja antitumornih agenasa, ispitan je apoptotski potencijal određenih sintetisanih supstanci obuhvaćenih u ovom radu.



Slika 3.20. Struktura propidijum jodida.

Analiza profila ćelijskog ciklusa primenom protočne citometrije se može rutinski izvesti upotrebom fluorescentne boje propidijum jodida (PJ, Slika 3.20), koji se stehiometrijski vezuje za nukleinske kiseline (NK). Ovo vezivanje izaziva fluorescentnu emisiju proporcionalnu ćelijskom sadržaju DNK (i RNK, doduše, ali se ona prethodno uklanja RNAzom).²³²⁻²³⁴ Logika iza ovakvog pristupa je sledeća: neaktivne i ćelije u G1 fazi imaju 2 kopije hromozoma, dok ćelije koje prolaze kroz mitozu G2/M imaju dvostruku količinu DNK te će zato imati dvostruko jači intenzitet fluorescencije od ćelija u G1 fazi. Ćelije u S fazi će imati fluorescentni signal između G1 i G2/M, zato što ove ćelije sintetišu DNK u toku prelaska u G2/M. Zbog nastanka kratkih DNK fragmenata (DNK niske molekularne mase) tokom apoptoze, ćelije koje su ušle u apoptozu mogu rutinski biti prepoznate na histogramima DNK sadržaja kao ćelije sa hipodiploidnim (tzv. „sub-G1“) sadržajem hromozoma.

Ispitana je raspodela ćelija K562 po fazama ćelijskog ciklusa nakon tretiranja sintetisanim jedinjenjima **12-14** (Tabela 3.2). U poređenju sa kontrolom,^{aa} utvrđeno je da **GF** utiče na blag porast procenta ćelija u sub-G1 fazi, dok sintetisani analozi **12-15** značajno povećavaju procenat ćelija u sub-G1 fazi kako u odnosu na kontrolu (6.7, 4.6, 8.3 i 14.6 puta za **12**, **13**, **14** i **15** respektivno) tako i u odnosu na **GF** (5.7,

^{aa} Ćelije koje nisu tretirane nijednim jedinjenjem.

3.9, 7.1 i 12.5 puta više za **12**, **13**, **14**, i **15** respektivno). Istovremeno, procenat ćelija K562 tretiranih jedinjenjima **12-15** u fazama G0/G1 i S je smanjen.

Tabela 3.2. Raspodela K562 ćelija po fazama ćelijskog ciklusa (%).

Jedinjenje	Sub-G1	G0/G1	S	G2/M
Kontrola	1.84	47.51	26.52	24.13
GF	2.16	52.47	21.03	24.34
12	12.36	29.01	18.98	39.64
13	8.40	31.44	21.30	38.87
14	15.24	40.86	14.75	29.14
15	26.95	22.73	14.23	36.08

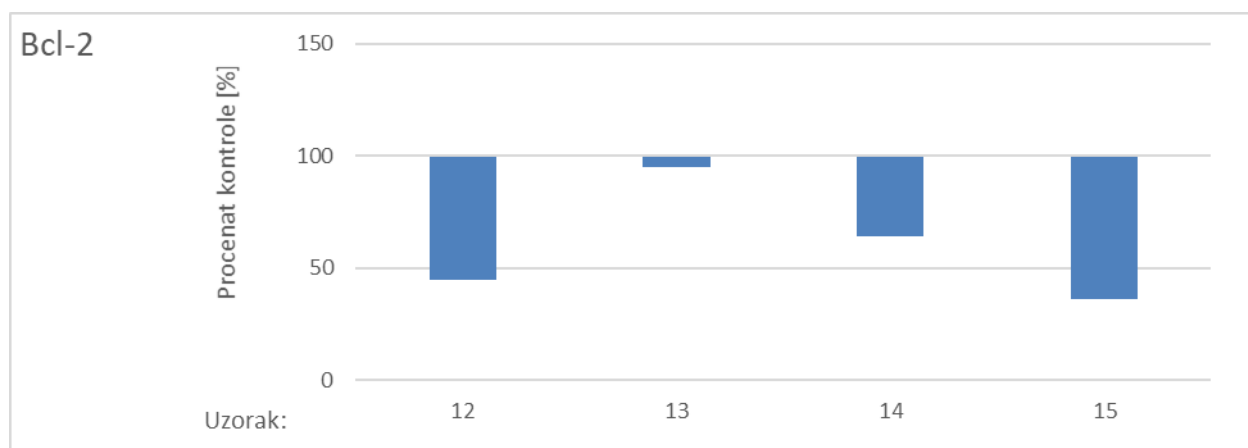
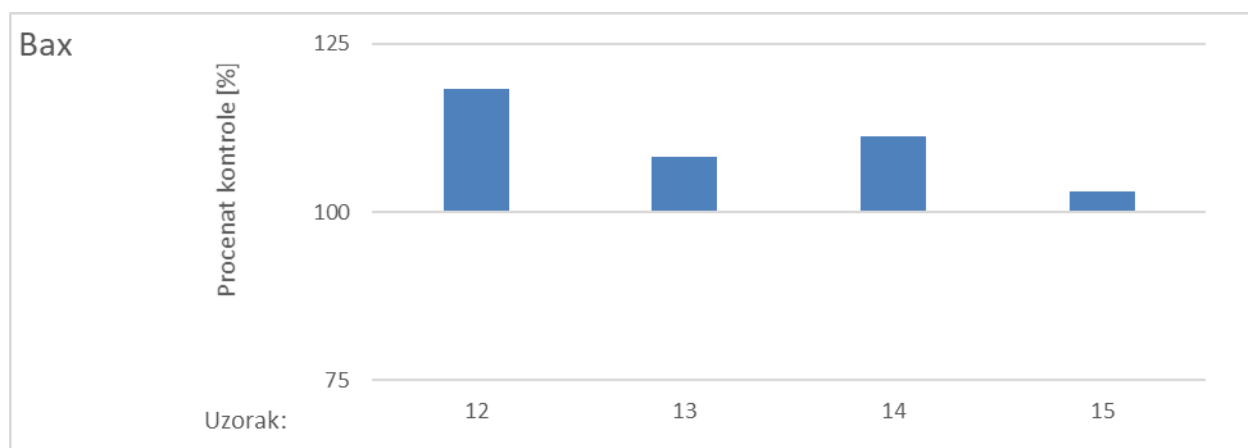
Pošto prisustvo hipodiploidnih DNK nije jednoznačan dokaz apoptoze, sledeća etapa ispitivanja je bilo dvostruko bojenje K562 ćelija tretiranih jedinjenjima **12-15**. Ovog puta uz PJ korišćen je i Ca-zavisani, protein aneksin V (annexin V), koji može da se veže za fosfatidil serin (PS), fosfolipid koji u toku ranih faza apoptoze prelazi sa unutrašnje na spoljašnju stranu membrane. Na ovaj način je moguće razlikovati ne samo rane apoptotske (daju aneksin +/PJ - odgovor) od primarnih nekrotičnih (daju odmah aneksin +/PJ + odgovor) nego i, unošenjem vremenske promenljive tj. posmatranjem razvoja promena odgovora sistema u zavisnosti od vremena, i kasne apoptotske (tj. sekundarne nekrotične) ćelije od prethodne dve kategorije (daju na početku aneksin +/PJ – odgovor koji vremenom prelazi u aneksin +/PJ + odgovor) ćelija.²³⁴

Ispitani K562 kontrolni uzorak, kao i K562 uzorak izložen **GF**, obilovali su vijabilnim ćelijama (94.1% i 94.8%, respektivno, Tabela 3.3). S druge strane, K562 ćelije tretirane jedinjenjima **12-15** sadržale su visok procenat ranih apoptotskih ćelija (56.6%, 61.3%, 61.8% i 63.0%, respektivno). Najbolji odnos ćelija u ranoj apoptozi prema zbiru ćelija u kasnoj apoptozi i nekrozi pokazalo je jedinjenje **15** (11.9 prema 6.8, 4.3 i 3.5 za **12**, **13** i **14**, respektivno). Isto tako, ovo jedinjenje je pokazalo najbolji odnos ukupnih apoptotskih ćelija prema nekrotičnim (41.7 prema 15.6, 12.7 i 13.8 za **12**, **13** i **14**, respektivno).

Tabela 3.3. Apoptoza i nekroza u ćelijama K562 izazvana sintetisanim jedinjenjima **12-14** (%).

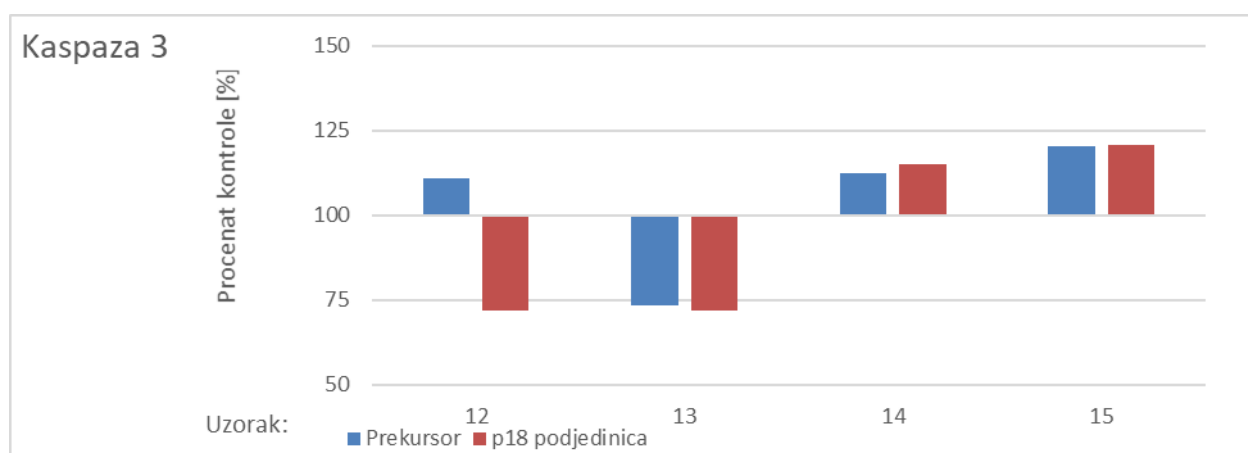
Jedinjenje	Rana apoptoza	Kasna apoptoza	Nekroza	Vijabilne ćelije
Kontrola	4.5	0.7	0.7	94.1
GF	4.1	0.7	0.4	94.8
12	56.6	4.4	3.9	35.0
13	61.3	8.6	5.5	24.6
14	61.1	12.3	5.3	21.3
15	63.0	3.7	1.6	31.0

U cilju rasvetljavanja načina na koje je apoptoza izazvana nakon tretiranja ćelija K562 jedinjenjima **12-15**, ispitan je njihov uticaj na ekspresiju određenih proteina povezanih sa apoptozom.

Slika 3.21. Rezultati Western blot analize na ekspresiju Bcl-2 u ćelijama K562 tretiranim jedinjenjima **12-15**.Slika 3.22. Rezultati Western blot analize na ekspresiju Bax u ćelijama K562 tretiranim jedinjenjima **12-15**.

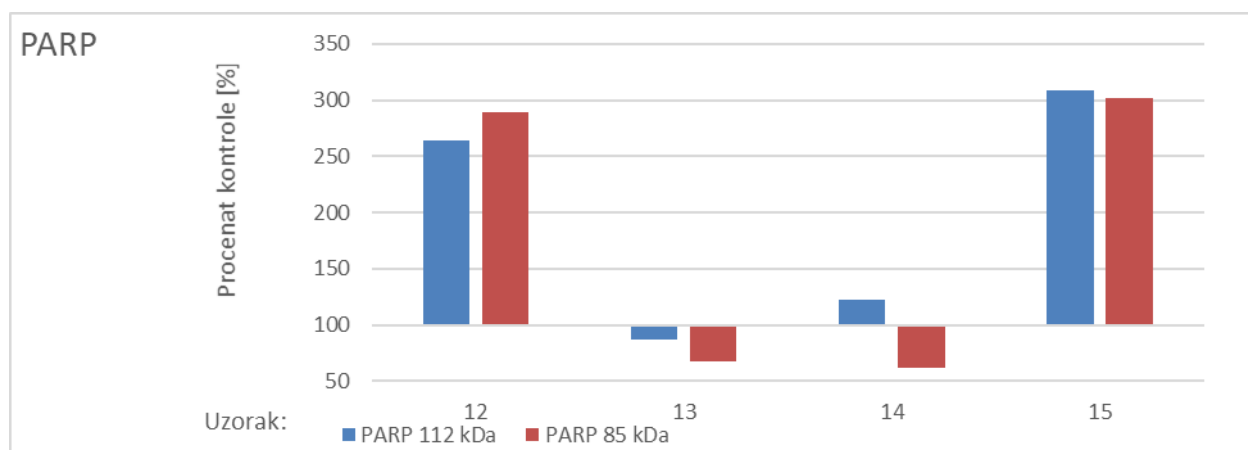
Mitohondrijalni apoptozni signalni put je kontrolisan od strane pripadnika proteinske familije Bcl-2, koja na osnovu uloge u ćeliji i homolognosti proteinskih sekvenci može da se podeli u tri grupe: antiapoptotski, proapoptotski i proapoptotski isključivi BH3 proteini. Ravnoteža između pro- i antiapoptotskih Bcl-2 proteina je glavni činilac u utvrđivanju odgovora na pitanje da li je ćelija, kao odgovor na stres, podlegla apoptozi.²³⁵ Upotrebom semikvantitivne Western blot analize utvrđeno je da su svi analozi **12-15** izazvali smanjenje nivoa ekspresije antiapoptotskog Bcl-2 (Slika 3.21), dok su istovremeno izazvali povećanje nivoa ekspresije proapoptotskog Bax (Slika 3.22).

Takođe, u cilju ispitivanja povezanosti kaspaza sa apoptozom izazvanom jedinjenjima **12-15**, ispitana je ekspresija prekursora kaspaze 3, p18 podjedinice, PARP (112 kDa), kao i fragmenta PARP (85 kDa).



Slika 3.23. Rezultati Western blot analize na ekspresiju prekursora kaspaze 3 kao i podjedinice p18 u ćelijama K562 tretiranim jedinjenjima **12-15**.

Kaspaza 3 se smatra inicijalnim enzimom „kaskade smrti“, i zato je važan marker ćelijskog ulaza u apoptotski signalni metabolički put.²³⁶ Ćelijska smrt kontrolisana kaspazama se ostvaruje preko cepanja nekoliko metabolički ključnih proteina neophodnih za ćelijsko funkcionisanje i opstanak. PARP je jedan od nekoliko poznatih ćelijskih supstrata kaspaza.²³⁷ Analizom je utvrđeno da je samo fluoridni analog **13** izazvao smanjenje ekspresije PARP i kaspaze 3, dok je analog **12** izazvao povećanje ekspresije PARP i prekursora kaspaze 3 uz smanjenje ekspresije p18 subjedinice, a analozi **14** i **15** su pak povećali ekspresiju kaspaze i PARP 112 kDa, s tom razlikom da je analog **15** izazivao povećanje, dok je analog **14** izazivao smanjenje ekspresije PARP 85 kDa (Slika 3.23 i Slika 3.24).



Slika 3.24. Rezultati Western blot analize na ekspresiju PARP u ćelijama K562 tretiranim jedinjenjima **12-15**.

Navedeni rezultati ukazuju na potencijalni uticaj derivata **12**, **14** i **15** na izazivanje apoptoze u ćelijama K562 preko kaspaznog metaboličkog puta regulisanog Bcl-2 superfamilijom, dok analog **13** potencijalno izaziva apoptozu preko metaboličkog puta pod uticajem Bcl-2 ali nezavisno od uticaja kaspaza.

3.10. Ispitivanje *in vivo* toksičnosti jedinjenja **6**

U okviru ove disertacije ispitana je i *in vivo* toksičnost jedinjenja **6**, i to na modelu zebrice (*Danio rerio*), u skladu sa pravilnikom za testiranje hemikalija OECD 2013. Svi eksperimenti su izvršeni u Laboratoriji za molekularnu genetiku i ekologiju mikroorganizama (Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu, Republika Srbija) u skladu sa Pravilnikom o staranju i upotrebi laboratorijskih životinja ovog instituta, kao i sa etičkim smernicama Direktive evropskog parlamenta 2010/63/EU. Testovi su rađeni po (delimično izmenjenom) protokolu prethodno opisanom od strane Pavic *et al.*²³⁸ Ukratko, embrioni zebrice su proizvedeni uparivanjem odraslih jedinki divljeg tipa (*engl.* wild type), sakupljeni i raspoređeni u mikrotitar ploče sa 24 bunarića koje su sadržale po 10 embriona po bunariću i po 1 mL slane vode (0.2 mg/mL Instant Ocean® soli u destilovanoj vodi) i gajeni na 28 °C. Da bi se odredila smrtonosna i razvojna toksičnost (teratogenost) analoga **6**, embrioni u stadijumu od 6 sati posle oplodjenja (hpf) tretirani su sa 8 koncentracija ovog jedinjenja (1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, i 125 µM). DMSO (0.25%) je korišćen kao negativna kontrola. Eksperimenti su izvršeni tri puta sa po 30 embriona po koncentraciji.

Referentne razvojne tačke korišćene za određivanje toksičnosti beležene su nakon 24, 48, 72, 96 i 120 hpf upotrebom invertnog mikroskopa (CKX41; Olympus, Tokyo, Japan). Mrtvi embrioni su brojani i odstranjivani svakih 24 h. Nakon 120 hpf, embrionima je ispitani srčani ritam, nakon čega su podvrgnuti anesteziji dodatkom 0.1% (w/v) rastvora trikaina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), fotografisani i žrtvovani držanjem na -20 °C tokom ≥ 24 h.

LC₅₀ vrednost (koncentracija na kojoj je 50% embriona mrtvo) određena je programom ToxRatPro (ToxRat®, Software for the Statistical Analysis of Biotests, ToxRat Solution GmbH, Alsdorf, Germany, Version 2.10.05) upotrebom probit analize sa linearnom regresijom maksimuma verovatnoće.

Tabela 3.4. Smrtonosni i teratogeni uticaj zabeležen za embrione zebrice u različitim stadijumima razvoja (hpf), pri koncentraciji jedinjenja **6** od 125 µM.

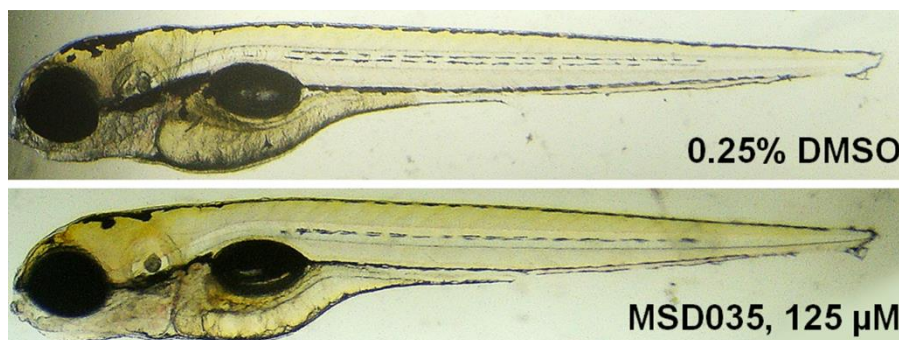
Kategorija	Razvojna tačka	Vreme izloženosti (hpf)			
		24	48	72	96 /120
Smrtonosni efekat	Koagulacija embriona ^a	●	●	●	●
	Nestvaranje somita	●	●	●	●
	Nerazdvajanje repa	●	●	●	●
	Odsustvo otkucaja srca		●	●	●
Teratogeni efekat	Malformacija glave	●	●	●	●
	Malformacija očiju ^b	●	●	●	●
	Malformacija of sakulusa/otolita ^c	●	●	●	●
	Malformacija aksijalnog mezoderma	●	●	●	●
	Malformacija repa ^d	●	●	●	●
	Skolioza	●	●	●	●
	Frekvencija rada srca		●	●	●
	Cirkulacija krvi		●	●	●
	Perikardijalni edem	●	●	●	●
	Edem u žumanjčanoj vrećici	●	●	●	●
	Deformacija žumanca	●	●	●	●
	Zaostajanje u rastu ^e	●	●	●	●

● subletalna doza

^a Nепрепозnavanje jasnih struktura organa.^b Malformacija očiju zabeležena kao zaostajanje u razvoju očiju i abnormalnost u obliku i veličini.^c Prisustvo nijednog, jednog ili više od dva otolita po sakulusu, kao i smanjenje i povećanje otolita i/ili sakulusa (otičkih vezikula).^d Malformacija repa zabeležena kao iskrivljenje, uvijenost ili skraćenje u odnosu na kontrolu na osnovu vizuelnog poređenja.^e Zaostajanje u rastu zabeleženo u poređenju sa razvojem i veličinom embriona kontrole (pre izleganja, na 24 hpf i 48 hpf), ili dužine tela (posle izleganja, na 72 hpf i posle) na osnovu vizuelnog poređenja pomoću invertnog mikroskopa (CKX41; Olympus, Tokyo, Japan).

U cilju ispitivanja bezbednosti primene analoga **6** na ljude, određena je njegova *in vivo* toksičnost na model zebrice. Ovaj organizam je poslednjih godina izbio u prvi plan kao veoma pogodan za polja razvoja lekova i ispitivanja toksičnosti jer pojednostavljuje put do kliničkih ispitivanja na ljudima i

istovremeno smanjuje opasnost od neuspeha u kasnijim fazama testiranja.²³⁹ Embrioni zebrice tretirani su rano u toku embrionalnog razvoja (na 6 hpf), a njihov opstanak i pojava teratogenih osobina su ispitivani tokom perioda od 120 h. Dobijeni rezultati pokazali su da jedinjenje **6** nije toksično na ispitivanim koncentracijama do 125 μ M, pošto su svi tretirani embrioni preživeli i nisu ispoljili teratogene osobine (Slika 3.25).



Slika 3.25. Morfologija embriona zebrice na 120 hpf posle tretmana jedinjenjem **6**. Tretirani embrioni nisu imali nikakvih morfoloških razlika u odnosu na embrione iz kontrole.

Takođe, činjenica da tretirani embrioni nisu razvili ni perikardijalni edem niti poremećaj srčanog ritma (154 ± 8.2 otkucaja/min nakon 125 μ M jedinjenja **6** prema 158 ± 5.9 otkucaja/min u kontrolnoj grupi) ukazuju na to da jedinjenje **6** nije kardiotoksično.

Na osnovu ispoljene antikancerne aktivnosti (Tabela 3.1) i toksikološkog profila određenog za model zebrice (Tabela 3.4), jedinjenje **6** je pokazalo vrlo dobar terapijski indeks (LC_{50}/IC_{50} odnos za 48 odnosno 72 h, respektivno) za A549 (13 i 79), K562 (43 i 86), HeLa (14 i 116), Jurkat (6 i 123), HL60 (4 i 192) i naročito za MCF-7 ćelije (8446 i 403226), te mu se može pripisati značajan potencijal u primeni u antikancernoj terapiji protiv određenih tipova ćelija kancera (Tabela 3.5).^{bb}

^{bb} U Tabelu 3.5 su takođe unete i vrednosti za antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **6** nakon 48 h koje nisu navedene u Tabeli 3.1.

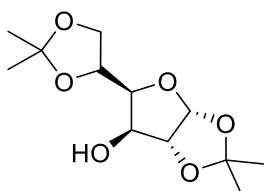
Tabela 3.5. Terapeutski indeks jedinjenja **6** predstavljen kao odnos LC_{50}/IC_{50} .

Ćelijska linija	IC_{50} (μ M), 48 h	TI (LC_{50}/IC_{50})	IC_{50} (μ M), 72 h	TI (LC_{50}/IC_{50})
ZFE (LC_{50}) > 125 μ M				
K562	2.91	43	1.45	86
HL60	32.51	4	0.65	192
Jurkat	20.13	6	1.02	123
HT-29	98.23	1	69.21	2
MCF-7	0.0148	8446	0.00031	403226
MDA-MB 231	47.36	3	29.45	4
HeLa	8.94	14	1.08	116
A549	9.57	13	1.59	79

4. Eksperimentalni deo

Opšte metode – Vrednosti optičke rotacije su izmerene na automatskim polarimetrima Rudolph research analytical AUTOPOL IV i P 3002 (Krüss), na sobnoj temperaturi. IR Spektri su snimljeni na FT spektrofotometru Nexus 670 (ThermoNicolet, detektor DTGS), i PerkinElmer Spectrum Two, a položaj traka je dat u cm^{-1} . NMR spektri su snimljeni na instrumentima Bruker AC 250 E i Bruker Avance III 400 MHz NMR, a hemijska pomeranja (δ -skala) su izražena u *ppm* vrednostima u odnosu na tetrametilsilan kao interni standard. Protonski NMR spektri su asignirani metodom *homo*-dekuplovanja, ili 2D COSY tehnikom. ^{13}C NMR spektri su asignirani metodom selektivnog dekuplovanja ili 2D HSQC i HMBC eksperimentima. Maseni spektri visoke rezolucije (TOF) su snimljeni na aparatu 6210 Time-of-Flight LC/MS Agilent Technologies (ESI). Tok reakcija je praćen tankoslojnom hromatografijom na aluminijumskim folijama Kieselgel 60 F_{254} (Merck). Hromatogrami su izazivani sa 50%-nom H_2SO_4 uz naknadno zagrevanje na 120 °C. Fleš hromatografija je urađena na kolonama Kieselgel 60 (0.040–0.063, E. Merck). Ekstrakti su sušeni sa anhidrovanim Na_2SO_4 . Organski rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču pri temperaturama vodenog kupatila do 30 °C.

4.1. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (**3.1**)



Ohlađenom rastvoru D-glukoze (20.0 g, 0.11 mmol) u anhidrovanom acetonu (400 mL) dodaje se cc H_2SO_4 (16 mL) u porcijama (2 mL) svakih 10-15 min, pri čemu se temperatura održava na 5–10 °C. Reakciona smesa se meša u toku 5 h pri čemu se temperatura postepeno povećava do sobne (20–25 °C).

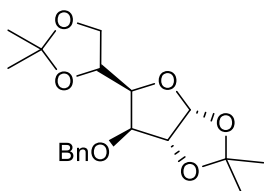
Ohlađeni rastvor se neutrališe dodatkom 50% NaOH (30 mL) i čvrstog NaHCO_3 (do pH=8). Rastvor se ostavi na sobnoj temperaturi u toku noći, neorganske soli se odfiltruju, a rastvarač se upari pri čemu se dobija sirup koji stajanjem očvrsne. Ostatak se rastvori u CH_2Cl_2 , a rastvor ispere vodom. Vodeni sloj se dodatno ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 . Spojene organske faze se suše i upare, pri čemu zaostaje **3.1**. Nakon rekristalizacije iz cikloheksana dobija se čist proizvod (12.7 g, 44%), u vidu belih pahulja, *tt* 110 °C, $[\alpha]_D = -17.2$ (c 1.0, H_2O), lit. *tt* 110–111 °C,²⁴⁰ $[\alpha]_D = -18.5$ (c 5.0, H_2O);²⁴¹ $R_f = 0.78$ (Et_2O).

IR (CHCl_3): ν_{max} 3440 (OH).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.25, 1.30, 1.38 i 1.43 (4 \times s, po 3 H svaki, $2\times\text{CMe}_2$), 3.22 (bs, 1 H, OH), 3.95 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.7$ Hz, H-6a), 3.98 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.7$ Hz, $J_{4,5} = 5.8$ Hz, H-4), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.3$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.7$ Hz, H-6b), 4.22 (bs, 1 H, $J_{3,4} = 2.7$ Hz, H-3), 4.26 (m, 1 H, $J_{4,5} = 5.8$ Hz, $J_{5,6a} = 5.1$ Hz, $J_{5,6b} = 6.3$ Hz, H-5), 4.43 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-2), 5.86 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1).

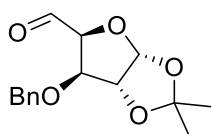
^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 25.01, 26.00 i 26.64 ($2\times\text{CMe}_2$), 67.37 (C-6), 72.79 (C-5), 74.49 (C-3), 81.09 (C-4), 84.98 (C-2), 105.01 (C-1), 109.34 i 111.61 ($2\times\text{Me}_2\text{C}$).

4.2. 3-*O*-Benzil-1,2:5,6-di-*O*-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (**3.2**)



Ohlađenom (0 °C) rastvoru suvog jedinjenja **3.1** (5.0129 g, 19.2594 mmol) u apsolutnom DMF-u (100 mL) dodaje se NaH (1.1315 g, 47.1504 mmol) i BnBr (3 mL, 25.08 mmol). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 1.5 h. Zatim se u reakcionu smesu doda MeOH (36 mL) i smesa se meša još 20 min. Nakon uparavanja, suvi ostatak se rastvori u CH_2Cl_2 (80 mL) i prenese u levak za odvajanje, gde se izvrši ispiranje vodom (50 mL), a vodena faza se nakon toga ispere pomoću CH_2Cl_2 (2×40 mL), posle čega se organski slojevi pridruže, osuše (anh. Na_2SO_4) i upare. Suvi ostatak se zatim prečišćava fleš-hromatografijom (toluen/ Et_2O 19:1), nakon čega se izdvaja čist *O*-benzil-diacetonid **3.2** (6.2304 g, 92%), $R_f=0.14$ (17:3 petroletar/ Et_2O).

4.3. 3-*O*-Benzil-1,2-*O*-izopropiliden- α -D-ksilo-pentodialdo-1,4-furanoza (**3.3**)

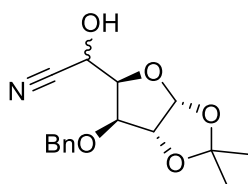


U rastvor osušenog jedinjenja **3.2** (0.6747 g, 1.9255 mmol) u apsolutnom EtOAc (15 mL) doda se H_5IO_6 (0.7652 g, 3.3570 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 3 h. U toku reakcije se na dnu balona izdvajaju kristali. Nakon reakcije se matični lug kapalicom odvoji od kristala. Talog se ispira metilen-hloridom a zatim se rastvor upari. Suvi ostatak se rastvara u CH_2Cl_2 .^{cc} Sirova reakciona smesa se zatim prečišćava fleš-hromatografijom, (PE/ Et_2O 1:1), nakon čega se dobija čist aldehyd **3.3** (0.4976 g, 93%), $[\alpha]_D=-14.6$ (c 1.0, etanol), $R_f=0.30$ (2:3 PE/ Et_2O).

IR (CHCl_3): ν_{max} **1738** (CHO).

4.4. 2-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-5-il)-2-hidroksiacetonitril (**3.4**)

4.4.1. Procedura A

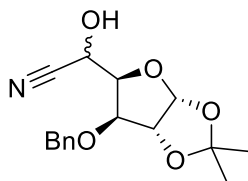


Rastvoru osušenog jedinjenja **3.3** (0.2313 g, 0.8311 mmol) u apsolutnom CH_2Cl_2 (5 mL) se doda Ph_3PMel (0.0336 g, 0.0831 mmol) i TMSCN (0.16 mL, 1.28 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u atmosferi N_2 u toku 48 h, a zatim izlije u smesu 10% HCl (9 mL) i leda i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×10 mL).

^{cc} Ako se ne rastvori sve, cedi se kroz kvantitativnu filter-hartiju na običnom levku, a zatim ispira pomoću CH_2Cl_2

Spojени ekstrakti se isperu vodom (10 mL), suše smesom Na₂SO₄ i Na₂CO₃ i upare a ostatak se prečisti fleš-hromatografijom. Dobija se smesa epimera **3.4** (0.0887 g, 35%), R_f=0.67 (1:1 EtOAc/petroletar).

4.4.2. Procedura B



U rastvor osušenog jedinjenja **3.2** (3.3055 g, 9.4332 mmol) u apsolutnom EtOAc (74 mL) doda se H₅IO₆ (3,7689 g, 16.9798 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 h. U toku reakcije se na dnu balona izdvajaju kristali. Nakon reakcije se matični lug cedi kroz kvantitativnu filter-hartiju nakon

čega se filtrat upari. Suvi ostatak se zatim rastvori u EtOAc i ispira vodom (3×20 mL). Organski sloj se zatim suši i uparava čime se dobija sirovi aldehid (**3.3**).

Rastvoru sirovog osušenog jedinjenja **3.3** (5.1052 g) u apsolutnom CH₂Cl₂ (95 mL) se doda Ph₃PMel (0.7577 g, 1.8746 mmol) i TMSCN (3.44 mL, 27.4974 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u atmosferi N₂ u toku 84 h, a zatim izlije u smesu 10% HCl (35 mL)^{dd} i leda i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×20 mL). Spojeni ekstrakti se isperu vodom (10 mL), suše smesom Na₂SO₄ i Na₂CO₃ i upare a ostatak se prečisti fleš-hromatografijom (7:3 cikloheksan/EtOAc). Deo frakcija sa silil etrom cijanhidrina **3.4** se upari, tretira pomoću 10% HCl (35 mL) u toku 2 h i nakon ekstrakcije sa CH₂Cl₂ (3×20 mL) prečišćava fleš-hromatografijom (7:3 cikloheksan/EtOAc). Frakcije jedinjenja **3.4** sa obe hromatografije se pridruže i upare. Dobija se smesa epimera **3.4** (1.7033 g, 59% u odnosu na **3.2**), R_f=0.52 (3:2 dietiletar/petroletar).

IR (film): ν_{max} 3426 (OH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.34 i 1.51 (2xs, po 3 H svaki, CMe₂), 3.93 (b, OH oba izomera), 4.21 i 4.32 (2xd, H-3 oba izomera), 4.40 i 4.50 (2xdd, H-4 oba izomera), 4.55-4.87 (m, CH₂Ph i H-2 i H-5 oba izomera), 5.97 i 6.07 (2xd, H-1 oba izomera) 7.24-7.45 (m, 2×5H, Ar-H oba izomera).

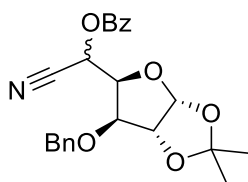
¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.16, 26.21 i 26.76 (CMe₂ oba izomera), 60.19 i 60.82 (C-5 oba izomera), 72.78 (CH₂Ph oba izomera), 79.11 i 81.12 (C-4 oba izomera), 81.65, 81.83, 81.89 i 82.60 (C-3 i C-3 oba izomera), 105.47 i 105.58 (C-1 oba izomera), 112.51 i 112.66 (Me₂C oba izomera), 117.49 i 118.16 (CN oba izomera), 128.09, 128.29, 128.50, 128.55, 128.70, 135.96 i 136.27 (Ar-C oba izomera).

HRMS (ESI): *m/e* 350.12398 (M+HCOO⁻), izračunato za C₁₇H₂₀NO₇: 350.12453.

^{dd} Bilo je potrebno dodati 70 mL 10% HCl jer bi se tada svi silil-etri hidrolizovali u cijanhidrine (**3.4**).

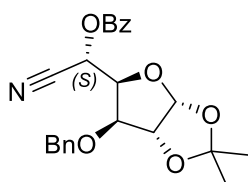
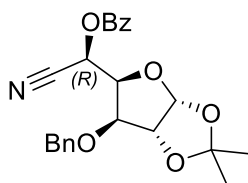
4.5. (*R*)-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-5-il)(cijano)metil benzoat (**3.5a**) i (*S*)-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-5-il)(cijano)metil benzoat (**3.5b**)

4.5.1. Procedura A



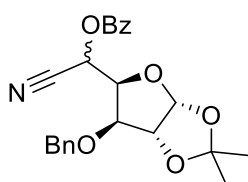
Ohlađenom rastvoru suve smese epimera **3.4** (3.0907 g, 10.1225 mmol) u smesi apsolutnog Py (7.7 mL) i CH₂Cl₂ (21.9 mL) se doda BzCl (2.41 mL, 20.7511 mmol). Reakcija teče na sobnoj temperaturi u toku 38 dana, a zatim se u nju dodaje smesa leda i 1:1 HCl (20 mL), nakon čega se pristupa ekstrakciji pomoću CH₂Cl₂ (5×20 mL). Nakon tretiranja organske faze zas. rastvorom NaHCO₃ (20 mL), te ispiranja vodom (20 mL) i sušenja pomoću Na₂SO₄ i uparavanja, suvi ostatak se prečišćava fleš-hromatografijom (19:1 toluen/EtOAc). Izoluje se čista smesa epimera **3.5** (3.5938 g, 87%).

4.5.2. Procedura B



Ohlađenom rastvoru suve smese epimera **3.4** (0.1411 g, 0.4621 mmol) u smesi apsolutnog Py (0.35 mL) i CH₂Cl₂ (1.0 mL) se doda BzCl (0.11 mL, 0.9242 mmol). Reakcija teče na sobnoj temperaturi u toku 47 h, a zatim se u nju dodaje smesa leda i 1:1 HCl (5 mL), nakon čega se pristupa ekstrakciji pomoću CH₂Cl₂ (4×5 mL). Nakon tretiranja organske faze zas. rastvorom NaHCO₃ (10 mL), te ispiranja vodom (10 mL) i sušenja pomoću Na₂SO₄ i uparavanja, suvi ostatak se prečišćava preparativnom hromatografijom (9:1 toluen/EtOAc). Izoluju se čist (*R*)-epimer **3.5a** (0.1005 g, 53%), *R_f*=0.51 (9:1 toluen/EtOAc), i (*S*)-epimer **3.5b** (0.0553 g, 29%), *R_f*=0.58 (9:1 toluen/EtOAc).

4.5.3. Procedura C



U rastvor osušenog jedinjenja **3.2** (7.03 g, 20.0622 mmol) u apsolutnom EtOAc (156 mL) doda se H₅IO₆ (5.85 g, 25.6796 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 11 dana. U toku reakcije se na dnu balona izdvajaju kristali. Nakon reakcije se matični lug kapalicom odvoji od kristala. Talog se ispira metilen-hloridom a zatim se suši i uparava čime se dobija sirovi aldehid (**3.3**).

Rastvoru sirovog osušenog jedinjenja **3.3** (6.3052 g) u apsolutnom DMSO (257 mL) dodaju se BzCN (12.3946 g, 94.4929 mmol) i MS 4 Å (4 g). Reakcija se meša na sobnoj temperaturi u toku 6 h, nakon čega se neutrališe pomoću zas. rastvora NaHCO₃ (80 mL) a zatim i ekstrahuje smesom

petroletar/benzen 1:1 (6×80 mL). Nakon ispiranja vodom (80 mL), sušenja pomoću Na₂SO₄ i uparavanja, suvi ostatak se prečišćava fleš-hromatografijom nakon čega se izoluje čista smesa epimera **3.5** (2.6185 g, 32% u odnosu na **3.2**).

3.5a

tt 108-110 °C (CH₂Cl₂ + petroletar)

[α]_D = -72.22 (*c* 0.982, CHCl₃), R_f = 0.51 (9:1 toluen/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1737 (CO).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.37 i 1.55 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.11 (d, 1 H, J_{3,4} = 3.5 Hz, H-3), 4.40 (d, 1 H, J_{gem} = 11.9 Hz, CH₂Ph), 4.65-4.73 (m, 3 H, H-2, H-4 i 1 H iz CH₂Ph), 5.78 (d, 1 H, J_{4,5} = 7.7 Hz, H-5), 6.07 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.6 Hz, H-1), 7.10–8.05 (m, 10 H, Ar-H).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.13 i 26.81 (CMe₂), 59.47 (C-5), 71.88 (CH₂Ph), 78.45 (C-4), 79.63 (C-3), 81.43 (C-2), 105.56 (C-1), 112.53 (Me₂C), 115.52 (CN), 127.68, 127.90, 128.06, 128.13, 128.38, 128.51, 129.89, 130.01, 134.00 i 135.93 (Ar-C), 163.88 (CO).

HRMS (ESI): *m/e* 410.15866 (M⁺+H), izračunato za C₂₃H₂₄NO₆: 410.15981; 427.18505 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₃H₂₇N₂O₆: 427.18636; 432.14078 (M⁺+Na), izračunato za C₂₃H₂₃NO₆Na: 432.14176.

3.5b

[α]_D = -24.22 (*c* 1.269, CHCl₃), R_f = 0.58 (9:1 toluen/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1736 (CO).

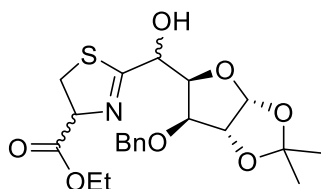
¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.36 i 1.56 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.33 (d, 1 H, J_{3,4} = 3.6 Hz, H-3), 4.70 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.9 Hz, H-2), 4.70 i 4.74 (2×d, 2 H, J_{gem} = 11.2 Hz, CH₂Ph), 4.78 (dd, 1 H, J_{3,4} = 3.6 Hz, J_{4,5} = 8.6 Hz, H-4), 5.86 (d, 1 H, J_{4,5} = 8.6 Hz, H-5), 6.03 (d, 1 H, J_{1,2} = 3.9 Hz, H-1), 7.34–8.11 (m, 10 H, Ar-H).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.21 i 26.81 (CMe₂), 61.23 (C-5), 72.97 (CH₂Ph), 79.17 (C-4), 81.58 (C-2), 82.00 (C-3), 106.03 (C-1), 112.62 (Me₂C), 114.99 (CN), 127.98, 128.21, 128.31, 128.50, 128.58, 129.99, 130.11, 133.95, 134.03 i 136.26 (Ar-C), 164.60 (CO).

HRMS (ESI): *m/e* 410.15873 (M⁺+H), izračunato za C₂₃H₂₄NO₆: 410.15981; 427.18510 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₃H₂₇N₂O₆: 427.18636; 432.14068 (M⁺+Na), izračunato za C₂₃H₂₃NO₆Na: 432.14176.

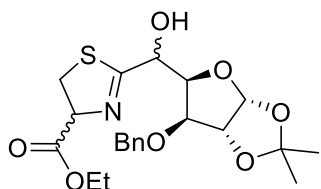
4.6. Etil 2-((*S*)-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)-4,5-dihidrotiazol-4-karboksilat (**3.7a**) i 2-((*R*)-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)-4,5-dihidrotiazol-4-karboksilat (**3.7b**)

4.6.1. Procedura A



Rastvoru suve smese epimera **3.4** (1.7644 g, 5.7787 mmol) u apsolutnom MeOH (87.5 mL) se dodaju Et₃N (1.75 mL) i LCEEH (2.8802 g, 15.4869 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 3 h. Nakon uparavanja, sirova reakciona smesa se prečišćava fleš-hromatografijom (7:3 toluen/EtOAc), čime se dobija čista smesa diastereoizomera **3.7** (1.4813 g, 59%).

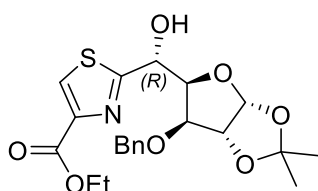
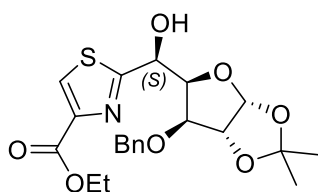
4.6.2. Procedura B



Rastvoru suve smese epimera **3.4** (1.0380 g, 3.3996 mmol) u apsolutnom MeOH (52 mL) se dodaju Et₃N (1.03 mL) i LCEEH (1.7216 g, 9.2459 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 5 h. Nakon uparavanja, sirova reakciona smesa se prečišćava fleš-hromatografijom (7:3 toluen/EtOAc), čime se dobija čista smesa diastereoizomera **3.7** (1.1736 g, 79%).

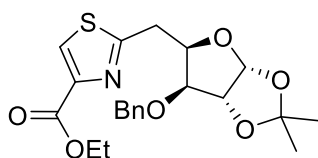
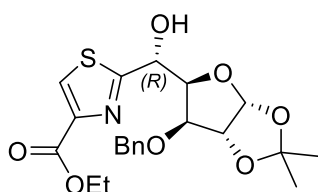
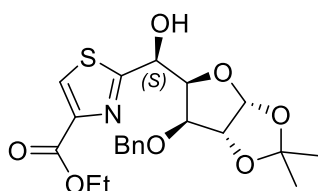
4.7. Etil-2-((*S*)-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksilat (**3.8a**), etil-2-((*R*)-((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksilat (**3.8b**) i etil-2-(((3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-6-(benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)metil)thiazol-4-karboksilat (**3.9**)

4.7.1. Procedura A



Rastvoru suve smese diastereomera **3.7** (1.1736 g, 2.6825 mmol) u apsolutnom CH₂Cl₂ (22 mL) se doda DBU (0.83 mL), a zatim se smesa hladi na 0 °C u toku 15 min. Nakon toga doda se BrCCl₃ (0.33 mL). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 5 h, a zatim se ostavi na +4 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečisti fleš-hromatografijom (EtOAc/toluen 3:7) a zatim preparativnom TLC (EtOAc/toluen 3:7), nakon čega se dobijaju čisti (*S*)-epimer **3.8a** i (*R*)-epimer **3.8b** (0.4814 g, 41% i 0.4030 g, 34% respektivno).^{ee}

4.7.2. Procedura B



Rastvoru suve smese epimera **3.5** (2.6185 g, 6.3954 mmol) u apsolutnom MeOH (100 mL) se dodaju Et₃N (1.3 mL) i LCEEH (1.8157 g, 9.5931 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 4 h. Nakon uparavanja, sirova reakciona smesa se prečišćava fleš-hromatografijom, čime se dobija čista smesa diastereoizomera **3.6** i **3.7** (3.5435 g).

Rastvoru sirove suve smese diastereomera **3.6** i **3.7** (3.5435 g) u apsolutnom CH₂Cl₂ (50 mL) se doda DBU (1.18 mL), a zatim se smesa hladi na 0 °C u toku 15 min. Nakon toga doda se BrCCl₃ (0.76 mL). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 5 h, a zatim se ostavi na +4 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečisti fleš-hromatografijom (EtOAc/toluen 2:8) a zatim preparativnom TLC (EtOAc/toluen 3:7), nakon

^{ee} Odnos epimera **3.8a**:**3.8b** je povećan sa 1.21:1 na 1.88:1 kad je oksidovana smesa tiazolina **3.7** dobijenih iz **3.4** reakcijom koja je trajala 3 umesto 5 h (poglavlje 4.6.2).

čega se dobijaju čista jedinjenja **3.8a** i **3.8b**, kao i njihov 5-deoksi derivat **3.9** (0.6029 g, 22%, 0.6932 g, 25% i 0.2130 g, 8%, respektivno, sve u odnosu na **3.5**).^{ff}

3.8a

$[\alpha]_D = -69.8$ (*c* 1.60, CHCl₃), $R_f = 0.41$ (3:7 EtOAc/toluen, 2×).

IR (film): ν_{\max} 3447 (OH); 1373 (CS).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.32 i 1.50 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 1.40 (t, 3 H, $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃), 4.18 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, H-3), 4.41 (q, 2 H, $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃), 4.44 i 4.60 (2d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, CH₂Ph), 4.63 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, H-2), 4.68 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, $J_{4,5} = 5.8$ Hz, H-4), 5.36 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.9$ Hz, H-5), 6.04 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 7.20–7.39 (m, 5H, Ar-H), 8.14 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 14.31 (CH₂CH₃), 26.24 i 26.80 (CMe₂), 61.43 (CH₂CH₃), 70.43 (C-5), 72.60 (CH₂Ph), 80.70 (C-4), 81.94 (C-2), 82.97 (C-3), 105.20 (C-1), 112.17 (Me₂C), 128.06, 128.29, 128.59, 136.32 (Ar-C i C-5'), 146.73 (C-4'), 161.17 (C-2'), 173.40 (CO₂Et).

HRMS (ESI): *m/e* 436.14164 (M⁺+H), izračunato za C₂₁H₂₆NO₇S: 436.14245; 458.12374 (M⁺+Na), izračunato za C₂₁H₂₅NO₇SNa: 458.12439.

3.8b

$[\alpha]_D = -34.9$ (*c* 0.97, CHCl₃), $R_f = 0.53$ (3:7 EtOAc/toluen, 2×).

IR (film): ν_{\max} 3462 (OH); 1373 (CS).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.29 i 1.42 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 1.34 (t, 3 H, $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH₂CH₃), 3.91 (s, 1 H, OH), 4.24 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.7$ Hz, H-3), 4.37 (q, 2 H, $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH₂CH₃), 4.57–4.78 (m, 4 H, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, H-4, H-2, CH₂Ph), 5.37 (d, 1H, $J_{4,5} = 3.3$ Hz, H-5), 6.01 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 7.29–7.40 (m, 5H, Ar-H), 8.13 (s, 1 H, H-5')

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 14.22 (CH₂CH₃), 26.22 i 26.72 (CMe₂), 61.11 (CH₂CH₃), 70.69 (C-5), 72.26 (CH₂Ph), 81.78 (C-4), 82.23 (C-2), 83.25 (C-3), 105.06 (C-1), 112.16 (Me₂C), 127.65 (C-5'), 127.79, 127.99, 128.58, 136.43 (Ar-C), 146.67 (C-4'), 161.28 (C-2'), 172.29 (CO₂Et).

HRMS (ESI): *m/e* 436.14193 (M⁺+H), izračunato za C₂₁H₂₆NO₇S: 436.14245.

3.9

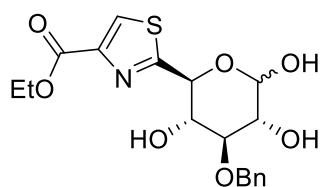
^{ff} Veći prinos deoksigenovanog derivata (**3.9**) dobija se ako se reakciono vreme na +4 °C produži.

$[\alpha]_D = -70.2$ (c 0.25, CHCl_3), $R_f = 0.67$ (3:7 EtOAc/toluen, 2 \times).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.29 i 1.45 (2 \times s, po 3 H svaki, CMe_2), 1.37 (t, 3 H, CH_2CH_3), 3.39 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.7$ Hz, $J_{4,5a} = 7.1$ Hz, H-5a), 3.47 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.7$ Hz, $J_{4,5a} = 7.1$ Hz, H-5b), 4.18 (br s, 1 H, H-3), 4.36 (q, 2 H, $J = 7.0$ Hz, CH_2CH_3), 4.45 (td, 1 H, $J_{3,4} = 2.2$ Hz, $J_{4,5} = 6.8$ Hz, H-4), 4.57 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-2), 6.47 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 8.05 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.25 (CH_2CH_3), 26.10 i 26.72 (CMe_2), 32.29 (C-5), 61.44 (CH_2CH_3), 74.97 (C-3), 79.70 (C-4), 85.17 (C-2), 104.83 (C-1), 111.52 (Me_2C), 127.84 (C-5'), 146.73 (C-4'), 161.11 (C-2'), 167.14 (CO_2Et).

4.8. Etil-2-((2*S*,3*S*,4*S*,5*R*)-4-(benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahidro-2*H*-piran-2-il)tiazol-4-karboksilat (**3.10a**)



Suvom i ohlađenom jedinjenju **3.8a** (0.1839 g, 0.4223 mmol) doda se TFA (8.2 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 30 min. Reakciona smesa se upari a zatim prečisti preparativnom TLC (EtOAc/toluen 2:3), nakon čega se izoluje čista smesa anomera **3.10a** (0.0898 g, 59%), $R_f = 0.21$

(3:2 EtOAc/toluen).

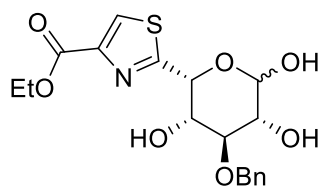
IR (film): ν_{max} 1716 (CO).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.34 (t, 3 H, CH_2CH_3 , α), 3.74 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, $J_{2,3} = 9.3$ Hz, H-2, α), 3.79 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, H-4, α), 3.91 (t, 1 H, $J_{2,3} = 8.9$ Hz, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, H-3, α), 4.33 (q, 2 H, CH_2CH_3 , α), 4.45–4.76 (bs, 3 H, 3 OH), 4.56 (d, $J_{1,2} = 10.7$ Hz, H-1, β), 4.08–5.03 (m, CH_2Ph , α i β), 5.18 (d, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, H-5, α), 5.40 (d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1, α), 7.21–7.42 (m, Ar-H), 8.06 (s, H-5', β), 8.07 (s, H-5', α).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.16 (CH_2CH_3), 61.55 (CH_2CH_3), 70.58 (C-5, α), 71.79 (C-2, α), 74.64 (C-4, α), 74.70 (CH_2Ph , β), 74.87 (CH_2Ph , α), 80.87 (C-3, α), 92.82 (C-1, α), 97.00 (C-1, β), 127.57, 127.75, 127.93, 127.99, 128.10, 128.28, 128.39, 138.50 (Ar-C), 145.97 (C-4'), 146.05 (C-4'), 161.08 (C-2', α), 169.89 (CO_2Et , β), 171.09 (CO_2Et , α).

HRMS (ESI): m/e 396.11239 ($\text{M}^+ + \text{H}$), izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NO}_7\text{S}$: 396.11115; 418.09337 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{SNa}$: 418.09309.

4.9. Etil-2-((2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-4-(benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahidro-2*H*-piran-2-il) tiazol-4-karboksilat (**3.10b**)



Suvom i ohlađenom jedinjenju **3.8b** (0.1914 g, 0.4395 mmol) doda se TFA (8.5 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 3 h. Reakciona smesa se upari a zatim prečisti preparativnom TLC (EtOAc/toluen 3:2), nakon čega se izoluje čista smesa anomera **3.10b** (0.1169 g, 67%), $R_f=0.28$

(3:2 EtOAc/toluen).

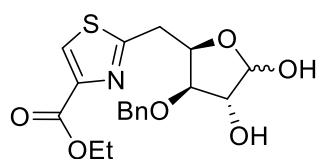
IR (film): ν_{\max} 1720 (CO).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.34 (t, 3 H, CH_2CH_3 , α), 4.60–4.80 (m, H-2, H-3, H-4, CH_2Ph , 3 OH, CH_2CH_3 , α i β), 5.16 (bs, H-1, α), 5.24 (bs, H-5, α i H-1, β), 7.21–7.42 (m, Ar-H), 8.04 (s, H-5', β), 8.06 (s, H-5', α).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.11 (CH_2CH_3), 61.44 (CH_2CH_3), 66.45, 67.39, 67.59, 68.29, 72.10 (CH_2Ph), 73.44, 74.16 (C-5, α), 75.01, 75.60, 80.48, 84.14, 93.20 (C-1, α , $^1J_{\text{C-H}}=161.0$ Hz), 96.26 (C-1, β , $^1J_{\text{C-H}}=171.0$ Hz), 127.42, 127.52, 127.75, 127.84, 128.22, 128.34, 128.52, 137.18 (Ar-C), 104.65, 145.81, 145.88 (C-4'), 161.14, 161.23 (C-2'), 168.91 i 169.66 (CO_2Et).

HRMS (ESI): m/e 396.11191 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NO}_7\text{S}$: 396.11115; 418.09253 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{SNa}$: 418.09309.

4.10. Etil 2-(((2*R*,3*R*,4*R*)-3-(benziloksi)-4,5-dihidroksitetrahidrofuran-2-il)metil) tiazol-4-karboksilat (**3.11**)



Suvom i ohlađenom jedinjenju **3.9** (0.3541 g, 0.8441 mmol) doda se TFA (20.2 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 3 h. Reakciona smesa se upari a zatim prečisti preparativnom TLC (EtOAc/toluen 2:3), nakon čega se izoluje čista smesa anomera **3.11** (0.2484 g, 78%), $R_f=0.38$

(3:2 EtOAc/toluen).

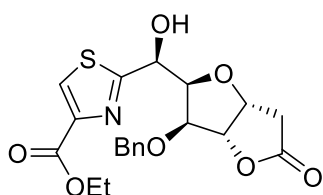
IR (film): ν_{\max} 1721 (CO).

^1H NMR Spektar $\alpha:\beta$ 1:0.3 (CDCl_3): δ 1.35 (t, 3 H, CH_2CH_3 , α i β), 3.21–3.43 (H-5, α i β), 3.95 (dd, 1H, $J_{3,4}=4.3$ Hz, $J_{2,3}=1.8$ Hz, H-3, α), 4.06–4.74 (m, CH_2Ph , H-3, β , H-4, α i β , H-2, β , OH, α i β), 4.25 (dd, 1H, $J_{1,2}=4.1$ Hz, $J_{2,3}=2.0$ Hz, H-2, α), 5.20 (s, 0.3 H, H-1, β), 5.52 (d, 1H, $J_{1,2}=4.1$ Hz, H-1, α), 7.20–7.40 (m, Ar-H), 7.99 i 8.01 (H-5', α i β).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.18 (CH_2CH_3), 33.43 (C-5, α), 34.50 (C-5, β), 61.35 i 61.42 (CH_2CH_3 , α i β), 72.15 i 73.89 (CH_2Ph , β i α), 74.93 (C-2, α), 76.96 (C-4, α), 83.47 (C-3, α), 96.30 (C-1, α), 103.29 (C-1, β), 127.68 (C-5', α i β), 127.83, 127.95, 128.06, 128.36, 128.39, 128.54, 136.92, 137.51 (Ar-C), 145.83 i 145.94 (C-4', α i β), 161.10 i 161.16 (C-2', α i β), 167.84 i 168.76 (CO_2Et , α i β).

HRMS (ESI): m/e 380.11575 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NO}_7\text{S}$: 380.11623; 402.09699 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{SNa}$: 402.09818.

4.11. Etil-2-((*S*)-((2*R*,3*S*,3*aS*,6*aR*)-3-(benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksilat (**7**)



Rastvoru suvog jedinjenja **3.10a** (0.0898 g, 0.2271 mmol) u apsolutnom DMF-u (0.78 mL) se dodaju Et_3N (0.09 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.1002 g, 0.6952 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-50 °C u toku 76 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc /toluen 3:2), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **7** (0.0380 g, 40%), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.9$ (c 0.37, CHCl_3), $R_f = 0.57$ (3:2 EtOAc /toluen).

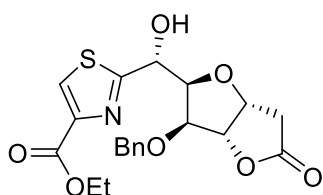
IR (film): ν_{max} 3452 (OH), 1788 (CO iz laktona), 1724 (etilestarska CO).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.40 (t, 3 H, CH_2CH_3), 2.66 (dd, 1 H, $J_{2a,3} = 1.5$ Hz, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, H-2a), 2.76 (dd, 1 H, $J_{2b,3} = 5.4$ Hz, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, H-2b), 4.41 (q, 2 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 6.3$ Hz, CH_2CH_3), 4.49 (d, 1 H, $J_{5,6} = 4.6$ Hz, H-5), 4.53 i 4.62 (2d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, CH_2Ph), 4.59 (dd, 1 H, H-6), 4.92 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, H-4), 5.10 (m, 1 H, $J_{2b,3} = 5.2$ Hz, $J_{2a,3} = 1.6$ Hz, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, H-3), 5.31 (d, 1 H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, H-7), 7.18–7.39 (m, 5 H, Ar-H), 8.15 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.29 (CH_2CH_3), 35.86 (C-2), 61.47 (CH_2CH_3), 70.77 (C-7), 73.37 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 77.59 (C-3), 81.67 (C-6), 82.26 (C-5), 84.84 (C-4), 128.15 (C-5'), 128.03, 128.49, 128.67, 136.02 (Ar-C), 146.76 (C-4'), 161.16 (C-2'), 172.91 (CO_2Et), 174.79 ($\text{C}_1=\text{O}$).

HRMS (ESI): m/e 420.11191 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{NO}_7\text{S}$: 420.11115; 442.09255 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{SNa}$: 442.09309; 458.06680 (M^+K), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{SK}$: 458.06703.

4.12. Etil-2-((*R*)-((2*R*,3*S*,3*aS*,6*aR*)-3-(benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksilat (**8**)



Rastvoru suvog jedinjenja **3.10b** (0.1060 g, 0.2681 mmol) u apsolutnom DMF-u (0.92 mL) se dodaju Et₃N (0.11 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.1183 g, 0.8208 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-48 °C u toku 73 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 2:3, 2×), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **8** (0.0412 g, 37%), [α]_D=+17.2 (c 0.42, CHCl₃), R_f=0.49 (2:3 EtOAc/toluen, 2×).

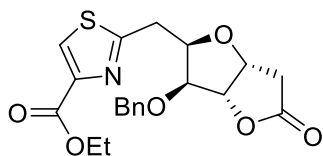
IR (film): ν_{max} **3457** (OH), 1786 (CO iz laktona), 1723 (etilestarska CO).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.37 (t, 3 H, CH₂CH₃), 2.60 (dd, 1 H, J_{2a,3}=1.1 Hz, J_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, J_{2b,3}=5.6 Hz, J_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2b), 3.40–3.80 (b s, 1 H, OH), 4.39 (q, 2 H, J_{CH₂,CH₃}=7.1 Hz, CH₂CH₃), 4.48 (d, 1 H, J_{5,6}=5.0 Hz, H-5), 4.59 (dd, 1 H, J_{5,6}=5.0 Hz, J_{6,7}=3.2 Hz, H-6), 4.69 i 4.80 (2d, 2 H, J_{gem}=11.5 Hz, CH₂Ph), 4.98 (d, 1 H, J_{3,4}=4.4 Hz, H-4), 5.11 (td, 1 H, J_{2b,3}=5.5 Hz, J_{2a,3}=1.4 Hz, J_{3,4}=4.1 Hz, H-3), 5.37 (d, 1 H, J_{6,7}=3.2 Hz, H-7), 7.30–7.43 (m, 5 H, Ar-H), 8.15 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 14.28 (CH₂CH₃), 35.92 (C-2), 61.33 (CH₂CH₃), 71.30 (C-7), 73.17 (CH₂-Ph), 77.73 (C-3), 82.47 (C-6), 82.67 (C-5), 85.72 (C-4), 127.81 (C-5'), 128.15, 128.53, 128.74, 136.16 (Ar-C), 146.90 (C-4'), 161.31 (C-2'), 172.05 (CO₂Et), 174.79 (C₁=O).

HRMS (ESI): *m/e* 420.11134 (M⁺+H), izračunato za C₂₀H₂₂NO₇S: 420.11115; 442.09210 (M⁺+Na), izračunato za C₂₀H₂₁NO₇SNa: 442.09309; 458.06618 (M⁺+K), izračunato za C₂₀H₂₁NO₇SK: 458.06703.

4.13. Etil 2-(((2*R*,3*S*,3*aS*,6*aR*)-3-(benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)metil)thiazol-4-karboksilat (**9**)



Rastvoru suvog jedinjenja **3.11** (0.2484 g, 0.6547 mmol) u apsolutnom DMF-u (2.26 mL) se dodaju Et₃N (0.18 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.1913 g, 1.3290 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-48 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 3:2), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **9** (0.1528 g, 58%), [α]_D=+1.00 (c 0.5, CHCl₃), R_f=0.65 (3:2 EtOAc/toluen).

IR (film): ν_{max} **1789** (CO iz laktona), 1727 (etilestarska CO).

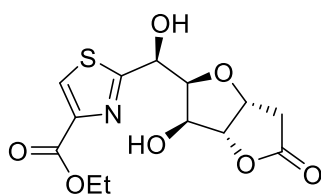
¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.39 (t, 3 H, CH₂CH₃), 2.62 (bd, 1 H, J_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.74 (dd, 1 H, J_{2b,3}=5.6 Hz, J_{2a,2b}=18.8 Hz, H-2b), 3.40 (pd, 2 H, J_{6,7}=6.7 Hz, 2 H-7), 4.18 (d, 1 H, J_{5,6}=3.6 Hz, H-5), 4.41 (q,

2 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 4.48 (td, 1 H, $J_{5,6} = 3.7$ Hz, $J_{6,7} = 6.6$ Hz, H-6), 4.57 i 4.70 (2d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, CH_2Ph), 4.98 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.7$ Hz, H-4), 5.00 (td, 1 H, $J_{2a,3} = 1.2$ Hz, $J_{2b,3} = 5.8$ Hz, H-3), 7.30–7.41 (m, 5 H, Ar-H), 8.06 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.31 (CH_2CH_3), 32.95 (C-7), 35.78 (C-2), 61.36 (CH_2CH_3), 72.59 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 76.71 (C-3), 79.44 (C-6), 81.18 (C-5), 84.91 (C-4), 127.62 (C-5'), 127.89, 128.24, 128.57, 136.66 (Ar-C), 146.72 (C-4'), 161.24 (C-2'), 167.27 (CO_2Et), 174.98 ($\text{C}_1=\text{O}$).

HRMS (ESI): m/e 404.11688 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{NO}_6\text{S}$: 404.11623; 426.09802 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{SNa}$: 426.09818.

4.14. Etil 2-((*S*)-hidroksi((2*S*,3*S*,3*aR*,6*aR*)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (**1**)



Rastvoru suvog jedinjenja **7** (0.1732 g, 0.4129 mmol) u apsolutnom CH_2Cl_2 (9.15 mL) se doda rastvor TiCl_4 (0.18 mL, 1.6764 mmol) u apsolutnom CH_2Cl_2 (5 mL). Reakciona smesa se meša na 0°C u toku 110 min, a zatim se ostavi na $+4^\circ\text{C}$ u toku 171 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc /toluen 3:1), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **1** (0.0426 g, 31%), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +28.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.083$ (3:2 EtOAc /toluen).

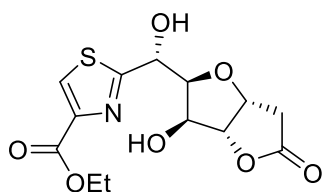
IR (film): ν_{max} 3401 (OH), 1785 (CO iz laktona), 1717 (etilestarska CO).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.38 (t, 3 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 2.62 (bd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, H-2a), 2.74 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, $J_{2b,3} = 5.8$ Hz, H-2b), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 6.4$ Hz, $J_{6,7} = 3.3$ Hz, H-6), 4.38 (q, 2 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 7.1$ Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.69 (bs, 1 H, H-5), 4.97 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.2$ Hz, H-4), 5.04 (t, 1 H, $J_{3,4} = 4.6$ Hz, $J_{2b,3} = 5.1$ Hz, H-3), 5.13 (bs, 2 H, 2OH), 5.40 (d, 1 H, $J_{6,7} = 6.2$ Hz, H-7), 8.16 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.29 (CH_2CH_3), 36.14 (C-2), 61.78 (CH_2CH_3), 70.15 (C-7), 74.37 (C-5), 77.67 (C-3), 82.92 (C-6), 87.91 (C-4), 128.38 (C-5'), 146.15 (C-4'), 161.33 (C-2'), 173.57 (CO_2Et), 175.60 ($\text{C}_1=\text{O}$).

HRMS (ESI): m/e 330.06373 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_7\text{S}$: 330.06420; 352.04571 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_7\text{SNa}$: 352.04614; 368.01973 (M^+K), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_7\text{SK}$: 368.02008.

4.15. Etil 2-((*R*)-hidroksi((2*S*,3*S*,3*aR*,6*aR*)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (**2**)



Rastvoru suvog jedinjenja **8** (0.1279 g, 0.3049 mmol) u apsolutnom CH_2Cl_2 (6.75 mL) se doda TiCl_4 (0.14 mL, 1.2775 mmol). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 1 h, a zatim se ostavi na +4 °C u toku 21.5 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 3:1), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **2** (0.0537 g, 53%), $[\alpha]_D^{25} = +65.04$ (c 0.4, CHCl_3), $R_f = 0.19$ (3:2 EtOAc/toluen).

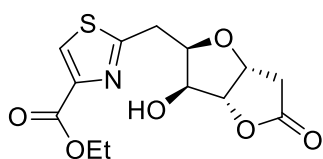
IR (film): ν_{max} 3435 (OH), 1789 (CO iz laktona), 1714 (etilestarska CO).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.37 (t, 3 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 2.66 (bd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.6$ Hz, H-2a), 2.74 (dd, 1 H $J_{2a,2b} = 18.6$ Hz, $J_{2b,3} = 5.5$ Hz, H-2b), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, $J_{6,7} = 3.6$ Hz, H-6), 4.36 (q, 2 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 7.1$ Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.51 (bs, 1 H, OH), 4.58 (bd, 1 H, $J_{5,6} = 3.1$ Hz, H-5), 4.98 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.1$ Hz, H-4), 5.14 (t, 1 H, $J_{3,4} = 4.6$ Hz, $J_{2b,3} = 5.1$ Hz, H-3), 5.30 (bs, 1 H, OH), 5.39 (d, 1 H, $J_{6,7} = 6.5$ Hz, H-7), 8.15 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.19 (CH_2CH_3), 36.16 (C-2), 61.61 (CH_2CH_3), 71.56 (C-7), 74.43 (C-5), 77.71 (C-3), 84.83 (C-6), 88.19 (C-4), 127.89 (C-5'), 146.61 (C-4'), 161.20 (C-2'), 173.07 (CO_2Et), 175.29 (C1=O).

HRMS (ESI): m/e 330.06333 ($\text{M}^+ + \text{H}$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_7\text{S}$: 330.06420; 352.04562 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_7\text{SNa}$: 352.04614; 368.01991 ($\text{M}^+ + \text{K}$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_7\text{SK}$: 368.02008.

4.16. Etil 2-(((2*R*,3*S*,3*aR*,6*aR*)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksilat (**3**)



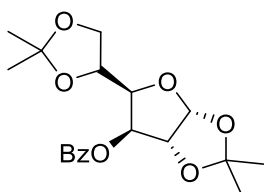
Rastvoru suvog jedinjenja **9** (0.0673 g, 0.1668 mmol) u apsolutnom CH_2Cl_2 (3.70 mL) se doda ohlađena smesa TiCl_4 (0.037 mL, 0.6756 mmol) i apsolutnog CH_2Cl_2 (1.12 mL). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 1 h, a zatim se ostavi na +4 °C u toku 72 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 3:2), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **3** (0.0328 g, 65%), $[\alpha]_D^{25} = +54.40$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.20$ (3:2 EtOAc/toluen).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.38 (t, 3 H, $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 2.63 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.6$ Hz, H-2a), 2.74 (dd, 1 H $J_{2a,2b} = 18.6$ Hz, $J_{2b,3} = 5.2$ Hz, H-2b), 3.39 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 14.7$ Hz, $J_{6,7a} = 6.5$ Hz, H-7a), 3.51 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 14.7$ Hz, $J_{6,7b} = 7.5$ Hz, H-7b), 4.22 (bs, 1 H, OH), 4.30–4.44 (m, 3 H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, H-6), 4.47 (d, 1 H, $J_{5,6} = 3.0$ Hz, H-5), 4.96–5.08 (m, 2 H, H-3 i H-4), 8.07 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 14.24 (CH_2CH_3), 32.56 (C-7), 36.11 (C-2), 61.58 (CH_2CH_3), 74.21 (C-5), 77.00 (C-3), 80.31 (C-6), 87.96 (C-4), 127.61 (C-5'), 146.41 (C-4'), 160.91 (C-2'), 167.43 (CO_2Et), 175.41 ($\text{C}_1=\text{O}$).

HRMS (ESI): m/e 314.07054 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_6\text{S}$: 314.06928; 336.05124 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_6\text{SNa}$: 336.05123.

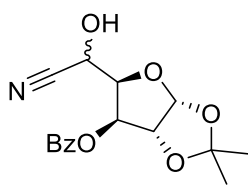
4.17. (3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-5-((*R*)-2,2-Dimetil-1,3-dioksolan-4-il)-2,2-dimetiltetrahydrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-6-il benzoat (**3.12**)



Ohlađenom (0 °C) rastvoru suvog jedinjenja **3.1** (2.6335 g, 10.1177 mmol) u smesi apsolutnog piridina (3.1 mL) i CH_2Cl_2 (8.8 mL) dodaje se BzCl (2.06 mL, 17.7060 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 3 dana. Zatim se u reakcionu smesu doda HCl 1:1 (5 mL) i smesa se meša još 20 min nakon čega se prenese u levak za odvajanje i ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (4×16 mL). Organski slojevi se pridruže i tretiraju pomoću zas. rastvora NaHCO_3 (16 mL) a zatim se ispiraju vodom (16 mL). Nakon sušenja (anh. Na_2SO_4) i uparavanja, suvi ostatak se prečišćava fleš-hromatografijom (toluen/ EtOAc 19:1), nakon čega se izdvaja čist *O*-benzoil-diacetonid **3.12** (3.2980 g, 89%), $R_f=0,38$ (19:1 toluen/ EtOAc).

4.18. (3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-5-((*R*)-Cijano(hidroksi)metil)-2,2-dimetiltetrahydrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-6-il benzoat (**3.14a**) i (3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-5-((*S*)-cijano(hidroksi)metil)-2,2-dimetiltetrahydrofuro[2,3-*d*][1,3]dioksol-6-il benzoat (**3.14b**)

4.18.1. Procedura A

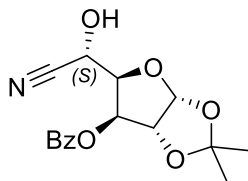
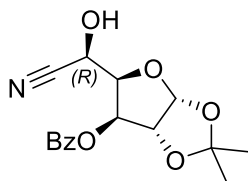


U rastvor osušenog jedinjenja **3.12** (10.7266 g, 29.4368 mmol) u apsolutnom EtOAc (700 mL) doda se H_5IO_6 (6.100 g, 26.7875 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 6 h. U toku reakcije se na dnu balona izdvajaju kristali. Reakciona smesa sa jedinjenjem **3.13** se zatim upari, a suvi ostatak rastvori u CH_2Cl_2 i cedi kroz celit. Rastvor se zatim prenosi u levak za odvajanje nakon čega mu se dodaje zas. NaHCO_3 (35 mL). Vodeni sloj se ispira smesom petroletar/benzen 1:1 (4×70 mL), a zatim se organski sloj suši (anh. Na_2SO_4), uparava i konačno suši u eksikatoru, $R_f=0,14$ (19:1 toluen/ EtOAc).

Rastvoru suve sirove reakcione smese aldehida **3.13** (9.0534 g) u smesi rastvarača DMSO /voda 5:1 (78 mL) se doda BzCN (6.1700 g, 47.0989 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku

3 dana. Nakon uparavanja, sirova reakciona smesa se prečišćava fleš-hromatografijom (toluen/EtOAc 8:2), čime se dobija čista smesa diastereoizomera **3.14** (5.1800 g, 55% u odnosu na **3.12**).

4.18.2. Procedura B



U rastvor osušenog jedinjenja **3.12** (3.7734 g, 10.3553 mmol) u apsolutnom EtOAc (365 mL) doda se H_5IO_6 (2.900 g, 12.7370 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 5 h. U toku reakcije se na dnu balona izdvajaju kristali. Reakciona smesa sa jedinjenjem **3.13** se zatim upari, a suvi ostatak rastvori u CH_2Cl_2 , cedi kroz celit i zatim uparava.

Rastvoru suve sirove reakcione smese aldehida **3.13** (2.6803 g) u smesi rastvarača DMSO/voda 5:1 (35 mL) se doda BzCN (3.3000 g, 25.1634 mmol).

Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 3 dana. Nakon uparavanja, sirova reakciona smesa se prečišćava fleš-hromatografijom (toluen/EtOAc 8:2), čime se dobija čista smesa diastereoizomera **3.14** (0.8991 g, 27% u odnosu na **3.12**), kao i čisti (*R*)-diastereoizomer **3.14a** (0.4376, 13% u odnosu na **3.12**) i (*S*)-diastereoizomer **3.14b** (0.2624, 8% u odnosu na **3.12**).

3.14a

tt 183 °C

$[\alpha]_D^{20} = +29.3$ (*c* 1, $CHCl_3$), $R_f = 0.59$ (3:7 EtOAc/toluen).

IR (film): ν_{max} 3330 (OH).

1H NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 1.35 i 1.57 (2 \times s, po 3 H svaki, CMe_2), 3.82 (brs, 1 H, OH), 4.60 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 6.8$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4), 4.66 (d, 1 H, $J_{4,5} = 6.8$ Hz, H-5), 4.72 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-2), 5.55 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-3), 6.08 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 7.36–8.17 (m, 1 H, Ar-H).

^{13}C NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 26.29 i 26.80 (CMe_2), 59.97 (C-5), 76.08 (C-3), 79.72 (C-4), 83.32 (C-2), 105.18 (C-1), 113.19 (Me_2C), 117.57 (CN), 128.31, 128.74, 130.04, 134.16 (Ar-C), 165.95 (COPh).

HRMS (ESI): m/e 337.13937 ($M^+ + NH_4$), izračunato za $C_{16}H_{21}N_2O_6$: 337.13941.

3.14b

tt 179 °C

$[\alpha]_D^{20} = +8.5$ (*c* 0.2, $CHCl_3$), $R_f = 0.51$ (3:7 EtOAc/toluen).

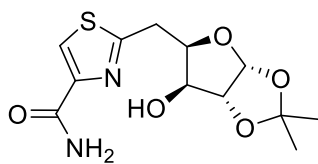
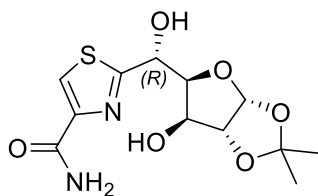
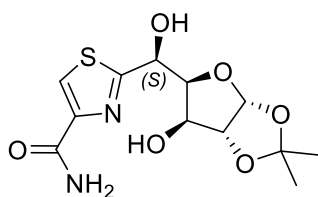
IR (film): ν_{max} 3399 (OH).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.36 i 1.57 (2xs, po 3 H svaki, CMe_2), 3.85 (brs, 1 H, OH), 4.61 (dd, 1 H, $J_{4,5}=6.0$ Hz, $J_{3,4}=2.9$ Hz, H-4), 4.76 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.5$ Hz, H-2), 4.92 (d, 1 H, $J_{4,5}=6.2$ Hz, H-5), 5.56 (br s, 1 H, $J_{3,4}=2.8$ Hz, H-3), 6.10 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.5$ Hz, H-1), 7.32-8.18 (m, 1 H, Ar-H).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.14 i 26.68 (CMe_2), 59.59 (C-5), 76.36 (C-3), 78.86 (C-4), 83.22 (C-2), 105.09 (C-1), 113.06 (Me_2C), 117.09 (CN), 128.32, 129.69, 129.97, 133.95 (Ar-C), 166.42 (COPh).

HRMS (ESI): m/e 337.13847 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$: 337.13941; 342.09396 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{Na}$: 342.09481.

- 4.19. 2-((S)-Hidroksi((3aR,5S,6S,6aR)-6-hidroksi-2,2-dimetiltetrahydrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**3.18a**), 2-((R)-hidroksi((3aR,5S,6S,6aR)-6-hidroksi-2,2-dimetiltetrahydrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**3.18b**) i 2-(((3aR,5R,6S,6aR)-6-hidroksi-2,2-dimetiltetrahydrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**3.19**)



Rastvoru suve smese epimera **3.14** (4.1592 g, 13.0255 mmol) u apsolutnom MeOH (198.0 mL) se dodaju Et_3N (2.67 mL) i LCEEH (3.7300 g, 20.0593 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 48 h. Nakon uparavanja, sirova reakciona smesa se upari a zatim ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (4x100 mL). Organski sloj se zatim tretira zasićenim rastvorima NaHCO_3 (80 mL) i NaCl (80 mL), nakon čega se suši i uparava, čime se dobija sirova reakciona smesa tiazolina (**3.15**, 6.1931 g).

Ohlađenom rastvoru sirove reakcione smese tiazolina **3.15** (6.1931 g) i DBU (2.6 mL, 17.4542 mmol) u apsolutnom CH_2Cl_2 (104.0 mL) se doda BrCCl_3 (1.60 mL, 16.2819 mmol). Reakciona smesa se meša u toku 5 h na $^\circ\text{C}$ a zatim još 140 h na $+4$ $^\circ\text{C}$, nakon čega se uparava i suši, čime se dobija sirova reakciona smesa tiazola (**3.16a**, **3.16b** i **3.17**, 6.4900 g).

Suva sirova reakciona smesa tiazola **3.16a**, **3.16b** i **3.17** (6.4900 g) rastvori se u zasićenom metanolnom rastvoru amonijaka. Reakcija teče 12 dana, nakon čega se reakciona smesa upari i prečišćava fleš-hromatografijom (MeOH/EtOAc 1:29), a zatim i preparativnom TLC (MeOH/EtOAc 1:29), nakon čega

se izoluju (*S*)-epimer **3.18a** (0.5551 g, 6% u odnosu na **3.14**) i (*R*)-epimer **3.18b** (0.2556 g, 13% u odnosu na **3.14**), kao i 5-deoksi derivat **3.19** (0.4994 g, 13% u odnosu na **3.14**).

3.18a

$[\alpha]_D = -85.5$ (*c* 0.2, MeOH), $R_f = 0.30$ (24:1 EtOAc/MeOH).

IR (film): ν_{\max} **3340** (OH).

^1H NMR Spektar (MeOD): δ 1.32 i 1.46 (2s, po 3 H svaki, CMe_2), 4.23 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.4$ Hz, H-3), 4.28 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.6$ Hz, $J_{4,5} = 7.9$ Hz, H-4), 4.57 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-2), 5.24 (d, 1 H, $J_{4,5} = 7.9$ Hz, H-5), 6.01 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 8.22 (s, 1H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (MeOD): δ 26.47 i 27.10 (CMe_2), 71.34 (C-5), 75.66 (C-3), 84.87 (C-4), 86.78 (C-2), 106.37 (C-1), 113.03 (CMe_2), 125.96 (C-5'), 150.85 (C-4'), 165.75 (C-2'), 174.60 (CONH_2).

HRMS (ESI): *m/e* 317.08047 ($\text{M}^+ + \text{H}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 317.08018; 334.10774 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$: 334.10673; 339.06231 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{SNa}$: 339.06213; 355.03666 ($\text{M}^+ + \text{K}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{SK}$: 355.03607.

3.18b

$[\alpha]_D = +41.0$ (*c* 0.4, MeOH), $R_f = 0.25$ (24:1 EtOAc/MeOH).

IR (film): ν_{\max} **3328** (OH).

^1H NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 1.23 i 1.36 (2s, po 3 H svaki, CMe_2), 4.08 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.0$ Hz, $J_{4,5} = 8.9$ Hz, H-4), 4.16 (bd, 1 H, H-3), 4.45 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-2), 5.03 (d, 1 H, $J_{4,5} = 8.7$ Hz, H-5), 5.55 (bs, 1 H, OH na C-3), 5.79 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 6.36 (bs, 1 H, OH na C-5), 7.55 i 7.64 (2 x s, 2 H, NH_2), 8.24 (s, 1H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 26.13 i 27.76 (CMe_2), 67.37 (C-5), 72.87 (C-3), 83.44 (C-4), 84.59 (C-2), 104.50 (C-1), 110.79 (CMe_2), 124.64 (C-5'), 149.36 (C-4'), 162.31 (C-2'), 174.20 (CONH_2).

HRMS (ESI): *m/e* 317.08000 ($\text{M}^+ + \text{H}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 317.08018; 334.10690 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$: 334.10673; 339.06173 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{SNa}$: 339.06213; 355.03616 ($\text{M}^+ + \text{K}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{SK}$: 355.03607.

3.19

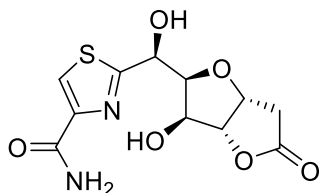
$[\alpha]_D = -1.50$ (*c* 0.4, MeOH), $R_f = 0.40$ (24:1 EtOAc/MeOH).

^1H NMR Spektar (MeOD): δ 1.31 i 1.45 (2s, po 3 H svaki, CMe_2), 3.35 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=15.1$ Hz, $J_{4,5a}=7.3$ Hz, H-5a), 3.41 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=15.1$ Hz, $J_{4,5b}=6.5$ Hz, H-5b), 4.13 (bd, 1 H, $J_{3,4}=2.2$ Hz, H-3), 4.51 (m, 1 H, H-4), 4.55 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-2), 5.93 (d, 1H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-1), 8.13 (s, 1H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (MeOD): δ 26.36 i 27.03 (CMe_2), 33.29 (C-5), 75.78 (C-3), 80.91 (C-4), 86.70 (C-2), 106.08 (C-1), 112.68 (CMe_2), 125.74 (C-5'), 150.30 (C-4'), 165.61 (C-2'), 169.21 (CONH_2).

HRMS (ESI): m/e 301.08495 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 301.08527; 318.11200 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$: 318.11182; 323.06682 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{SNa}$: 323.06721; 339.04119 ($\text{M}^+\text{+K}$), izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{SK}$: 339.04115.

4.20. 2-((S)-Hidroksi((2S,3S,3aR,6aR)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**4**)



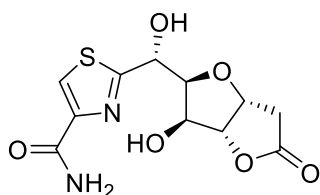
Ohlađenom rastvoru suvog jedinjenja **3.18a** (0.1212 g, 0.3831 mmol) doda se TFA (6.70 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 1 h a zatim na sobnoj temperaturi u toku 1.5 h. Reakciona smesa se upari čime se dobija sirovo jedinjenje **3.20a** (0.1156 g).

Rastvoru sirovog osušenog jedinjenja **3.20a** (0.1156 g) u apsolutnom DMF-u (1.31 mL) se dodaju Et_3N (0.16 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.17 g, 1.1799 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-50 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/MeOH 29:1, 3 \times), nakon čega se izoluje onečišćeno jedinjenje **4** (0.0085 g, 7% u odnosu na **3.18a**), $R_f=0.24$ (EtOAc/MeOH 29:1, 2 \times).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.50 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7$ Hz, H-2a), 2.85 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7$ Hz, $J_{2b,3}=6.2$ Hz, H-2b), 4.19 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.2$ Hz, $J_{6,7}=7.8$ Hz, H-6), 4.52 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.0$ Hz, H-5), 4.93 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.2$ Hz, H-4), 5.00 (dd, 1 H, $J_{3,4}=4.4$ Hz, $J_{2b,3}=6.1$ Hz, H-3), 5.19 (d, 1 H, $J_{6,7}=7.8$ Hz, H-7), 8.20 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 36.81 (C-2), 70.21 (C-7), 74.72 (C-5), 79.06 (C-3), 84.68 (C-6), 89.42 (C-4), 126.07 (C-5'), 150.47 (C-4'), 165.29 (C-2'), 175.29 (CONH_2), 177.87 ($\text{C}_1=\text{O}$).

4.21. 2-((R)-Hidroksi((2S,3S,3aR,6aR)-3-hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**5**)



Ohlađenom rastvoru suvog jedinjenja **3.18b** (0.1742 g, 0.5507 mmol) doda se TFA (9.60 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 1 h a zatim na sobnoj temperaturi u toku 1.5 h. Reakciona smesa se upari čime se dobija sirovo jedinjenje **3.20b** (0.1646 g).

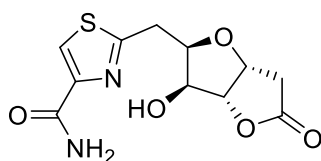
Rastvoru sirovog osušenog jedinjenja **3.20b** (0.1646 g) u apsolutnom DMF-u (1.89 mL) se dodaju Et₃N (0.23 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.24 g, 1.6631 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-50 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/MeOH 29:1, 3×), nakon čega se izoluje onečišćeno jedinjenje **5** (0.0025 g, 2% u odnosu na **3.18b**), *R_f*=0.22 (EtOAc/MeOH 29:1, 2×).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.58 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.87 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.7 Hz, *J*_{2b,3}=6.4 Hz, H-2b), 4.22 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=3.8 Hz, *J*_{6,7}=6.7 Hz, H-6), 4.47 (bd, 1 H, *J*_{5,6}=3.7 Hz, H-5), 4.96 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=4.5 Hz, *J*_{4,5}=1.2 Hz, H-4), 5.08 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=4.5 Hz, *J*_{2b,3}=6.2 Hz, H-3), 5.22 (d, 1 H, *J*_{6,7}=6.7 Hz, H-7), 8.20 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.93 (C-2), 71.68 (C-7), 75.46 (C-5), 78.84 (C-3), 85.20 (C-6), 90.18 (C-4), 125.88 (C-5'), 150.63 (C-4'), 164.45 (C-2'), 169.33 (CONH₂), 177.95 (C₁=O).

4.22. 2-(((2*R*,3*S*,3*aR*,6*aR*)-3-Hidroksi-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (**6**)

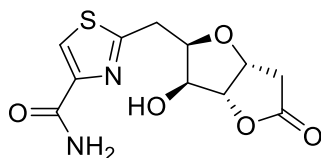
4.22.1. Procedura A



Ohlađenom rastvoru suvog jedinjenja **3.19** (0.4994 g, 1.6628 mmol) doda se TFA (32.2 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 2.5 h. Reakciona smesa se upari čime se dobija sirovo jedinjenje **3.21** (0.4122 g).

Rastvoru sirovog osušenog jedinjenja **3.21** (0.4122 g) u apsolutnom DMF-u (5.70 mL) se dodaju Et₃N (0.45 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.5 g, 3.4753 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-48 °C u toku 72 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/MeOH 29:1, 3×), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **6** (0.0147 g, 3% u odnosu na **3.19**).

4.22.2. Procedura B



Rastvoru osušenog jedinjenja **3.26** (0.0196 g, 0.0523 mmol) u apsolutnom CH₂Cl₂ (1.16 mL) se doda smesa CH₂Cl₂ (0.355 mL) i TiCl₄ (0.025 mL, 0.2270 mmol). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 2 h a zatim na +4 °C još 4 dana, nakon čega se u nju doda još smese CH₂Cl₂ (0.178 mL) i TiCl₄ (0.012 mL, 0.1093 mmol) i ostavi da teče na sobnoj temperaturi u toku 1 dana. Nakon obrade reakcione smese zasićenim NaHCO₃ (5 mL) i uparavanja, suvi ostatak se prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 9:1), nakon čega se izoluje onečišćeno jedinjenje **6** (0.0027 g, 18%).

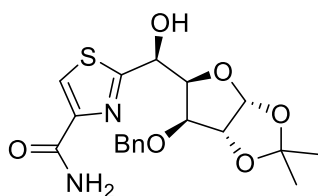
$[\alpha]_D=36.50$ (c 0.2, MeOH), $R_f=0.27$ (EtOAc/MeOH 29:1).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.46 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7$ Hz, H-2a), 2.88 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7$ Hz, $J_{2b,3}=6.2$ Hz, H-2b), 3.29 (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=15.4$ Hz, $J_{7a,6}=7.7$ Hz, H-7a), 3.37 (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=15.4$ Hz, $J_{7b,6}=5.6$ Hz, H-7b), 4.32-4.38 (m, 2 H, H-6 i H-5), 4.96 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.6$ Hz, H-4), 5.00 (dd, 1 H, $J_{3,4}=4.4$ Hz, $J_{2b,3}=6.5$ Hz, H-3), 8.12 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 33.30 (CH_2 -7), 36.43 (C-2), 74.73 (C-5), 77.74 (C-3), 80.98 (C-6), 88.90 (C-4), 124.48 (C-5'), 150.93 (C-4'), 163.24 (C-2'), 168.33 (CONH_2), 176.02 ($\text{C}_1=\text{O}$).

HRMS (ESI): m/e 285.05398 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 285.05397.

4.23. 2-((S)-((3aR,5R,6S,6aR)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)tiazol-4-karboksamid (**3.22a**)



Tiazol **3.8a** (0.2062 g, 0.5073 mmol) rastvori se u zasićenom metanolnom rastvoru amonijaka (12.78 mL). Reakcija teče 9 dana, nakon čega se reakciona smesa upari i prečišćava preparativnom TLC (toluen/EtOAc 3:2), nakon čega se izoluje jedinjenje **3.22a** (0.2062 g, 75%), $[\alpha]_D=-74.06$ (c 1.2, CHCl_3), $R_f=0.10$ (3:2 toluen/EtOAc).

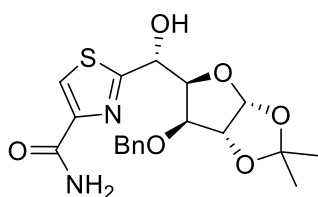
IR (film): ν_{max} 1671 (CO).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.33 i 1.50 (2s, po 3 H svaki, CMe_2), 3.90 (br s, 1 H, OH), 4.17 (d, 1 H, $J_{3,4}=2.4$ Hz, H-3), 4.41 (d, 1 H, $J_{\text{gem}}=12.4$ Hz, CH_2Ph), 4.58-4.68 (m, 3 H, H-2, H-4, CH_2Ph), 5.30 (d, 1 H, $J_{4,5}=6.0$ Hz, H-5), 6.06 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-1), 6.29 i 7.10 (2 br s, 2 H, NH_2), 7.16-7.78 (m, 5 H, Ar-H), 8.11 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.18 i 26.79 (CMe_2), 70.22 (C-5), 72.38 (CH_2 -Ph), 80.72 (C-4), 81.75 (C-2), 82.65 (C-3), 105.15 (C-1), 112.05 (CMe_2), 125.04 (C-5'), 128.00, 128.36, 128.60 i 136.10 (Ar-C), 149.01 (C-4'), 163.10 (C-2'), 172.91 (CONH_2).

HRMS (ESI): m/e 407.12868 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 407.12713; 429.10955 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{SNa}$: 429.10908.

4.24. 2-(((R)-((3aR,5R,6S,6aR)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksamid (**3.22b**)



Tiazol **3.8b** (0.1100 g, 0.2526 mmol) rastvori se u zasićenom metanolnom rastvoru amonijaka (5 mL). Reakcija teče 12 dana, nakon čega se reakciona smesa upari i prečišćava preparativnom TLC (toluen/EtOAc 3:2), nakon čega se izoluje jedinjenje **3.22b** (0.1007 g, 98%), $[\alpha]_D^{25} = -48.26$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.10$ (3:2 toluen/EtOAc).

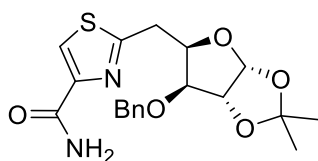
IR (film): ν_{\max} 1672 (CO).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.30 i 1.45 (2s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.16 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-3), 4.48 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.54 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{4,5} = 5.7$ Hz, H-4), 4.66–4.68 (m, 3 H, H-2, OH, CH₂Ph), 5.33 (d, 1 H, $J_{4,5} = 5.7$ Hz, H-5), 6.01 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 6.72 i 7.01 (2 br s, 2 H, NH₂), 7.28–7.35 (m, 5 H, Ar-H), 8.11 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.17 i 26.70 (CMe₂), 69.94 (C-5), 71.97 (CH₂-Ph), 82.00 (C-2), 82.15 (C-4), 82.55 (C-3), 104.90 (C-1), 112.13 (CMe₂), 124.90 (C-5'), 127.52, 128.05, 128.44 i 136.51 (Ar-C), 148.94 (C-4'), 163.46 (C-2'), 171.31 (CONH₂).

HRMS (ESI): m/e 407.12894 (M⁺+H), izračunato za C₁₉H₂₃N₂O₆S: 407.12713; 429.10922 (M⁺+Na), izračunato za C₁₉H₂₂N₂O₆SNa: 429.10908.

4.25. 2-(((3aR,5R,6S,6aR)-6-(Benziloksi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioksol-5-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**3.23**)



Tiazol **3.9** (0.1400 g, 0.3337 mmol) rastvori se u zasićenom metanolnom rastvoru amonijaka (6.38 mL). Reakcija teče 10 dana, nakon čega se reakciona smesa upari i prečišćava preparativnom TLC (toluen/EtOAc 3:2), nakon čega se izoluje jedinjenje **3.23** (0.0944 g, 72%), $[\alpha]_D^{25} = -59.53$ (c 1.1, CHCl₃), $R_f = 0.16$ (3:2 toluen/EtOAc).

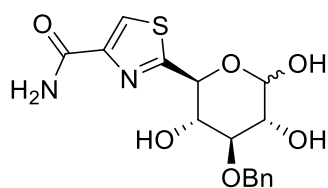
IR (film): ν_{\max} 1679 (CO).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.33 i 1.50 (2s, po 3 H svaki, CMe₂), 3.37 (dd, 1 H, $J_{\text{gem}} = 15.2$ Hz, $J_{4,5a} = 6.8$ Hz, H-5a), 3.45 (dd, 1 H, $J_{\text{gem}} = 15.4$ Hz, $J_{4,5b} = 6.9$ Hz, H-5b), 3.97 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3), 4.46 i 4.71 (2 d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.8$ Hz, CH₂Ph), 4.67 (td, 1 H, $J_{3,4} = 3.1$ Hz, $J_{4,5} = 6.8$ Hz, H-4), 4.68 (d, 1 H, H-2), 6.47 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 6.56 i 7.80 (2 br s, 2 H, NH₂), 7.23–7.36 (m, 5 H, Ar-H), 8.08 (s, 1 H, H-5').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.07 i 26.60 (CMe_2), 32.12 (C-5), 71.70 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 78.82 (C-4), 81.44 (C-3), 81.86 (C-2), 104.78 (C-1), 111.75 (CMe_2), 125.08 (C-5'), 127.66, 128.00, 128.43 i 136.89 (Ar-C), 148.36 (C-4'), 163.80 (C-2'), 167.09 (CONH_2).

HRMS (ESI): m/e 413.11431 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{SNa}$: 413.11416; 429.08837 ($\text{M}^+\text{+K}$), izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{SK}$: 429.08810.

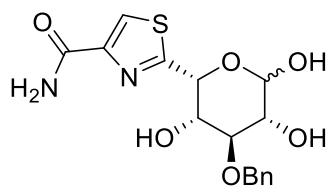
4.26. 2-((2*S*,3*S*,4*S*,5*R*)-4-(Benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahydro-2*H*-piran-2-il)thiazol-4-karboksamid (**3.24a**)



Suvom i ohlađenom jedinjenju **3.22a** (0.2913 g, 0.7167 mmol) doda se TFA (14.0 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 3 h. Reakciona smesa se upari a zatim prečisti preparativnom TLC (1:9 EtOAc/toluen, 2 \times), nakon čega se izoluje čista smesa anomera **3.24a** (0.1891 g, 72%), $R_f=0.24$ (1:9 EtOAc/toluen, 2 \times).

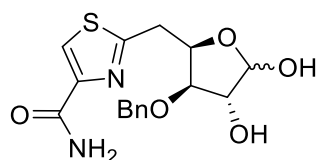
HRMS (ESI): m/e 367.09670 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 367.09583; 389.07785 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6\text{SNa}$: 389.07778.

4.27. 2-((2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-4-(Benziloksi)-3,5,6-trihidroksitetrahydro-2*H*-piran-2-il)thiazol-4-karboksamid **3.24b**



Suvom i ohlađenom jedinjenju **3.22b** (0.1229 g, 0.3024 mmol) doda se TFA (4.7 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 3 h. Reakciona smesa se upari a zatim prečisti preparativnom TLC (1:9 EtOAc/toluen, 2 \times), nakon čega se izoluje čista smesa anomera **3.24b** (0.0447 g, 40%), $R_f=0.45$ (1:9 EtOAc/toluen, 2 \times).

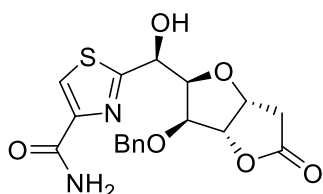
4.28. 2-(((2*R*,3*R*,4*R*)-3-(Benziloksi)-4,5-dihidroksitetrahydrofuran-2-il)metil)thiazol-4-karboksamid (**3.25**)



Suvom i ohlađenom jedinjenju **3.9** (0.0944 g, 0.2418 mmol) doda se TFA (4.7 mL, 90%). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 3.5 h. Reakciona smesa se upari a zatim prečisti preparativnom TLC (1:9 EtOAc/toluen), nakon čega se izoluje čista smesa anomera **3.25** (0.0801 g, 95%), $R_f=0.11$ (1:9 EtOAc/toluen).

IR (film): ν_{max} 1665 (CO).

4.29. 2-((S)-((2R,3S,3aS,6aR)-3-(Benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksamid (**10**)

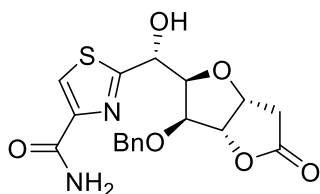


Rastvoru suvog jedinjenja **3.24a** (0.1891 g, 0.5161 mmol) u apsolutnom DMF-u (1.77 mL) se dodaju Et₃N (0.2 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.2324 g, 0.16102 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-50 °C u toku 72 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 9:1, 2×), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **10** (0.0914 g, 45%), R_f=0.32 (9:1 EtOAc/toluen, 2×).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.63 (br d, 1 H, J_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.75 (dd, 1 H, J_{2b,3}=4.8 Hz, J_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2b), 4.08 (br s, 1 H, OH), 4.41 (d, 1 H, J_{5,6}=3.4 Hz, H-5), 4.45–4.72 (m, 3 H, CH₂Ph i H-6), 4.92 (d, 1 H, J_{3,4}=4.0 Hz, H-4), 5.07 (m, 1 H, H-3), 5.22 (d, 1 H, J_{6,7}=6.1 Hz, H-7), 6.45 (br s, 1 H, NH₂), 7.13–7.38 (m, 6 H, NH₂ i Ar-H), 8.09 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.88 (C-2), 70.33 (C-7), 73.19 (CH₂-Ph), 77.65 (C-3), 81.76 (C-5), 81.80 (C-6), 84.75 (C-4), 125.22 (C-5'), 128.05, 128.48, 128.64, 135.96 (Ar-C), 148.82 (C-4'), 163.22 (C-2'), 172.56 (CONH₂), 175.09 (C₁=O).

4.30. 2-((R)-((2R,3S,3aS,6aR)-3-(Benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-b]furan-2-il)(hidroksi)metil)thiazol-4-karboksamid (**11**)

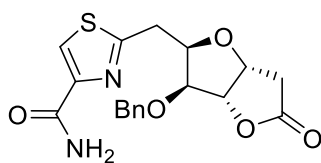


Rastvoru suvog jedinjenja **3.24b** (0.0447 g, 0.1220 mmol) u apsolutnom DMF-u (0.41 mL) se dodaju Et₃N (0.05 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.0584 g, 0.04050 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-50 °C u toku 72 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 9:1, 2×), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **11** (0.0325 g, 68%), R_f=0.35 (9:1 EtOAc/toluen, 2×).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 4.27 (br s, 1 H, OH), 2.66 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=19.0 Hz, J_{2a,3}=1.2 Hz, H-2a), 2.79 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=19.0 Hz, J_{2b,3}=5.1 Hz, H-2b), 4.48 (d, 1 H, J_{5,6}=4.9 Hz, H-5), 4.58–4.70 (m, 2 H, CH₂Ph i H-6), 4.79 (d, 1 H, J_{gem}=11.6 Hz, CH₂Ph), 5.03 (d, 1 H, J_{3,4}=4.5 Hz, H-4), 5.14 (m, 1 H, H-3), 5.31 (d, 1 H, J_{6,7}=3.6 Hz, H-7), 5.77 i 7.01 (2 br s, 2 H, NH₂), 7.30–7.49 (m, 5 H, Ar-H), 8.15 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.97 (C-2), 71.03 (C-7), 73.25 (CH₂-Ph), 77.79 (C-3), 82.34 (C-5), 82.76 (C-6), 85.45 (C-4), 125.12 (C-5'), 127.99, 128.71, 128.87, 135.97 (Ar-C), 148.90 (C-4'), 162.79 (C-2'), 171.25 (CONH₂), 174.74 (C₁=O).

4.31. 2-(((2*R*,3*S*,3*aS*,6*aR*)-3-(Benziloksi)-5-oksoheksahidrofuro[3,2-*b*]furan-2-il)metil)tiazol-4-karboksamid (**3.26**)



Rastvoru suvog jedinjenja **3.25** (0.0801 g, 0.2286 mmol) u apsolutnom DMF-u (0.79 mL) se dodaju Et₃N (0.095 mL) i Meldrum-ova kiselina (0.1033 g, 0.7178 mmol). Reakciona smesa se meša na 46-48 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari i prečišćava preparativnom TLC (EtOAc/toluen 9:1, 2×), nakon čega se izoluje čisto jedinjenje **3.26** (0.0193 g, 23%), [α]_D = -1.39 (c 0.93, CHCl₃), *R*_f = 0.46 (9:1 EtOAc/toluen, 2×).

IR (film): ν_{\max} **1787** (CO iz laktona), 1679 (amidna CO).

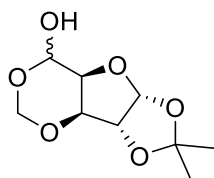
¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.66 (d, 1 H, *J*_{2*a*,2*b*} = 18.7 Hz, H-2*a*), 2.76 (dd, 1 H, *J*_{2*b*,3} = 5.2 Hz, *J*_{2*a*,2*b*} = 18.8 Hz, H-2*b*), 3.38 (d, 2 H, *J*_{6,7} = 6.8 Hz, H-7), 4.21 (d, 1 H, *J*_{5,6} = 3.5 Hz, H-5), 4.47–4.59 (m, 2 H, CH₂Ph i H-6), 4.69 (d, 1 H, *J*_{gem} = 11.7 Hz, CH₂Ph), 4.94–5.06 (m, 2 H, H-3 i H-4), 5.98 i 7.09 (2 br s, 2 H, NH₂), 7.26–7.40 (m, 5 H, Ar-H), 8.05 (s, 1 H, H-5').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 32.49 (CH₂-7), 35.98 (C-2), 72.75 (CH₂-Ph), 76.90 (C-3), 79.39 (C-6), 81.09 (C-5), 84.88 (C-4), 124.69 (C-5'), 127.96, 128.45, 128.73, 136.65 (Ar-C), 148.73 (C-4'), 162.72 (C-2'), 166.99 (CONH₂), 175.15 (C₁=O).

HRMS (ESI): *m/e* 375.10166 (M⁺+H), izračunato za C₁₈H₁₉N₂O₅S: 375.10092; 397.08426 (M⁺+Na), izračunato za C₁₈H₁₈N₂O₅SNa: 397.08286; 413.05727 (M⁺+K), izračunato za C₁₈H₁₈N₂O₅SK: 413.05680.

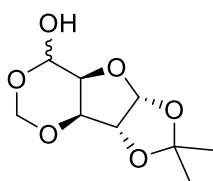
4.32. (3*aR*,3*bS*,7*aS*,8*aR*)-2,2-Dimetiltetrahidro-7*H*-
[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-7-ol (**3.29**)

4.32.1. Procedura A



Rastvoru jedinjenja **3.1** (2,1737 g, 8,35 mmol) u anh. EtOAc (80 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se H₅IO₆ (3.1208 g, 13.69 mmol). Posle 6 h, reakciona smesa se procedi preko celita i upari. Dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:1 Et₂O/PE) pri čemu se dobija smesa **3.29** (1.0418 g, 57.17%) u vidu bele čvrste mase, *R*_f = 0.28 (1:1 Et₂O/PE).

4.32.2. Procedura B



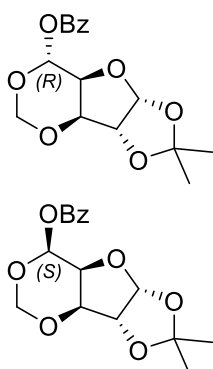
Rastvor jedinjenja **3.27** (1.9483 g, 8.85 mmol) i H_5IO_6 (4.032 g, 17.69 mmol) u anhidrovanom CH_3CN (210 mL) se meša na sobnoj temperaturi u toku 20 h, a zatim filtrira kroz celit i upari. Dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:2, 1:1, 2:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$) pri čemu se dobija smesa **3.29** (1.226 g, 64%) u vidu bele čvrste mase.

IR (KBr): ν_{max} 3390.57 (OH), 1221 (C-O, as., etar).

HRMS (ESI): m/e 236.11285 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$). izračunato za $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{NO}_6$: 236.11286.

4.33. (3a*R*,3b*S*,7*R*,7a*S*,8a*R*)-2,2-Dimetiltetrahidro-7*H*-

[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-7-il benzoat (**3.32**) i (3a*R*,3b*S*,7*S*,7a*S*,8a*R*)-2,2-dimetiltetrahidro-7*H*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-7-il benzoat (**3.33**)



U rastvor prečišćene smese **3.29** (1.0418 g, 4.77 mmol) u anh. DMSO (12 mL) dodaju se rastvor BzCN (0.881 g, 6.72 mmol) u DMSO (12 mL) u prisustvu MS 4 Å (3.03 g). Reakciona smeša se meša u atmosferi azota na sobnoj temperaturi u toku 24 h. Reakcija se prekida dodatkom zasićenog rastvora NaHCO_3 (pH=7; 20 mL) i vode (10 mL), a zatim se ekstrahuje etrom (4x40mL), nakon čega se upari. Sirovi ostatak (1.75 g) je prečišćen preparativnom TLC (35 preparativnih ploča; 9:1 Toluen/ EtOAc ; eluiranje sa silikagela 1:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$). Čist (*R*)-epimer **3.32** je izolovan (0.9268 g, 60.23%) u obliku bele kristalne mase, $[\alpha]_{\text{D}} = +101$ (c 3.08; CHCl_3); $R_f = 0.57$ (9:1 Toluen/ EtOAc). Polarniji (*S*)-epimer **3.33** je izolovan (0.1466 g, 9.53%) u obliku uljaste mase, $[\alpha]_{\text{D}} +4.901$ (c 0.49; CHCl_3); $R_f = 0.43$ (9:1 Toluen/ EtOAc).

3.32

IR (KBr): ν_{max} 1741.9 (C=O, estar), 1600.71 (C=O, Ph), 1143.94 (C-O, as., etar).

HRMS (ESI): m/e 340.13900 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$). Izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_7$: 340.13908.

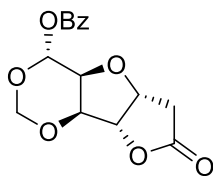
3.33

IR (film): ν_{max} 1733.9 (C=O, estar).

HRMS (ESI): m/e 340.09540 ($\text{M}^+\text{+Na}$). Izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NaO}_7$: 345.09447.

4.34. (4*R*,4*aS*,5*aR*,8*aS*,8*bR*)-7-Oksohexahidro-4*H*-furo[2',3':4,5]furo[3,2-d][1,3]dioksin-4-il benzoat (**12**)

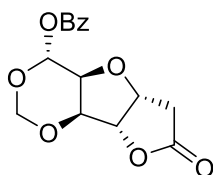
4.34.1. Procedura A



Jedinjenje **3.32** (0.8629 g, 2.67 mmol) se rastvori u 90% TFA (10 mL) na 0 °C (3 h) i zatim meša još dodatnih 0.5 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se zatim uparava azeotropnom destilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Nakon sušenja ostatka u visokom vakuumu suvi ostatak se prečisti preparativnom tankoslojnom hromatografijom (10 ploča; 7:3 Toluen/EtAc). Pri tome je dobijena smesa laktola **3.35** (0.3558 g, 47 %), kao glavni proizvod i minimalno neizreagovalog polaznog jedinjenja **3.32** (0.0467 g, 5 %).

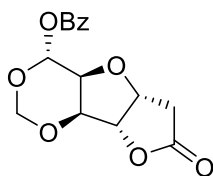
Laktol **3.35** (0.3558 g, 1.32 mmol) se rastvori u anhidrovanom N,N-dimetilformamidu (5 mL). U ovaj rastvor dodaje se Meldrumova kiselina (0.5703 g, 3.96) i anhidrovani trietilamin (0.56 mL, 4.05 mmol) i ovako dobijena smeša se meša na 46 °C u toku 70 h, a zatim upari hladnim vazduhom (fen). Suvi ostatak se prečisti preparativnom tankoslojnom hromatografijom (7:3 Toluen/EtAc) pri čemu se dobija čist proizvod **12** (0.052g, 13%).

4.34.2. Procedura B



Rastvoru smese jedinjenja **3.30** (0.1223 g, 0.6049 mmol) u anhidrovanom piridinu (4 mL) doda se benzoil-hlorid (0.14 mL, 1.21 mmol) uz hlađenje i mešanje, a dobijeni rastvor se ostavi na sobnoj temperaturi u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari hladnim vazduhom (vetrenjem sa fenom) a suvi ostatak se prečisti preparativnom TLC (6 preparativnih ploča; 7:3 toluen/EtOAc). Dobija se hromatografski čist proizvod **12** u vidu bezbojnog ulja, koje kristališe iz smese metilen-hlorid – diizopropiletar dajući bele kristale (0.025 g, 13%).

4.34.3. Procedura C



U rastvor prečišćenog proizvoda **3.30a** (0.15 g, 0.7865 mmol) u anhidrovanom DMSO (2 mL) dodaju se rastvor BzCN (0.178 g, 1.357 mmol) u DMSO (2 mL) u prisustvu molekulskih sita od 4 Å (1.0 g). Reakciona smeša se meša u toku 0.5 h, a zatim stoji bez mešanja na sobnoj temperaturi u toku 60 h. Nakon ceđenja molekulskih sita i njihovog ispiranja sa smesom benzen/petroletar (1:1) reakcija se prekida dodatkom zasićenog rastvora NaHCO₃ (pH=7; 7 mL), a zatim se ekstrahuje smesom benzen/petroletar (1:1; 4×10 mL), nakon čega se organski ekstrakt suši i upari. Sirovi ostatak je kristalisan iz sistema

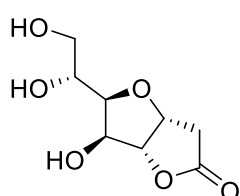
CH₂Cl₂/diizopropiletar i dobijeno je čisto jedinjenje **12** (0.049 g). Matični lug je prečišćen preparativnom TLC (2 preparativne ploče; 7:3 Toluen/EtOAc; eluiranje sa silikagela EtOAc). Čist proizvod **12** je izolovan u ukupnom prinosu (0.1023 g, 45%) u obliku bele kristalne mase, *tt* 186-7 °C, $[\alpha]_D^{20} = +14.31$ (*c* 1.335; CHCl₃).

IR (KBr): ν_{\max} 1767 (C=O, lakton), 1267 (C-O, as., etar).

HRMS (ESI): *m/e* 329.06317 (M+Na)⁺, izračunato za C₁₅H₁₄NaO₇: 329.06461.

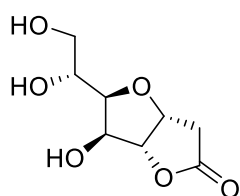
4.35. (3*aR*,5*R*,6*S*,6*aR*)-5-((*R*)-1,2-Dihidroksietil)-6-hidroksitetrahidrofuro[3,2-*b*]furan-2(3*H*)-on (**3.28**)

4.35.1. Procedura A



α -D-Glukoza (2.000 g, 11.10 mmol) se suspenduje u anhidrovanom DMF (25 mL) pa se doda anhidrovani Et₃N (4.80 mL, 34.44 mmol) i Meldrum-ova kiselina (4.800 g, 33.30 mmol). Reakcioni rastvor se meša na 46–48 °C tokom 66 h pa se razblaži sa CH₂Cl₂ i upari do suva. Ostatak se dva puta prečisti na koloni fleš silikagela (1:19 MeOH/EtOAc) pri čemu je sa obe kolone sakupljeno čisto jedinjenje **3.28** (0.827 g, 36%), koje kristališe iz sistema (Me₂CO/PE) u vidu belog praha *tt* 119 °C, $[\alpha]_D^{20} = +32.2$ (*c* 0.5, H₂O), lit.¹⁰⁷ $[\alpha]_D^{20} = +29$ (*c* 0.5, H₂O) i $[\alpha]_{D546}^{20} = +32$ (*c* 0.5, H₂O); *R_f* = 0.27 (1:19 MeOH/EtOAc).

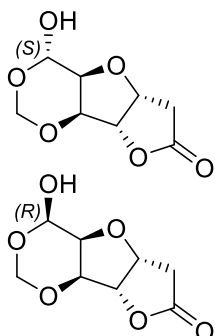
4.35.2. Procedura B



α -D-Glukoza (0.180 g, 1.00 mmol) se suspenduje u anh. DMF (5 mL) pa se doda anh. Et₃N (1.68 mL, 12.00 mmol) i Meldrumova kiselina (0.290 g, 2.00 mmol). Reakcioni rastvor se meša na 40 °C tokom 4 dana pa se razblaži sa CH₂Cl₂ i upari do suva. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (1:19 MeOH/EtOAc) pri čemu se dobija čisto jedinjenje **3.28** (0.102 g, 50%) u vidu belog praha.

4.36. (4*S*,4*aS*,5*aR*,8*aS*,8*bR*)-4-Hidroksiheksahidro-7*H*-furo[2',3':4,5]furo[3,2-d][1,3]dioksin-7-on (**3.30a**)

4.36.1. Procedura A

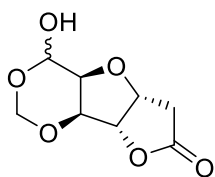


Rastvoru jedinjenja **3.28** (0.145 g, 0.71 mmol) u anhidrovanom CH₃CN (15 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se H₅IO₆ (0.146 g, 0.64 mmol). Posle 22 h, reakciona smesa se upari sa silika gelom i dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (9:1 CH₂Cl₂/Me₂CO) pri čemu se dobija čist (*S*)-epimer **3.30a** (0.108 g, 75%) koji kristališe iz Me₂CO/heksan u vidu mutnih iglica *tt* 152–153 °C, [α]_D=+130 (c 0.25, Me₂CO); R_f=0.31 (9:1 CH₂Cl₂/Me₂CO).

IR (KBr): ν_{max} 3338 (OH), 1763 (C=O, lakton).

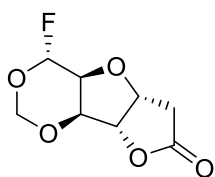
HRMS (ESI): *m/e* 220.08161 (M⁺+NH₄), izračunato za C₈H₁₄O₆N: 220.08156.

4.36.2. Procedura B



Rastvoru jedinjenja **3.28** (0.4629 g, 2.27 mmol) u anhidrovanom CH₃CN (40 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se H₅IO₆ (0.4633 g, 2.03 mmol). Posle 22 h, reakciona smesa se upari sa silika gelom i dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (9:1 CH₂Cl₂/Me₂CO) pri čemu se dobija smesa epimera **3.30a** i **3.30b** (0.2284 g, 49.84%).

4.37. (4*R*,4*aS*,5*aR*,8*aS*,8*bR*)-4-Fluoroheksahidro-7*H*-furo[2',3':4,5]furo[3,2-d][1,3]dioksin-7-on (**13**)



U ohlađen (0 °C) rastvor smese izomera **3.30** (0.104 g, 0.51 mmol) u smesi anhidrovanog CH₂Cl₂ (5 mL) i MeCN (3 mL) doda se DAST (0.21 mL, 1.59 mmol). Posle 0.5 h ukloni se vodeno kupatilo, a smesa se meša na sobnoj temperaturi još 3 h i zatim upari. Suvi ostatak se prečišćava fleš hromatografijom (4:1 toluene/EtOAc) pri čemu se dobija čist **13** (0.037 g, 36%) u vidu bezbojnog sirupa. Kristalizacija iz smese CH₂Cl₂/heksan daje čisto jedinjenje **13** u vidu bezbojnih iglica, *tt* 190–193 °C, [α]_D=+67.5 (c 0.2, CHCl₃), R_f=0.61 (7:3 toluene/EtOAc).

IR (KBr): ν_{max} 1774 (C=O), 1169 (C-O-C).

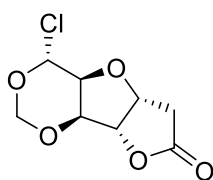
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.71 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8$ Hz, H-2a), 2.79 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8$, $J_{2b,3}=5.5$ Hz, H-2b), 3.93 (br s, 1 H, H-6), 4.65 (br s, 1 H, H-5), 4.83 (d, 1 H, $J_{\text{gem}}=6.5$ Hz, CH_2), 4.94 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.2$ Hz, H-4), 5.09 (m, 1 H, H-3), 5.10 (d, 1 H, $J_{\text{gem}}=6.5$ Hz, CH_2), 5.67 (d, 1 H, $J_{7,F}=49.1$ Hz, H-7).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 35.6 (C-2), 72.6 (d, $J_{6,F}=41.6$ Hz, C-6), 75.6 (C-5), 76.7 (C-3), 84.8 (CH_2), 85.3 (C-4), 102.5 (d, $J_{7,F}=218.9$ Hz, C-7), 174.4 (C-1).

Elementarna mikroanaliza: Nađeno: C, 46.79; H, 4.31. Izračunato za $\text{C}_8\text{H}_9\text{FO}_5$: C, 47.07; H, 4.44.

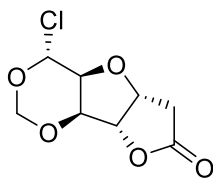
4.38. (4*R*,4*aS*,5*aR*,8*aS*,8*bR*)-4-Hloroheksahidro-7*H*-furo[2',3':4,5]furo[3,2-d][1,3]dioksin-7-on (**14**)

4.38.1. Procedura A



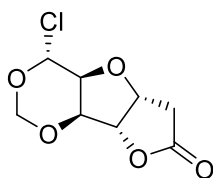
Ohlađenom rastvoru (0 °C) smese epimera **3.30** (0.3862 g, 1.91 mmol) u anhidrovanom metilen-hloridu (10 mL) doda se mezil-hlorid (0.217 mL, 2.80 mmol) i trietilamin (0.37 mL, 1.58 mmol) uz hlađenje i mešanje, a dobijeni rastvor se ostavi na 0 °C u toku 48 h. Reakciona smesa se zatim upari hladnim vazduhom (vetrenje pomoću fena) i prečisti hromatografijom na koloni silikagela (toluen-EtOAc 8.5:1.5). Dobija se hromatografski čist proizvod **14** u vidu bezbojnog ulja, koje kristališe iz smese metilen-hlorid – heksan dajući bele kristale jedinjenja **14** (0.0852 g, 20%), t_t 146 °C uz razlaganje, $[\alpha]_D^{20}=+192.03$ (c 0.59; CHCl_3).

4.38.2. Procedura B



Rastvoru jedinjenja **3.28** (0.64 g, 3.13 mmol) u anhidrovanom CH_3CN (66 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se H_5IO_6 (0.6436 g, 2.82 mmol). Posle 22 h reakciona smesa se procedi preko kolone sa celitom koji je suspendovan u apsolutnom CH_3CN i upari. Dobija se sirova smesa **3.30** (0.2655 g) u vidu bele kristalne mase. Rastvoru **3.30** (0.2655 g, 1.31 mmol) u anhidrovanom metilen-hloridu (33 mL), koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se 2,6-lutidin (0.472 mL, 3.99 mmol), trifenil-fosfin (0.8634 mL, 3.30 mmol) i ugljentetrahlorid (0.43 mL, 4.30 mmol). Nakon 24 h reakcioni rastvor se upari do suva i dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (anh. CH_2Cl_2) pri čemu se dobija čisto jedinjenje **14** (0.0994g, 14 % u odnosu na **3.28**) u vidu belog praha.

4.38.3. Procedura C



Rastvoru smese epimera **3.30** (0.135 g, 1.67 mmol) u anhidrovanom metilenkloridu (20 mL), koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se 2,6-lutidin (0.24 mL, 2.03 mmol), trifenil-fosfin (0.439 mL, 1.68 mmol) i ugljentetrahlorid (0.22 mL, 2.20 mmol). Nakon 24 h reakcionu rastvor se upari do suva i dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (anh. CH₂Cl₂) pri čemu se dobija čisto jedinjenje **14** (0.117 g, 80 %) u vidu belog praha.

IR (KBr): ν_{\max} 1769 (C=O, lakton), 1267 (C-O, as., etar).

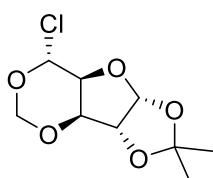
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.70 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}$ =18.8 Hz, H-2a), 2.80 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}$ =18.8 Hz, $J_{2b,3}$ =5.5 Hz, H-2b), 4.08 (br s, 1 H, H-6), 4.76 (br s, 1 H, H-5), 4.89 (d, 1 H, J_{gem} =6.6 Hz, CH_{2a}), 4.92 (d, 1 H, $J_{3,4}$ =4.2 Hz, H-4), 5.13 (m, 1 H, H-3), 5.26 (d, 1 H, J_{gem} =6.6 Hz, CH_{2b}), 6.13 (s, 1 H, H-7).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 35.7 (C-2), 74.5 (C-5), 76.7 (C-6), 78.6 (C-3), 84.7 (CH₂), 84.9 (C-4), 87.2 (C-7), 174.4 (C-1).

Elementarna mikroanaliza: Nađeno: C, 43.00; H, 3.89. Izračunato za C₈H₉ClO₅: C, 43.56; H, 4.11.

4.39. (3a*R*,3b*R*,7*R*,7a*S*,8a*R*)-7-Hloro-2,2-dimetiltetrahidro-7*H*-[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin (**3.31**)

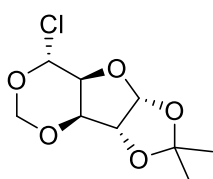
4.39.1. Procedura A



Rastvor jedinjenja **3.27** (2.002 g, 9.09 mmol) i H₅IO₆ (1.867 g, 8.19 mmol) u suvom CH₃CN (200 mL) meša se na sobnoj temperaturi u toku 22 h. Smesa se zatim cedi kroz celit i uparava. Suvi ostatak predstavlja sirovo jedinjenje **3.29** (1.3 g).

Ohlađenom rastvoru sirovog jedinjenja **3.29** (1.3 g) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (100 mL) se dodaju 2,6-lutidin (2.13 mL, 18.03 mmol), Ph₃P (3.898 g, 14.92 mmol) i CCl₄ (1.95 mL, 19.54 mmol). Rastvor se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi u toku 24 h. Nakon uparavanja, reakciona smesa se prečišćava fleš hromatografijom (2:1 PE/Et₂O). Izoluje se čist **3.31** (0.490 g, 21% iz **3.27**) kao bela čvrsta supstanca.

4.39.2. Procedura B



U ohlađeni (0 °C) rastvor jedinjenja **3.29** (1.226 g, 5.63 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (100 mL) doda se 2,6-lutidin (2.03 mL, 17.045 mmol), Ph₃P (3.736 g, 14.23 mmol) i CCl₄ (1.95 mL, 19.54 mmol). Rastvor se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim

na sobnoj temperaturi u toku 24 h. Nakon uparavanja, suvi ostatak se prečišćava fleš hromatografijom (8:1, 3:1 PE/Et₂O). Nečiste frakcije se potpom prečišćavaju pomoću TLC (2 ploče, 2:1 PE/Et₂O). Čist **3.31** (0.868 g, 65%, ili 42% iz **3.27**) se izoluje kao bela kristalna supstanca. Rekristalizacijom iz smese CH₂Cl₂/heksan dobija se analitički čist **3.31** u vidu providnih iglica, *tt* 103 °C, [α]_D=+130.0 (*c* 0.1, CHCl₃), *R*_f=0.53 (2:1 petroletar/Et₂O).

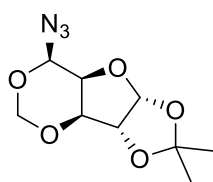
IR: *v*_{max} 1229 (C-O-C).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.30 i 1.47 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.12 (br s, 1 H, H-4), 4.47 (br s, 1 H, H-3), 4.52 (d, 1 H, *J*_{1,2}=3.5 Hz, H-2), 4.80 i 5.15 (2 × d, 1 H svaki, *J*_{gem}=6.6 Hz, CH₂), 5.97 (d, 1 H, *J*_{1,2}=3.5 Hz, H-1), 6.14 (s, 1 H, H-5). NOE kontakt: H-5 i H-4, H-3 i H-4.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 26.1 i 26.6 (Me₂C), 75.1 (C-3), 76.1 (C-4), 82.8 (C-2), 84.8 (CH₂), 87.6 (C-5), 105.7 (C-1), 112.4 (Me₂C).

Elementarna mikroanaliza: Nađeno: C, 45.24; H, 5.15. Izračunato za C₉H₁₃ClO₅: C, 45.68; H, 5.54.

4.40. (3*aR*,3*bS*,7*R*,7*aS*,8*aR*)-7-Azido-2,2-dimetiltetrahidro-7*H*-
[1,3]dioksolo[4',5':4,5]furo[3,2-*d*][1,3]dioksin (**3.34**)



U rastvor jedinjenja **3.31** (0.636 g, 2.69 mmol) u DMSO (29 mL) doda se NaN₃ (1.509 g, 23.21 mmol). Suspenzija se meša na 90 °C u toku 1 h. Smesa se upari a suvi ostatak prečisti fleš hromatografijom (2:1 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čist **3.34** (0.371 g, 57%) u vidu bezbojne tečnosti, [α]_D=-63.0 (*c* 0.1, CHCl₃), *R*_f=0.71 (2:1 petroletar/Et₂O).

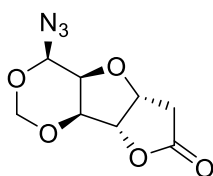
IR: *v*_{max} 2122 (N₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.34 i 1.51 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.20 (t, 1 H, *J*_{3,4}=1.9 Hz, H-4), 4.24 (d, 1 H, *J*_{3,4}=1.8 Hz, H-3), 4.60 (d, 1 H, *J*_{1,2}=3.5 Hz, H-2), 4.70 (d, 1 H, *J*_{4,5}=1.8 Hz, H-5), 4.80 i 5.11 (2 × d, 1 H svaki, *J*_{gem}=6.9 Hz, CH₂), 6.10 (d, 1 H, *J*_{1,2}=3.5 Hz, H-1).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 26.2 i 26.7 (Me₂C), 74.7 (C-4), 78.8 (C-3), 83.0 (C-2), 84.5 (C-5), 90.7 (CH₂), 105.7 (C-1), 112.5 (Me₂C).

HRMS (ESI): *m/z* 261.11857 (M⁺+NH₄), izračunato za C₉H₁₇O₅N₄: 261.11935.

4.41. (4*R*,4*aS*,5*aR*,8*aS*,8*bR*)-4-Azidoheksahidro-7*H*-furo[2',3':4,5]furo[3,2-d][1,3]dioksin-7-on (**15**)



Ohlađeni (0 °C) rastvor jedinjenja **3.34** (0.244 g, 0.94 mmol) u 90% aq TFA (4 mL) meša se u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi dodatnih 8 h. Smesa se upari kodestilacijom sa toluenom a suvi ostatak dodatno osuši u vakuumu, čime se dobija sirova smesa anomernih laktola **3.26** (0.216 g).

U rastvor suve sirove smese laktola **3.36** (0.216 g) u anhidrovanom DMF (5 mL) doda se Meldrum-ova kiselina (0.467 g, 3.24 mmol) i anhidrovani Et₃N (0.45 mL, 3.24 mmol). Smesa se meša na 46 °C u toku 48 h i potom upari. Suvi ostatak se prečisti fleš hromatografijom (7:3 toluen/EtOAc), a nečiste frakcije preparativnom TLC (8 ploča, 7:3 toluen/EtOAc). Čisto jedinjenje MSE5 (0.050 g, 22% iz **3.34**) izoluje se kao bela kristalna supstanca. Rekristalizacija iz smese CH₂Cl₂/heksan daje analitički čist uzorak jedinjenja **15** u vidu bezbojnih igličastih kristala, *tt* 117–119 °C, [α]_D=−20.0 (c 0.1, CHCl₃), *R_f*=0.55 (7:3 toluen/EtAc).

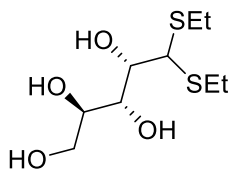
IR: *v*_{max} 1795 (C=O), 2124 (N₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.80 (d, 2 H, *J*_{2,3b}=3.3 Hz, 2H-2), 4.07 (t, 1 H, *J*=1.9 Hz, H-6), 4.50 (br s, 1 H, H-5), 4.79 (s, 1 H, H-7), 4.81 (d, 1 H, *J*_{gem}=6.9 Hz, CH_{2a}), 4.94 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.1 Hz, H-4), 5.12–5.18 (m, 2 H, H-3 i CH_{2b}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 35.6 (C-2), 75.3 (C-6), 77.9 (C-5), 78.2 (C-3), 84.6 (C-7), 84.9 (C-4), 90.7 (CH₂), 174.5 (C-1).

HRMS (ESI): *m/z* 250.04344 (M⁺+Na), izračunato za C₈H₉O₅N₃Na: 250.04323.

4.42. (2*R*,3*R*,4*S*)-5,5-Bis(etiltio)pentan-1,2,3,4-tetraol (**3.37**)



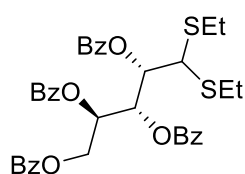
Rastvoru D-arabinoze (20 g, 133.5 mmol) u koncentrovanoj HCl (17 mL) doda se etilmerkaptan (20 mL). Ovako pripremljena reakciona smeša meša se na ledenom kupatilu, sve dok se ne pojave kristali. Posle toga, reakciona smeša se ostavi u kupatilu sa ledom i soli u toku narednih pola časa. Kristali se odvoje filtracijom, isperu ledenom vodom i brzo se prekrystališu iz toplog rastvora NaHCO₃. Izdvojeni kristali

se filtruju, isperu ledenom vodom, apsolutnim alkoholom i etrom, pri čemu se dobija čist proizvod **3.37** (12.2 g, 40%) u vidu belih kristala, *tt* 126 °C (lit.²²⁶ 126 °C).^{gg}

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3.63 (dd, 1H, *J*_{5a,5b}=11.3 Hz, *J*_{4,5a}=6.3 Hz, H-5a), 3.74 (ddd, 1H, *J*_{4,5a}=6.3 Hz, *J*_{4,5b}=2.9 Hz, *J*_{3,4}=8.5 Hz, H-4), 3.84 (dd, 1H, *J*_{4,5b}=2.7 Hz, *J*_{5a,5b}=11.3, H-5b), 3.93 (dd, 1H, *J*_{2,3}=1.8 Hz, *J*_{1,2}=8.3 Hz, H-2), 4.02 (dd, 1H, *J*_{2,3}=1.8 Hz, *J*_{3,4}=8.3 Hz, H-3), 4.09 (d, 1H, *J*_{1,2}=8.3 Hz, H-1).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 16.14 i 16.20 (2CH₃ iz SCH₂CH₃), 27.25 i 27.29 (2SCH₂CH₃), 56.25 (C-1), 65.50 (C-5), 72.83 (C-3), 73.77 (C-4 i C-2).

4.43. (2*R*,3*R*,4*S*)-5,5-Bis(etiltio)pentan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (**3.38**)

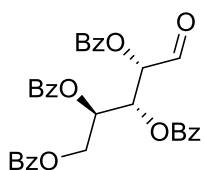


Rastvoru jedinjenja **3.37** (1.50 g, 5.235 mmol) u apsolutnom piridinu (6 mL) doda se benzoil-hlorid (4.26 mL, 36.66 mmol) na ledenom kupatilu, a dobijeni rastvor se zatim ostavi na sobnoj temperaturi u toku 48 h. Reakciona smesa se upari višestrukom kodestilacijom sa etanolom, a ostatak se rastvori u metilenhloridu (15 mL). Ekstrakt se ispere zasićenim vodenim rastvorom NaHCO₃ (15 mL), vodom (10 mL), 10 % HCl, ponovo vodom (10 mL), a zatim osuši. Nakon udaljavanja sušila i rastvarača zaostaje žuto ulje (4.335 g), koje se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (toluen/EtOAc 8:1; eluiranje sa silikagela EtOAc). Dobija se čist proizvod **3.38** (2.25 g, 96%) u vidu bezbojnog ulja, [α]_D=39.58 (*c* 1.24; CHCl₃), *R*_f=0.6 (toluen/EtOAc 8:2).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 4.30 (d, 1H, *J*_{2,3}=7.0 Hz, H-1), 4.61 (dd, 1H, *J*_{5a,5b}=12.2 Hz, *J*_{4,5a}=6.6 Hz, H-5a), 4.88 (dd, 1H, *J*_{5a,5b}=12.2 Hz, *J*_{4,5b}=3.3 Hz, H-5b), 5.92 (m, 2H, H-2 i H-4), 6.45 (dd, 1H, *J*_{4,5a}=5.1 Hz, *J*_{4,5b}=3.1 Hz, *J*_{3,4}=8.0 Hz, H-3), 6.27 (dd, 1H, *J*_{3,4}=3.7 Hz, *J*_{3,4}=6.0 Hz, H-3), 7.38-8.18 (m, 20H, Ar-H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.00 i 14.15 (2CH₃ iz SCH₂CH₃), 25.07 i 25.18 (2SCH₂CH₃), 52.07 (C-1), 62.74 (C-5), 70.11 i 72.03 (C-4 i C-2), 70.91 (C-3), 128.23, 128.30, 128.43, 129.11, 129.25, 129.29, 129.33, 129.41, 129.64, 129.80, 132.78, 133.00, 133.14, 133.39 (Ar-C), 165.11, 165.20, 165.32 i 165.99 (4C=O iz 4Bz).

^{gg} Oglad se izvodi u digestoru sa dobrom ventilacijom, a zaostali etilmerkaptan (u filtratu) se uništava viškom hlornog kreča.

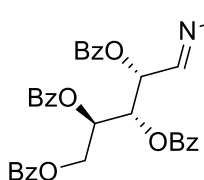
4.44. (2*R*,3*R*,4*S*)-5-Oksopentan-1,2,3,4-tetrail tetrabenzoat (**3.39**)

Rastvoru jedinjenja **3.38** (2.8665 g, 4.26 mmol) u acetonu (9 mL) i destilovanoj vodi (1.31 mL) dodaje se uz energično mešanje HgO (3.1687 g, 14.63 mmol) i HgCl₂ (3.1694 g, 11.67 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 3.5 h a zatim filtruje i upari. Preostali suvi ostatak se rastvori u metilenhloridu (20 mL) i ispere 1M KI, a zatim destilovanom vodom. Ekstrakt se suši i upari pri čemu zaostaje sirovi proizvod **3.39** (2.0879 g) kao žuto ulje. Kristalizacijom iz smeše hloroform/metilenhlorid/heksan dobija se čisto jedinjenje **3.39** (1.4658 g, 61%), u vidu belih kristala, *tt* 123 °C.

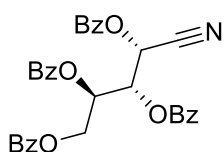
IR (film): ν_{\max} 3064 (C-H, Ph), 1725 (C=O, estar i aldehid), 1601 (C=C, Ph).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 4.63 (dd, 1H, $J_{5a,5b}=12.4$ Hz, $J_{4,5a}=5.1$ Hz, H-5a), 4.93 (dd, 1H, $J_{5a,5b}=12.4$ Hz, $J_{4,5b}=3.1$ Hz, H-5b), 5.78 (d, 1H, $J_{2,3}=2.4$ Hz, H-2), 6.00 (ddd, 1H, $J_{4,5a}=5.1$ Hz, $J_{4,5b}=3.1$ Hz, $J_{3,4}=8.0$ Hz, H-4), 6.27 (dd, 1H, $J_{2,3}=2.4$ Hz, $J_{3,4}=7.9$ Hz, H-3), 7.33-8.15 (m, 20H, Ar-H), 9.72 (s, 1H, CHO).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 62.47 (C-5), 69.03 (C-3), 69.34 (C-4), 76.45 (C-2), 124.49, 128.37, 128.43, 128.51, 128.58, 128.68, 128.81, 128.85, 129.26, 129.49, 129.71, 129.83, 129.99, 133.26, 133.61, 133.81, 133.96 (Ar-C), 165.09, 165.39 i 165.96 (4C=O iz 4Bz), 194.31 (C=O).

4.45. (2*R*,3*S*,4*R*,*E*)-5-(Hidroksimino)pentan-1,2,3,4-tetrail tetrabenzoat (**3.40**)

Sirovi aldehid **3.39** (0.8597 g, 1.52 mmol) suspenduje se u etanolu (16 mL) uz dodatak anhidrovanog natrijum-acetata (1.0629 g, 12.96 mmol) i hidrosilamin-hidrohlorida (0.5915 g, 8.51 mmol). Suspenzija se energično meša na sobnoj temperaturi u toku 2 časa. Reakciona smesa se upari u vakuumu, a suvi ostatak se suspenduje u vodi (10 mL) i ekstrahuje metilenhloridom (3×20 mL). Ekstrakt se osuši i upari dajući smeđe ulje koje se prečišćava preparativnom tankoslojnom hromatografijom (toluen/EtOAc 8:2; eluiranje sa silikagela EtOAc). Dobija se smesa izomernih *E*- i *Z*- oksima **3.40** (0.3169 g, 36%) u vidu bezbojnog ulja, $R_f=0.41$ (toluen/EtOAc 8:2).

4.46. (1*R*,2*S*,3*R*)-1-Cijanobutan-1,2,3,4-tetrail tetrabenzoat (**3.41**)

Smesa oksima **3.40** (0.3169 g, 0.54 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (3 mL) i u tako dobijeni ohladjeni rastvor (-15°C) postepeno se dokapava, u toku 30 minuta, prethodno ohladjeni rastvor (-10°C) metansulfonil-hlorida (0.20 mL, 2.95 mmol) u apsolutnom piridinu (0.34 mL). Rastvor se meša na -15°C u toku pola časa i na sobnoj temperaturi još dva časa. Reakcija se prekida dodatkom leda i 6M HCl (pH≈2), a dobijena suspenzija se

ekstrahuje metilenhloridom (4×20 mL). Ekstrakt se ispere vodom (20 mL), zasićenim rastvorom NaHCO₃ (10 mL) i ponovo vodom (10 mL), a zatim se suši (smesa anhidrovanih Na₂SO₄ i Na₂CO₃). Nakon udaljavanja sušila, filtrat se upari, pri čemu zaostaje smeđe ulje (0.3820 g). Preparativnom tankoslojnom hromatografijom (cikloheksan/acetone 6.5:3.5; eluiranje sa silikagela EtOAc) dobija se čist proizvod **3.41** (0.2511 g, 82%) u vidu bezbojnog ulja, $[\alpha]_D^{20}=+11.08$ (c 0.279; CHCl₃), $R_f=0.38$ (cikloheksan/acetone 7:3).

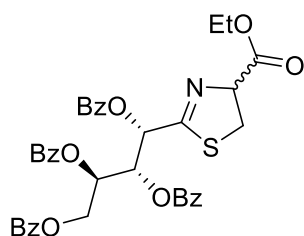
IR (film): ν_{\max} 1728.68 (C=O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 4.65 (dd, 1H, $J_{5a,5b}=12.3$ Hz, $J_{4,5a}=5.0$ Hz, H-5a), 4.97 (dd, 1H, $J_{5a,5b}=12.5$ Hz, $J_{4,5b}=3.5$ Hz, H-5b), 6.03 (m, 1H, H-4), 6.14 (d, 1H, $J_{2,3}=4.2$ Hz, H-2), 6.28 (dd, 1H, $J_{2,3}=4.3$ Hz, $J_{3,4}=7.2$ Hz, H-3), 7.40-8.20 (m, 20H, Ar-H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 60.53 (C-2), 62.11 (C-5), 69.07 (C-3 i C-4), 114.22 (C=N), 127.28, 128.02, 128.41, 128.48, 128.66, 128.81, 129.68, 129.84, 130.05, 133.30, 133.67, 133.08, 133.26 (Ar-C), 164.13, 164.54, 164.96 i 165.82 (4C=O iz 4Bz).

HRMS (ESI): m/e 564.16435 (M⁺+H), izračunato za C₃₃H₂₆NO₈: 564.16529.

4.47. (1*S*,2*R*,3*R*)-1-(4-(Etoksikarbonil)-4,5-dihidrotiazol-2-il)butan-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoat (**3.42**)

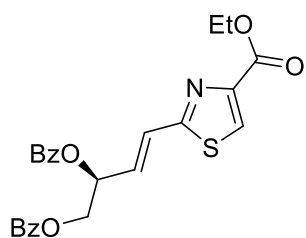


Rastvoru jedinjenja **3.41** (0.5445 g, 0.9662 mmol) u apsolutnom metanolu (13 mL) i apsolutnom metilenhloridu (2 mL) doda se uz mešanje hidrohlorid etilestra L-cisteina (0.499 g, 2.6874 mmol) i trietilamina (0.37 mL, 2.65 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 časa i nakon toga upari. Ostatak se rastvori u metilenhloridu ispere vodom,

zasićenim rastvorom NaHCO₃ i zatim zasićenim rastvorom NaCl, osuši i upari. Sledi prečišćavanje sirovog proizvoda (0.629 g) fleš hromatografijom (toluen/EtOAc 9.5:0.5). Dobija se smesa tiazolina **3.42** (0.303 g, 45%) u vidu bezbojnog ulja.

4.48. (S,E)-4-(4-(Etoksikarbonil)thiazol-2-il)but-3-en-1,2-diil dibenzoat (**3.43**)

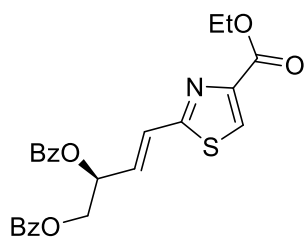
4.48.1. Procedura A



Rastvoru jedinjenja **3.41** (0.2099 g, 0.3725 mmol) u apsolutnom metanolu (5 mL) doda se uz mešanje hidrohlorid etilestra L-cisteina (0.1924 g, 1.0361 mmol) i trietilamina (0.14 mL, 1.0361 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 časa i nakon toga upari. Ostatak se rastvori u metilenhloridu ispere vodom, zasićenim rastvorom NaHCO_3 i zatim zasićenim rastvorom NaCl , osuši i upari. Dobija se sirova reakciona smesa tiazolinskih derivata **3.42** (0.3163 g).

U rastvor sirovog jedinjenja **3.42** (0.2592 g) u apsolutnom metilenhloridu (4.35 mL) doda se DBU (0.11 mL, 0.7450 mmol) uz mešanje. Ohlađenom rastvoru (ledeno kupatilo) postepeno je dodat BrCCl_3 u toku 15 minuta. Reakciona smesa se meša na toj temperaturi dodatnih 5 h, u atmosferi N_2 , a zatim se ostavi na $+4^\circ\text{C}$ u toku 17 časova. Reakciona smesa se upari u vakuumu a suvi ostatak se prečisti preparativnom tankoslojnom hromatografijom (toluen/ EtOAc 9:1; eluiranje sa silikagela EtOAc) pri čemu se dobija čist proizvod **3.43** (0.0788 g, 46% u odnosu na jedinjenje **3.41**) u obliku bezbojnog ulja, $[\alpha]_{\text{D}} = -21.87$ (c 0.798; CHCl_3), $R_f = 0.38$ (toluen/ EtOAc 9:1).

4.48.2. Procedura B



U rastvor jedinjenja **3.42** (0.1332 g, 0.1914 mmol) u apsolutnom metilenhloridu (2.23 mL) doda se DBU (0.056 mL, 0.3759 mmol) uz mešanje. Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 24 h, a zatim se upari u vakuumu. Suvi ostatak se prečisti fleš hromatografijom (toluen/ EtOAc 9.5:0.5), pri čemu se dobija čist proizvod **3.43** (0.0698 g, 80.82%) u obliku bezbojnog ulja, $[\alpha]_{\text{D}} = -21.87$ (c 0.798; CHCl_3), $R_f = 0.38$ (toluen/ EtOAc 9:1).

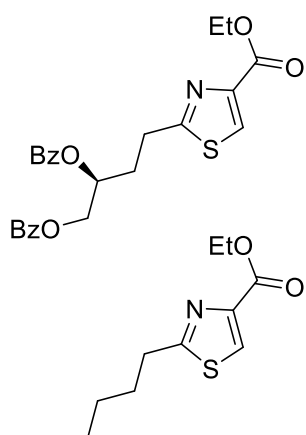
IR (film): ν_{max} 1722 (C=O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1.33 (t, 3H, $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.2$ Hz, CH_3 iz $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.33 (q, 2H, CH_2 iz $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.73 (dd, 1H, $J_{3',4'a} = 6.6$ Hz, $J_{4'a,4'b} = 12.0$ Hz, H-4'a), 3.68 (dd, 1H, $J_{3',4'b} = 3.7$ Hz, $J_{4'a,4'b} = 12.0$ Hz, H-4'b), 6.20 (m, 1H, H-3'), 6.99 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 6.4$ Hz, $J_{1',2'} = 16.0$ Hz, H-2'), 7.17 (d, 1H, $J_{1',2'} = 16.2$ Hz, H-1'), 7.40-8.16 (m, 10H, Ar-H), 8.33 (s, 1H, H-5).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 14.22 (CH_3 iz $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 61.48 (CH_2CH_3), 64.67 (C-4'), 71.05 (C-3'), 125.96 (C-1'), 127.04 (C-5), 128.34, 128.41, 129.21, 129.32, 129.57, 129.70, 129.80, 131.47, 133.16 i 133.38 (Ar-C), 131.47 (C-2'), 147.64 (C-4), 161.03 (C-2), 165.22, 165.67 i 165.98 (3C=O iz 2Bz i $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

HRMS (ESI): m/e 452.11606 (M+H)⁺, izračunato za C₂₄H₂₂NO₆S: 452.11623.

4.49. (S)-4-(4-(Etoksikarbonil)tiazol-2-il)butan-1,2-diil dibenzoat (**3.44**) i etil 2-butiltiazol-4-karboksilat (**3.45**)



Jedinjenje **3.43** (0.1349 g, 0.298 mmol) se rastvori u 96% etanolu (7 mL) i hidrogenuje u prisustvu 10% Pd/C (0.020 g) pri normalnom pritisku vodonika, na sobnoj temperaturi u toku 24 h, a zatim se doda sveža količina katalizatora^{hh} (0.045 g) u toku dodatnih 48 časova. Suspenzija se procedi kroz celit, talog ispere sa EtOH i upari. Ostatak nakon uparavanja rastvarača se prečisti preparativnom tankoslojnom hromatografijom (toluen/EtOAc 9:1; eluiranje sa silikagela CH₂Cl₂/EtOAc 1:1) pri čemu se dobija čist proizvod **3.44** (0.0734 g, 54%) u obliku bezbojnog ulja, $[\alpha]_D^{20} = -24.15$ (c 0.39; CHCl₃), $R_f = 0.29$ (toluen/EtOAc 9:1) i 1,2-dideoksi derivat **3.45**

(0.0196 g, 31%) takođe u obliku bezbojnog ulja $R_f = 0.40$ (toluen/EtOAc 9:1).

3.44

HRMS (ESI): m/e 454.13198 (M+H)⁺, izračunato za C₂₄H₂₄NO₆S: 454.13188.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.38 (t, 3H, $J_{CH_2,CH_3} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃), 2.41 (m, 2H, CH₂-2'), 3.25 (m, 2H, CH₂-1'), 4.40 (q, 2H, $J_{CH_2,CH_3} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃), 4.51 (dd, 1H, $J_{3',4'a} = 6.0$ Hz, $J_{4'a,4'b} = 12.0$ Hz, H-4'a), 4.61 (dd, 1H, $J_{3',4'b} = 3.7$ Hz, $J_{4'a,4'b} = 12.0$ Hz, H-4'b), 5.59 (m, 1H, H-3'), 7.35-8.08 (m, 10H, Ar-H), 8.03 (s, 1H, H-5).

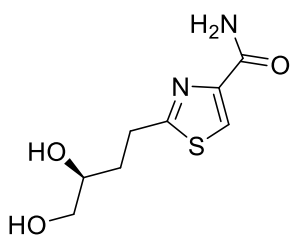
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 14.29 (CH₃ iz CO₂CH₂CH₃), 29.45 (C-1'), 31.03 (C-2'), 61.36 (CH₂CH₃), 65.21 (C-4'), 71.07 (C-3'), 127.01 (C-5), 128.35, 129.47, 129.53, 129.63, 133.11, i 133.20 (Ar-C), 146.97 (C-4) 161.21 (C-2), 165.89, 166.07 i 170.04 (3C=O iz 2Bz i CO₂CH₂CH₃).

3.45

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.95 (t, 3H, (CH₂)₃CH₃), 1.34-1.53 (m, 2H, CH₂ iz Bu), 1.40 (t, 3H, $J_{CH_2,CH_3} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃), 1.79 (m, 2H, CH₂ iz Bu), 3.07 (t, 2H, CH₂(CH₂)₂CH₃), 4.43 (q, 2H, $J_{CH_2,CH_3} = 7.2$ Hz, CH₂CH₃), 8.05 (s, 1H, H-5).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 13.64 [(CH₂)₃CH₃], 14.31 (CH₃ iz CO₂CH₂CH₃), 22.15, 32.11, 33.24 (3CH₂ iz Bu), 61.32 (CH₂CH₃), 126.74 (C-5), 146.58 (C-4), 161.42 (C-2), 172.49 (C=O iz CO₂CH₂CH₃).

^{hh} Pošto reakcija nije praktično ni počela.

4.50. (S)-2-(3,4-Dihidroksibutil)tiazol-4-karboksamid (**16**)

Rastvor jedinjenja **3.44** (0.0354 g, 0.0784 mmol) u zasićenom metanolnom rastvoru amonijaka (5 mL) ostavi se na sobnoj temperaturi u toku 16 dana, a zatim upari. Ostatak nakon uparavanja rastvarača se prečisti preparativnom tankoslojnom hromatografijom (CHCl₃/MeOH 5:1; eluiranje sa silikagela EtOAc/*i*-PrOH 1:1) pri čemu se dobija čist proizvod **16** (0.012 g,

71%) u obliku belih kristala, $[\alpha]_D = -46.25$ (*c* 0.192; CH₃OH), $R_f = 0.37$ (CHCl₃/MeOH 5:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.86 i 2.03 (2m, 2H, 2H-2'), 3.17 (m, 2H, 2H-1'), 3.50 (d, 2H, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz, 2H-4'), 3.68 (m, 1H, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz, H-3'), 8.07 (s, 1H, H-5).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 30.26 i 34.32 (C-2' i C-1'), 67.14 (C-4'), 72.07 (C-3'), 125.00 (C-5), 150.36 (C-4), 165.74 (C-2), 173.10 (C=O iz CONH₂).

HRMS (ESI): m/e 217.06344 (M+H)⁺, izračunato za C₈H₁₃N₂O₃S: 217.06414.

5. Zaključak

U radu je ostvarena sinteza hibridnih bioizostera goniofufurona (**GF**) i tiazofurina (**TF**) (**1-11**), konformaciono krutih bioizostera goniofufurona (**12-15**) kao i C-nukleozida sa tiazolnom heterocikličnom bazom i acikličnim butandiolnim fragmentom (**16**). Hiralni prekursor novosintetisanih jedinjenja **1-15** bila je D-glukoza, a jedinjenja **16** D-arabinoza.

Jedinjenja **1-3** i **7-9** su sintetisana u našoj laboratoriji u po 10 (**1-3**, alternativno u 9 faza) odnosno 9 (**7-9**, alternativno u 8 faza) sintetskih faza, polazeći iz D-glukoze, u ukupnim prinosima od 0.33%, 0.68% i 0.49% (**1-3**, respektivno), odnosno 1.08%, 1.29% i 0.75% (**7-9**, respektivno). Tačke divergencije su bile reakcija građenja cijanhidrina kada je došlo do formiranja dva epimera u položaju C-5 (C-7 u finalnim jedinjenjima) kao i dvofazno građenje tiazolnog prstena kada je došlo do delimičnog deoksigenovanja u položaju C-5. Nakon ovog koraka, novonastalo 5-deoksi jedinjenje (**3.9**) i 5-hidroksi epimeri (**3.8a** i **3.8b**) su razdvojeni posle obrade sirove reakcione smese.

U pokušaju da se izbegne građenje 5-deoksi-intermedijera (**3.9**) i na taj način poveća prinos tiazola **3.8a** i **3.8b**, a samim tim i finalnih laktona **1** i **2**, i imajući u vidu da je prisustvo benzoil-grupe u položaju C-5 bilo najverovatniji razlog za deoksigenovanje određene količine intermedijera **3.6** u tom položaju, iz alternativnog sintetskog puta je izostavljena reakcija benzoilovanja cijanhidrina **3.4a** i **3.4b**, te je na ovim jedinjenjima direktno izvedena ciklizacija. Ostvareni prinosi su poboljšani u slučaju (*S*) derivata, 0.51% i 1.63% (**1** i **7**, respektivno), dok su prinosi (*R*) derivata ostali približno isti kao i u prethodnom reakcionom putu, 0.65% i 1.22% (**2** i **8**, respektivno).

Amidni derivati **4-6** su sintetisani u našoj laboratoriji u 9 sintetskih faza, polazeći iz D-glukoze u prinosima od 0.09%, 0.06% i 0.08%, respektivno. Kao i u slučaju već spomenutih etilestarskih analoga **1-3** i **7-9**, prvi sintetski korak je bio usmeren ka dobijanju diacetonida (**3.1**). Pošto je u ranijim, neuspešnim pokušajima sinteze finalnih amida, poslednji korak, uklanjanje benzilne funkcije sa C-3 (tj. C-5), predstavljalo nepremostivu prepreku, ispitana je strategija maskiranja hidroksilne grupe u ovom položaju estarskom funkcijom umesto etarske. Kao najperspektivniji kandidat za zaštitu izabrana je benzoil grupa, budući da je pokazala najveću stabilnost. Pretpostavljeno je da će se u toku amonolize ova benzoilna zaštita rutinski ukloniti, što se ispostavilo kao tačno. Međutim poslednja, Meldrum-ova reakcija je dala vrlo niske prinose u slučaju sva tri jedinjenja, te je u zadovoljavajućoj meri prečišćeno i pripremljeno za biološke testove samo C-7-deoksi-jedinjenje **6**, dok epimerni C-7 alkoholi (**4** i **5**) nisu izolovani u zadovoljavajućoj meri i količini.

U delimično uspelom pokušaju prilagođavanja sintetskog puta dobijanja 4'-etoksikarbonil-tiazolnih derivata (**1-3**) sintetskom putu dobijanja amidnih derivata (**4-6**) proširenjem za reakciju amonolize, dobijeni su benzilni derivati (**10 i 11**) koji nisu uspešno deblokirani, dok je analogni deoksi derivat **3.26** uspešno debenzilovan u **6**.

Ponovo se služeći goniofufuronom kao osnovnim jedinjenjem, konformaciono kruti 5,7-metilidenski furano-furoni **12-15** su sintetisani u našoj laboratoriji u 5 (alternativno 3), 3, 3 i 6 sintetskih faza, respektivno, polazeći iz D-glukoze. Sintetski put koji je vodio preko početnog građenja furano-furonskog skeleta Meldrum-ovom reakcijom sa D-glukozom te naknadne oksidativne ciklizacije kojom je dobijena smesa tricikličnih laktona **3.30**, dao je tri finalna proizvoda. Benzoat **12** je dobijen dejstvom BzCl na smesu **3.30** u apsolutnom piridinu, kao i dejstvom BzCN u anhidrovanom DMSO na prečišćeni **3.30a** pri čemu je prinos poboljšan. Fluorid **13** dobijen je dejstvom DAST na **3.30**. Hlorid **14** je dobijen na 2 načina. U oba slučaja u pitanju je bila supstitucija hloridnim anjonom dobre odlazeće grupe u koju je prevedena OH funkcija. Prvi je zasnovan na supstituciji mezilovanog intermedijera dobijenog u reakciji smese **3.30** sa mezil-hloridom, dok je u drugom na **3.30** primenjena Appel-ova reakcija u kojoj je hlorid supstituisao oksifosfonijumsku grupu. Sintetski putevi koji su vodili preko građenja početne izopropilidenske zaštite C₁-OH i C₂-OH (u obliku mono- i di-acetonida **3.27** i **3.1**, respektivno) obuhvatili su zajednički intermedijer, smesu epimera **3.29**, od koje je put za dobijanje finalnog azida (**15**) uključio dve supstitucione reakcije, prvu, Appel-ovu i drugu, sa NaN₃, posle koje je usledila rutinska sintetska sekvenca hidroliza/Meldrum-ova reakcija. Benzoat **12** je iz **3.29** dobijen esterifikacijom sa BzCN takođe praćenom sintetskom sekvencom hidroliza/Meldrum-ova reakcija.

Sinteza C-nukleozida sa tiazolnom heterocikličnom bazom i acikličnim butandiolnim fragmentom (**16**) se sastojala od trofazne hemijske transformacije D-arabinoze u pogodno funkcionalizovani aciklični derivat koji sadrži reaktivnu aldehidnu funkciju (**3.39**). Višefazna izgradnja heterocikličnog aglikona uključila je oksiminovanje, dehidrataciju, ciklizaciju i na kraju oksidaciju tiazolina (**3.42**). Naša pretpostavka je bila da se eliminacija i oksidacija tiazolinskog prstena odigravaju povezano. Radi dokaza mehanizma nastanka nezasićenosti u bočnom nizu, prečišćeni tiazolin je podvrgnut oksidaciji samo sa DBU i bez prisustva BrCCl₃. Na taj način smo potvrdili mehanizam sinhronih procesa oksidacije heterocikličnog prstena i reakcije debenzoilovanja (Shema 3.14). Kritična faza sintetskog puta, hidrogenizacija 1',2'-dvostruke veze, osim što je zahtevala stehiometrijske količine katalizatora, kao sporedni proizvod dala je butanski derivat (**3.45**), pa je kao posledica toga i prinos željenog zasićenog dibenzoata (**3.44**) bio samo 54%. Sve tri estarske veze su uklonjene u poslednjem koraku amonolizom, što je dalo finalno jedinjenje **16** u konačnom prinosu od 1.24%.

Nakon sinteze, ispitana je *in vitro* antiproliferativna aktivnost jedinjenja **1-3** i **6-15** na 10 malignih (K562, HL60, Jurkat, Raji, PC3, HT29, MCF-7, MDA-MB-231, HeLa, Hs 249T, A549) i jednu normalnu (MRC-5) ćelijsku liniju. Normalna ćelijska linija je poslužila za ispitivanje selektivnosti dobijenih derivata. *In vitro* citotoksičnost je određena kolorimetrijskim MTT testom.

Veoma snažnu, sub-nanomolarnu aktivnost pokazalo je jedinjenje **6** prema ćelijama MCF-7 (53516 puta veću od **GF**, više od 5742 puta veću od **TF** i 645 puta veću od doksorubicina (**DOX**)).

Značajnu, sub-mikromolarnu aktivnost pokazala su jedinjenja **1** prema ćelijama HL60 (više od 1111 puta veću od **GF**, više od 10 puta veću od **DOX** i 2 puta veću od **TF**), **6** prema ćelijama HL60 (više od 153 puta veću od **GF**), **9** prema ćelijama Jurkat (130 puta veću od **GF**) i Raji (skoro 19 puta veću od **GF**, 5 puta veću od **TF** i 3 puta veću od **DOX**), **10** prema ćelijama K562 (5 puta veću od **TF**), **11** prema ćelijama K562 (7 puta veću od **TF**) i HeLa (832 puta veću od **GF**, 382 puta veću od **TF** i 7 puta veću od **DOX**), **12** prema ćelijama K562 (2 puta veću od **TF**), HL60 (416 puta veću od **GF** i skoro 4 puta veću od **DOX**) i Raji (230 puta veću od **GF**, 66 puta veću od **TF** i 37 puta veću od **DOX**), **13** prema ćelijama K562 (2 puta veću od **TF**) i Raji (30 puta veću od **GF**, 8 puta veću od **TF** i skoro 5 puta veću od **DOX**), i jedinjenje **14** prema ćelijama K562 (189 puta veću od **TF**, 41 puta veću od **GF** i 25 puta veću od **DOX**), MCF-7 (skoro 20 puta veću od **GF** i 2 puta veću od **TF**) i HeLa (10 puta veću od **GF** i skoro 5 puta veću od **TF**).

Nijedno od ispitanih finalnih jedinjenja **1-3** i **6-15** se nije pokazalo toksičnim prema zdravoj ćelijskoj liniji MRC-5.

Nakon određivanja profila citotoksičnosti, pristupilo se uspostavljanju korelacionih odnosa između strukture i antiproliferativne aktivnosti između jedinjenja **3** i **6**, **3** i **GF**, **6** i **GF**, **11-15** i **GF** kao i najaktivnijih krutih analoga **12** i **14**.

Analozi **3** i **6** su zabeležili relativno slične antiproliferativne profile, sa ključnom razlikom u slučaju MCF-7. Naime, amidni analog **6** je prema ovoj ćelijskoj liniji pokazao više od 4 reda veličine (RV) jaču aktivnost u odnosu na umereno citotoksični etilestar **3**. Takođe, jedinjenje **6** je za više od jednog RV bilo aktivnije prema HL60, dok je blago poboljšanje izazvano prisustvom amidne funkcije (< 1 RV) registrovano u slučaju MDA-MB-231.

Zamena fenolnog prstena etiltiazolkarboksilatnim i uklanjanje C₇-OH rezultovali su umerenim povećanjem aktivnosti (> 1 RV) u slučaju Jurkat, Raji i A549, dok je blaže povećanje aktivnosti (< 1 RV) zabeleženo u slučaju HL60, PC3, HeLa i Hs 249T.

Zamena fenolnog prstena tiazolkarboksamidnim i uklanjanje C₇-OH, pak, rezultovali su dramatičnim (MCF-7, > 4 RV), kao i značajnim (HL60, > 2 RV), odnosno umerenim (Jurkat, A549, > 1 RV) do blagim (MDA-MB-231, HeLa, < 1 RV) povećanjem aktivnosti prema ispitanim ćelijskim linijama.

Poboljšanja aktivnosti **GF** izazvana zamenom fenolnog prstena tiazolkarboksamidnim, promenom konfiguracije na C-7 i povećanjem nepolarosti i voluminoznosti molekula prevođenjem C₅-OH u benzilni etar koja se ogledaju u strukturi analoga **11**, ispoljila su se značajno u slučaju HeLa (≈ 3 RV), kao i umereno (≈ 1 RV) u slučaju HL60, MCF-7 i MDA-MB-231, odnosno blago (< 1 RV) u slučaju Raji.

Fiksiranje strukture furano-furonskog molekula uvođenjem trećeg, dioksanskog prstena, praćeno uklanjanjem fenolne funkcije uz nadogradnju (i izmenu konfiguracije) C₇-OH do benzoilne grupe, rezultovalo je značajnim povećanjem aktivnosti jedinjenja **12** prema HL60 i Raji (≈ 2.5 RV), dok je prema Jurkat (≈ 1.5 RV) odnosno MDA-MB-231 (≈ 1 RV) zabeleženo umereno povećanje aktivnosti.

Slične strukturne izmene kao i u prethodnom slučaju, sa fluorom na C-7 umesto benzoatne funkcije, rezultovale su značajnim do umerenim povećanjima aktivnosti jedinjenja **13** prema HL60, Raji, MDA-MB-231 (≈ 1.5 RV), MCF-7 i A549 (≈ 1 RV).

Drugi ispitani halogenid, hlorid **14**, pokazao je značajno povećanje aktivnosti prema MDA-MB-231 (≈ 2 RV), dok je umerenije povećanje zabeleženo prema K562 i MCF-7 (≈ 1.5 RV).

Četvrti u nizu krutih analoga **GF**, azid **15** na kome je zadržana konfiguracija na C-7, pokazao je kako najslabija poboljšanja aktivnosti tako i njihov najmanji broj, i to umereno u slučaju HL60, MDA-MB-231 i A549 (≈ 1 RV).

Poređenje dva najaktivnija kruta analoga **GF**, benzoata **12** i hlorida **14** ukazalo je na izrazito pozitivan uticaj benzoatne funkcije na C-7 na aktivnost prema Raji (≈ 3 RV) kao i na umeren uticaj na aktivnost prema HL60 (≈ 1.5 RV). Hlor je, pak, imao značajan pozitivan uticaj na aktivnost prema K562 i MCF-7 (≈ 2 RV) kao i umeren uticaj na aktivnost prema PC3, MDA-MB-231 i HeLa (≈ 1 RV).

Primenom protočne citometrije u ispitivanju ćelijskog ciklusa K562 izloženih dejstvu **GF** i analoga **12-15** je ustanovljeno da **GF** utiče na blag porast procenta ćelija u sub-G1 fazi, dok sintetisani analozi **12-15** značajno povećavaju procenat ćelija u sub-G1 fazi kako u odnosu na kontrolu (6.7, 4.6, 8.3 i 14.6 puta za **12**, **13**, **14** i **15** respektivno) tako i u odnosu na **GF** (5.7, 3.9, 7.1 i 12.5 puta više za **12**, **13**, **14**, i **15** respektivno). Istovremeno, procenat ćelija K562 tretiranih jedinjenjima **12-15** u fazama G0/G1 i S je smanjen. Nakon ispitivanja metodom dvostrukog bojenja utvrđeno je da su ispitani K562 kontrolni uzorak, kao i K562 uzorak izložen **GF**, obilovali vijabilnim ćelijama (94.1% i 94.8%, respektivno), dok su

K562 ćelije tretirane jedinjenjima **12-15** sadržale visok procenat ranih apoptotskih ćelija (56.6%, 61.3%, 61.8% i 63.0%, respektivno).

Semi-kvantitativnom Western blot metodom je ispitana ekspresija markera apoptoze (Bcl-2, Bax, kaspaza 3 i PARP) nakon tretmana ćelija K562 jedinjenjima **12-14**. Dobijeni rezultati ukazuju na potencijalni uticaj derivata **12, 14** i **15** na izazivanje apoptoze u ćelijama K562 preko kaspaznog metaboličkog puta regulisanog Bcl-2 superfamilijom, dok analog **13** potencijalno izaziva apoptozu preko metaboličkog puta pod uticajem Bcl-2 ali nezavisno od uticaja kaspaza.

Konačno, u cilju ispitivanja bezbednosti primene najpotentnijeg analoga **6** na ljude, određena je njegova *in vivo* toksičnost na model zebrice (*Danio rerio*). Dobijeni rezultati pokazali su da jedinjenje **6** nije toksično na ispitivanim koncentracijama do 125 μ M, pošto su svi tretirani embrioni preživeli i nisu ispoljili teratogene osobine. Takođe, činjenica da tretirani embrioni nisu razvili ni perikardijalni edem niti poremećaj srčanog ritma ukazuju na to da jedinjenje **6** nije kardiotoksično.

Na osnovu ispoljene antikancerne aktivnosti i toksikološkog profila određenog za model zebrice, jedinjenje **6** je pokazalo vrlo dobar terapijski indeks (LC_{50}/IC_{50} odnos za 48 odnosno 72 h, respektivno) za A549 (13 i 79), K562 (43 i 86), HeLa (14 i 116), Jurkat (6 i 123), HL60 (4 i 192) i naročito za MCF-7 ćelije (8446 i 403226), te mu se može pripisati značajan potencijal u primeni u antikancernoj terapiji protiv određenih tipova ćelija kancera.

6. Summary

A synthesis of hybrid bioisosteres of goniofufurone (**GF**) and tiazofurin (**TF**) (**1-11**), conformationally restricted bioisosteres of goniofufurone (**12-15**) as well as a C-nucleoside bearing thiazole heterocycle and acyclic butanediol fragment (**16**) was accomplished. The synthesis of compounds **1-15** used D-glucose, while the synthesis of compound **16** used D-arabinose as a chiral precursor.

Compounds **1-3** and **7-9** were synthesized in 10 (**1-3**, alternatively in 9 steps) i.e. 9 (**7-9**, alternatively in 9 steps) synthetic steps, starting from D-glucose, with total yields of 0.33%, 0.68% and 0.49% (**1-3**, respectively), i.e. 1.08%, 1.29% and 0.75% (**7-9**, respectively). Divergence points were synthesis of cyanohydrin when two C-5 (C-7 in final compounds) epimers were formed, as well as two-step synthesis of a thiazole moiety when a partial deoxygenation occurred, affording new, 5-deoxy-derivative (**3.9**) together with expected 5-hydroxy-epimers (**3.8a** and **3.8b**), which were all isolated.

Since partial C-5-deoxygenation of the intermediate **3.6** occurred probably because of the presence of 5-O-benzoyl function, an attempt to increase yields of thiazoles **3.8a** and **3.8b** and, hence, of final lactones **1** and **2** was made by omitting the cyanohydrin (**3.4a** and **3.4b**) benzoilation, and these compounds were directly subjected to two-step cyclization. The total yields of (*S*) derivatives indeed improved, 0.51% and 1.63% (**1** and **7**, respectively), while total yields of (*R*) derivatives remained approximately the same, 0.65% and 1.22% (**2** and **8**, respectively).

Amide derivatives **4-6** were synthesized in 9 synthetic steps, starting from D-glucose, with total yields of 0.09%, 0.06% and 0.08%, respectively. Similarly to synthesis of ethylester analogues **1-3** and **7-9**, the first synthetic step was aimed at obtaining diacetone (**3.1**). Since earlier synthetic attempts of obtaining amides **4** and **5** via removing 3-benzyl (i.e. 5-benzyl) functionality in the last step failed, a strategy involving C₃-OH protection by ester instead of ether was tested. Benzoyl group, being very stable, emerged as the most promising candidate for the envisioned ester functionality. It was correctly presumed that the ammonolysis, which was to ensue later in the synthesis, would readily remove benzoyl functionality. The last synthetic step, Meldrum's reaction, however, afforded very low yields of all three amides, so only 7-deoxy derivative **6** was purified and prepared for biological assays.

In a partially successful attempt to broaden the synthetic route to **1-3** with the ammonolysis reaction and use it in the synthesis of amide derivatives (**4-6**), benzyl derivatives (**10** and **11**), which failed to undergo deprotection, as well as 7-deoxy compound **6**, which was a result of a successful deprotection of **3.26**, were obtained.

Using goniofufurone as a lead compound, conformationally restricted 5,7-methyldene furano-furones **12-15** were synthesized in 5 (alternatively 3), 3, 3 and 6 synthetic steps, respectively, starting from D-glucose. The synthetic route that started with Meldrum's reaction/oxidative cyclization two-step sequence afforded a mixture of tricyclic lactones **3.30**, a common precursor of **12-14**. Benzoate **12** was obtained in the reaction of BzCl with **3.30** in dry pyridine, as well in the reaction of BzCN and purified **3.30a** which improved the yield. Fluoride **13** was obtained in the reaction of DAST with **3.30**. Chloride **14** was obtained from **3.30** in two ways which were both based on substitution of a good leaving group with chloride anion. The first one included the substitution of a mesyl group obtained in the reaction of **3.30** with MsCl, while in the second the Appel's reaction was performed in which chloride anion substituted the oxyphosphonium group. Synthetic routes that started with (di)acetonization of D-glucose (obtaining mono- and di-acetonide **3.27** and **3.1**, respectively) converged in the common intermediate, a mixture of epimers **3.29**. Azide **15** was obtained by Appel's reaction performed on **3.29**, followed by the substitution of the chloride moiety with azide anion and the routine Meldrum's reaction/oxidative cyclization two-step sequence. Benzoate **12** was obtained by esterification of **3.29** with BzCN, also followed with Meldrum's reaction/oxidative cyclization.

The synthesis of C-nucleoside with thiazole heterocyclic base and acyclic butanediol fragment (**16**) comprised of three-step sequence which afforded reactive aldehyde (**3.39**) from D-arabinose. The multi-step formation of heterocyclic aglycon included oximation, dehydration, cyclization and finally oxidation of thiazoline (**3.42**). Our hypothesis, that elimination in the acyclic moiety and oxidation of thiazoline ring take place simultaneously, was tested and confirmed when the purified thiazoline was subjected to oxidation with DBU without BrCCl₃. It was observed that both reactions have still taken place, which proved the concurrence of these processes (Scheme 3.14). The key step, 1',2'-double bond hydrogenation, required stoichiometric amounts of catalyst and gave butane derivative as a side product (**3.45**), lowering the yield of the desired dibenzoate (**3.44**) to 54%. Three esters were ammonolysed in the last step, which afforded final compound **16** with total yield of 1.24%.

Following synthesis, *in vitro* antiproliferative activity of compounds **1-3** and **6-15** was tested on 10 malign (K562, HL60, Jurkat, Raji, PC3, HT29, MCF-7, MDA-MB-231, HeLa, Hs 249T, A549) and one normal (MRC-5) cell line. The normal cell line served as a control of selectivity of synthesized derivatives. *In vitro* cytotoxicity was determined by MTT colorimetric assay.

Compound **6** showed very potent, sub-nanomolar activity against MCF-7 (53516-fold higher than **GF**, more than 5742-fold higher than **TF** and 645-fold higher than doksorubicin (**DOX**)).

A significant, sub-micromolar activity was shown by compounds **1** against HL60 (more than 1111-fold higher than **GF**, more than 10-fold higher than **DOX** and 2-fold higher than **TF**), **6** against HL60 (more than 153-fold higher than **GF**), **9** against Jurkat (130-fold higher than **GF**) and Raji (almost 19-fold higher than **GF**, 5-fold higher than **TF** and 3-fold higher than **DOX**), **10** against K562 (5-fold higher than **TF**), **11** against K562 (7-fold higher than **TF**) and HeLa (832-fold higher than **GF**, 382-fold higher than **TF** and 7-fold higher than **DOX**), **12** against K562 (2-fold higher than **TF**), HL60 (416-fold higher than **GF** and almost 4-fold higher than **DOX**) and Raji (230-fold higher than **GF**, 66-fold higher than **TF** and 37-fold higher than **DOX**), **13** against K562 (2-fold higher than **TF**) and Raji (30-fold higher than **GF**, 8-fold higher than **TF** and almost 5-fold higher than **DOX**), and **14** against K562 (189-fold higher than **TF**, 41-fold higher than **GF** and 25-fold higher than **DOX**), MCF-7 (almost 20-fold higher than **GF** and 2-fold higher than **TF**) and HeLa (10-fold higher than **GF** and almost 5-fold higher than **TF**).

None of tested compounds **1-3** and **6-15** showed cytotoxicity against normal cell line MRC-5.

The influence of functional groups on antitumour activity was examined by correlating structures of synthesized compounds and their cytotoxicity (SAR). The following SAR pairs were compared: **3** and **6**, **3** and **GF**, **6** and **GF**, **11-15** and **GF** as well as two most potent constrained analogues, **12** and **14**.

Analogues **3** and **6** presented similar antiproliferative profiles against most cell lines, with the key exception of MCF-7, where amide **6** showed stronger activity than **3** by more than four orders of magnitude (OOM). Also, compound **6** showed stronger activity against HL60 by more than one OOM, as well as against MDA-MB (< 1 OOM).

Substitution of phenyl moiety (**GF**) with ethylthiazolcarboxylate and removal of C₇-OH (**3**) resulted in a moderate activity increase (> 1 OOM) against Jurkat, Raji and A549, while a mild activity increase (< 1 OOM) was registered against HL60, PC3, HeLa and Hs 249T.

Substitution of phenyl moiety (**GF**) with thiazolcarboxamide and removal of C₇-OH (**6**), on the other hand, resulted in a dramatic (MCF-7, > 4 OOM), as well as significant (HL60, > 2 OOM), i.e. moderate (Jurkat, A549, > 1 OOM) to mild (MDA-MB-231, HeLa, < 1 OOM) increase in activity.

Substitution of phenol moiety (**GF**) with thiazolcarboxamide, inversion of configuration of C-7 and increase of molecular volume and hydrophobicity by transformation of C₅-OH to benzyl ether (**11**) resulted in significant (HeLa, ≈ 3 OOM), as well as moderate (HL60, MCF-7 and MDA-MB-231, ≈ 1 OOM) to mild (Raji, < 1 OOM) increase in activity.

Introducing the additional rigidity into the furano-furone scaffold via the additional, dioxane heterocycle, accompanied by removal of phenyl functionality as well as transformation (and inversion

of configuration) of C₇-OH to benzoyl group (**12**) resulted in significant (HL60 and Raji, ≈ 2.5 OOM) to moderate (Jurkat, ≈ 1.5 OOM; MDA-MB-231, ≈ 1 OOM) increase in activity.

Fluoride **13**, structurally similar to **12** with F instead of OBz at C-7, when compared to **GF** showed moderate (HL60, Raji and MDA-MB-231, ≈ 1.5 OOM) to mild (MCF-7 and A549, ≈ 1 OOM) increase in activity.

The other halogenide, chloride **14**, showed significant (MDA-MB-231, ≈ 2 OOM) to moderate (K562 and MCF-7, ≈ 1.5 OOM) increase in activity compared to **GF**.

Azide **15**, bearing dioxane heterocycle and phenyl-free structure like other three constrained analogues but with N₃ (and retention of configuration) at C-7, showed only mild (HL60, MDA-MB-231 and A549, ≈ 1 OOM) increase in activity compared to **GF**.

Comparison of two most potent rigid analogues, **12** and **14**, implied a significant (Raji, ≈ 3 OOM) to moderate (HL60, ≈ 1.5 OOM) positive influence of C-7 benzoate functionality on activity. Chlorine functionality, on the other hand, improved the activity significantly (K562 and MCF-7, ≈ 2 OOM) to moderately (PC3, MDA-MB-231 and HeLa, ≈ 1 OOM) against different cell lines.

It was determined by flow-cytometry that **GF** mildly increases percentage of K562 cells in sub-G1 phase. Analogues **12-15**, however, significantly increased the percentage of sub-G1 cells compared both with control (6.7, 4.6, 8.3 and 14.6-fold for **12**, **13**, **14** and **15**, respectively) as well as **GF** (5.7, 3.9, 7.1 and 12.5-fold for **12**, **13**, **14** and **15**, respectively). The percentage of analogue-treated K562 cells in G0/G1 and S phase decreased. The double staining assays confirmed that control and **GF**-treated K562 cell samples were abundant with viable cells (94.1% and 94.8%, respectively), while the analogue-treated K562 samples contained high percentage of early apoptotic cells (56.6%, 61.3%, 61.8% and 63.0%, respectively).

Western blot analysis of apoptosis markers (Bcl-3, Bax, caspase 3 and PARP) expressed in K562 cells treated with analogues **12-15** suggested that compounds **12**, **14** and **15** induced apoptosis in caspase-dependant way regulated by Bcl-2 superfamily, while compound **13** induced apoptosis in caspase-independent way regulated by Bcl-2 superfamily.

Finally, in order to address whether the most potent analogue, compound **6** could be safe for the human use, its toxicity has been determined *in vivo* in the zebrafish model (*Danio rerio*). The obtained results showed that **6** was not toxic at tested concentrations up to 125 μM, since all treated embryos survived and had no teratogenic malformations. In addition, compound **6** showed no cardiotoxic

action, since the treated embryos developed no pericardial edema neither had the disturbed heartbeat rate.

Based on the exerted anticancer activity and the toxicity profile determined in the zebrafish model, compound **6** showed very good therapeutic index (the LC₅₀/IC₅₀ ratio for 48 i.e. 72 h, respectively) for A549 (13 and 79), K562 (43 and 86), HeLa (14 and 116), Jurkat (6 and 123), HL60 (4 and 192) and particularly for MCF-7 cells (8446 and 403226), thus demonstrating the noticeable potential to be applied in the anticancer therapy against certain cancer cell types.

7. Skraćenice

7eGF	(+)-7- <i>epi</i> -goniofufuron
AIBN	azobisbutironitril
AK	Aminokiselina, aminokiselinski
AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
Bn	benzil grupa
BVMO	Baeyer-Villiger monooksigenaze
CSA	Kamforsulfonska kiselina
CPR	citohrom P-450 reduktaze
CYP-450	citohrom P-450
CuTC	Cu(I) tiofen-2-karboksilat
DAST	dietilaminosumpor trifluorid
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-en
DHF	dihidrofuran
DMF	N,N-dimetilformamid
DMP	Dess-Martin perjodinan
Et	Etil grupa

GF	(+)-goniofufuron
GMP	Guanozin monofosfat
GMPR	GMP reduktaza, EC 1.7.1.7
GMPS	GMP sintetaza, EC 6.3.5.2
HIV	virus humane imunodeficijencije
hpf	Sati posle oplođenja (<i>engl.</i> hours post fertilization)
IMP	Inozin monofosfat
IMPDH	Inozin monofosfat dehidrogenaza EC 1.1.1.205
LAH	Litijum aluminijum hidrid
LDA	Litijum diizopropilamid
LCEEH	hidrohlorid etil-estra L-cisteina
LiHMDS	Litijum bis(trimetilsilil)amid
<i>m</i> -CPBA	meta-hloroperoksibenzoeva kiselina
MS	Molekulska sita, takođe mezil grupa
MW	mikrotalasi
NAD	Nikotinamid adenin dinukleotid
NK	Nukleinske kiseline
NMM	N-metilmorfolin

NMNAT	Nikotinamid-nukleotid adenililtransferaza, EC 2.7.7.1
NMO	N-metilmorfolin N-oksidi
NPSP	N-fenilselenoftalimid
NRK	Nikotinamid ribozid kinaza, EC 2.7.1.22
PCC	piridinium hloroformat
PCD	Programirana ćelijska smrt (<i>engl.</i> programmed cell death)
PI	Proteazni inhibitor
PJ	Propidijum jodid
PPTS	Piridinium <i>p</i> -toluensulfonat
PRPP	Fosforibozil pirofosfat
PS	Fosfatidil serin
<i>p</i> -TsCl	4-toluensulfonil hlorid
RCM	ciklična metateza (ring closure metathesis)
SAR	Uticaj strukture na aktivnost (<i>engl.</i> structure-activity relationship) jedinjenja
TAD	Tiazol-4-karboksamid adenin dinukleotid
TBA	tercbutilamin
TEA	triethylamin

TF	Tiazofurin
TFMP	Tiazofurin monofosfat
THF	tetrahidrofuran
Tr	Tritil, trifenilmetil
XMP	Ksantin monofosfat

8. Literatura

1. Nicolaou, K. C. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2014**, *53*, 9128–9140.
2. Popsavin, V.; Grabež, S.; Popsavin, M.; Krstić, I.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Divjaković, V. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9409–9413.
3. Popsavin, V.; Srećo, B.; Benedeković, G.; Francuz, J.; Popsavin, M.; Kojić, V.; Bogdanović, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2876–2883.
4. Popsavin, M.; Spaić, S.; Svirčev, M.; Kojic, V.; Bogdanovic, G.; Popsavin, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4123–4127.
5. Popsavin, M.; Kojić, V.; Torović, L.; Svirčev, M.; Spaić, S.; Jakimov, D.; Aleksić, L.; Bogdanović, G.; Popsavin, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *111*, 114–125.
6. Kojić, V. *Sinteza i detaljna biološka ispitivanja tiazolnih C-nukleozida*, Univerzitet u Novom Sadu, 2012.
7. Popsavin, M.; Kojić, V.; Spaić, S.; Svirčev, M.; Bogdanović, G.; Jakimov, D.; Aleksić, L.; Popsavin, V. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 2343–2350.
8. Wiart, C. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2007**, *4*, 299–311.
9. Levrier, C.; Balastrier, M.; Beattie, K. D.; Carroll, A. R.; Martin, F.; Choomuenwai, V.; Davis, R. a. *Phytochemistry* **2013**, *86*, 121–126.
10. Sam, T. W.; Sew-Yeu, C.; Matsjeh, S.; Gan, E. K.; Razak, D.; Mohamed, A. L. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2541–2544.
11. Fang, X. ping; Anderson, J. E.; Qiu, X. xing; Kozlowski, J. F.; Chang, C. jer; McLaughlin, J. L. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1563–1570.
12. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C.; Zhou, Z.-H. *J. Organic Chem.* **1995**, *60*, 3121–3130.
13. Blazquez, M. A.; Bermejo, A.; Zafra-Polo, M. C.; Cortes, D. *Phytochem. Anal.* **1999**, *10*, 161–170.
14. Fang, X.; Anderson, J. E.; Chang, C.; Fanwick, P. E.; Mclaughlin, J. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, *62*, 1655–1661.
15. Bermejo, A.; Blazquez, M. A.; Rao, K. S.; Cortes, D. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1375–1380.
16. Cao, S.-G.; Wu, X.-H.; Sim, K.-Y.; Tan, B. K. H.; Pereira, J. T.; Goh, S.-H. *Tetrahedron* **1998**, *54*,

- 2143–2148.
17. Fang, X.; Anderson, J. E.; Chang, C. J.; McLaughlin, J. L.; Fanwick, P. E. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1034–1043.
 18. Jiang, M. M.; Feng, Y. F.; Zhang, X.; Zhao, L. L.; Yao, X. S. *Biochem. Syst. Ecol.* **2011**, *39*, 846–848.
 19. Jiang, M.-M.; Feng, Y.-F.; Gao, H.; Zhang, X.; Tang, J.-S.; Yao, X.-S. *Fitoterapia* **2011**, *82*, 524–527.
 20. Yvin, J.-C.; Chevolot-Magueur, A.-M.; Chevolot, L.; Lallemand, J.-Y.; Potier, P.; Guilhem, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4497–4498.
 21. Ackland, M. J.; Hanson, J. R.; Hitchcock, P.; Ratcliffe, A. H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 843–847.
 22. Li, R.-T.; Zhao, Q.-S.; Li, S.-H.; Han, Q.-B.; Sun, H.-D.; Lu, Y.; Zhang, L.-L.; Zheng, Q.-T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1023–1026.
 23. Riggs, N. V.; Stevens, J. D. *Tetrahedron Lett.* **1963**, *24*, 1615–1622.
 24. Patil, A. D.; Freyer, A. J.; Bean, M. F.; Carte, B. K.; Westley, J. W.; Johnson, R. K.; Lahouratate, P. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 377–394.
 25. Cafieri, F.; Fattorusso, E.; Tagliatela-Scafati, O.; Di Rosa, M.; Ianaro, A. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 13831–13840.
 26. Williams, H. J.; Wong, M.; Wharton, R. A.; Vinson, S. B. *J. Chem. Ecol.* **1988**, *14*, 1727–1736.
 27. Wu, C.-L.; Liu, H.-J.; Uang, H.-L. *Phytochemistry* **1994**, *35*, 822–824.
 28. Liu, H. J.; Wu, C. L. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **1999**, *1*, 177–182.
 29. Sohn, J. H.; Oh, H. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31*, 1695–1698.
 30. Markovič, M.; Koóš, P.; Čarný, T.; Sokoliová, S.; Boháčiková, N.; Moncol', J.; Gracza, T. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 1631–1638.
 31. Kupchan, S. M.; Dessertine, A. L.; Blaylock, B. T.; Bryan, R. F. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1789.
 32. Huang, S. X.; Li, R. T.; Liu, J. P.; Lu, Y.; Chang, Y.; Lei, C.; Xiao, W. L.; Yang, L. Bin; Zheng, Q. T.; Sun, H. D. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2079–2082.
 33. Matsumoto, N.; Tsuchida, T.; Maruyama, M.; Kinoshita, N.; Homma, Y.; Iinuma, H.; Sawa, T.; Hamada, M.; Takeuchi, T.; Heida, N.; Yoshioka, T. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1999**, *52*, 269–275.

34. Matsumoto, N.; Tsuchida, T.; Nakamura, H.; Sawa, R.; Takahashi, Y.; Naganawa, H.; Iinuma, H.; Sawa, T.; Takeuchi, T. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1999**, *52*, 276–280.
35. Lin, S. J.; Jiang, S. H.; Li, Y. M.; Zeng, J. F.; Zhu, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1069–1071.
36. Francuz, J.; Kovačević, I.; Popsavin, M.; Benedeković, G.; Zelenović, B. S.; Kojić, V.; Jakimov, D.; Aleksić, L.; Bogdanović, G.; Srdić-Rajić, T.; Lončar, E.; Rodić, M. V.; Divjaković, V.; Popsavin, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 13–24.
37. Benedeković, G.; Francuz, J.; Kovačević, I.; Popsavin, M.; Srećo Zelenović, B.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Divjaković, V.; Popsavin, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *82*, 449–458.
38. Peng, X. S.; Ylagan, R. M. P.; Siu, Y. M.; Wong, H. N. C. *Chem. - An Asian J.* **2015**, *10*, 2070–2083.
39. Mukai, C.; Hirai, S.; Kim, I. J.; Kido, M.; Hanaoka, M. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 6547–6560.
40. Yi, X. H.; Meng, Y.; Hua, X. G.; Li, C. J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7472–7480.
41. Siu, T.; Cox, C. D.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2003**, *42*, 5629–5634.
42. Rath, J. P.; Kinast, S.; Maier, M. E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3089–3092.
43. Sperry, J.; Liu, Y.-C. (William); Brimble, M. A. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 29–38.
44. Finch, O. C.; Furkert, D. P.; Brimble, M. A. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 590–596.
45. Lavrenov, S. N.; Turchin, K. F.; Korolev, A. M.; Anisimova, O. S.; Preobrazhenskaya, M. N. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6610–6613.
46. Lee, E.; Jin, S. T.; Lee, C.; Cheol Min, P. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4831–4834.
47. Lee, E.; Yoo, S. K.; Cho, Y. S.; Cheon, H. S.; Chong, Y. H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7757–7758.
48. Nicolaou, K. C.; Petasis, N. A.; Claremon, D. A. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4835–4841.
49. Zhong, H. M.; Sohn, J. H.; Rawal, V. H. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 386–397.
50. Labelle, M.; Guindon, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2204–2210.
51. Fernandes, R. a; Kattanguru, P. *J. Org. Chem.* **2012**, *10*, 16–19.
52. Seebach, D.; Dust, M.; Naef, R.; Banziger, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 530–531.
53. Poss, A. J.; Belter, R. K. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2555–2558.
54. Baldwin, J. E. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 734–736.

55. Poss, A. J.; Smyth, M. S. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 5469–5472.
56. Cox, C. D.; Siu, T.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2003**, *42*, 5625–5629.
57. Paterson, I.; Anderson, E. A.; Dalby, S. M.; Loiseleur, O. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4121–4124.
58. Utimoto, K. *Pure Appl. Chem.* **1983**, *55*, 1845–1852.
59. Ramana, C. V.; Suryawanshi, S. B.; Gonnade, R. G. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2842–2845.
60. Kelly, T. R.; Cai, X.; Tu, B.; Elliott, E. L.; Grossmann, G.; Laurent, P. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4953–4956.
61. Nacro, K.; Lee, J.; Barchi, J. J.; Lewin, N. E.; Blumberg, P. M.; Marquez, V. E. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5335–5345.
62. Mehta, G.; Bhat, B. A. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2474–2477.
63. Tlais, S. F.; Dudley, G. B. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4698–4701.
64. Paterson, I.; Maltas, P.; Dalby, S. M.; Lim, J. H.; Anderson, E. A. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *51*, 2749–2753.
65. Osumi, K.; Sugimura, H. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5789–5792.
66. Peters, R.; Fischer, D. F. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45*, 5736–5739.
67. Xiao, Q.; Ren, W. W.; Chen, Z. X.; Sun, T. W.; Li, Y.; Ye, Q. Da; Gong, J. X.; Meng, F. K.; You, L.; Liu, Y. F.; Zhao, M. Z.; Xu, L. M.; Shan, Z. H.; Shi, Y.; Tang, Y. F.; Chen, J. H.; Yang, Z. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2011**, *50*, 7373–7377.
68. Murphy, P. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1096–1097.
69. Murphy, P. J.; Dennison, S. T. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6695–6700.
70. Fleet, G. W. J.; Witty, D. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 119–136.
71. Bittner, C.; Burgo, A.; Murphy, P. J.; Sung, C. H.; Thornhill, A. J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3455–3456.
72. Lone, A. M.; Bhat, B. A.; Mehta, G. *Tetrahedron Lett.* **2013**, Accepted manuscript.
73. Harrison, M. J.; Norman, R. O. C. *J. Chem. Soc. C* **1970**, 728–730.
74. Cox, C.; Danishefsky, S. J. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3493–3496.
75. Jevric, M.; Taylor, D. K.; Greatrex, B. W.; Tiekink, E. R. T. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1885–1891.

76. Sengul, M. E.; Simsek, N.; Balci, M. *European J. Org. Chem.* **2000**, 1359–1363.
77. Mihovilovic, M. D.; Kapitán, P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2751–2754.
78. Han, J.-S.; Lowary, T. L. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4116–4119.
79. Bakke, J. M.; Frøhaug, A. E. *Acta Chem. Scand.* **1995**, *49*, 615–622.
80. Bakke, J. M.; Frøhaug, A. E. *J. Phys. Org. Chem.* **1996**, *9*, 310–318.
81. Akiyama, M.; Isoda, Y.; Nishimoto, M.; Narazaki, M.; Oka, H.; Kuboki, A.; Ohira, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2287–2290.
82. Ohira, S.; Okai, K.; Moritani, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 721–722.
83. Shioiri, T.; Aoyama, T. *J. Synth. Org. Chem. Japan* **1996**, *54*, 918–928.
84. Rajanbabu, T. V. B. Tributylstannane. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, 2004, *1*, 1–11.
85. Blakemore, P. R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2002**, 2563–2585.
86. Crowley, P. J.; Fawcett, J.; Kariuki, B. M.; Moralee, A. C.; Percy, J. M.; Salafia, V. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4125–4127.
87. Zubkov, F. I.; Zaytsev, V. P.; Nikitina, E. V.; Khrustalev, V. N.; Gozun, S. V.; Boltukhina, E. V.; Varlamov, A. V. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9148–9163.
88. Yang, Z. cai; Zhou, W. shan. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 1429–1436.
89. Jeyaraj, D. A.; Kapoor, K. K.; Yadav, V. K.; Gauniyal, H. M.; Parvez, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 287–294.
90. Semmelhack, M. F.; Bozell, J. J.; Sato, T.; Wulff, W.; Spiess, E.; Zask, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5850–5852.
91. Tamaru, Y.; Kobayashi, T.; Kawamura, S.; Ochiai, H.; Hojo, M.; Yoshida, Z. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3207–3210.
92. Markovic, M.; Duranova, M.; Koos, P.; Szolcsanyi, P.; Gracza, T. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 4185–4189.
93. Gracza, T.; Hasenhorl, T.; Stahl, U.; Jager, V. *Synthesis (Stuttg)*. **1991**, 1108–1118.
94. Gracza, T.; Jager, V. *Synthesis (Stuttg)*. **1994**, 1359–1368.

95. Dixon, D. J.; Ley, S. V.; Gracza, T.; Szolcsanyi, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 839–842.
96. Xie, X. G.; Wu, X. W.; Lee, H. K.; Peng, X. S.; Wong, H. N. C. *Chem. - A Eur. J.* **2010**, *16*, 6933–6941.
97. Yu, P. Total synthesis of sphydrofuran, secosyrins, syributins and syringolides, Chinese University of Hong Kong Graduate School, 1997.
98. Criegee, R.; Banciu, A.; Keul, H. *Chem. Ber.* **1975**, *108*, 1642–1654.
99. Schreiber, S. L.; Claus, R. E.; Reagan, J. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 3867–3870.
100. Jiang, L.; Martinelli, J. R.; Burke, S. D. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1150–1153.
101. Prakash, K. R. C.; Rao, P. S. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7473–7476.
102. Prakash, K. R. C.; Prahlada, R. S. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1505–1510.
103. Shing, T. K. M.; Tsui, H.; Zhou, Z. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8659–8666.
104. Stork, G.; Takahashi, T.; Kawamoto, I.; Suzuki, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 8272–8273.
105. Imagawa, H.; Saijo, H.; Kurisaki, T.; Yamamoto, H.; Kubo, M.; Fukuyama, Y.; Nishizawa, M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1253–1255.
106. Fukuyama, Y.; Minami, H.; Takeuchi, K.; Kodama, M.; Kawazu, K. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6767–6770.
107. Zamora Mata, F.; Bueno Martinez, M.; Galbis Perez, J. A. *Carbohydr. Res.* **1990**, *201*, 223–231.
108. Köll, P.; Wernicke, A.; Kovács, J.; Lützen, A. *J. Carbohydr. Chem.* **2000**, *19*, 1019–1047.
109. Bruns, R.; Wernicke, A.; Köll, P. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 9793–9800.
110. Lee, E.; Sung Tae, J.; Hoon Chong, Y.; Cheol Park, Y.; Yun, M.; Kim, S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 129–132.
111. Allison, A. C.; Eugui, E. M. *Immunopharmacology* **2000**, *47*, 85–118.
112. Patton, G. C.; Stenmark, P.; Gollapalli, D. R.; Sevastik, R.; Kursula, P.; Flodin, S.; Schuler, H.; Swales, C. T.; Eklund, H.; Himo, F.; Nordlund, P.; Hedstrom, L. *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 950–958.
113. Hedstrom, L. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2012**, *47*, 250–263.

114. Hedstrom, L. In *Experimental Standard Conditions of Enzyme Characterization*; Rüdeshcim/Rhein, 2013; pp. 19–31.
115. Weber, G. *Adv. Enzyme Regul.* **2006**, *46*, 26–32.
116. Wu, T. Y.; Peng, Y.; Pelleymounter, L. L.; Moon, I.; Eckloff, B. W.; Wieben, E. D.; Yee, V. C.; Weinshilboum, R. M. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *161*, 1584–1598.
117. Buey, R. M.; Ledesma-Amaro, R.; Velázquez-Campoy, A.; Balsera, M.; Chagoyen, M.; de Pereda, J. M.; Revuelta, J. L. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 1–11.
118. Moffatt, B. A.; Ashihara, H. *Arab. B.* **2002**, *1*, 1–20.
119. Hedstrom, L. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2903–2928.
120. Nair, V.; Shu, Q. *Antivir. Chem. Chemother.* **2007**, *18*, 245–258.
121. Natsumeda, Y.; Ohno, S.; Kawasaki, H.; Konno, Y.; Weber, G.; Suzuki, K. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 5292–5295.
122. Thomas, E. C.; Gunter, J. H.; Webster, J. A.; Schieber, N. L.; Oorschot, V.; Parton, R. G.; Whitehead, J. P. *PLoS One* **2012**, *7*.
123. Chen, L.; Gao, G.; Felczak, K.; Bonnac, L.; Patterson, S. E.; Wilson, D.; Bennett, E. M.; Jayaram, H. N.; Hedstrom, L.; Pankiewicz, K. W. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5743–5751.
124. Glesne, D. A.; Collart, F. R.; Huberman, E. *Mol. Cell. Biol.* **1991**, *11*, 5417–5425.
125. Chong, C. R.; Qian, D. Z.; Pan, F.; Wei, Y.; Pili, R.; Sullivan, D. J.; Liu, J. O. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2677–2680.
126. Natsumeda, Y.; Carr, S. F. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1993**, *696*, 88–93.
127. Gunter, J. H.; Thomas, E. C.; Lengefeld, N.; Kruger, S. J.; Worton, L.; Gardiner, E. M.; Jones, A.; Barnett, N. L.; Whitehead, J. P. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2008**, *40*, 1716–1728.
128. Wang, W.; Hedstrom, L. *Biochemistry* **1997**, *36*, 8479–8483.
129. Bessho, T.; Morii, S.; Kusumoto, T.; Shinohara, T.; Noda, M.; Uchiyama, S.; Shuto, S.; Nishimura, S.; Djikeng, A.; Duszenko, M.; Martin, S. K.; Inui, T.; Kubata, K. B. *Parasitology* **2013**, *140*, 735–745.
130. Hedstrom, L.; Gan, L. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 520–525.

131. Braun-Sand, S. B.; Peetz, M. *Future Med. Chem.* **2010**, *2*, 81–92.
132. Makowska-Grzyska, M.; Kim, Y.; Gorla, S. K.; Wei, Y.; Mandapati, K.; Zhang, M.; Maltseva, N.; Modi, G.; Boshoff, H. I.; Gu, M.; Aldrich, C.; Cuny, G. D.; Hedstrom, L.; Joachimiak, A. *PLoS One* **2015**, *10*, 1–21.
133. Mandapati, K.; Gorla, S. K.; House, A. L.; McKenney, E. S.; Zhang, M.; Rao, S. N.; Gollapalli, D. R.; Mann, B. J.; Goldberg, J. B.; Cuny, G. D.; Glomski, I. J.; Hedstrom, L. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 846–850.
134. Panattoni, A.; D’Anna, F.; Triolo, E. *Antiviral Res.* **2007**, *73*, 206–211.
135. Li, R.; Wang, Y.; Wang, Q.; Wang, J.; Cheng, M. *Comput. Math. Methods Med.* **2015**, *2015*, 1–11.
136. Srivastava, P. C.; Pickering, M. V.; Allen, L. B.; Streeter, D. G.; Campbell, M. T.; Witkowski, J. T.; Sidwell, R. W.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 256–262.
137. Boritzki, T. J.; Berry, D. A.; Besserer, J. A.; Cook, P. D.; Fry, D. W.; Leopold, W. R.; Jackson, R. C. *Biochem. Pharmacol.* **1985**, *34*, 1109–1114.
138. Tempel, W.; Rabeh, W. M.; Bogan, K. L.; Belenky, P.; Wojcik, M.; Seidle, H. F.; Nedyalkova, L.; Yang, T.; Sauve, A. A.; Park, H. W.; Brenner, C. *PLoS Biol.* **2007**, *5*, 2220–2230.
139. Pankiewicz, K. W.; Goldstein, B. M. In *Recent Advances in Nucleosides: Chemistry and Chemotherapy*; Chu, C. K., Ed.; Elsevier, 2002; pp. 71–90.
140. Minakawa, N.; Matsuda, A. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 615–628.
141. Khan, J. A.; Forouhar, F.; Tao, X.; Tong, L. *Expert Opin. Ther. Targets* **2007**, *11*, 695–705.
142. Marquez, V. E.; Tseng, C. K.; Gebeyehu, G.; Cooney, D. A.; Ahluwalia, G. S.; Kelley, J. A.; Dalal, M.; Fuller, R. W.; Wilson, Y. A.; Johns, D. G. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1726–1731.
143. Yamada, Y.; Natsumeda, Y.; Weber, G. *Biochemistry* **1988**, *27*, 2193–2196.
144. Colby, T. D.; Vanderveen, K.; Strickler, M. D.; Markham, G. D.; Goldstein, B. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 3531–3536.
145. Tricot, G. J.; Nichols, C. R.; Kneebone, P.; Hoffman, R.; Jayaram, H. N.; Lapis, E.; Natsumeda, Y.; Weber, G.; Heerema, N. *Cancer Res.* **1989**, *49*, 3696–3701.
146. Melink, T. J.; von Hoff, D. D.; Kuhn, J. G.; Hersh, M. R.; Sternson, L. A.; Patton, T. F.; Siegler, R.;

- Boldt, D. H.; Clark, G. M. *Cancer Res.* **1985**, *45*, 2859–2865.
147. De Clercq, E. J. *Med. Chem.* **2016**, *59*, 2301–2311.
148. Flood, A.; Trujillo, C.; Sanchez-Sanz, G.; Kelly, B.; Muguruza, C.; Callado, L. F.; Rozas, I. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *138*, 38–50.
149. Wirth, M.; Zoete, V.; Michielin, O.; Sauer, W. H. B. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, 1137–1143.
150. Nastasa, C.; Tipericiuc, B.; Duma, M.; Benedec, D.; Oniga, O. *Molecules* **2015**, *20*, 17325–17338.
151. Mak, J. Y. W.; Xu, W.; Fairlie, D. P. In *Peptidomimetics I. Topics in Heterocyclic Chemistry*; Lubell, W. D., Ed.; Springer, 2015; Vol. 48, pp. 235–266.
152. Sharma, R. N.; Xavier, F. P.; Vasu, K. K.; Chaturvedi, S. C.; Pancholi, S. S. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2009**, *24*, 890–897.
153. Helal, M. H. M.; Salem, M. A.; El-Gaby, M. S. A.; Aljahdali, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *65*, 517–526.
154. Jaishree, V.; Ramdas, N.; Sachin, J.; Ramesh, B. *J. Saudi Chem. Soc.* **2012**, *16*, 371–376.
155. Geronikaki, A. A.; Pitta, E. P.; Liaras, K. S. *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 4460–4480.
156. Thota, S.; Nadipelly, K.; Shenkesi, A.; Yerra, R. *Med. Chem. Res.* **2014**, *24*, 1162–1169.
157. Khalil, A. M.; Berghot, M. A.; Gouda, M. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4434–4440.
158. Mohammad, H.; Cushman, M.; Seleem, M. N. *PLoS One* **2015**, *10*, 1–13.
159. Odaryuk, V. V.; Burakov, N. I.; Kanibolotskaya, L. V.; Kanibolotskii, A. L.; Odaryuk, I. D.; Lebedeva, N. Y.; Poddubnaya, E. N.; Shendrik, A. N. *Pharm. Chem. J.* **2015**, *49*, 96–98.
160. Sravanthi, T. V.; Sajitha Lulu, S.; Vino, S.; Jayasri, M. A.; Mohanapriya, A.; Manju, S. L. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 1306–1315.
161. Abd-Elzaher, M. M.; Labib, A. A.; Mousa, H. A.; Moustafa, S. A.; Ali, M. M.; El-Rashedy, A. A. *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.* **2016**, *5*, 85–96.
162. Turan-Zitouni, G.; Altintop, M. D.; Özdemir, A.; Kaplancıklı, Z. A.; Çiftçi, G. A.; Temel, H. E. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *107*, 288–294.
163. Cai, W.-X.; Liu, A.-L.; Li, Z.-M.; Dong, W.-L.; Liu, X.-H.; Sun, N.-B. *Appl. Sci.* **2016**, *6*, 4–13.
164. Washburn, D. G.; Holt, D. A.; Dodson, J.; McAtee, J. J.; Terrell, L. R.; Barton, L.; Manns, S.;

- Waszkiewicz, A.; Pritchard, C.; Gillie, D. J.; Morrow, D. M.; Davenport, E. A.; Lozinskaya, I. M.; Guss, J.; Basilla, J. B.; Negron, L. K.; Klein, M.; Willette, R. N.; Fries, R. E.; Jensen, T. C.; Xu, X.; Schnackenberg, C. G.; Marino, J. P. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 4979–4984.
165. Hallinan, E. A.; Hagen, T. J.; Tsybalov, S.; Stapelfeld, A.; Savage, M. A. *Bioorganic Med. Chem.* **2001**, *9*, 1–6.
166. De Souza, M. V. N. *J. Sulfur Chem.* **2005**, *26*, 429–449.
167. Mishra, C. B.; Kumari, S.; Tiwari, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *92*, 1–34.
168. Baumann, M.; Baxendale, I. R.; Ley, S. V.; Nikbin, N. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 442–495.
169. Gupta, R. R.; Kumar, M.; Gupta, V. In *Heterocyclic Chemistry*; Springer, 1999; Vol. 2, pp. 416–434.
170. Eckhardt, B. J.; Gulick, R. M. In *Infectious Diseases*; Cohen, J.; Powderly, W. G.; Opal, S. M., Eds.; Elsevier Ltd, 2017; p. 1293–1308.e2.
171. Sevrioukova, I. F.; Poulos, T. L. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 18422–18427.
172. Sevrioukova, I. F.; Poulos, T. L. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 3733–3741.
173. Kempf, D. J.; Marsh, K. C.; Denissen, J. F.; McDonald, E.; Vasavanonda, S.; Flentge, C. A.; Green, B. E.; Fino, L.; Park, C. H.; Kong, X.-P.; Wideburg, N. E.; Saldivar, A.; Ruiz, L.; Kati, W. M.; Sham, H. L.; Robins, T.; Stewart, K. D.; Hsu, A.; Plattner, J. J.; Leonard, J. M.; Norbeck, D. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1995**, *92*, 2484–2488.
174. Bagley, M. C.; Dale, J. W.; Merritt, E. A.; Xiong, X. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 685–714.
175. Just-Baringo, X.; Albericio, F.; Álvarez, M. *Mar. Drugs* **2014**, *12*, 317–351.
176. Jonker, H. R. A.; Baumann, S.; Wolf, A.; Schoof, S.; Hiller, F.; Schulte, K. W.; Kirschner, K. N.; Schwalbe, H.; Arndt, H. D. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2011**, *50*, 3308–3312.
177. Hantzsch, A. R.; Weber, J. H. *Chem. Ber.* **1887**, 3118–32.
178. Tcherniac, J. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1928**, *61*, 574–579.
179. Miura, T.; Funakoshi, Y.; Fujimoto, Y.; Nakahashi, J.; Murakami, M. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2454–2457.
180. Aitken, K. M.; Aitken, R. A. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4384–4386.

181. St. Denis, J. D.; Zajdlik, A.; Tan, J.; Trinchera, P.; Lee, C. F.; He, Z.; Adachi, S.; Yudin, A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 17669–17673.
182. Holzapfel, C. W.; Pettit, G. R. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2323–2327.
183. Moriarty, R. M.; Vaid, B. K.; Duncan, M. P.; Levy, S. G.; Prakash, O.; Goyal, S. *Synthesis (Stuttg)*. **1992**, 845–846.
184. Ishiwata, Y.; Togo, H. *Synlett* **2008**, *2008*, 2637–2641.
185. Facchinetti, V.; Avellar, M. M.; Nery, A. C. S.; Gomes, C. R. B.; Vasconcelos, T. R. A.; De Souza, M. V. N. *Synth.* **2016**, *48*, 437–440.
186. Potewar, T. M.; Ingale, S. A.; Srinivasan, K. V. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5019–5022.
187. Narender, M.; Somi Reddy, M.; Sridhar, R.; Nageswar, Y. V. D.; Rama Rao, K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5953–5955.
188. Narender, M.; Reddy, M. S.; Kumar, V. P.; Srinivas, B.; Sridhar, R.; Nageswar, Y. V. D.; Rao, K. R. *Synthesis (Stuttg)*. **2007**, 3469–3472.
189. Zavozin, A. G.; Ignat'Ev, N. V.; Schulte, M.; Zlotin, S. G. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 6975–6980.
190. Cook, A. H.; Heilbron, I.; Levy, A. L. *J. Chem. Soc.* **1947**, 1598–1609.
191. Cook, A. H.; Heilbron, I.; Macdonald, S. F.; Mahadevan, A. P. *J. Chem. Soc.* **1949**, 1064–1068.
192. Kapf, S.; Paal, C. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1888**, *21*, 3053–3063.
193. Bachstesz, M. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 3163–3169.
194. Gabriel, S. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1910**, *43*, 134–138.
195. Gabriel, S. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1910**, *43*, 1283–1287.
196. Sheldrake, P. W.; Matteucci, M.; McDonald, E. *Synlett* **2006**, 460–462.
197. Ertas, E.; Ozturk, T.; Mert, O. *Chem. Rev.* **2004**, *110*, 3405–3407.
198. Nishio, T.; Ori, M. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 2347–2354.
199. Kaleta, Z.; Makowski, B. T.; Soós, T.; Dembinski, R. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1625–1628.
200. Thompson, M. J.; Chen, B. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7084–7093.
201. Ugi, I. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1962**, *1*, 8–21.

202. Kazmaier, U.; Ackermann, S. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3184–3187.
203. Ugi, I.; Steinbrückner, C. *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 2802–2814.
204. Yinglin, H.; Hongwen, H. *Synthesis (Stuttg)*. **1990**, *1990*, 615–618.
205. Pintér, A.; Haberhauer, G.; Hyla-Kryspin, I.; Grimme, S. *Chem. Commun. (Camb)*. **2007**, 3711–3713.
206. Sanz-Cervera, J. F.; Blasco, R.; Piera, J.; Cynamon, M.; Ibáñez, I.; Murguía, M.; Fustero, S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8988–8996.
207. Ozturk, T.; Ertas, E.; Mert, O. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5210–5278.
208. Wipf, P.; Venkatraman, S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8004–8005.
209. Castagnolo, D.; Pagano, M.; Bernardini, M.; Botta, M. *Synlett* **2009**, 2093–2096.
210. Shen, S. S.; Lei, M. Y.; Wong, Y. X.; Tong, M. L.; Teo, P. L. Y.; Chiba, S.; Narasaka, K. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 3161–3163.
211. Zhao, D.; Guo, S.; Guo, X.; Zhang, G.; Yu, Y. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 5285–5289.
212. De Kimpe, N.; De Cock, W.; Keppens, M.; De Smaele, D.; Mészáros, A. *J. Heterocycl. Chem.* **1996**, *33*, 1179–1183.
213. de Kimpe, N.; de Cock, W.; Stevens, C. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2739–2760.
214. Tang, X.; Zhu, Z.; Qi, C.; Wu, W.; Jiang, H. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 180–183.
215. Tang, X.; Yang, J.; Zhu, Z.; Zheng, M.; Wu, W.; Jiang, H. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 11461–11466.
216. Lingaraju, G. S.; Swaroop, T. R.; Vinayaka, A. C.; Sharath Kumar, K. S.; Sadashiva, M. P.; Rangappa, K. S. *Synthesis (Stuttg)*. **2012**, *44*, 1373–1379.
217. Gulevich, A. V.; Gevorgyan, V. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2013**, *52*, 1371–1373.
218. Chen, B.; Guo, S.; Guo, X.; Zhang, G.; Yu, Y. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4698–4701.
219. Hori, Y.; Nagano, Y.; Uchiyama, H.; Yamada, Y.; Taniguchi, H. *Chem. Lett.* **1978**, 73–76.
220. Williams, D. R.; Lowder, P. D.; Gu, Y.-G.; Brooks, D. A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 331–334.
221. Hori, H.; Nishida, Y.; Ohruai, H.; Meguro, H. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1346–1353.
222. Watahiki, T.; Ohba, S.; Oriyama, T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2679–2681.

223. Appel, R. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **1975**, *14*, 801–811.
224. Petri, A. F.; Schneekloth, J. S.; Mandal, A. K.; Crews, C. M. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3001–3004.
225. Vargha, L. V. *Chem. Ber.* **1933**, *66*, 704–707.
226. Zinner, H. *Chem. Ber.* **1951**, *84*, 780–784.
227. Liang, C. W.; Kim, M. J.; Jeong, L. S.; Chun, M. W. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2003**, *22*, 2039–2048.
228. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
229. Scudiero, D. A.; Shoemaker, R. H.; Paull, K. D.; Monks, A.; Tierney, S.; Nofziger, T. H.; Currens, M. J.; Seniff, D.; Boyd, M. R. *Cancer Res.* **1988**, *48*, 4827–4833.
230. Letai, A. *Annu. Rev. Cancer Biol.* **2017**, *1*, 275–294.
231. Hanahan, D.; Weinberg, R. A. *Cell* **2011**, *144*, 646–674.
232. Deitch, A. D.; Law, H.; deVere White, R. *J. Histochem. Cytochem.* **1982**, *30*, 967–972.
233. Nicoletti, I.; Migliorati, G.; Pagliacci, M. C.; Grignani, F.; Riccardi, C. *J. Immunol. Methods* **1991**, *139*, 271–279.
234. Henry, C. M.; Hollville, E.; Martin, S. J. *Methods* **2013**, *61*, 90–97.
235. Akl, H.; Vervloessem, T.; Kiviluoto, S.; Bittremieux, M.; Parys, J. B.; Smedt, H. De; Bultynck, G.; Heizmann, C. W.; Krebs, J.; Moreau, M. *BBA - Mol. Cell Res.* **2014**, *1843*, 2240–2252.
236. Nicholson, D. W.; Ali, A.; Thornberry, N. A.; Vaillancourt, J. P.; K. Ding, C. K.; Gallant, M.; Gareau, Y.; Griffin, P. R.; Labelle, M.; Lazebnik, Y. A.; Munday, N. A.; Raju, S. M.; Smulson, M. E.; Yamin, T.-T.; Yu, V. L.; Miller, D. *Nature* **1995**, *376*, 37–43.
237. Chaitanya, G. V.; Steven, A. J.; Babu, P. P. *Cell Commun. Signal.* **2010**, *8*, 1–11.
238. Pavic, A.; Glišić, B. Đ.; Vojnovic, S.; Warzajtis, B.; Savić, N. D.; Antić, M.; Radenković, S.; Janjić, G. V.; Nikodinovic-Runic, J.; Rychlewska, U.; Djuran, M. I. *J. Inorg. Biochem.* **2017**, *174*, 156–168.
239. Macrae, C. A.; Peterson, R. T. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2015**, *14*, 721–731.
240. Fiecher, E.; Rund, C. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1916**, *49*, 88–105.
241. Fischer, E.; Jennings, W. L. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1894**, *27*, 1145–1167.

9. Biografija



Miloš Svirčev je rođen u Novom Sadu, 21.06.1979. godine. Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu (Odsek za hemiju, smer Diplomirani hemičar) upisao je 1998. godine. Odbranivši 2004. godine diplomski rad pod nazivom „FT IC spektroskopsko ispitivanje vodoničnih veza N-metilacetamida sa etrima“, završio je osnovne studije sa prosečnom ocenom 9,24. Iste godine je upisao poslediplomske studije, oblast Hemija, na matičnom fakultetu, koje je završio 2009. godine odbranom magistarske teze pod nazivom „Sinteza i biološka aktivnost analoga tiazofurina sa 2'-amidnim funkcijama“. Od 2013. godine je student doktorskih studija Biohemije.

Za istraživača-pripravnika za užu naučnu oblast Organska hemija je izabran 2005, a za istraživača-saradnika za užu naučnu oblast Organska hemija 2009. godine. Reizabran je za istraživača-saradnika za užu naučnu oblast Organska hemija 2012. godine. U zvanje asistenta za užu naučnu oblast Biohemija je izabran 2013. godine.

Od 2005. godine je zaposlen na projektu republičkog Ministarstva nauke (br. projekta 142005; trajanje 2006-2010). Trenutno je zaposlen na projektu republičkog Ministarstva nauke (br. projekta 172006; trajanje 2011-). Bio je angažovan je i na jednogodišnjem projektu koji finansira Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj (Sinteza i biomedicinska ispitivanja antikanceranih agenasa dobijenih iz prirodno raspoloživih monosaharida, 2014. godine).

Koautor je osam naučnih radova objavljenih u vodećim međunarodnim časopisima kategorije M21 (sedam radova) i M22 (jedan rad) kao i 22 saopštenja prezentovanih na domaćim (15) i međunarodnim (7) naučnim skupovima.

Angažovan je u izvođenju nastave na Katedri za biohemiju i hemiju prirodnih proizvoda Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, na predmetima Hemija prirodnih proizvoda, Enzimologija i Racionalni dizajn lekova.

Član je Srpskog hemijskog društva.

UNIVERZITET U NOVOM SADU

PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada: VR	Doktorska disertacija
Autor: AU	Miloš Svirčev
Mentor: MN	Dr Mirjana Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Sinteza i biomedicinska ispitivanja novih bioizostera stiril-laktona i antitumorskog agensa tiazofurina
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda:	Srpski

JI	
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geog. područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2018.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
Fizički opis rada: FO	Broj poglavlja: 10 (uključujući poglavlje Prilog). Strana: 200 (uključujući 51 stranu poglavlja Prilog). Lit. citata: 241. Tabela: 15 (10 u poglavlju Prilog). Shema: 87. Slika: 127 (97 u poglavlju Prilog).
Naučna oblast: NO	Biohemija
Naučna disciplina: ND	Medicinska hemija
Predmetna odrednica/ Ključne reči: PO	(+)-Goniofufuron, tiazofurin, citotoksični laktoni, C-nukleozidi, D-glukoza, D-arabinoza.
UDK Čuva se:	Biblioteka Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, PMF, Trg D. Obradovića 3, Novi Sad

ČU	
Važna napomena: VN	—
Izvod: IZ	U ovom radu prikazana je sinteza 11 tiazolnih izostera goniofufurona (1-11), 4 konformaciono kruta analoga goniofufurona (12-15) i jednog butadiolnog derivata tiazofurina (16). Takođe, izvršeno je ispitivanje i poređenje bioloških aktivnosti sintetisanih analoga sa sa aktivnošću i selektivnošću kako GF i TF tako i doksorubicina, jedinjenja širokog spektra dejstva (DOX). Hiralni prekursor novosintetisanih jedinjenja 1-15 bila je D-glukoza, a jedinjenja 16 D-arabinoza.
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (Naučni stepen/ime i prezime/zvanje/fakultet) KO Predsednik: Mentor: Član: Član:	 Dr Velimir Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Mirjana Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Vesna Kojić, naučni saradnik Instituta za onkologiju Sremska Kamenica, Medicinski fakultet u Novom Sadu Dr Boris Popović, vanr. prof. Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu

UNIVERSITY OF NOVI SAD

FACULTY OF SCIENCES

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monography document
Type of record: TR	Printed text
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Miloš Svirčev
Mentor: MN	Dr. Mirjana Popsavin, full prof., Faculty of Sciences, Novi Sad
Title: TI	Synthesis and biomedical investigation of novel styryl lactone and antitumor agent tiazofurin bioisosteres
Language of text: LT	Serbian (Latin)

Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2018
Publisher: PU	Author's reprint
Publishing place: PP	Faculty of sciences, Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental protection, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia
Physical description: PD	Chapters: 10 (including the chapter Appendix). Pages: 200 (including 51 pages in the chapter Appendix). References: 241. Tables: 15 (10 in the chapter Appendix). Schemes: 87. Pictures: 127 (97 in the chapter Appendix).
Scientific field: SF	Biochemistry
Scientific discipline: SD	Medicinal Chemistry
Subject/Key words: SKW	(+)-Goniofufurone, tiazofurin, cytotoxic lactones, C-nucleosides, D-glucose, D-arabinose

UC Holding data: HD	Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection (Library), Faculty of Sciences, Trg D. Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	-
Abstract: AB	A multistep synthesis of 11 novel thiazole isosteres of goniofufurone (1-11), 4 novel conformationally constrained isosteres of goniofufurone (12-15), as well as one butanediol derivative of tiazofurin (16) has been achieved. <i>In vitro</i> cytotoxicity of newly synthesized derivatives has been evaluated and compared with the cytotoxicities of goniofufurone, tiazofurin and doxorubicin.
Accepted by the Scientific Board on: ASB	
Defended: DE	
Thesis defend board: (Degree/name/surname/title/faculty) DB Chair: Mentor: Member: Member:	Dr. Velimir Popsavin, full professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad Dr. Mirjana Popsavin, full professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad Dr. Vesna Kojić, associate at Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad Dr. Boris Popović, associate professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad

