



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



Jovana M. Francuz

**NOVE IZOSTERE I BIOIZOSTERE PRIRODNIH
STIRIL-LAKTONA: DIZAJN, SINTEZA I
ANTIPROLIFERATIVNA AKTIVNOST**

Doktorska disertacija

Novi Sad, 2015.

Predgovor

Ova doktorska disertacija je uradjena u laboratoriji za bioorgansku i medicinsku hemiju, Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, pod rukovodstvom profesora dr Velimira Popsavina, a u okviru projekta "Sinteza i biološka ispitivanja novih mimetika ili derivata odabranih citotoksičnih laktona, antitumorskog agensa tiazofurina i prirodnih naftnih kiselina", finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Najiskrenije se zahvaljujem svom mentoru, prof. dr Velimiru Popsavinu na pruženom znanju, podršci i svesrdnoj pomoći prilikom izrade ovog rada.

Isto tako, zahvaljujem se profesorki dr Mirjani Popsavin za snimanje i tumačenje NMR spektara, i na svim korisnim savetima i sugestijama.

Takodje, bih se zahvalila profesorkama dr Evgeniji Đurendić i dr Mariji Sakač na trudu i angažovanju u pisanju ove doktorske disertacije.

Veliko hvala i akademiku prof. dr Bogdanu Šolaji na pruženoj pomoći i korisnim savetima oko pisanja ovog rada.

Dr Gordani Bogdanović, dr Vesni Kojić, Dimitru Jakimovu i Lidiji Aleksić iz Instituta za onkologiju Vojvodine, srdačno se zahvaljujem na pomoći pri određivanju biološke aktivnosti.

Iskreno se zahvaljujem profesoru dr Vladimiru Divjakoviću i Marku Rodiću na uradjenim rendgeno-strukturnim analizama.

Zahvaljujem se takodje i dr Branislavu Joviću i Branku Kordiću na snimanju IR spektara.

Isto tako zahvaljujem se dr Milki Jadranin na svesrdnoj pomoći oko snimanja masenih spektara visoke rezolucije, kao i na svim ostalim analizama. Zahvalna sam i dr Snežani Trifunović na uradjenim mikroanalizama.

Zahvalna sam kolegi dr Goranu Benedekoviću na svesrdnoj stručnoj pomoći pri izradi ovog rada.

Posebnu zahvalnost dugujem mojim kolegama Ms Ivani Kovačević, dr Bojani Srećo Zelenović, dr Goranu Benedekoviću i mr Milošu Svirčevu na nezaboravnoj uvek živoj atmosferi u laboratoriji 17/III.

Zahvalna sam i mojim diplomcima Vesni, Branislavi, Anki, Jasmini i Mariji kao i masterima Dragani i Andreju na pomoći oko izrade eksperimentalnog dela ovog rada.

Takodje bih se zahvalila zaposlenima na trećem spratu, posebno mojem društvancu za kafu na svakodnevnoj posebnoj atmosferi.

Neizmerno se zahvaljujem Ružici Marušić, mojoj Ruški, na predivnom druženju i na ogromnoj pomoći oko organizacije i izvodjenja eksperimentalnih vežbi, a na kraju naravno i na pruženoj tehničkoj podršci.

Hvala mojim lepoticama dr Sanji Dožić, dr Mariji Lesjak i dr Ivani Beari, na iskrenom prijateljstvu.

Veliku zahvalnost dugujem mom bratu Milanu, a posebno mojim roditeljima Miletu i Bubi za svu ljubav i podršku.

Hvala mom suprugu Vladimiru i mojoj dragoj devojčici Anji na svojoj beskrajnoj ljubavi i podršci...

Od srca vam svima hvala.

Jovana Francuz

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	2
2.1. Stiril-laktoni: Nalaženje u prirodi, struktura i osobine	2
2.2. Biogenetsko poreklo stiril-laktona	7
2.3. Sinteze analoga goniofufurona i 7- <i>epi</i> -goniofufurona.....	8
2.4. Antiproliferativna aktivnost analoga goniofufurona i 7- <i>epi</i> -goniofufurona	21
2.5. Mehanizmi antitumorskog dejstva stiril-laktona.....	22
3. NAŠI RADOVI	27
3.1. Dizajn izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona	27
3.2. Sinteza izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona.....	31
3.3. Biološka aktivnost izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona.....	66
4. EKSPERIMENTALNI DEO	102
4.1. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropiliden- α -D-glukofuranoza (1).....	102
4.2. 3- <i>O</i> -Benzil-1,2:5,6-di- <i>O</i> -izopropiliden- α -D-glukofuranoza (2).....	103
4.3. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- β -L- <i>ido</i> - (4) i α -D- <i>gluko</i> - pentofuranoza (5)	104
4.4. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropiliden-3- <i>O</i> -metil- α -D-glukofuranoza (6)	105
4.5. 5- <i>C</i> -Fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden-3- <i>O</i> -metil- β -L- <i>ido</i> - (8) i α -D- <i>gluko</i> - pentofuranoza (9)	106
4.6. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>ksilo</i> -pent-5-ulo-furanoza (10).....	107
4.7. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>gluko</i> -pentofuranoza (5).....	107
4.8. 1,2- <i>O</i> -Izopropiliden- α -D- <i>ksilo</i> furanoza (12).....	108
4.9. 3,5-Anhidro-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>ksilo</i> furanoza (13).....	108
4.10. 5-Deoksi-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>ksilo</i> -pentofuranoza (14).....	109
4.11. 3- <i>O</i> -Benzil-5-deoksi-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>ksilo</i> -pentofuranoza (15).....	110
4.12. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>O</i> -benzoil-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>gluko</i> - pentofuranoza (16).....	110
4.13. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>O</i> -benzoil-5- <i>C</i> -fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- β -L- <i>ido</i> -pentofuranoza (17).....	111
4.14. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>C</i> -fenil-D- <i>gluko</i> -pentopiranoza (18).....	112
4.15. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil-D- <i>glicero</i> -D- <i>ido</i> -heptono-1,4- lakton (19).....	112
4.16. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>C</i> -fenil-L- <i>ido</i> -pentopiranoza (20)	113

4.17. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (21).....	114
4.18. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>O</i> -benzoil-5- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -gluko-pentofuranoza (22)	114
4.19. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7- <i>O</i> -benzoil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (23)	115
4.20. 3- <i>O</i> -Benzil-5- <i>O</i> -benzoil-5- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -ido-pentofuranoza (24)	116
4.21. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7- <i>O</i> -benzoil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (25)	116
4.22. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7- <i>O</i> -benzoil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (25)	117
4.23. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-hloro- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (26) i olefin (28).....	117
4.24. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-hloro- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (27) i olefin (28).....	119
4.25. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-hloro- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (29), <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (30) i oksepan (31).....	120
4.26. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7-bromo-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (32) i olefin (28).....	122
4.27. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7-bromo-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (33) i olefin (28).....	123
4.28. 3,6-Anhidro-7-bromo-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (34) i <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (35).....	124
4.29. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-jodo- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (37), <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (36) i olefin (28).....	126
4.30. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-jodo- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (38) i <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (39).....	128
4.31. 3,6-Anhidro-7- <i>O</i> -benzoil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (40).....	129
4.32. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-fluoro- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (41) i <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (42)	130
4.33. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-fluoro- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (43).....	131
4.34. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7-fluoro- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (44).....	132
4.35. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -gluko-heptono-1,4-lakton (45) i oksepan (31).....	133
4.36. (+)-Goniofufuron (I).....	134
4.37. 3,6:5,7-Dianhidro-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (46)	135
4.38. 3,6-Anhidro-7-azido-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (47) i <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (48).....	135
4.39. 7- <i>epi</i> -(+)-Goniofufuron (II)	136

4.40. 3,6:5,7-Dianhidro-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (49)	137
4.41. 3,6-Anhidro-7-azido-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido- (47), <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (48) i (3 <i>aR</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,7 <i>aR</i>)-5-azido-7-hidroksi-6-fenil-heksahidrofuro[3,2- <i>b</i>]piran-2-on (50)	138
4.42. 10-fenil-3 <i>a</i> ,3 <i>b</i> ,5,10,10 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -heksahidro-1 <i>H</i> -3,4,11-trioksa-benzo[<i>f</i>]ciklopenta[<i>a</i>]azulen-2-on (oksepan 31)	139
4.43. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7- <i>C</i> -(2-metil-fenil)- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (51)	139
4.44. 3- <i>O</i> -Benzil-5-deoksi-5- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -ksilo-pentofuranoza (52)	140
4.45. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -gluko-heptono-1,4-lakton (53).....	140
4.46. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-6- <i>O</i> -metil- <i>D</i> -ido- (54) i <i>L</i> -gluko-heptono-1,4-lakton (55)	141
4.47. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil-5- <i>O</i> -metil- <i>D</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (57).....	142
4.48. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil-5- <i>O</i> -metil- <i>L</i> -glicero- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (59).....	143
4.49. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil-5- <i>O</i> -metil- <i>D</i> -ido-hept-7-ulozono-1,4-lakton (60).....	143
4.50. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7- <i>C</i> -difenil-7-hidroksi-5- <i>O</i> -metil- <i>D</i> -ido-heptono-1,4-lakton (61)	144
4.51. (3 <i>aR</i> , 6 <i>R</i> , 6 <i>aS</i> , <i>Z</i>)-5-Benziliden-6-metoksi-tetrahidrofuro-[3,2- <i>b</i>]-furan-2(5 <i>H</i>)-on (62).....	145
4.52. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7- <i>O</i> -benzoil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -glicero- <i>L</i> -ido-heptono-1,4-lakton (<i>ent</i> -23)	146
4.53. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-7- <i>O</i> -benzoil-2-deoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>D</i> -glicero- <i>L</i> -ido-heptono-1,4-lakton (<i>ent</i> -25)	146
4.54. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -gluko-heptono-1,4-lakton (<i>ent</i> -45) i oksepan (<i>ent</i> -31).....	147
4.55. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil-7- <i>C</i> -(2-metil-fenil)- <i>L</i> -glicero- <i>L</i> -ido-heptono-1,4-lakton (<i>ent</i> -51)	148
4.56. 3,6-Anhidro-5- <i>O</i> -benzil-2,7-dideoksi-7- <i>C</i> -fenil- <i>L</i> -gluko-heptono-1,4-lakton (<i>ent</i> -53).....	149
5. ZAKLJUČAK	151
6. SUMMARY	155
7. SKRAĆENICE	159
8. LITERATURA	161
9. BIOGRAFIJA	166

1. UVOD

Razvoj novih i efikasnih postupaka sinteze analoga prirodnih biološki aktivnih molekula predstavlja jednu od početnih faza procesa pronalaženja novih lekova. Analози prirodnih proizvoda često pokazuju poboljšano farmakološko dejstvo, a ponekad pokazuju i potpuno promenjenu biološku aktivnost u odnosu na prirodni molekul. Pored toga analози mogu poslužiti za identifikaciju farmakofore biološki aktivnih jedinjenja. Za dizajn novih analoga obično se primenjuje metoda izosterne varijacije,¹ koja podrazumeva sistematsku promenu strukture nekog poznatog biološki aktivnog molekula (*osnovni molekul*; engl. *lead compound*), zamenom postojećih funkcionalnih grupa odgovarajućim izosternim grupama, pri čemu se dobijaju analози koji se nazivaju *izostere*. Izosterne grupe se obično međusobno razlikuju po Van der Waals-ovom radijusu, ili po svojim elektronskim osobinama (elektronegativnost, polarizabilnost itd). Ukoliko je promena strukture praćena sličnim biološkim efektima dobijeni analози nazivaju se *bioizosterama*.

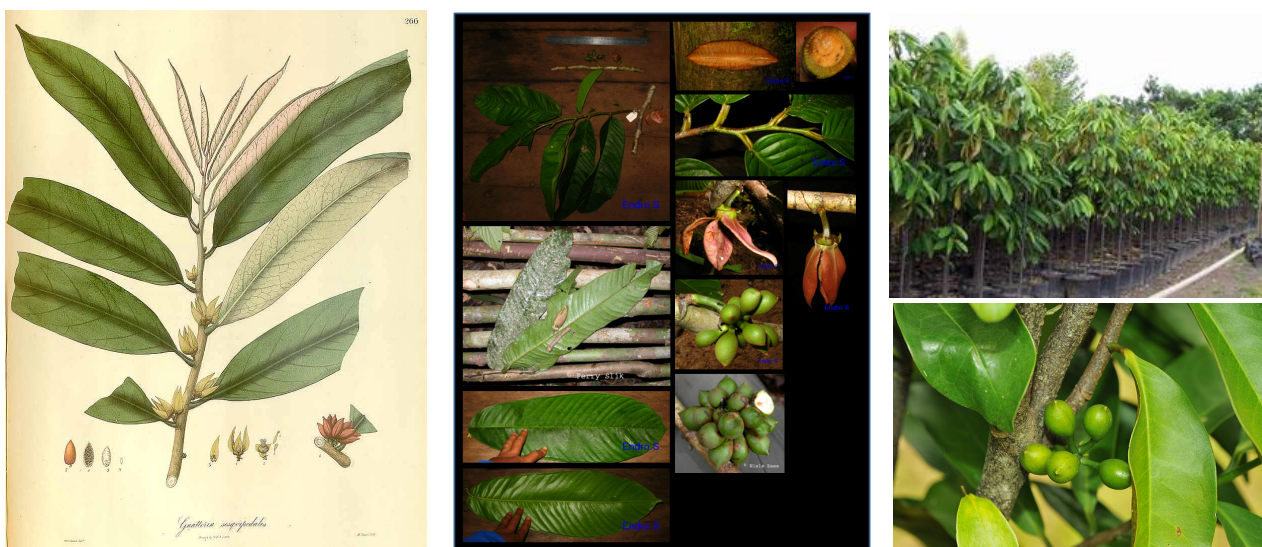
Kada su analози hiralni molekuli, pri realizaciji njihove sinteze mora se primeniti posebna metodologija koja obezbeđuje dobijanje željenog proizvoda u enantiomerno čistoj formi. Najbolji rezultati u tom smislu dobijeni su primenom *Koncepta hiralnih templata*, koji podrazumeva uspostavljanje stereohemijskih korelacija između molekula koji je predmet sinteze (*ciljni molekul*) i nekog pristupačnog hiralnog molekula – potencijalnog polaznog jedinjenja (*hiralni prekursor*). Kao pogodni hiralni prekursori najčešće se primenjuju prirodno raspoloživi monosaharidi,² pre svega zbog definisane i raznovrsne stereohemije, kao i zbog jedinstvenih topoloških osobina, koje omogućuju selektivne promene funkcionalnih grupa u različitim acikličnim, odnosno petočlanim ili šestočlanim cikličnim derivatima.

Već duži niz godina u našoj laboratoriji teku istraživanja koja su usmerena na iznalaženje novih antiproliferativnih agenasa izosternom varijacijom prirodnih citotoksičnih stiril-laktona. Iz ovih istraživanja je proistekla i ova doktorska disertacija čiji je cilj dizajn i sinteza većeg broja izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona tipa goniofufurona. *In vitro* ispitivanja antitumorske aktivnosti sintetizovanih jedinjenja prema ćelijskim linijama odabranih humanih tumora, predstavljaju dodatni važan zadatak ovog rada. U okviru toga, planiraju se detaljna biološka ispitivanja koja se odnose na tip i mehanizam ćelijske smrti, kao i pokušaj uspostavljanja korelacionih odnosa između strukture i citotoksične aktivnosti sintetizovanih jedinjenja (SAR).

2. OPŠTI DEO

2.1. Stiril-laktoni: Nalaženje u prirodi, struktura i osobine

Biljna familija *Annonaceae* sadrži 122 roda i preko 2000 vrsta biljaka koje su uglavnom rasprostranjene u tropskim i subtropskim regionima Azije.³⁻⁵ Posebno interesantan rod ove familije je *Goniothalamus*, koji obuhvata 160 vrsta biljaka od kojih je za sada hemijski ispitano samo 22 biljne vrste (Slike 2.1. i 2.2.).⁶ To su uglavnom vrste drveća ili grmlja, koja imaju glatku i tanku, ali veoma aromatičnu koru, jednostavno lišće duguljastog oblika i cvetove uglavnom drvenaste, tamno zelene boje. Plodovi su uglavnom sitne zelene bobice često u vidu grozdova. Ono čime se ovaj rod biljaka odlikuje je mnoštvo biološki aktivnih jedinjenja od kojih se posebno izdvajaju dve grupe: acetogenini i stiril-laktoni. Interesantno je da ove dve grupe jedinjenja imaju potpuno različite strukturne karakteristike, ali im je biološka aktivnost veoma slična, odnosno oni kod sisara deluju na istu ćelijsku organelu, mitohondriju, inhibirajući kompleks I respiratornog niza. Kao posledica toga, ove biljke ispoljavaju citotoksično, teratogeno, antitumorsko i embriotoksično dejstvo. Zbog toga su ove biljke često korišćene u tradicionalnoj medicini.⁷ Naime, žene u brdskom regionu Manipura (Indija) koriste osušeno lišće u prahu biljke *Goniothalamus sesquipetalis* za ublažavanje porodjajnih bolova, dok se dim dobijen sagorevanjem lišća ove biljke koristi za odbijanje komaraca.^{8,9} U ruralnim krajevima severne Malezije ekstrakt biljke *Goniothalamus macrophyllus* se upotrebljava za izazivanje abortusa i ublažavanje post-porodjajnih bolova, a poznata je i upotreba lišća ove biljke za ublažavanje groznice.^{10,11} Na Filipinima,¹² ekstrakt semena vrste *Goniothalamus amuyon* koristi se za lečenje reumatizma i edema, dok se na Tajvanu koristi za lečenje šuge (Slika 2.1.).^{13,14}



Slika 2.1. Biljke roda *Goniothalamus*: *Goniothalamus sesquipetalis* (levo), *Goniothalamus macrophyllus* (u sredini), *Goniothalamus amuyon* (desno gore i dole).

Koren *Goniothalamus giganteus* se upotrebljava za izazivanje abortusa i lečenje prehlade, dok se zagrejani listovi stavljaju na otečene delove tela.¹⁵ Takođe se i koren *Goniothalamus tapis* koristi za izazivanje abortusa u ranim mesecima trudnoće,¹¹ a na Javi (Indonezija) se upotrebljava za lečenje tifusa.¹⁶ Ekstrakt biljke *Goniothalamus scortechinii* se upotrebljava za ublažavanje postporodjajnih tegoba (Slika 2.2.).¹¹

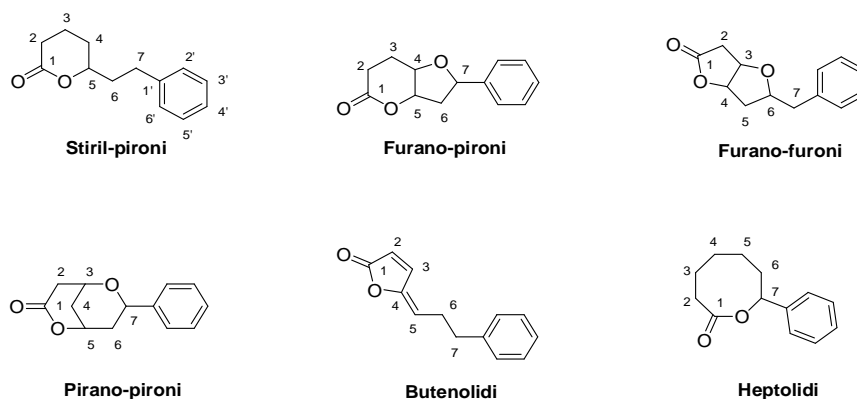


Slika 2.2. Biljke roda *Goniothalamus*: *Goniothalamus giganteus* (levo prve tri slike), *Goniothalamus tapis* (u sredini gore i dole), *Goniothalamus scortechinii* (desno gore i dole).

Značajna antitumorska i citotoksična aktivnost stiril-laktona su doprinele da se biljke roda *Goniothalamus* još uvek detaljno hemijski i biološki ispituju.

Biološki-usmerena ispitivanja biljke *Goniothalamus giganteus* prvi su započeli McLaughlin i saradnici,¹⁷ pri čemu su utvrdili da je etanolni ekstrakt kore ovog drveteta veoma toksičan u *in vivo* testovima sprovedenim na miševima obolelim od leukemije P388. Kasnije je utvrđeno da je za ovu aktivnost odgovoran jedan stiril-lakton. Ovaj jedinstveni biciklični furanopiron, koji je izolovan ranije iz vrste *Polyalthia* (*Annonaceae*) od strane Loder-a i Nearn-a (1977) nazvan je altolakton (Shema 2.3.).¹⁸ On predstavlja samo jedan od brojnih stiril-laktona koji ispoljavaju antiproliferativnu aktivnost.

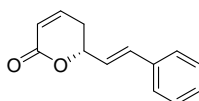
Iz roda *Goniothalamus* do sada je izolovano i okarakterisano preko sto biološki aktivnih stiril-laktona. Ovi sekundarni metaboliti u biogenetskom pogledu potiču iz šikimi kiseline (*Shema 2.8.*).⁷ Generalno, stiril-laktoni su aromatična jedinjenja male molekulske mase koja imaju laktonsku farmakoforu. Klasifikacija stiril-laktona je uradjena na osnovu strukturnih karakteristika prstenova, pri čemu su oni klasifikovani u šest grupa, a to su stiril-pironi, furano-pironi, furano-furoni, pirano-pironi, butenolidi i heptolidi (*Shema 2.1.*).⁷



Shema 2.1. Ugljenični skelet prirodnih stiril-laktona.

Stiril-pironi

Prvi molekul iz ove grupe stiril-laktona koji je izolovan i okarakterisan je goniotalamin (Jewers i saradnici, 1972.)¹⁹ (*Shema 2.2.*). Pronadjen je u čak sedam vrsta roda *Goniothalamus*, a izolovan je iz korena i kore drveta, ali i iz svih ostalih delova biljaka. Pošto je do sada izolovan veliki broj stiril-pirona oni su podeljeni u četiri podgrupe, na osnovu stepena oksidacije alifatičnog niza, odnosno stepena zasićenosti piranskog prstena: tip goniotalamina, tip goniotalamin oksida, tip goniodiola i tip garvensintriola. Ovi stiril-laktoni se smatraju najvažnijom grupom i biogenetskim prekursorima svih ostalih grupa stiril-laktona.

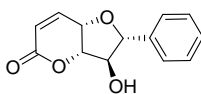


Goniotalamin

Shema 2.2. Struktura goniotalamina.

Furano-pironi

Druga grupa stiril-laktona po važnosti su furano-pironi čiji je glavni predstavnik altolakton (*Shema 2.3.*) koji su Loder i Nearn, 1977. godine,¹⁸ izolovali iz *Polyalthia-e*. Osam godina kasnije izolovan je i iz kore drveta *Goniothalamus giganteus* i nazvan je drugim trivijalnim nazivom (goniotalenol). Furano-pironski skelet stiril-laktona je drugi po zastupljenosti u rodu *Goniothalamus*. Zbog brojnosti pripadnici ove grupe dele se na dve podgrupe na osnovu strukturnih karakteristika. Tip altolaktona karakteriše prisustvo α,β -nezasićene δ -laktonske funkcionalne grupe, dok tip goniofupirona karakteriše zasićeni δ -laktonski sistem.

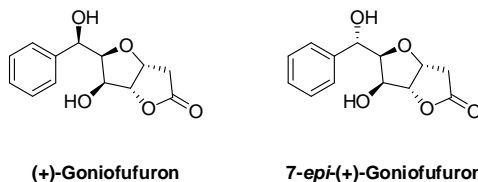


Altolakton

Shema 2.3. Struktura altolaktona.

Furano-furoni

Dva najvažnija predstavnika ove grupe su goniofufuron i 7-*epi*-goniofufuron, koji se međusobno razlikuju samo u stereohemiji na C-7 (*Shema 2.4.*). Oba laktona su izolovana iz kore drveta *Goniothalamus giganteus* od strane McLaughlin-a i saradnika 1990. i 1991. godine.^{20,21} Ova jedinjenja ispoljavaju veoma jaku citotoksičnu aktivnost, pa su zbog toga još uvek predmet interesovanja velikog broja istraživača. Zbog jedinstvene strukture bicikličnog segmenta, kao i zbog interesantne biološke aktivnosti pojedini predstavnici ove grupe stiril-laktona postali su predmet i našeg interesovanja.



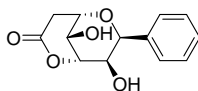
(+)-Goniofufuron

7-*epi*-(+)-Goniofufuron

Shema 2.4. Strukture (+)-goniofufurona i 7-*epi*-(+)-goniofufurona.

Pirano-pironi

Najpoznatiji predstavnik ove grupe je goniopipiron (*Shema 2.5.*) kojeg su McLaughlin i saradnici, 1990. godine,²⁰ izolovali iz biljke *Goniothalamus giganteus*. Ovo jedinjenje je ispoljilo veoma jaku, ali neselektivnu citotoksičnu aktivnost.

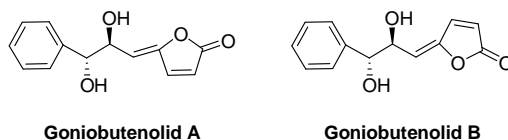


Goniopipiron

Shema 2.5. Struktura goniopipirona.

Butenolidi

Dva najpoznatija jedinjenja ove grupe su goniobutenolidi A i B (*Shema 2.6.*) koji su izolovani iz biljke *Goniothalamus giganteus* (McLaughlin i saradnici, 1991.).²² Kasnije je utvrđeno da su oba metabolita daleko više zastupljena u kori drveta *Goniothalamus borneensis* (Cao i saradnici, 1998.).²³



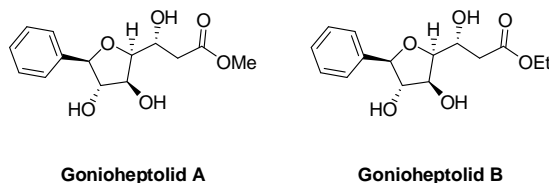
Goniobutenolid A

Goniobutenolid B

Shema 2.6. Strukture goniobutenolida A i goniobutenolida B.

Heptolidi

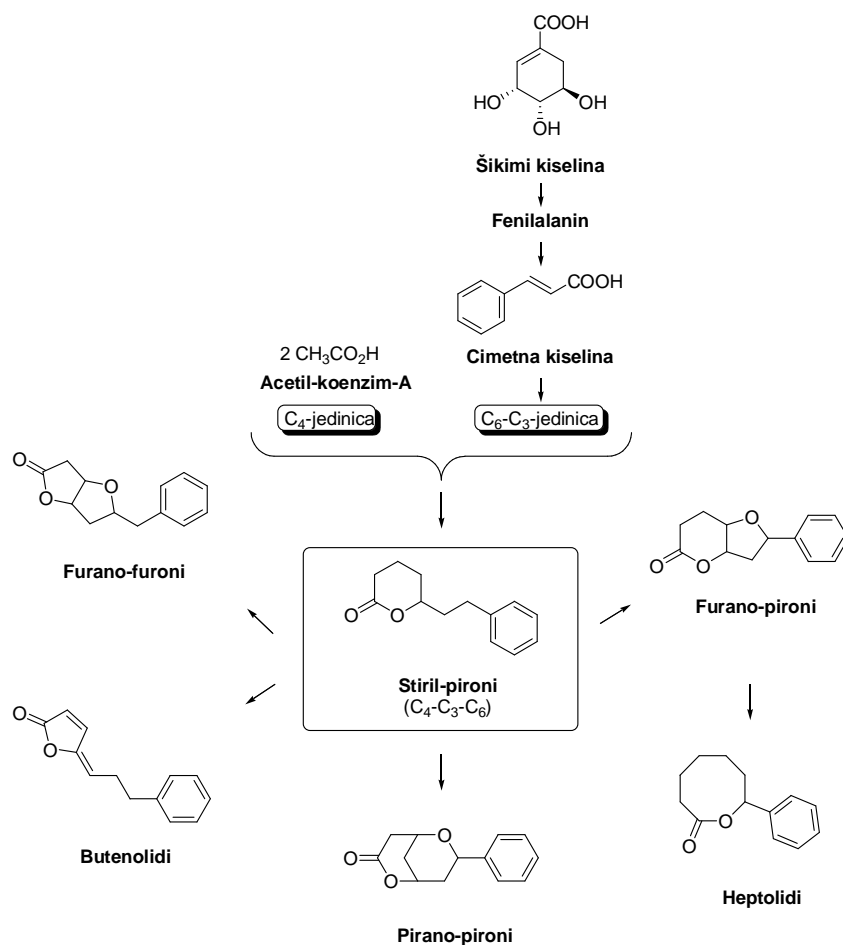
Predstavnici ove grupe su gonioheptolid A i gonioheptolid B, koji su takodje izolovani iz kore drveta *Goniothalamus giganteus* (McLaughlin i saradnici 1993. godine).²⁴ Pomenuti autori su objavili da ova grupa jedinjenja ima osmočlani laktonski prsten (*Shema 2.1.*). Medjutim, strukture gonioheptolida A i gonioheptolida B koje su objavili McLaughlin i saradnici 1993. godine, korigovali su Mukai i saradnici šest godina kasnije, parcijalnom sintezom gonioheptolida A iz prirodnog goniofupirona.²⁵ Revidirane strukture gonioheptolida A i B, koje su potvrđene spektroskopskim metodama i sintezom prikazane su na *Shemi 2.7.*



Shema 2.7. Korigovane strukture gonioheptolida A i gonioheptolida B.

2.2. Biogenetsko poreklo stiril-laktona

Kao što se sa *Sheme 2.8.* može videti smatra se da biosinteza stiril-laktona teče preko šikimi kiseline, odnosno preko fenilalanina i cimetine kiseline. Tako nastala C₆-C₃ jedinica se potom kondenzuje sa C₄ jedinicom formiranom iz acetil- odnosno malonil- koenzima-A. Kondenzacijom i zatvaranjem laktonskog prstena nastaje najjednostavniji stiril-lakton, goniotalamin koji se smatra prekursorom za sve ostale stiril-laktone.⁷ Hidroksilacijama i različitim ciklizacijama nastaje više vrsta stiril-laktona.



Shema 2.8. Pretpostavljeni put biosinteze stiril-laktona u biljkama roda *Goniothalamus*.

2.3. Sinteze analoga goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona

U literaturi su opisane brojne sinteze prirodnih proizvoda goniofufurona i njegovog C-7 epimera, 7-*epi*-goniofufurona.²⁶⁻³⁰ Takođe je zapaženo da je mali broj analoga dobijen sintezom ili semisintezom, dok su biološka ispitivanja istih veoma skromna.

Do sada izolovani i sintetizovani analozi ovih prirodnih proizvoda mogu se klasifikovati u više grupa:

- najveću grupu analoga čine stereoizomeri koji imaju promenjenu stereochemiju u položajima C-5, C-6 i/ili C-7. Takođe izomeri mogu imati istu ili drugačiju stereochemiju furano-furanskog prstena, odnosno promenjenu stereochemiju u položajima C-3 i/ili C-4,
- drugu grupu analoga predstavljaju jedinjenja sa esterifikovanim hidroksilnim grupama u položaju C-5 i/ili C-7 (acetil- i cinamoil- ostaci), ili sa etarskim funkcionalnim grupama u istim položajima, a to su uglavnom benziletarski sintetički prekursori finalnih jedinjenja,
- mali je broj analoga koji sadrže više različitih grupa (estri, etri i stereoizomeri),
- postoji i mali broj analoga kod kojih je uklonjena određena funkcionalna grupa. Najčešće je to fenil ili hidroksilna grupa u položaju C-7.

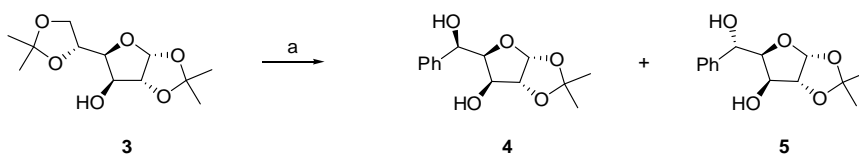
Ono što je veoma interesantno da do 2012. godine u literaturi nisu objavljene direktne izostere ova dva prirodna proizvoda u kojima su određene funkcionalne grupe zamenjene odabranim izosternim funkcijama. Naime, prve sinteze direktnih izostera (+)-goniofufurona i 7-*epi*-(+)-goniofufurona ostvarene su u našoj laboratoriji. Obzirom da je ovaj rad najvećim delom realizovan u sklopu ove doktorske disertacije, detaljno će biti prodiskutovan u narednom poglavlju.³¹

Što se tiče najbrojnijih analoga, tj. stereoizomera, posebno se ističe nekoliko radova.³²⁻³⁸

Prvu sintezu stereoizomera (+)-goniofufurona ostvarili su Shing, Tsui i Zhou 1992. godine. Naime, radi potvrde apsolutne konfiguracije prirodnog proizvoda **I** i njegovog C-7 epimera **II**, sintetizovani su (-)-(3*S*,4*R*,5*S*,6*S*,7*S*)-enantiomer (**III**) i njegov (-)-(7*R*)-epimer (**IV**) (*Shema 2.9.*).³²

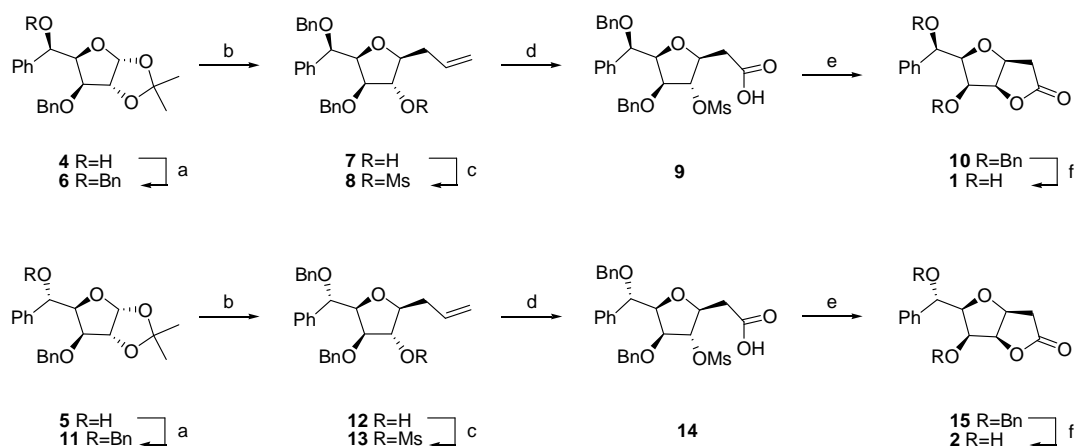
Diaceton-manoza **3** je dobijena reakcijom D-manoze i acetona u prisustvu *p*-toluen-sulfonske kiseline kao katalizatora. Jedinjenje **3** je potom podvrgnuto dejstvu (metoksikarbonil)metilentrifenilfosforana u ključalom acetonitrilu, pri čemu je dobijen intermedijerni enoat **4**, koji spontano podleže intramolekulskoj Michael-ovoj ciklizaciji, dajući smešu α - i β -*C*-glikozida **5** i **6** u odnosu 1:1.³⁹ Kako je za dalji rad bio potreban β -*C*-glikozid **6**, „anomerna“ smeša je tretirana natrijum-metoksidom u metanolu pri čemu je dobijen izomer **6** kao jedini proizvod, kao rezultat termodinamičke kontrole procesa. Izomer **6** je zatim podvrgnut selektivnoj hidrolizi terminalne izopropilidenske zaštite sa razblaženom sirćetnom kiselinom, pri čemu je dobijen diol **7**. Oksidativnim raskidanjem diolne funkcije dobijen je aldehid **8** koji je odmah podvrgnut Grignard-ovoj reakciji, pri čemu nastaje smeša benzilnih alkohola **9** i **10** (1:1) koju nije bilo moguće razdvojiti. Smeša je zatim podvrgnuta hidrolizi radi uklanjanja izopropilidenske zaštite (AcOH/H₂O), koja je praćena laktonizacijom, pri čemu su dobijeni željeni diastereoizomeri **1** i **2**, koji su uspešno hromatografski razdvojeni (*Shema 2.10.*).

Diastereoizomere **1** i **2** takodje su sintetizovali i Sartillo-Piscil i saradnici 2006. godine (*Shema 2.12.*).³⁴ Kao polazno jedinjenje poslužila im je komercijalno dostupna diizopropiliden-D-glukoza **3**. „*One pot*“ postupkom koji podrazumeva hidrolizu, diolno raskidanje i adiciju Grignard-ovog reagensa, dobijeni su alkoholi **4** i **5**, koji su hromatografski razdvojeni (*Shema 2.11.*).⁴⁰



Shema 2.11. (a) (i) H₅IO₆, EtOAc, rt, 3 h; (ii) PhMgBr, Et₂O, 0 °C, 4 h.

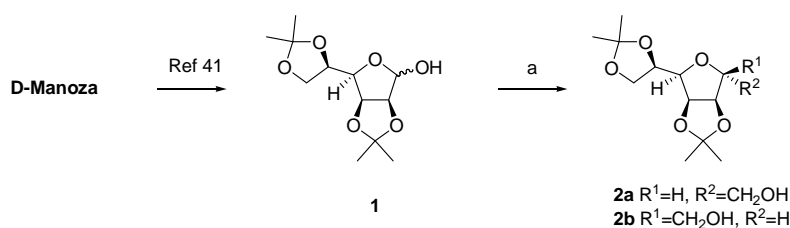
Alkoholi **4** i **5** su zatim podvrgnuti istom nizu reakcija (*Shema 2.12.*). Prva od njih je potpuno benzilovanje, pri čemu su dobijeni dibenzil-derivati **6** i **11**. Stereoselektivnom nukleofilnom supstitucijom na anomernom centru, sa aliltrimetil-silanom kao nukleofilom, u prisustvu BF₃×OEt₂ kao katalizatora, intermedijeri **6** i **11** prevedeni su u željene *C*-glikozide **7** i **12**. Dejstvom mezil-hlorida i trietilamina, dobijeni su 2-*O*-mezil-derivati **8** i **13**. Prevodjenje jedinjenja **8** i **13** u željene karboksilne kiseline **9** i **14** ostvareno je trofaznom sekvencom koja obuhvata katalitičku dihidroksilaciju (OsO₄ i NMO), praćenu sekvencijalnim 1,2-diolnim raskidanjem i Jones-ovom oksidacijom.



Shema 2.12. (a) BnBr, NaH, THF, rt, 4 h; (b) CH₂=CHCHSiMe₃, BF₃·OEt₂, CH₂Cl₂, 0 °C→rt, 4 h; (c) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0 °C→rt, 2 h; (d) (i) OsO₄, NMO, Me₂CO:H₂O, rt, 2.5 h; (ii) NaIO₄, H₂O, rt, 30 min; (iii) Jones-ov reagens, Me₂CO, -30 °C, 1 h; (e) NaHCO₃, MeCN, rt, 3 h; (f) H₂, Pd(OH)₂, MeOH, rt.

Kiseline **9** i **14** su zatim tretirane sa zasićenim rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata u ključalom acetonitrilu, pri čemu su dobijeni željeni laktoni **10** i **15**. Konačno, dobijeni laktoni su podvrgnuti katalitičkom hidrogenovanju radi uklanjanja benziletarskih zaštita, pri čemu su dobijeni diastereoizomeri **1** i **2** (*Shema 2.12.*). Analog **1** je (3*S*,4*R*)-goniofufuron, dok analog **2** predstavlja (3*S*,4*R*,7*S*)-goniofufuron.

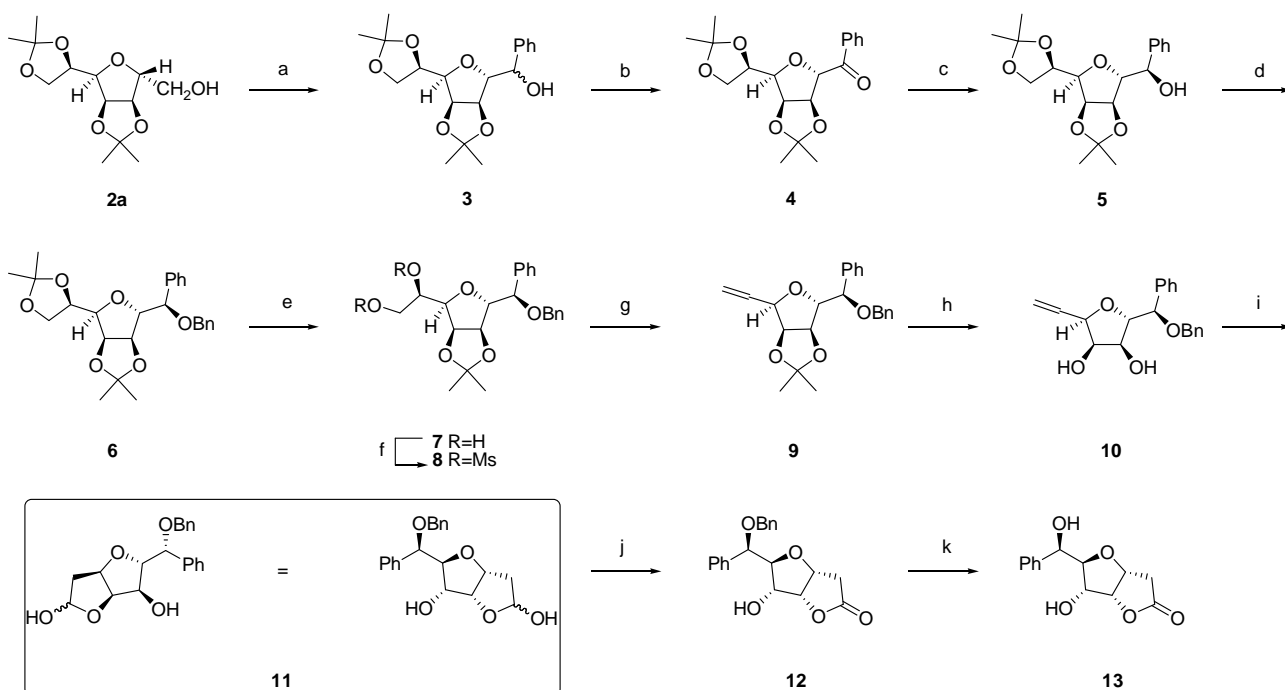
Mereyala i saradnici su 1997. godine objavili sintezu ne-prirodnog stereoizomera (+)-goniofufurona i to (5*R*)-goniofufuron **13**, polazeći iz diizopropilidenskog derivata D-manoze (*Sheme 2.13.* i *2.14.*).³⁵



Shema 2.13. (a) TMSOI, KOBu^t, DMSO, rt, 1 h.

Reakcijom diacetoneida manoze **1**⁴¹ sa trimetilsulfonijum-jodidom i kalijum *tert*-butoksidom dobijeni su diastereizomerni C-glikozidi **2a** i **2b** u odnosu 4:1 (*Shema 2.13.*). Stereoizomer **2a** je zatim podvrgnut Swern-ovoj oksidaciji pri čemu je dobijen željeni aldehid, koji je odmah dalje tretiran sa PhMgBr. Dobijena smeša stereoizomernih alkohola je bez razdvajanja dalje oksidovana sa piridinium-dihromatom u metilen-hloridu, pri čemu je dobijen željeni keton **4**. Stereoselektivnom redukcijom⁴² ketona **4** sa natrijum-borhidridom u metanolu sintetizovan je

odgovarajući alkohol **5**, koji je benzilovan po standardnom postupku (BnBr, NaH, DMF), pri čemu je dobijen derivat **6**. Regioselektivnom hidrolizom terminalne izopropilidenske grupe jedinjenja **6** dobijen je diol **7** u visokom prinosu. Mezilovanjem obe hidroksilne grupe diola **7**, dobijen je dimezilat **8** koji je potom podvrgnut eliminaciji⁴³ sa NaI u butan-2-onu, pri čemu je dobijen olefin **9**. Deprotekcija olefina **9** je postignuta dejstvom 5% aq. H₂SO₄ u 1,4-dioksanu, pri čemu je dobijen diol **10**, koji je zatim podvrgnut intramolekularnoj oksidativnoj ciklizaciji, pri čemu je dobijen laktol **11**. Oksidacijom intermedijera **11** sa PDC u metilen-hloridu, dobijenje lakton **12**, koji je konačno hidrogenovan u prisustvu Pd-BaSO₄ kao katalizatora. Željeni stereoizomer **13** [(5*R*)-goniofufuron] je dobijen u visokom prinosu (*Shema 2.14.*).

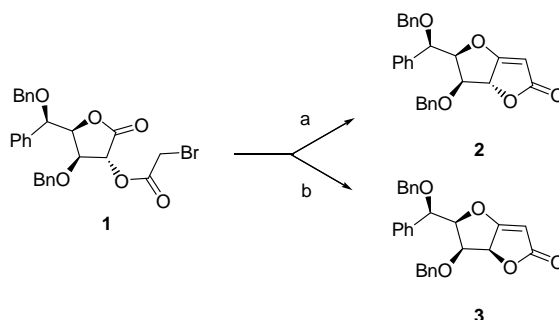


Shema 2.14. (a) (i) (COCl)₂, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -78 °C, 45 min, (ii) PhMgBr, THF, 0 °C, 3 h; (b) PDC, CH₂Cl₂, ↑↓, 3 h; (c) NaBH₄, MeOH, -10 °C, 30 min; (d) BnBr, NaH, DMF, 0 °C, 1 h; (e) 60% aq. AcOH, rt, 8 h; (f) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0 °C, 30 min; (g) NaI, butan-2-on, ↑↓, 8 h; (h) 5% H₂SO₄, 1,4-dioksan, ↑↓, 2 h; (i) PdCl₂ (kat.), CuCl, O₂, aq. DMF (1:4), rt, 4 h; (j) PDC, CH₂Cl₂, ↑↓, 1 h; (k) Pd-BaSO₄, H₂, MeOH, rt, 6 h.

Iste godine Murphy i saradnici su objavili sintezu nekoliko analoga prirodnog (+)-goniofufurona (molekuli **2**, **3**, **12–15**), polazeći iz D-glukoze (*Sheme 2.15.*; *2.16.* i *2.17.*)³⁶

Naime, prilikom sinteze (+)-goniofufurona⁴⁴ primetili su da jedinjenje **1**, kada se izloži dejstvu trifetil-fosfina u acetonitrilu u prisustvu katalitičke količine DBU, daje jedinjenje **2** u visokom prinosu, ali kada se isto jedinjenje tretira pri istim reakcionim uslovima ali u prisustvu viška DBU nastaje jedinjenje **3** kao glavni proizvod, kod kojeg je došlo do epimerizacije u položaju C-4. Takođe je primećeno da tokom tretiranja jedinjenja **2** sa katalitičkom količinom DBU dolazi do

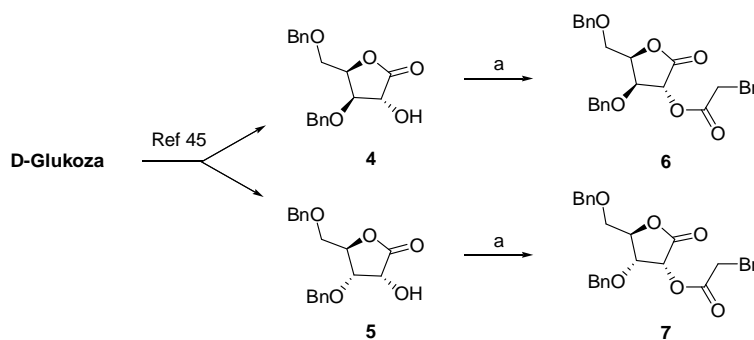
epimerizacije i nastaje jedinjenje **3**, kao glavni proizvod dok je izomer **2** detektovan u tragovima (*Shema 2.15.*).



Shema 2.15. (a) Ph_3P , MeCN, potom DBU, $\uparrow\downarrow$, 30 min; (b) Ph_3P , MeCN, potom DBU u višku, $\uparrow\downarrow$, 30 min.

Ova epimerizacija je zatim primenjena za sintezu defenilovanih analoga (+)-goniofufurona i 7-*epi*-(+)-goniofufurona.

Laktomi *D*-ksilo i *D*-ribo- konfiguracije **4** i **5**, koji su dobijeni po literaturnom postupku iz *D*-glukoze,⁴⁵ podvrgnuti su bromoacetilovanju pri čemu su dobijeni derivati **6** i **7** (*Shema 2.16.*).

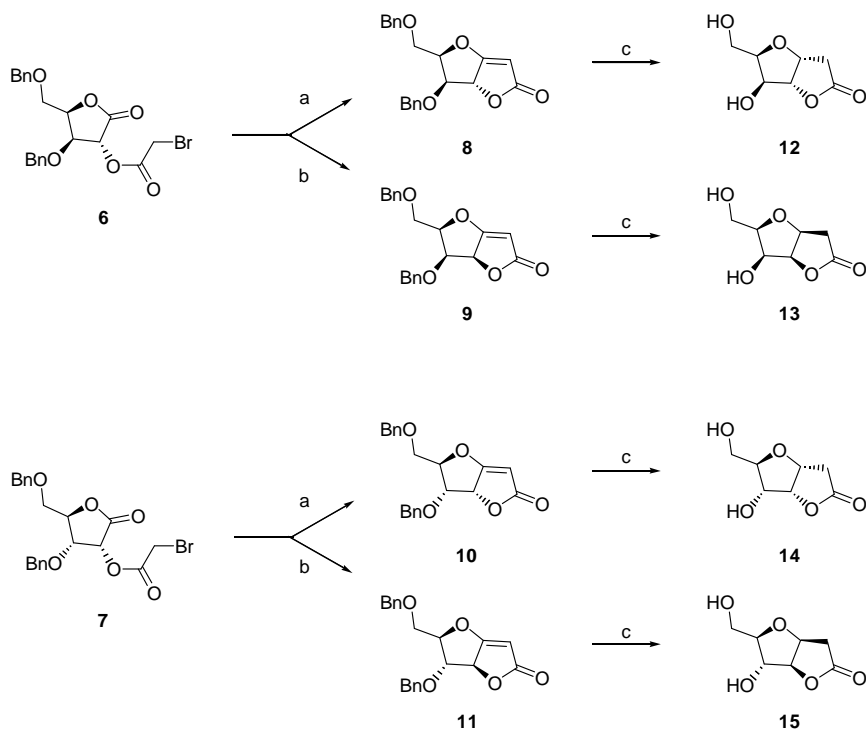


Shema 2.16. (a) BrCH_2COBr , Py, Et_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 4 h (**4** u **6**), 16 h (**5** u **7**).

Nakon toga su jedinjenja **6** i **7** izložena dejstvu trifenil-fosfina u acetonitrilu u prisustvu DBU. Jedinjenje **6** je izreagovalo za 15 minuta pri čemu je dobijen *D*-ksilo derivat **8**. Kada je derivat **6** reagovao pri istim reakcionim uslovima, u prisustvu viška DBU nastao je *D*-likso derivat **9**, kao glavni proizvod. Takodje, kada je jedinjenje **8** tretirano sa minimalnim količinama DBU nastaje smeša proizvoda **9** i **8** u odnosu 7:3 (*Shema 2.17.*).

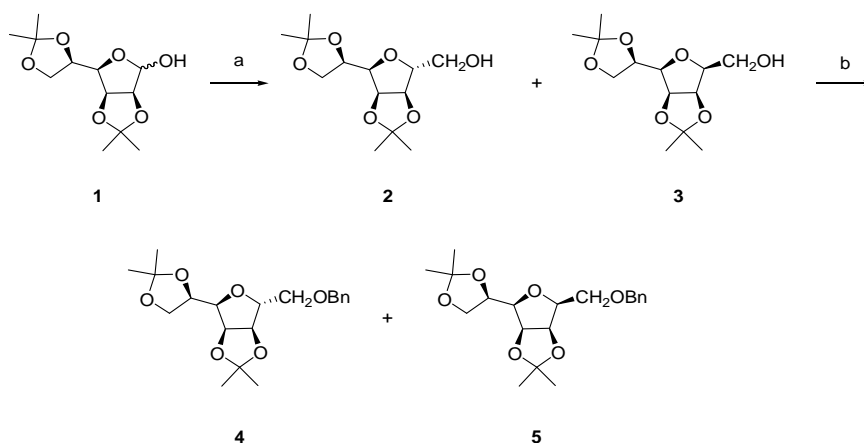
Kada je derivat **7** reagovao pri istim uslovima, dobijeni su vrlo slični rezultati, to jest, u prisustvu manje količine DBU dobija se *D-ribo* derivat **10**, dok u prisustvu viška DBU pretežno nastaje *D-arabino* derivat **11**, kao i 30% *D-ribo* derivata **10** (*Shema 2.17.*).

Potom su jedinjenja **8–11**, podvrgnuta katalitičkom hidrogenovanju, u prisustvu Pd/C kao katalizatora, pri čemu su dobijeni defenilovani stereoizomeri goniofufurona **12–15** u veoma dobrim prinosima (*Shema 2.17.*).



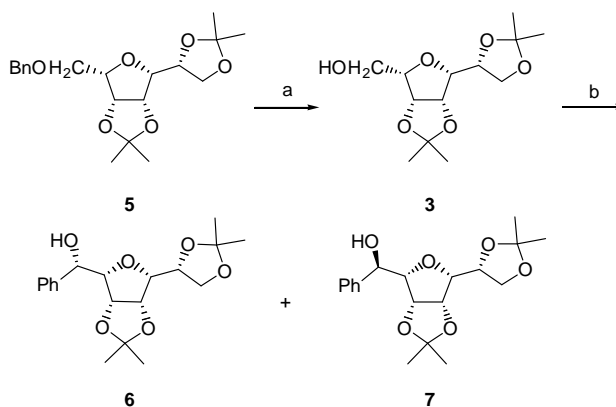
Shema 2.17. (a) Ph_3P , MeCN, potom DBU, $\uparrow\downarrow$, 15 ili 30 min; (b) Ph_3P , MeCN, potom DBU u višku, $\uparrow\downarrow$, 30 min; (c) H_2 , Pd/C, EtOAc, rt, (5 h za **12** i **15**; 16 h za **13** i **14**).

Grupa indijskih autora je 1999. godine ostvarila sintezu četiri nova analoga goniofufurona (molekuli **14**, **15**, **16** i **27**).³⁷ Kao polazno jedinjenje u sintezi analoga **14**, **15** i **16** (*Shema 2.20.*) poslužio je pogodno supstituisan derivat *D*-manoze (**1**; *Shema 2.18.*).



Shema 2.18. (a) TMSOI, NaH, DMSO, 0 °C, rt, 1 h; (b) BnBr, NaH, DMF, 0 °C, 0.5 h.

Reakcijom **1**⁴⁶ sa trimetilsulfonijum-jodidom dobijena je smeša diastereoizomera **2** i **3**, u odnosu 2:5 (¹H NMR), koju nije bilo moguće hromatografski razdvojiti.^{47,48} Međutim, njihovi *O*-benzil-derivati **4** i **5** su razdvojeni hromatografijom na koloni, a naknadno hidrogenovanje (H₂, Pd/C) benzil-derivata **5** dalo je željeni intermedijer **3** (Shema 2.18. i 2.19.).

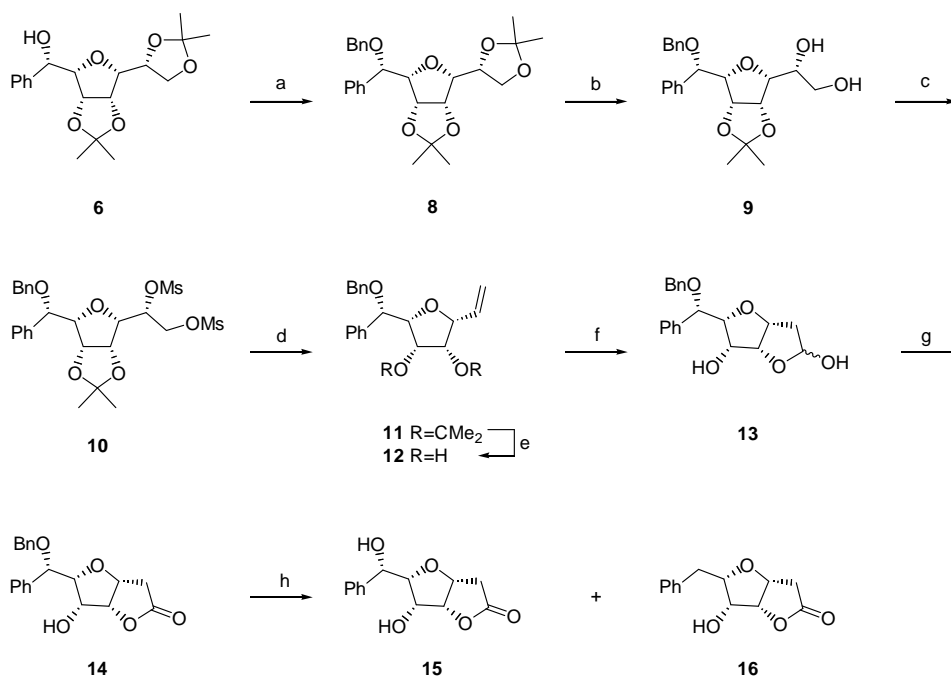


Shema 2.19. (a) Pd/C, MeOH, H₂, rt, 3 h; (b) (i) Oksalil-hlorid, DMSO, Et₃N, CH₂Cl₂, -78 °C, 1 h; (ii) PhMgBr, THF, -20 °C, 4 h.

Swern-ovom oksidacijom intermedijera **3** dobijen je odgovarajući aldehid, koji je bez prečišćavanja dalje tretiran sa fenilmagnezijum-bromidom u tetrahidrofuranu, na -20 °C, pri čemu je dobijena smeša stereoizomera **6** i **7** (Shema 2.19.).

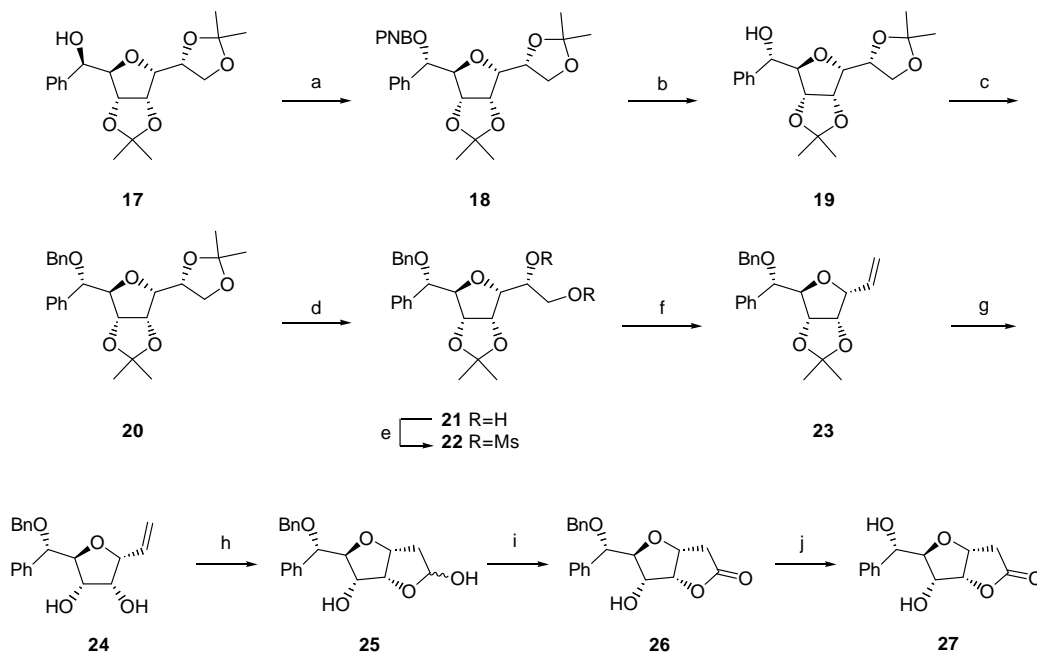
transo-Izomer **6** je zatim preveden u odgovarajući benzil-derivat **8**, koji je nakon hidrolitičkog uklanjanja izopropilidenske zaštite transformisan u diol **9**. Reakcija **9** sa metansulfonil-hloridom i trietilaminom dala je dimezilat **10**, koji je zatim dejstvom NaI u 2-butanonu preveden u željeni

olefin **11**. Olefin **11** je zatim transformisan u diol **12**, dejstvom 5% vodene H₂SO₄ u ključalom dioksanu. Oksidacijom olefina **12** sa gasovitim kiseonikom, u prisustvu katalitičkog sistema PdCl₂-CuCl (4:1 DMF/H₂O) dobijen je laktol **13**. Oksidacijom **13** sa PDC u ključalom dihlorometanu, dobijen je lakton **14**, koji je konačno preveden u finalni proizvod **15**, katalitičkom hidrogenolizom u prisustvu 10% Pd/C. Prilikom ove transformacije nastaje i 7-deoksigenovani derivat **16** kao sporedni proizvod (*Shema 2.20.*).



Shema 2.20. (a) BnBr, NaH, DMF, 0 °C, 0.5 h; (b) 60% aq. AcOH, rt, 12 h; (c) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0 °C, rt, 1 h; (d) NaI, 2-butanon, ↑↓, 12 h; (e) 5% aq. H₂SO₄, dioksan, ↑↓, 1.5 h; (f) PdCl₂, CuCl, DMF/H₂O (4:1), O₂, rt, 3 h; (g) PDC, CH₂Cl₂, ↑↓, 1.5 h; (h) 10% Pd/C, MeOH, H₂, rt, 2 h.

Sinteza diastereoizomera **27** sumirana je na *Shemi 2.21*. i polazi iz jedinjenja **17**, pri čemu je prvi korak bio inverzija konfiguracije na C-7, Mitsunobu-ovom reakcijom.

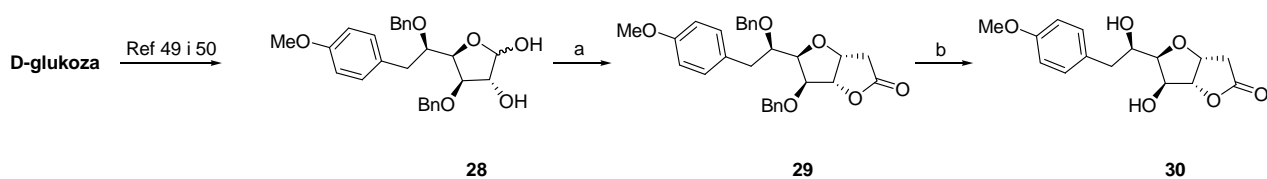


Shema 2.21. (a) DEAD, Ph_3P , PNBA, THF, 0 °C, rt, 6 h; (b) NaOMe, MeOH, rt, 1 h; (c) BnBr, NaH, DMF, 0 °C, 45 min.; (d) 60% aq AcOH, rt, 9 h; (e) MsCl, Et_3N , CH_2Cl_2 , 0 °C, rt, 0.5 h; (f) NaI, 2-butanon, $\uparrow\downarrow$, 12 h; (g) 5% aq H_2SO_4 , dioksan, $\uparrow\downarrow$, 1 h; (h) PdCl_2 , CuCl, DMF/ H_2O (4:1), O_2 , rt, 5 h; (i) PDC, CH_2Cl_2 , $\uparrow\downarrow$, 1.5 h; (j) 10% Pd/C, EtOAc, H_2 , rt, 1 h.

Reakcija **17**³⁵ sa dietilazodikarboksilatom, trifenil-fosfinom i *p*-nitrobenzoevom kiselinom daje (7*R*)-proizvod **18**. Transesterifikacijom jedinjenja **18** sa metanolom, u prisustvu katalitičkih količina NaOMe, dobijen je alkohol **19**. Intermedijer **19** je zatim benzilovan po standardnom postupku pri čemu se dobija benziletarski derivat **20**. Hidrolitičko uklanjanje izopropilidenske zaštite postignuto je dejstvom 60% AcOH pri čemu nastaje diol **21**, koji je u narednom koraku sa metansulfonil-hloridom dao dimezilat **22**. Ovo jedinjenje dalje reaguje sa NaI u 2-butanonu dajući vinil-derivat **23**, koji je zatim hidrolizovan sa vodenim rastvorom 5% H_2SO_4 u dioksanu, dajući diol **24** u visokom prinosu. Oksidativna ciklizacija **24**, katalizovana sa PdCl_2 i CuCl, predstavlja ključni korak u izgradnji laktola **25**. Njegovom oksidacijom sa PDC u CH_2Cl_2 nastaje lakton **26**. Finalno uklanjanje benziletarske zaštite iz laktona **26** (10% Pd/C) daje željeni (5*R*,7*S*)-diastereoizomer **27**.

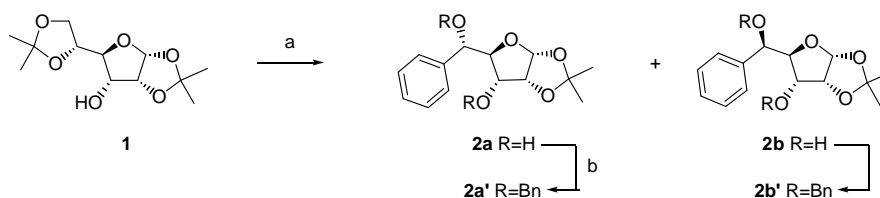
U istom radu³⁷ je opisana sinteza još jednog analoga goniofufurona (molekul **30**) koja je prikazana na *Shemi 2.22*. Kao polazno jedinjenje za ovu sintezu poslužila je D-glukoza, koja je prevedena u diacetonid-D-glukoze po standardnom postupku.⁴⁹ Diacetonid-D-glukoze je transformisan u diol **28** u sedam faza po literaturnom postupku.⁵⁰ Sledeći korak je podrazumevao Wittig-ovu olefinaciju

praćenu laktonizacijom, pri čemu je dobijen lakton **29**. Katalitičkom hidrogenolizom intermedijera **29** dobijen je analog **30**. Analizi **29** i **30** predstavljaju *homo* derivate prirodnog proizvoda **I**.



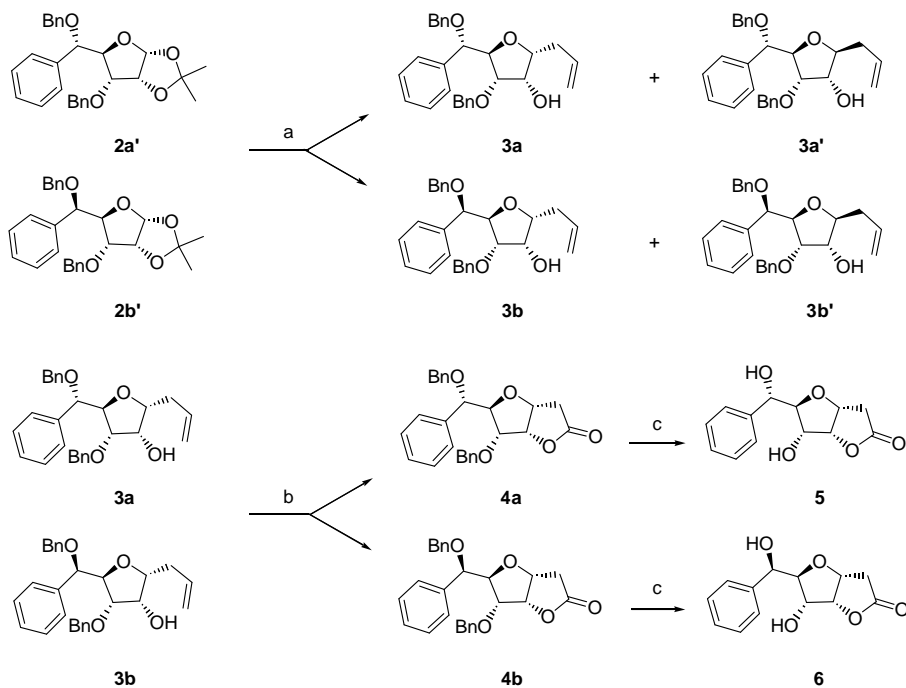
Shema 2.22. (a) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Et}$, MeOH, 0 °C, 4 h; (b) 10% Pd/C, MeOH, H_2 , rt, 3 h.

Noviji rad koji su objavili Hernandez-Garcia i saradnici 2009. godine opisuje sintezu analoga goniofufurona (**5** i **6**) polazeći iz 1,2:5,6-di-*O*-izopropiliden-D-alofuranoze **1** (Shema 2.23. i 2.24.).³⁸



Shema 2.23. (a) (i) H_5IO_6 , EtOAc, rt, 2 h; (ii) PhMgBr , THF, -30 °C, 6 h; (b) BnBr , NaH, THF, rt, 4 h.

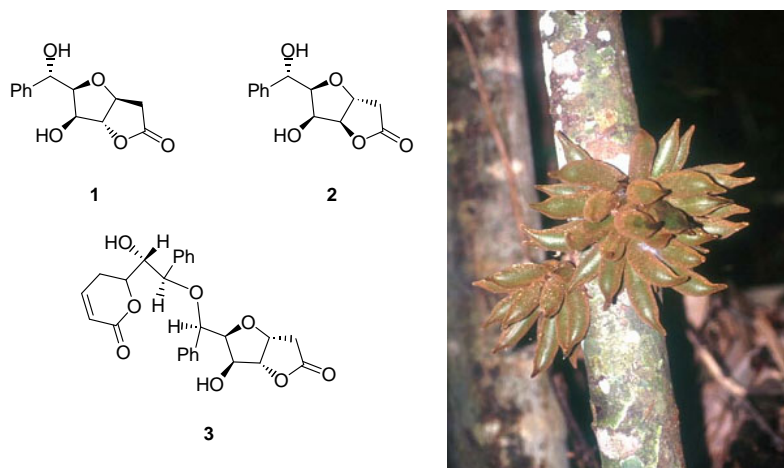
Furanozni derivati **2a** i **2b** dobijeni su iz **1** dvofaznom sekvencom.⁵¹ U prvom koraku izvršene su uzastopne reakcije hidrolize, oksidacije i Grignard-ove adicije, a zatim su hidroksilne grupe zaštićene u obliku benzil-etra.⁴⁰ U skladu sa Woerpel-ovim modelom, reakcije **2a'** i **2b'** sa aliltrimetilsilanom, u prisustvu $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$, daju **3a** i **3b** kao glavne proizvode. Laktonizacija **3a** i **3b** u **4a** i **4b** je ostvarena uzastopnim reakcijama dihidroksilacije, dehomologacije i oksidacije.³⁴ Konačnim hidrogenolitičkim debenzilovanjem **4a** i **4b**, u prisustvu $\text{Pd}(\text{OH})_2$, nastaju epimeri (+)-goniofufurona **5** i **6**.



Shema 2.24. (a) $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{SiMe}_3$, $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{rt}$, 4 h; (b) (i) OsO_4 , NMO, $\text{Me}_2\text{CO}/\text{H}_2\text{O}$, rt, 2 h; (ii) NaIO_4 , H_2O , rt, 1 h; (iii) PCC, CH_2Cl_2 , rt, 4 h; (c) H_2 , $\text{Pd}(\text{OH})_2$, MeOH, rt.

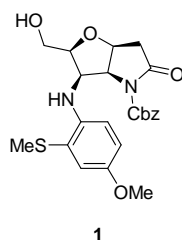
U nedavno objavljenim radovima^{52,53} kineske grupe naučnika opisani su novi stereoizomeri goniofufurona (molekuli **1** i **2**) koji su izolovani iz kore korena biljke *Goniothalamus cheliensis*.⁵² Iz iste biljke je izolovan i bis-stiril-lakton (**3**), nazvan goniolakton H (Shema 2.25.).⁵³

Jedinjenja **1** i **2** predstavljaju stereoizomere 7-*epi*-goniofufurona, i to jedinjenje **1** je C-3 epimer, a jedinjenje **2** je C-4 epimer. Sintaza ovih prirodnih proizvoda, kao ni biološka aktivnost jedinjenja **1** i **2**, kao i bis-stiril-laktone **3** još uvek nije objavljena u literaturi. Jedinjenje **1** dobilo je naziv heliensin A, dok je jedinjenje **2** nazvano heliensin B (Shema 2.25.).



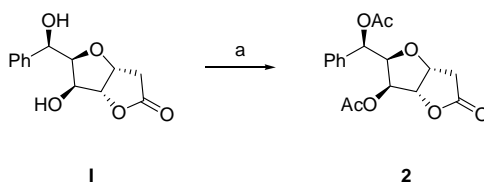
Shema 2.25. Strukture izolovanih jedinjenja: heliensin A (1), heliensin B (2) i goniolakton H (3). Slika biljke *Goniotalamus cheliensis*.

Pored ovih analoga, u istoj godini grupa italijanskih naučnika je objavila rad koji opisuje sintezu jedinjenja (1), koje po strukturnim karakteristikama odgovara aza-analogu defenilovanog goniofufurona (Shema 2.26.).⁵⁴



Shema 2.26. Struktura sintetizovanog aza-analoga.

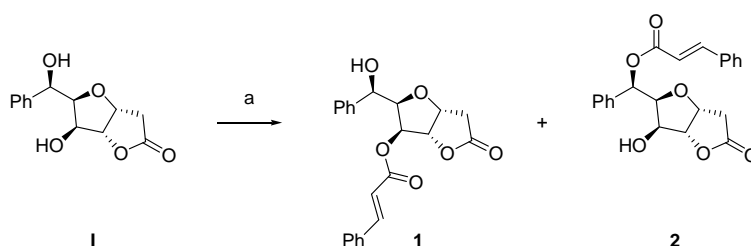
Kao što je ranije već pomenuto veoma interesantne analoge predstavljaju jedinjenja koja imaju esterifikovane hidroksilne grupe u položaju C-5 i/ili C-7. Prvi estarski analog (+)-goniofufurona objavili su McLaughlin i saradnici u istom radu u kojem su objavili i izolaciju (+)-goniofufurona.²⁰



Shema 2.27. Semisinteza diacetil-goniofufurona: (a) Ac_2O , Py, rt, 24 h.

Naime, diacetil-goniofufuron je dobijen semisintezom polazeći od izolovanog goniofufurona. Acetilovanje je uradjeno primenom standardnog postupka, dejstvom Ac_2O u piridinu. Reakcija je na sobnoj temperaturi trajala 24 h (*Shema 2.27.*).

Pored ovog analoga od pre sedam godina je poznata grupa jedinjenja koja imaju cinamoatne estarske funkcije, a takodje poseduju i furano-furanonski skelet goniofufurona. Ova jedinjenja je izolovala grupa tajlandskih naučnika iz etil-acetatnog ekstrakta biljke *Polyalthia crassa*.⁵⁵ Ova jedinjenja su poznata pod nazivom krasalaktoni B i C. Krasalakton B predstavlja 5-*O*-cinamoil-(+)-goniofufuron (**1**), dok je krasalakton C 7-*O*-cinamoil-(+)-goniofufuron (**2**) (*Shema 2.28.*).



Shema 2.28. Semisinteza krasalaktona B i C: (a) cinamoil-hlorid, Et_3N , DMAP, rt, 4 h.

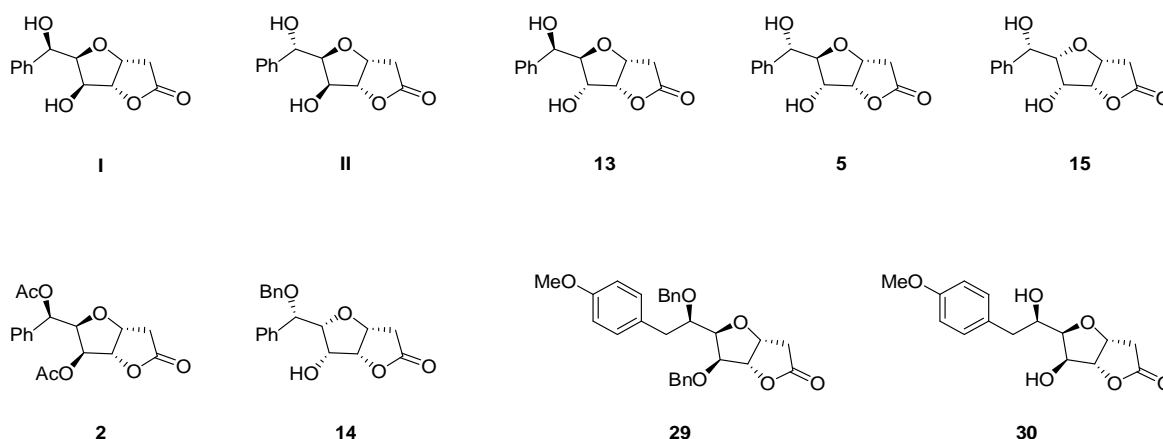
Pored izolacije i karakterizacije, ova grupa naučnika je i sintetizovala krasalaktone B i C polazeći iz prirodnog (+)-goniofufurona (**I**). Esterifikacijom **I** u prisustvu cinamoil-hlorida, trietilamina i dimetilamino-piridina, na sobnoj temperaturi u toku 4 h, dobijeni su proizvodi **1** i **2** u prinosu od 13 i 12% (*Shema 2.28.*). Prva totalna sinteza krasalaktona C uradjena je u našoj laboratoriji,⁵⁶ samo godinu dana nakon što je objavljena njegova izolacija.

2.4. Antiproliferativna aktivnost analoga goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona

Veliki broj radova koji se odnosi na sintezu, semisintezu ili izolaciju stiril-laktone i analoga sadrži skromne ili uopšte nema objavljene rezultate bioloških ispitivanja. Ipak, za odabrana jedinjenja su objavljeni rezultati biološke aktivnosti od kojih su nama najzanimljivija ispitivanja antiproliferativne aktivnosti. Strukture testiranih jedinjenja prikazane su na *Shemi 2.29*, dok su IC_{50} odgovarajuće vrednosti prikazane u *Tabeli 2.1*.

Kao što iz tabele vidi, (+)-goniofufuron (**I**) pokazuje značajnu antiproliferativnu aktivnost samo na humani karcinom pluća (A549). Prirodni proizvod **II** je bio praktično neaktivan prema ćelijama humanog kancera pluća (A549), dojke (MCF-7), i debelog creva (HT-29),²¹ dok je analog **13** pokazao signifikantnu citotoksičnost prema ćelijama HT-29 ($\text{IC}_{50}=5.7 \mu\text{M}$).³⁷ Analozii **14** i **15** su

pokazali citotoksičnu aktivnost prema humanom melanomu (LOX). Analog **14** je bio aktivniji prema ćelijama adriamicin-rezistentnog humanog kancera dojke (NCI-ADR) od analoga **5**, **15**, **29** i **30**.³⁷ Diacetil-goniofufuron **2** je takodje bio manje aktivan nego goniofufuron prema svim testiranim ćelijskim linijama. Ovi rezultati su ukazali da promena stereohemije na centrima C-5, C-6 i C-7 nije doprinela značajnom povećanju citotoksičnosti prema ispitivanim ćelijskim linijama (Tabela 2.1.). Takodje, *homo* derivati **29** i **30** su pokazali slabiju aktivnost od prirodnog proizvoda **I**.



Shema 2.29. Strukture goniofufurona i analoga čije su IC₅₀ prikazane u Tabeli 2.1.

Tabela 2.1. *In vitro* citotoksična aktivnost serije furano-furanonskih stiril-laktone prema odabranim malignim ćelijskim linijama.⁵⁷

Ćelijske linije ^b	IC ₅₀ ^a (μM) supstanci									
	I	II	13	5	15	2	14	29	30	Adriamicin
HT-29	>10 ^d	>100 ^f	5.7 ^e	>100 ^{g,h}	5.7 ^{g,h}	37.0 ^d	9.2 ^{g,h}	65.0 ^{g,h}	>100 ^{g,h}	>100 ^{g,h}
MCF-7	>10 ^d	49.1 ^f	>100 ^e	>100 ^{g,h}	75.7 ^{g,h}	29.6 ^d	93.1 ^{g,h}	64.9 ^{g,h}	72.2 ^{g,h}	72.2 ^{g,h}
P-338	>100 ^e	--	--	--	--	--	--	--	--	--
A549	4.8 ^d	85.5 ^f	--	--	--	33.6 ^d	--	--	--	--
DU-145	--	--	>100 ^e	>100 ^{g,h}	57.9 ^{g,h}	--	91.9 ^{g,h}	82.6 ^{g,h}	>100 ^{g,h}	>100 ^{g,h}
LOX	--	--	>100 ^e	>100 ^{g,h}	4.1 ^{g,h}	--	5.5 ^{g,h}	29.4 ^{g,h}	>100 ^{g,h}	>100 ^{g,h}
U251	--	--	>100 ^e	>100 ^{g,h}	60.1 ^{g,h}	--	66.8 ^{g,h}	89.3 ^{g,h}	>100 ^{g,h}	>100 ^{g,h}
NCI-ADR ^c	--	--	--	>100 ^{g,h}	>100 ^{g,h}	--	19.8 ^{g,h}	27.0 ^{g,h}	82.5 ^{g,h}	82.5 ^{g,h}

-- Vrednost nije data ili nije određena citotoksična aktivnost. ^aIC₅₀ predstavlja koncentraciju supstance koja inhibira rast ispitivanih ćelija za 50%. ^bĆelijske linije: HT-29 (adenokarcinom debelog creva); MCF-7 (adenokarcinom dojke); P-338 (leukemija miša); A549 (humani karcinom pluća); DU-145 (humani kancer prostate); LOX (humani melanom); U251 (humani kancer glioblastoma) i NCI-ADR (humane kancer ćelije dojke koje ispoljavaju adriamicin-rezistentan fenotip). ^cOva ćelijska linija je originalno označena kao MCF-7/ADR.³⁷ ^{d-g}IC₅₀ vrednosti su originalno izražene u μg/mL (ref. 20^d, 57^e, 21^f, 37^g). ^hOve vrednosti su originalno objavljene kao IG₅₀.³⁷

2.5. Mehanizmi antitumorskog dejstva stiril-laktone

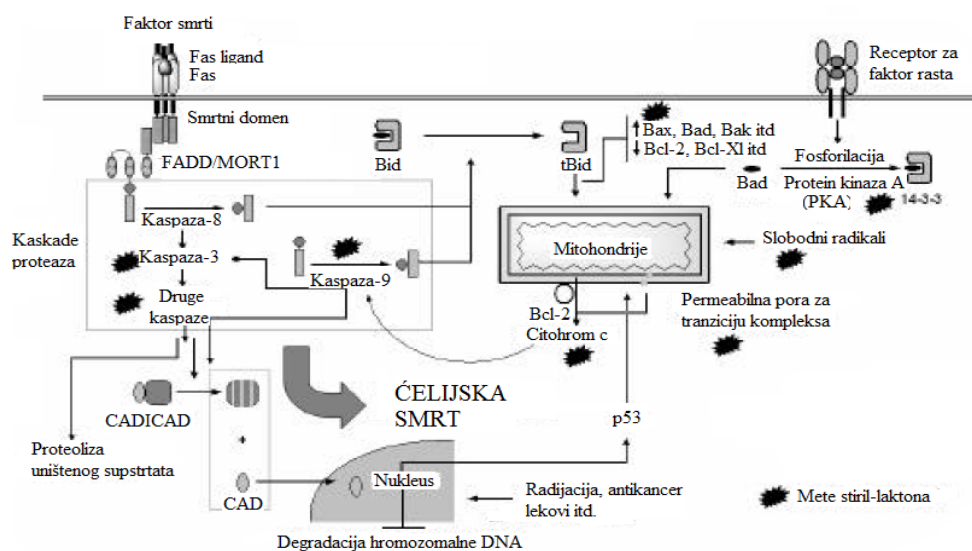
Kada je otkriveno da stiril-laktone ispoljavaju jaku antiproliferativnu aktivnost započeti su intenzivni radovi usmereni na otkrivanje mehanizama njihovog biološkog dejstva.

Najsveobuhvatniji pregled biološke aktivnosti i mehanizama delovanja stiril-laktona dali su de Fatima i saradnici⁵⁷ u revijalnom radu iz 2006. godine.

Iako još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni svi načini antitumorskog delovanja stiril-laktona, ipak zna se da oni mogu izazvati sledeće biološke efekte: indukcija apoptoze, indukcija oksidativnog stresa, regulacija ćelijskog ciklusa, modulacija enzimske aktivnosti i regulacija genske ekspresije molekula koji učestvuju u ćelijskoj adheziji.

Indukcija apoptoze

Poznato je da postoje dva načina ćelijske smrti: nekroza koja nastaje usled nekog spoljnog faktora i apoptoza koja nastaje usled nekog unutrašnjeg i/ili spoljnog faktora i predstavlja „programiranu“ smrt ćelije. Sama apoptoza, iako je dugo poznata, još uvek nije u potpunosti razjašnjena. Naročito su nejasni signalni putevi preko kojih dolazi do njenog aktiviranja. Zsigurno se zna da je ceo proces kontrolisan kompleksnim proteinima.⁵⁸ Put apoptoze i ciljna mesta na kojima deluju stiril-laktone prikazani su na *Shemi 2.30*.



Shema 2.30. Shematski prikaz puteva apoptoze i ciljnih mesta stiril-laktone.⁵⁷

Postoje dva osnovna puta koja dovode do apoptoze: citoplazmatični i mitohondrijalni put.

Citoplazmatični put se aktivira preko “Fas death” receptora (tzv. Apo-1 ili CD95), koji su članovi superfamilije receptora tumorskih faktora nekroze (eng. *tumor necrosis factor*, TNF).^{59,60} Fas ligandi se vezuju za Fas receptor izazivajući trimerizaciju. Zatim dolazi do prenosa tog trimera u citoplazmu, gde se on vezuje za pro-kaspazu-8 (preko kompleksa FADD/MORT1) koja zatim prelazi u kaspazu-8. Ova kaspaza može da aktivira pro-kaspazu-3 i ostale (kaspaza-7). Kaspaza-3 dovodi do raskidanja kompleksa CAD-ICAD. Ovaj kompleks se sastoji od CAD (*caspase-activated*

DNase) i ICAD (*inhibitor caspase-activated DNase*). Kada se CAD odvoji, prolazi kroz jedrovanu membranu i uzrokuje degradaciju hromozomske DNA.

Druga mogućnost aktiviranja citoplazmatičnog puta teče preko Bid-a (pro-apoptički protein). Ovaj protein se aktivira dejstvom kaspaze-8. Nastaje tBid koji prelazi u mitohondrije i dovodi do oslobađanja citohroma C u citosol. Oslobođeni citohrom C dovodi do aktivacije signala ćelijske smrti. Ova mogućnost predstavlja spregu između citoplazmatičnog i mitohondrijalnog puta.

Mitohondrijalni put apoptoze se aktivira dejstvom genotoksičnih antitumorskih lekova. Ovde je apoptoza kontrolisana nivoom različitih biomolekula iz Bcl-2 familije.⁶¹ Ovu familiju sačinjavaju pro-apoptički molekuli (Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim i Hrk) i anti-apoptički molekuli (Bcl-2, Bcl-X1, Bcl-W, Bfl-1 i Mcl-1). Anti-apoptički molekuli blokiraju oslobađanje citohroma C, dok ga pro-apoptički molekuli promovišu. Ovaj efekat više zavisi od balansa Bcl-2 i Bax, nego od pojedinačnih količina ovih jedinjenja.⁶¹ Rastući nivo promotera apoptoze (Bax i Bcl-XS) dovodi do apoptoze, dok rastući nivo inhibitora (Bcl-2 i Bcl-XL) dovodi do rezistencije ćelije na apoptozu.^{62,63}

Saglasno *Shemi* 2.25, detaljna ispitivanja mehanizma biološkog dejstva (*R*)-goniotalamina su pokazala da ovaj molekul indukuje apoptozu Jurkat T i MCF-7 ćelija, aktivirajući kaspazu-3 i 7, uz naknadno otpuštanje citohroma C u citosol.^{64,65} Pored toga, tretman MCF-7 ćelija (*R*)-goniotalaminom nije dovodio do aktivacije inicijatorne kaspaze-8.⁶⁵ Istraživanja koja su izvedena na ćelijama HL-60, pokazala su da se (*R*)-goniotalaminom indukovana apoptoza dešava pod uticajem aktivacije kaspaze-9 što vodi do gubitka potencijala ($\Delta\Psi_m$) mitohondrijalne membrane.⁶⁶ Takodje je dokazano da (*R*)-goniotalamin može regulisati ekspresiju Bax-a povećanjem nivoa pro-apoptičkog Bax proteina. U stvari, (*R*)-goniotalamin je imao mali uticaj na ekspresiju anti-apoptičkog Bcl-2. Proizilazi dakle, da pro-apoptički proteini Bcl-2 familije zaista učestvuju u apoptozu indukovanoj stiril-laktonima.⁶⁷

Indukcija oksidativnog stresa

Redoks-status ima važnu ulogu u ćelijskom preživljavanju i u ćelijskoj smrti.^{68,69} Dok se visoka produkcija H₂O₂ u ćelijama nekih kancera dešava da bi pospešila njihovu proliferaciju, količine H₂O₂ iznad odredjenih granica mogu uzrokovati zaustavljanje ćelijskog ciklusa i/ili apoptozu.⁶⁸ (*R*)-Goniotalamin je sposoban da generiše visoke nivoe reaktivnih kiseoničnih vrsta (eng. *Reactive oxygen species*, ROS) u ranoj fazi procesa apoptoze. Takodje, (*R*)-goniotalamin uzrokuje brzo smanjenje intracelularnog nivoa tiola u ćelijama humanog kancera dojke (MDA-MB-231) na koncentraciono- i vremenski- zavisani način.⁷⁰

Regulacija ćelijskog ciklusa

Primećena je regulacija aktivnosti tirozin fosfataze prilikom tretiranja ćelija humanog tumora dojke (MDA-MB-231) sa (*R*)-goniotalaminom.⁷⁰ Usled ove regulacije nastaje višak faktora p53 (tumor supresor protein), koji se akumulira i izaziva oslobađanje citohroma C iz mitohondrija u citosol, što dovodi do apoptoze tumorskih ćelija (*Shema 2.30.*).

Modulacija enzimske aktivnosti

Stiril-laktone izolovani iz familije *Annonaceae* mogu uticati na aktivnost enzima kao inhibitori ili kao aktivatori. Primer za to je njihova sposobnost da inhibiraju DNA topoizomeraze u različitim tumorskim ćelijskim linijama.

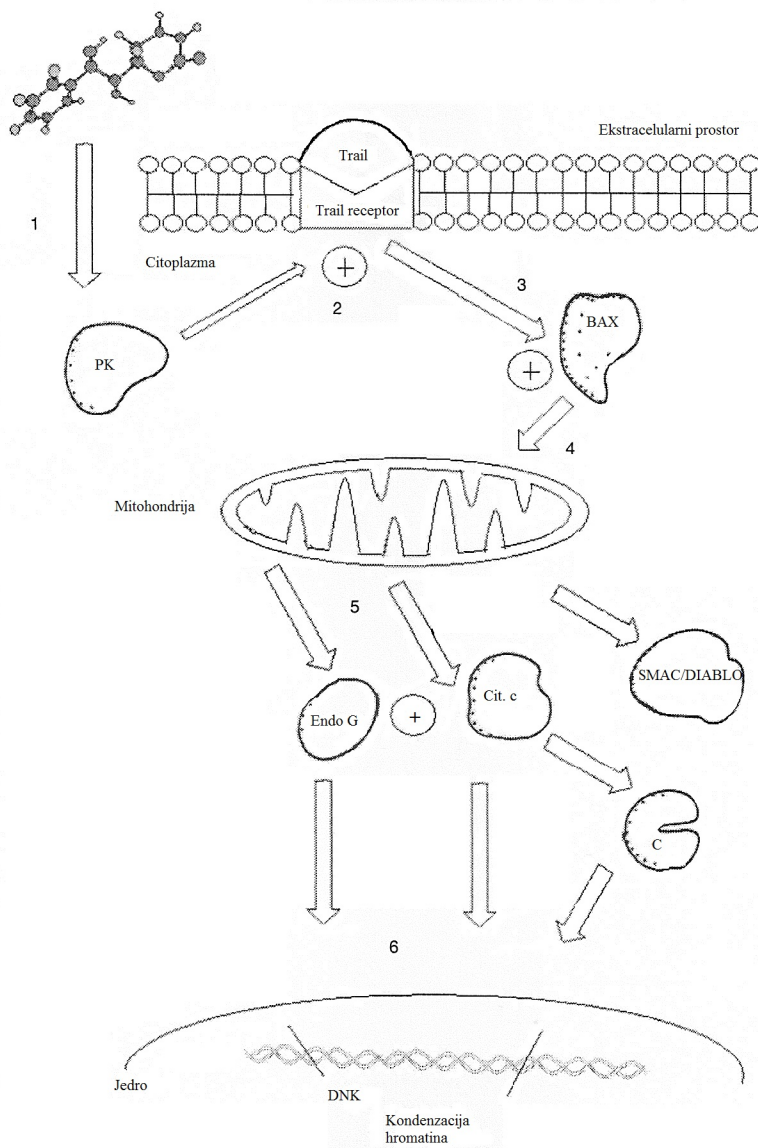
Regulacija genske ekspresije molekula koji učestvuju u ćelijskoj adheziji

Ovaj efekat stiril-laktone određuje njihovu antiinflamatornu i imunosupresivnu aktivnost. Intercelularni adhezioni molekul-1 (ICAM-1) je imunoglobulin koji se sintetizuje u različitim ćelijama, uključujući endotelne ćelije i leukocite.⁷¹ Interakcija između ICAM-1 i liganda LFA-1 ima značajnu ulogu u inflamatornom procesu i aktiviranju odbrane T ćelijama.

Vaskularni ćelijski adhezioni molekul-1 (VCAM-1) prepoznaje svoj ligand (VLA-4) koji nastaje u svim leukocitima sem neutrofila. Ove interakcije su izuzetno značajne za opšti imunološki odgovor organizma. Sposobnost (*R*)-goniotalamina da smanji produkciju ICAM-1 i VCAM-1 utiče na ćelijsku komunikaciju.

Blokiranjem normalnih interakcija između ćelija dolazi do poremećaja u imunološkom odgovoru organizma, što se može iskoristiti kod svih stanja organizma kada je potrebno smanjiti imunološki odgovor. To omogućava primenu ovih jedinjenja u različitim inflamatornim procesima kao što su odbacivanje transplantata, alergijski rinitis, astma i sl.⁷¹

Wart je dao odličan prikaz mogućeg mehanizma delovanja stiril-laktone (*Shema 2.31.*), koji je veoma sličan prethodno prikazanom mehanizmu.⁶ Kao što se sa sheme može videti, stiril-laktone aktiviraju enzimsku kaskadu koja dovodi do gubitka transmembranskog potencijala mitohondrijalne membrane i do oslobađanja mitohondrijalnog citohroma C.⁶⁶ Iako ovaj mehanizam do danas još uvek nije u potpunosti razjašnjen, zna se da je aktivacija enzima kaspaza 3, 6, 7 i 9 u vezi sa receptorima koji se nazivaju TRAIL (*eng. tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*).⁷² Odavno je poznato da su protein kinaze uključene u rast i proliferaciju ćelija, a Wang i saradnici su dokazali da su protein kinaze uključene u apoptozu preko TRAIL receptora.⁷³



Shema 2.31. Pretpostavljeni mehanizam delovanja prirodnih stiril-laktona po Wiart-u. (1) stiril-laktoni interaguju sa ćelijskim kinazama; (2) kinaze posreduju u TRAIL indukciji apoptoze; (3) TRAIL indukuje translokaciju Bax-a do mitohondrija; (4 i 5) oslobađanje citohroma C (Cit. C) i aktivacija kaspaza, SMAC/DIABLO, Endo G; (6) kondenzacija hromatina i ćelijska smrt.⁶

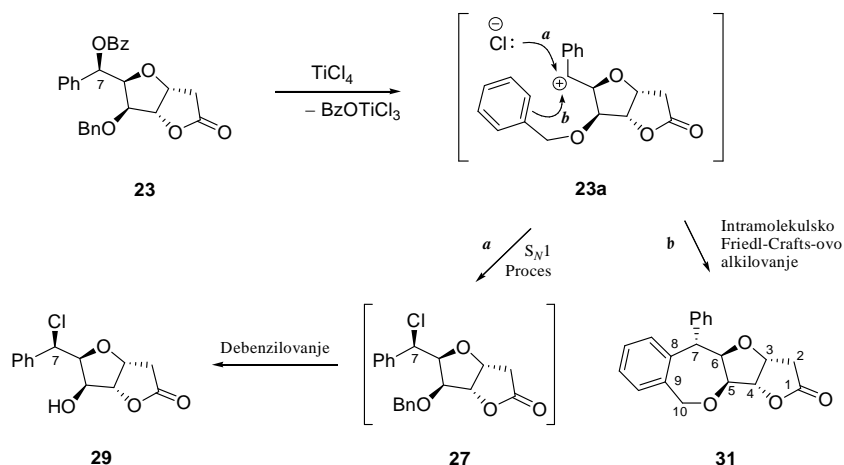
Mogući mehanizam po Wiart-u podrazumeva apoptozu indukovanu aktivacijom TRAIL receptora posredovanu sa cAMP-zavisnim protein kinazama. Odnosno stiril-laktoni interaguju sa celularnim protein kinazama, koje potom deluju na TRAIL receptore. Ova stimulacija TRAIL receptora će uzrokovati prelazak Bax-a iz citosola u mitohondriju, pri čemu se gubi mitohondrijalni transmembranski potencijal, što dovodi do oslobađanja citohroma C i aktiviranja kaspaza, SMAC/DIABLO i Endo G, a na kraju dolazi do propadanja hromatina i do ćelijske smrti.

Obzirom na prethodno pomenute činjenice možemo zaključiti da modulatori protein kinaza kao što su stiril-laktoni imaju ogroman terapijski potencijal.

3. NAŠI RADOVI

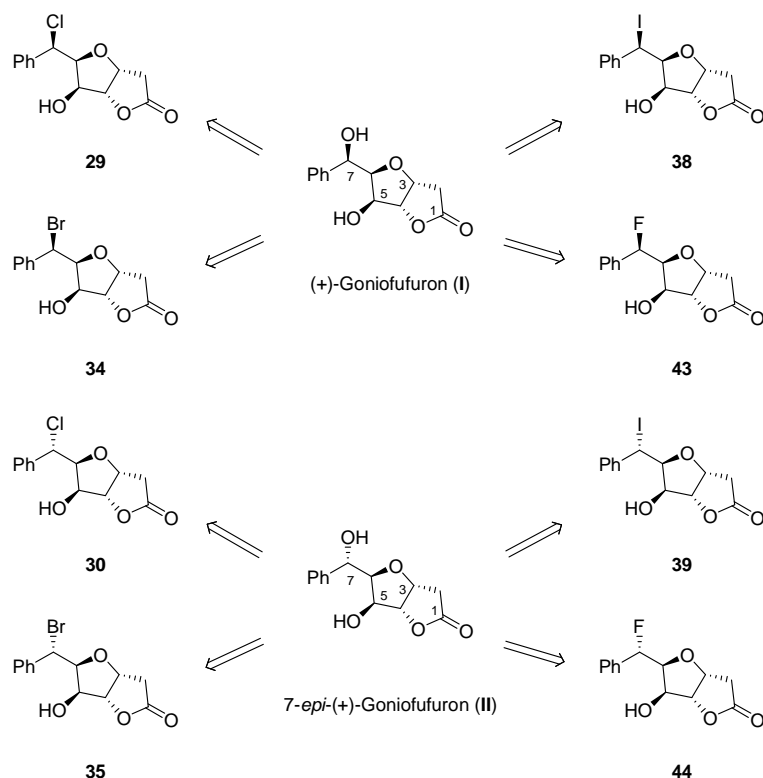
3.1. Dizajn izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona

Naša prethodna istraživanja koja su bila usmerena na dobijanje prirodnog proizvoda (+)-goniofufurona **I**, dovela su nas do direktne hloridne izostere (+)-goniofufurona **29** (Shema 3.1.1.).³¹ Naime, u pretposlednjoj fazi sinteze planirano je uklanjanje benzilne zaštitne grupe u molekulu **23**, primenom TiCl_4 . Međutim, umesto željenog proizvoda 7-*O*-benzoil-(+)-goniofufurona, dobijena je hloridna izostera **29**. U toj reakciji takodje je dobijen i *C*-7 epimer **30**, tj. hloridna izostera 7-*epi*-(+)-goniofufurona (Shema 3.1.2.) i mala količina benzoksepana **31**, koji najverovatnije nastaje intramolekulskom Friedel-Crafts-ovom reakcijom.



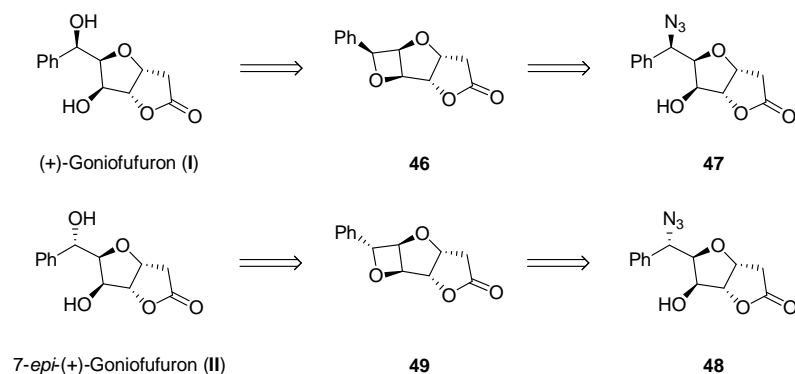
Shema 3.1.1. Reakcija jedinjenja **23** sa titanijum(IV)-hloridom.

Preliminarni biološki testovi su pokazali da hloridne izostere **29** i **30** inhibiraju rast pojedinih tumorskih ćelija pa su dizajnirane halogenidne izostere (+)-goniofufurona **I** i 7-*epi*-(+)-goniofufurona **II** sa bromidnim, jodidnim i fluoridnim funkcijama na *C*-7 (Shema 3.1.2.). Zbog toga je planirano proučavanje reakcije jedinjenja **23** sa TiBr_4 , TiI_4 i TiF_4 .



Shema 3.1.2. Dizajn halogenidnih analoga (+)-goniofufurona i 7-epi-(+)-goniofufurona izosternom varijacijom.

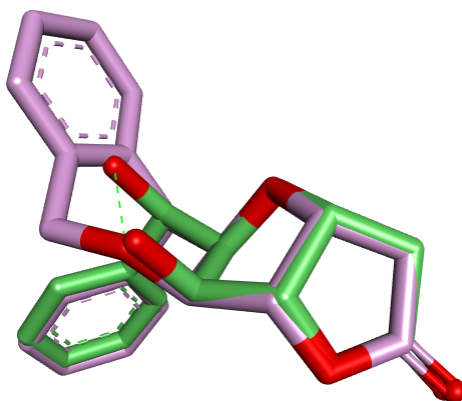
U cilju dobijanja pseudo-halogenidnih izostera, dizajnirani su azidni analozi (**47** i **48**) prirodnih proizvoda **I** i **II**. Pri tome je pretpostavljeno da se izostere **47** i **48** mogu dobiti nukleofilnim otvaranjem oksetanskog prstena 5,7-anhidro-derivata (+)-goniofufurona i 7-epi-(+)-goniofufurona sa trimetilsilil-azidom u prisustvu Lewis-ove kiseline (Shema 3.1.3.).



Shema 3.1.3. Dizajn azidnih izostera (+)-goniofufurona i 7-epi-(+)-goniofufurona.

Pored halogenidnih i pseudo-halogenidnih analoga dizajnirane su bioizostere (+)-goniofufurona primenom strategije otvaranja i zatvaranja benzoksepankog prstena molekula **31** (*Shema 3.1.4.*).⁷⁴

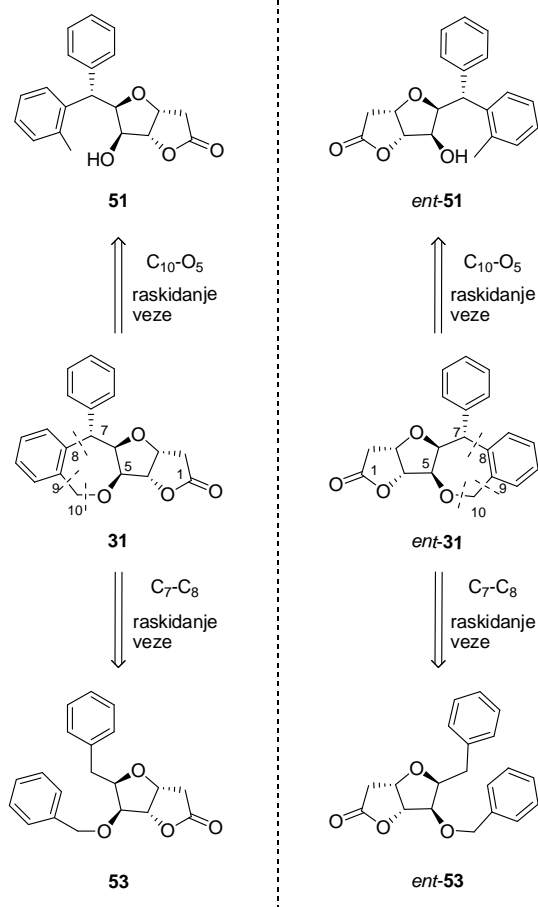
Naime, kao što se sa *Slike 3.1.1.* može videti benzoksepan **31** (roze boje) predstavlja konformaciono krut analog (+)-goniofufurona **I** (zelene boje), pa je i njegova sinteza bila poželjna i opravdana. Takodje, poznato je da prirodni (+)-goniofufuron ima ograničenu rotaciju oko C₆-C₇ veze zbog formiranja vodonične veze izmedju 5-OH i 7-OH, što je potvrđeno i rendgeno-strukturnom analizom monokristala.²⁰ Superponiranjem struktura, dobijenih rendgeno-strukturnom analizom, osnovnog molekula **I** i analoga **31** ustanovljeno je da postoji izuzetno dobro preklapanje ove dve strukture u furano-furanonskom segmentu, kao i kod stiril-laktonskih funkcionalnih grupa.*



Slika 3.1.1. Superponirane strukture (+)-goniofufurona **I** (zelena) i benzoksepana **31** (roza). Svetlozelena isprekidana linija predstavlja intramolekulsku H-vezu u prirodnom proizvodu **I**.

Potom je benzoksepan, koji je dizajniran metodom zatvaranja prstena, poslužio kao osnov za dobijanje novih bioizostera prirodnog proizvoda (+)-goniofufurona. Otvaranje oksepanskog prstena u položaju C₁₀-O₅ planirano je da se uradi direktnim hidrogenovanjem **31** pri čemu bi se dobio jedan od otvorenih analoga, molekul **51**. Drugi otvoreni analog **53** dizajniran je formalnim raskidanjem veze u položaju C₇-C₈ sedmočlanog prstena.

* *Slika 3.1.1.* je dobijena primenom „Molecular Overlay“ opcije programa Accelrys Discovery Studio Visualizer v 3.1, koji automatski daje optimalno preklapanje.



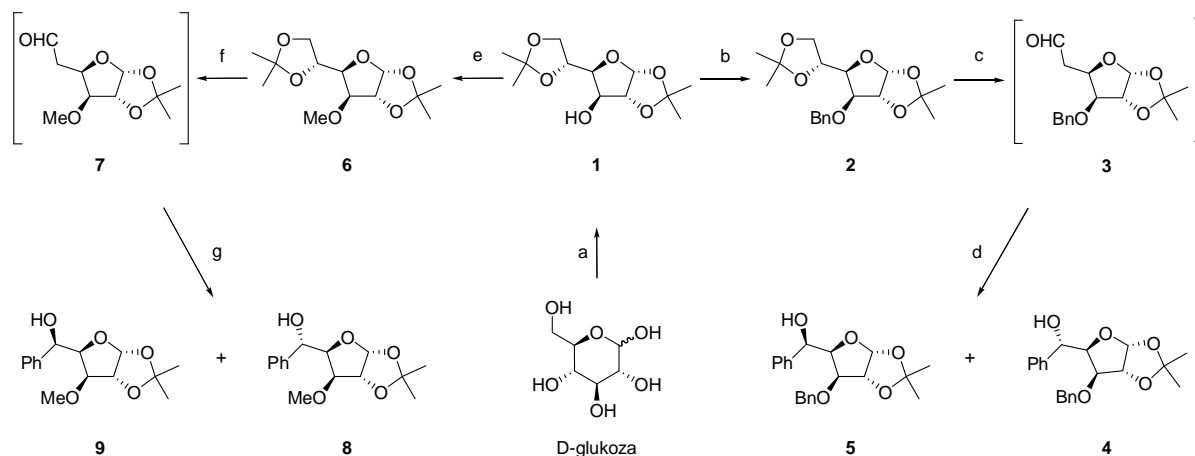
Shema 3.1.4. Dizajn bioizostera (+)-goniofufurona i (–)-goniofufurona.

Pošto je poznato da enantiomeri mogu da ispoljavaju potpuno drugačiju biološku aktivnost od svog suprotnog para, dizajnirali smo i suprotne enantiomere od određenih analoga radi upoređivanja njihove antiproliferativne aktivnosti (Shema 3.1.4.). Obzirom da se ova jedinjenja ne mogu dobiti direktno iz **31**, za njihovo dobijanje su planirani višefazni sintetički putevi koji će detaljno biti diskutovani u tekstu koji sledi.

3.2. Sinteza izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona

Sinteza početnih intermedijera

Sinteza početnih intermedijera **4**, **5**, **8** i **9** polazi iz D-glukoze, koja po svojim hiralnim i topološkim karakteristikama predstavlja najpogodniji monosaharid za dobijanje potrebnih derivata (*Shema 3.2.1.*).



Shema 3.2.1. (a) cc H₂SO₄, anh. Me₂CO, ≤10 °C→rt, 5 h, 44%; (b) BnBr, NaH, anh. DMF, 0 °C→rt, 2 h, 91%; (c) H₅IO₆, anh. EtOAc, rt, 1.5 h; (d) PhMgBr/THF, anh. toluen, 0 °C, 4.5 h, **4** 66%, **5** 9%; (e) MeI, NaH, anh. DMF, 0 °C→rt, 2 h, 75%; (f) H₅IO₆, anh. EtOAc, rt, 1.5 h; (g) PhMgBr/THF, anh. toluen, 0 °C, 5 h, **8** 56%, **9** 6%.

Reakcija D-glukoze sa koncentrovanom sumpornom kiselinom u anhidrovanom acetonu, pri čemu se temperatura postepeno povećavala od 5–10 °C do sobne temperature, u toku 5 h, dobijena je 1,2:5,6-di-*O*-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (**1**) u prinosu od 44% (*Shema 3.2.1.*). Diacetonid glukoze **1** je poznato jedinjenje, a njegove fizičke konstante i spektroskopski podaci su u dobroj saglasnosti sa literaturnim podacima.⁷⁵

U cilju zaštite slobodne hidroksilne grupe u položaju C-3, jedinjenje **1** je podvrgnuto reakciji sa benzil-bromidom, u anhidrovanom DMF, u prisustvu natrijum-hidrida (0 °C→rt, 2 h), pri čemu je dobijen poznati 3-*O*-benzil-derivat **2** u prinosu od 91%. Spektroskopski podaci ovog jedinjenja i vrednost njegove optičke rotacije takodje su u dobroj saglasnosti sa podacima u literaturi.⁷⁶

Naredna etapa bila je selektivno uklanjanje 5,6-*O*-izopropilidenske zaštite diacetonida **2**, praćeno sukcesivnim glikolnim raskidanjem 5,6-diolne funkcije. Ovo je postignuto u jednoj fazi, dejstvom periodne kiseline u anhidrovanom EtOAc (rt, 1.5 h), pri čemu je dobijen aldehid **3**, koji je bez prečišćavanja dalje tretiran fenilmagnezijum-bromidom dajući stereoizomerne alkohole **4** i **5**.

Grignard-ova reakcija aldehida **3** u smeši anhidrovanog toluena i THF (5:1), na 0 °C, u toku 4.5 h, dala je stereoizomerne alkohole **4** i **5** u približnom međusobnom odnosu 7:1. Dominantni stereoizomer **4** izolovan je u prinosu od 66% dok je minorni stereoizomer **5** dobijen u prinosu od 9%. Pored željenih proizvoda izolovana je i manja količina neizreagovanog aldehida **3** (3%). Ovako

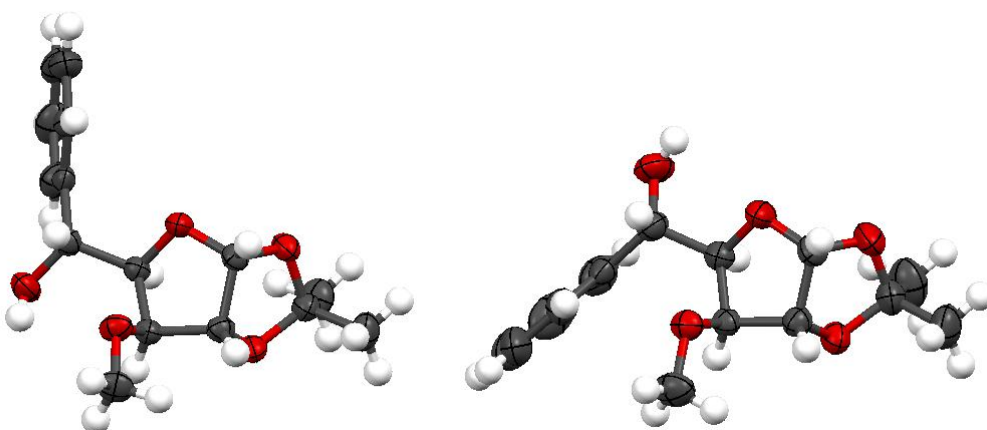
dobijeni alkoholi u potpunosti su okarakterisani, a dobijeni podaci su bili u dobroj saglasnosti sa literaturnim podacima.⁷⁷

Reakcijom jedinjenja **1** sa metil-jodidom, u anhidrovanom DMF, u prisustvu natrijum-hidrida (0 °C→rt, 2 h), dobijen je poznati 3-*O*-metil-derivat **6** u prinosu od 75%. Spektroskopski podaci i vrednost optičke rotacije ovog jedinjenja su u potpunoj saglasnosti sa literaturnim podacima.⁷⁸

Jedinjenje **6** je zatim podvrgnuto selektivnom uklanjanju 5,6-*O*-izopropilidenske zaštite, praćeno sukcesivnim glikolnim raskidanjem 5,6-diolne funkcije. Po sličnom postupku kao u slučaju jedinjenja **2**, transformacija **6** je postignuta u jednoj fazi, dejstvom perjordne kiseline u anhidrovanom EtOAc (rt, 1.5 h), pri čemu je dobijen aldehid **7**, koji je bez prečišćavanja dalje tretiran fenilmagnezijum-bromidom dajući stereoizomerne alkohole **8** i **9**.

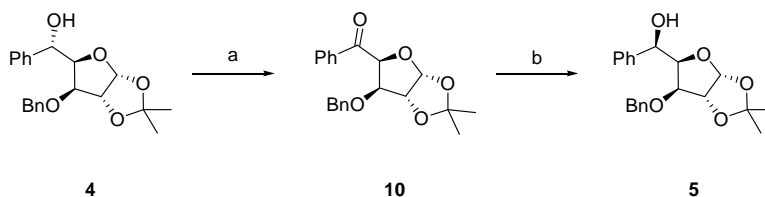
Grignard-ova reakcija aldehida **7** je izvedena u smeši anhidrovanog toluena i THF (5:1), na 0 °C, u toku 5 h, pri čemu su dobijeni stereoizomerni alkoholi **8** i **9** u približnom medjusobnom odnosu 10:1. Dominantni stereoizomer **8** izolovan je u prinosu od 56% dok je minorni stereoizomer **9** dobijen u prinosu od 6%. Takođe je izolovana i manja količina neizreagovanog aldehida **7** (7%). NMR spektri ovih alkohola su potvrdili prisustvo fenilne [δ_{H} 7.20–7.55 ppm (m, 5 H, Ph) za **8**, δ_{H} 7.20–7.50 ppm (m, 5 H, Ph) za **9**, kao i na δ_{C} 126.88–139.72 ppm (Ph) za **8**, odnosno δ_{C} 125.97–141.39 ppm (Ph) za **9**] i hidroksilne grupe [**8**: δ_{H} 2.88 ppm (bs, 1 H, OH); **9**: δ_{H} 3.62 ppm (bs, 1 H, OH)].

Dodatna potvrda stereochemije Grignard-ovih alkohola **9** i **8** dobijena je rendgeno-strukturnom analizom odgovarajućih monokristala (Slika 3.2.1.).



Slika 3.2.1. ORTEP prikaz trodimenzionalnih struktura intermedijera **9** (levo) i **8** (desno).

Za naredne faze naših radova bilo je neophodno obezbediti veće količine benzilnog stereoizomernog alkohola **5** koji je u Grignard-ovoj reakciji dobijen kao sporedni proizvod. Iz tog razloga je alkohol **4** oksidovan piridinium-hlorohromatom u metilen-hloridu, pri čemu je dobijen keton **10**⁷⁹ u prinosu od 94% (Shema 3.2.2.). U ¹³C NMR spektru postoji signal koji odgovara karbonilnom C-atomu (193.56 ppm), koji zajedno sa intenzivnom trakom koja je u IR spektru locirana na 1704 cm⁻¹ (ν_{C=O}) nedvosmisleno dokazuje da je hidroksilna grupa oksidovana u keto funkciju.

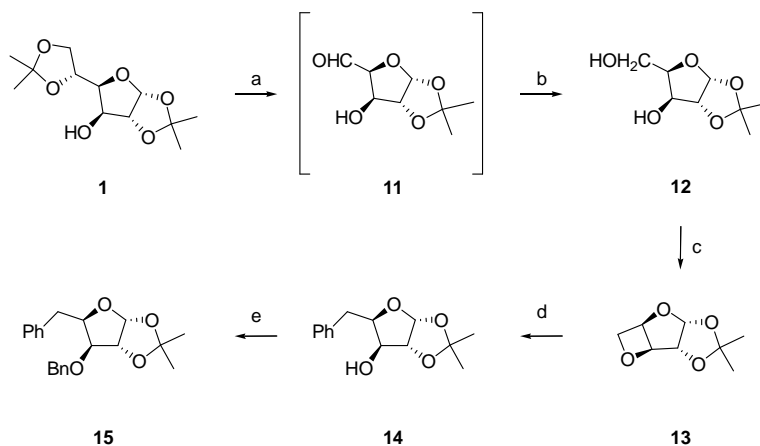


Shema 3.2.2. (a) PCC, anh. CH₂Cl₂ ↑↓, 3 h, 94%; (b) L-vinska kiselina, NaBH₄, anh. THF ↑↓, 2.5 h, zatim -7 °C→rt, 5 h, 93%.

Keton **10** je zatim redukovan sa reagensom koji se priprema *in situ* od L-vinske kiseline i natrijum-borhidrida (refluks, 2.5 h) u anh. THF (-7 °C→rt, 5 h), pri čemu je dobijen željeni alkohol **5**, u prinosu od 93% (Shema 3.2.2.).

Konačno, za dobijanje deoksigenovanih derivata u položaju C-7, bilo je neophodno sintetizovati početne intermedijere **14** i **15** polazeći iz diacetonida glukoze **1**.

Dejstvom perjodne kiseline u anhidrovanom EtOAc (rt, 6 h), jedinjenje **1** je podvrgnuto selektivnom uklanjanju 5,6-*O*-izopropilidenske zaštite, koje je praćeno i sukcesivnim glikolnim raskidanjem 5,6-diolne funkcije, pri čemu je dobijen aldehid **11**, koji je bez prečišćavanja dalje tretiran natrijum-borhidridom u metanolu dajući primarni alkohol **12** u prinosu od 92% (Shema 3.2.3.). Spektroskopski podaci i vrednost optičke rotacije ovog jedinjenja su u dobroj saglasnosti sa literaturnim podacima.⁸⁰



Shema 3.2.3. (a) H_5IO_6 , anh. EtOAc, rt, 6 h; (b) NaBH_4 , anh. MeOH, rt, 1.5 h, 92%; (c) Ph_3P , DEAD, anh. toluen, 0 °C→t.k., 1.5 h, 62%; (d) PhMgBr/THF ↑↓, 13.5 h, 77%; (e) BnBr , NaH , anh. DMF, 0 °C→rt, 2 h, 99%.

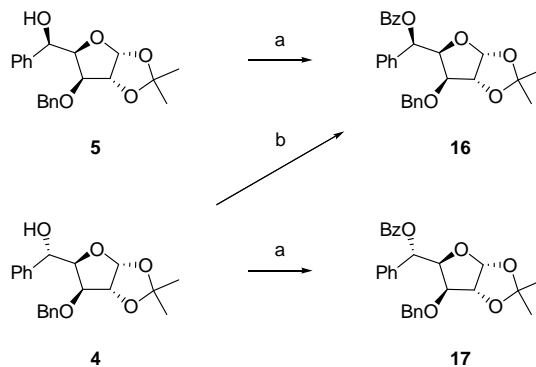
Intramolekulskom Mitsunobu-ovom reakcijom, koja je izvedena dejstvom dietilazodikarboksilata i trifenil-fosfina, u ključalom toluenu, u toku 1.5 h, diol **12** je preveden u 3,5-anhidro-derivat **13** (62%). Ovaj oksetanski derivat je poznato jedinjenje, a njegovi spektroskopski podaci i vrednost optičke rotacije su u dobroj saglasnosti sa literaturnim podacima.^{81,82}

3,5-Anhidro-sistem je zatim podvrgnut nukleofilnom otvaranju oksetanskog prstena sa fenilmagnezijum-bromidom u anhidrovanom THF na temperaturi ključanja u toku 13.5 h, pri čemu je dobijen alkohol **14** u prinosu od 77%. U NMR spektrima jedinjenja **14** signali koji su locirani na δ_{H} 7.20–7.35 ppm (m, 5 H, Ph), kao i na δ_{C} 126.49–137.45 ppm (Ph) nedvosmisleno ukazuju na prisustvo aromatičnog jezgra u ovom molekulu. U IR spektru proizvoda **14** uočljiva je intenzivna traka, na 3418 cm^{-1} , koja potiče od valencionog istežanja O–H veze alkoholne hidroksilne grupe.⁸³

Uvodjenje benziletarske funkcionalne grupe u položaj C-5 jedinjenja **14** postignuto je standardnom metodom dejstvom benzil-bromida i natrijum-hidrida u anhidrovanom DMF-u, pri čemu je dobijen benzilni derivat **15** u prinosu od 99%. U IR spektru jedinjenja **15** odsutan je signal na 3418 cm^{-1} koji odgovara valencionom istežanju O–H veze, što ukazuje da alkoholna hidroksilna grupa nije prisutna u molekulu **15**. S druge strane, prisustvo novouvedene benzilne funkcionalne grupe u **15** potvrđeno je signalima u ^1H NMR spektru gde je prisutna grupa signala na 7.17–7.48 ppm (m, 10 H, 2×Ph), kao i signalima u ^{13}C NMR spektru koji potiču od ugljenikovih atoma aromatičnog jezgra [δ_{C} 126.13, 127.54, 127.73, 128.25, 128.33, 128.98, 137.50 i 137.91 ppm (2×Ph)]. Dodatna potvrda prisustva benzilne funkcionalne grupe je signal lociran na δ_{C} 71.46 ppm (PhCH_2).

Zbog potrebe dobijanja intermedijera sa zaštićenim OH grupama u položajima C-3 i C-5, jedinjenja **5** i **4** su podvrgnuta benzoilovanju primenom standardnog postupka (BzCl , anh. Py, 0 °C→rt). Pri tome su dobijeni očekivani 5-O-benzoil-derivati **16** (88%) i **17** (97%) (Shema 3.2.4.).

Dobijanje benzoil-derivata **16** sa *5R* konfiguracijom, postignuto je i Mitsunobu-ovom reakcijom sa benzoenom kiselinom, u prisustvu Ph_3P , dietilazodikarboksilata u anhidrovanom THF, pri čemu je iz jedinjenja **4** (*5S* konfiguracija), dobijen proizvod **16** (*5R* konfiguracija) u prinosu od 82%.



Shema 3.2.4. (a) BzCl , anh. Py, $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 22 h za **5**, **16** 88%; 18.5 h za **4**, **17** 97%; (b) BzOH , Ph_3P , DEAD, anh. THF, $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 4 h, 82%.

Potvrda strukture novonastalih jedinjenja **16** i **17** je odsustvo signala u IR spektrima koji su karakteristični za valenciono istežanje O–H veze alkoholne hidroksilne grupe [**5**: 3481 cm^{-1} , **4**: 3497 cm^{-1}], kao i odsustvo pojedinih signala u protonskim NMR spektrima [**5**: δ_{H} 3.14 ppm (bs, 1 H, OH); **4**: δ_{H} 3.36 ppm (bs, 1 H, OH)].

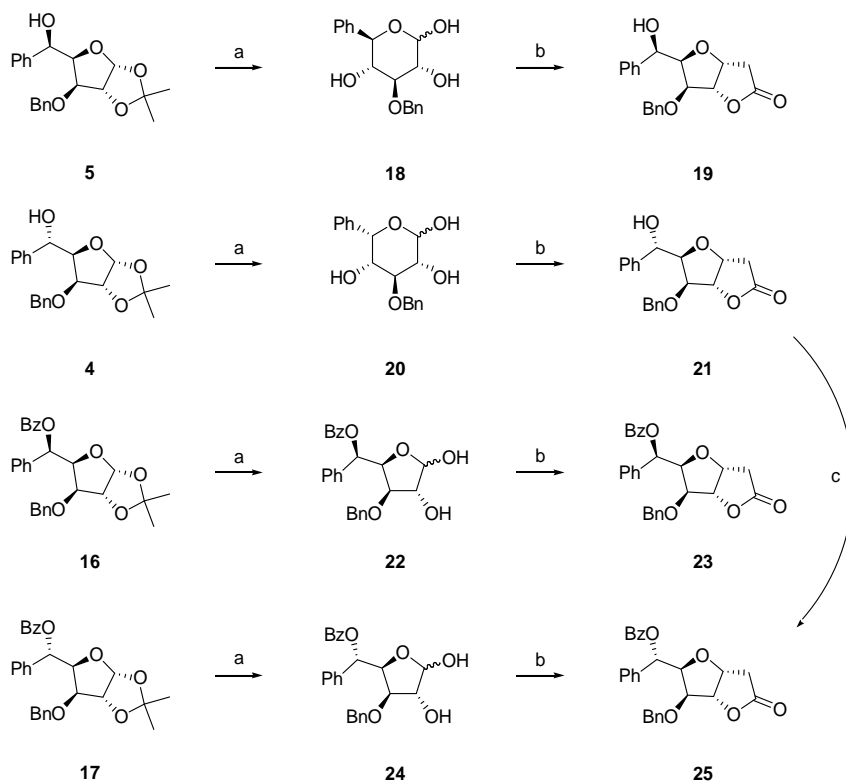
Prisustvo signala u IR spektrima na 1645 cm^{-1} za **16** i 1721 cm^{-1} za **17**, kao i signala u ^{13}C NMR spektrima 164.63 ppm za **16** i 165.62 ppm za **17**, nedvosmisleno potvrđuje prisustvo novouvedene 5-*O*-benzoil-grupe u molekulima **16** i **17**.

Sinteza halogenidnih i pseudo-halogenidnih izostera prirodnih stiril-laktona tipa goniofufurona

Prve dve faze u sintezi halogenidnih analoga obuhvataju prethodno uklanjanje 1,2-*O*-izopropilidenske zaštite početnih intermedijera **5**, **4**, **16** i **17**, praćeno zatvaranjem γ -laktonskog prstena. Uklanjanje izopropilidenske zaštite postignuto je dejstvom 90% trifluorosirćetne kiseline (rt, 30–40 min), pri čemu su dobijeni laktoli **18** (88%), **20** (83%), **22** (86%) i **24** (68%) (Shema 3.2.5.).

U spektrima ovih laktola evidentno je odsustvo karakterističnih singleta (3 H, svaki) u oblasti niskih ppm vrednosti što dokazuje da je tokom reakcija iz polaznih jedinjenja došlo do uklanjanja 1,2-*O*-izopropilidenske zaštite. Potvrde struktura proizvoda su takodje IR spektri ovih laktola kod kojih su vidljive široke trake na 3396 cm^{-1} (**18**), 3396 cm^{-1} (**20**), 3441 cm^{-1} (**22**) i 3431 cm^{-1} (**24**) koje potiču od valencionog istežanja O–H veze iz alkoholnih hidroksilnih grupa.

Nakon uklanjanja zaštite pristupilo se bazno-katalizovanoj ciklokondenzaciji laktola **18**, **20**, **22** i **24** sa Meldrum-ovom kiselinom. Reakcija je izvedena u DMF na 46 °C, u toku 65–70 h, u prisustvu Et₃N, pri čemu su dobijeni odgovarajući laktone **19** (51%), **21** (48%), **23** (71%) i **25** (64%) (Shema 3.2.5.).



Shema 3.2.5. (a) 90% aq. TFA, rt; 40 min, **18** 88%; 0.5 h, **20** 83%; 0.5 h, **22** 86%; 0.5 h, **24** 68%; (b) Meldrum-ova kiselina, Et₃N, anh. DMF, 46 °C; 65 h, **19** 51%; 70 h, **21** 48%; 68 h, **23** 71%; 67 h, **25** 64%; (c) BzCl, anh. Py, 0 °C→rt, 17 h, 87%.

Lakton **25** je takodje dobijen i reakcijom benzoilovanja laktone **21** u prisustvu BzCl u anhidrovanom piridinu pri čemu je reakcija trajala 17 h i dobijen je željeni derivat u prinosu od 87% (Shema 3.2.5.).

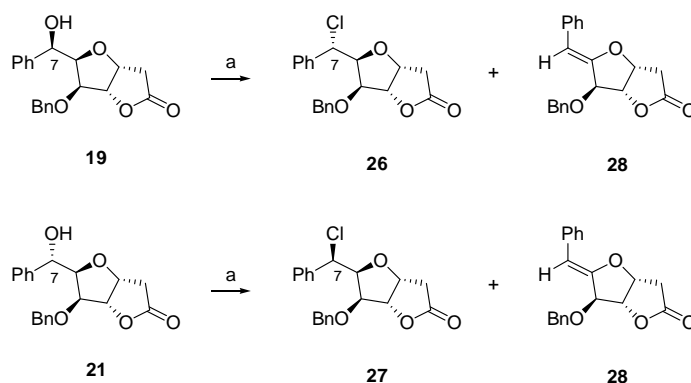
U IR spektrima proizvoda **19**, **21**, **23** i **25** uočljive su karakteristične trake na 1785, 1754, 1788 i 1788 cm⁻¹ respektivno, koje dokazuju prisustvo laktonskih karbonilnih grupa. Prisustvo ovih karbonilnih grupa u molekulima **19**, **21**, **23** i **25** definitivno dokazuju i signali koji su u ¹³C NMR spektrima locirani na δ_C 175.26, 175.25, 175.22 i 175.39, respektivno.

U IR spektrima proizvoda **19** i **21** uočljive su i intenzivne trake, na 3476 cm⁻¹ i na 3469 cm⁻¹, koje potiču od valencionog istežanja O-H veze alkoholnih hidroksilnih grupa, dok takvi signali nisu prisutni u IR spektrima laktone **23** i **25**. S druge strane, u IR spektrima jedinjenja **23** i **25** prisutne su intenzivne trake na 1721 i 1710 cm⁻¹ koje potvrđuju postojanje estarske 7-O-benzoil-grupe.

Takodje, u protonskim NMR spektrima ova dva jedinjenja prisutni su sledeći signali: **23**: δ_{H} 7.12–8.02 (m, 15 H, 3×Ph) i **25**: δ_{H} 7.21–8.11 (m, 15 H, 3×Ph) koji definitivno potvrđuju prisustvo po tri fenilne funkcije u ovim molekulima.

Nakon pripreme sva četiri potrebna polazna laktona adekvatnim hemijskim transformacijama dobijeni su hloridni analozi (+)-goniofufurona i 7-*epi*-(+)-goniofufurona.

Naime prvo su dobijeni 5-*O*-benzilni hlorni analozi, $S_{\text{N}}2$ supstitucijom hidroksilne grupe (C-7) u jedinjenjima **19** i **21**, u uslovima Whistler-Anisuzzaman-ove reakcije.⁸⁴ Nakon njihove reakcije sa ugljentetrahloridom i trifenil-fosfinom u anhidrovanom piridinu, dobijeni su željeni proizvodi **26** (44%) i **27** (41%) (*Shema* 3.2.6.). Prilikom ove reakcije dolazi do inverzije konfiguracije na C-7 [$7R(\mathbf{19}) \rightarrow 7S(\mathbf{26})$, $7S(\mathbf{21}) \rightarrow 7R(\mathbf{27})$]. U obe reakcije kao sporedni proizvod nastaje i olefin **28** kao posledica konkurentne E_2 eliminacije.

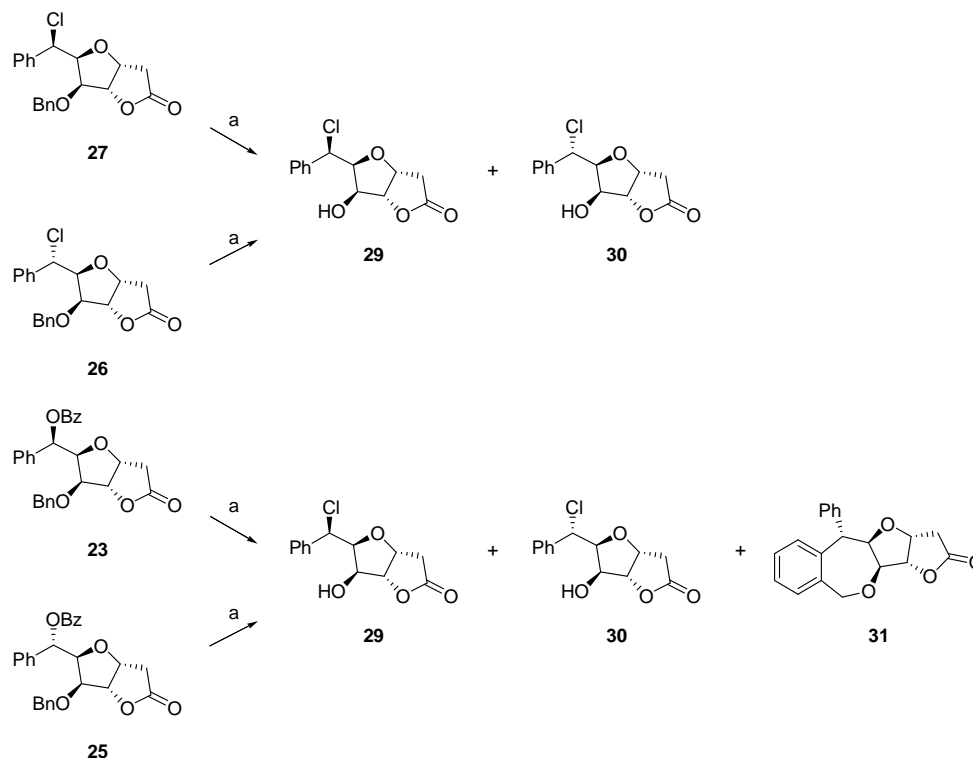


Shema 3.2.6. (a) CCl_4 , Ph_3P , anh. Py, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{rt}$, 6.5 h, **26** 44%, **28** 23%; 27.5 h, **27** 41%, **28** 8%.

Odsustvo hidroksilnih grupa u molekulima **26** i **27** potvrđuju izostanak karakteristične trake u IR spektru na 3476 i 3469 cm^{-1} koje su prisutne u spektrima jedinjenja **19** i **21**. Signal koji se u ^{13}C NMR spektru javlja pri višim vrednostima magnetnog polja, δ_{C} 61.09 (C-7), definitivno potvrđuje da molekul **26** sadrži hloridnu funkciju na C-7, kao i signal δ_{C} 57.53 (C-7) u ^{13}C NMR spektru jedinjenja **27**. Identitet i čistoća proizvoda **26** i **27** dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije. Sporedni proizvod **28** takodje je okarakterisan IR, NMR i M-spektrima.

Nakon dobijanja derivata **26** i **27** bilo je potrebno ukloniti benziletarsku zaštitu sa C-5, što je postignuto tretmanom sa titan(IV)-hloridom u anhidrovanom metilen-hloridu. Prilikom tretmana jedinjenja **27** (1 h na 0°C , a zatim 3 h na sobnoj temperaturi), delimično dolazi i do epimerizacije na C-7, pa su dobijeni C-7 epimerni hlorni derivati **29** i **30**, u respektivnim prinosima od 42% i 25%. Prilikom tretmana jedinjenja **26** pri istim reakcionim uslovima dobijena je smeša C-7

hloridnih epimera u kojoj je takodje dominantan derivat **29** (37%), dok je minorni stereoizomer **30** dobijen u prinosu od 28% (*Shema 3.2.7.*).



Shema 3.2.7. (a) TiCl_4 , anh. CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{rt}$, 4 h, **29** 42%, **30** 25% (iz **27**); **29** 37%, **30** 28% (iz **26**); **29** 33%, **30** 19%, **31** 17% (iz **23**); **29** 33%, **30** 16%, **31** 18% (iz **25**).

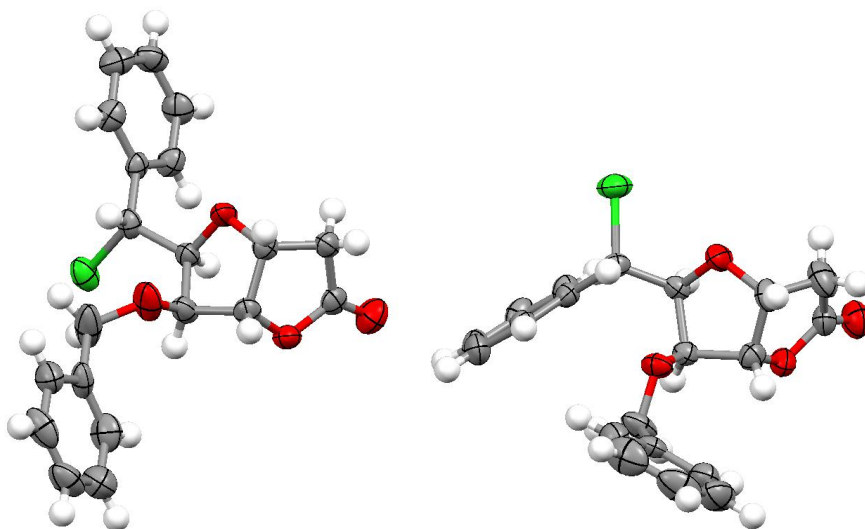
Direktne hloridne izostere **29** i **30** mogu se dobiti i dejstvom TiCl_4 u anhidrovanom metilen-hloridu na laktone **23** i **25**. Primenom istih reakcionih uslova kao i u prethodnim ogledima (1 h na $0\text{ }^\circ\text{C}$, a zatim 3 h na sobnoj temperaturi) iz polaznog molekula **23** dobijene su hloridne izostere **29** (33%) i **30** (19%). Pored ova dva jedinjenja u reakciji nastaje i benzoksepan **31** u prinosu od 17% kao rezultat Friedel-Crafts-ovog intramolekulskog alkilovanja (*Shema 3.2.7.*). Vrlo slični rezultati su dobijeni primenom istih reakcionih uslova na jedinjenje **25**. Dobijeni su C-7 epimeri **29** i **30** u respektivnim prinosima od 33 i 16%. Pored toga izolovan je i benzoksepan **31** u prinosu od 18%. U ovim reakcijama je detektovano i prisustvo tragova benzilnih derivata **26** i **27** što dokazuje da supstitucija estarskih grupa prethodi debenzilovanju. Mehanizam ove reakcije najverovatnije obuhvata inicijalno formiranje benzilnog karbokacija **23a** koji je prikazan na *Shemi 3.1.1.*

Prisustvo hidroksilne grupe u molekulu **29** potvrđuje karakteristična traka koja je u IR spektru locirana na 3440 cm^{-1} . Signal koji se u ^{13}C NMR spektru javlja pri višim vrednostima magnetnog polja, δ_{C} 58.04 (C-7), definitivno potvrđuje da molekul **29** sadrži hloridnu funkciju na C-7. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **29**: δ_{H} 2.57 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7\text{ Hz}$, H-2a), 2.68 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8\text{ Hz}$, H-2b); δ_{C} 36.07 (C-2),

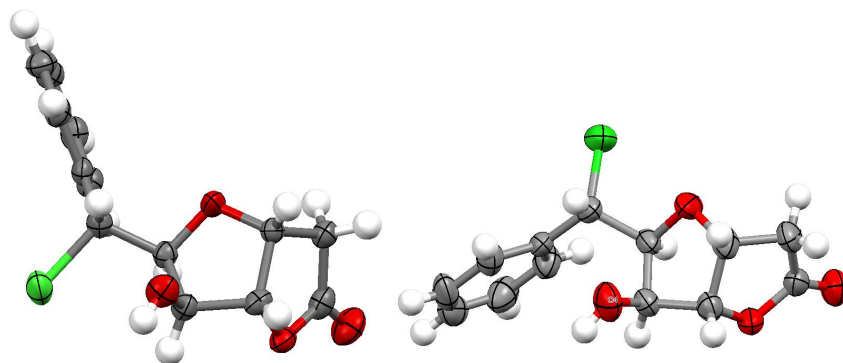
175.15 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **29**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1784 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istezanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **29** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [m/e 269.0579 (M^+H); izračunato za $C_{13}H_{14}ClO_4$: 269.0575], kao i odgovarajućim podacima elementarne mikroanalize (Nadjeno: C, 58.01; H, 5.00. Izračunato za $C_{13}H_{13}ClO_4$: C, 58.11; H, 4.88).

Karakteristična traka koja se u IR spektru jedinjenja **30** javlja na 3446 cm^{-1} , kao i signal u 1H NMR spektru lociran na 2.01 ppm (bs, 1 H, OH) potvrđuju prisustvo slobodne hidroksilne grupe na C-3. Signal koji je u ^{13}C NMR spektru prisutan na visokim vrednostima magnetnog polja, δ_C 61.10 ppm (C-7), definitivno potvrđuje da molekul **30** sadrži hloridnu funkciju na C-7. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **30**: δ_H 2.76 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, $J_{2a,3}=5.3\text{ Hz}$, H-2a), 2.87 (dd, 1 H, $J_{2b,3}=1.7\text{ Hz}$, H-2b); δ_C 35.91 (C-2), 175.12 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **30**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1785 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istezanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **30** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [m/e 313.0489 (M^+HCOO), izračunato za $C_{14}H_{14}ClO_6$: 313.0484].

Strukture i stereochemija svih hloridnih proizvoda **27**, **26**, **29** i **30** definitivno su potvrđene rendgeno-strukturom analizom odgovarajućih monokristala (Slike 3.2.2. i 3.2.3.).



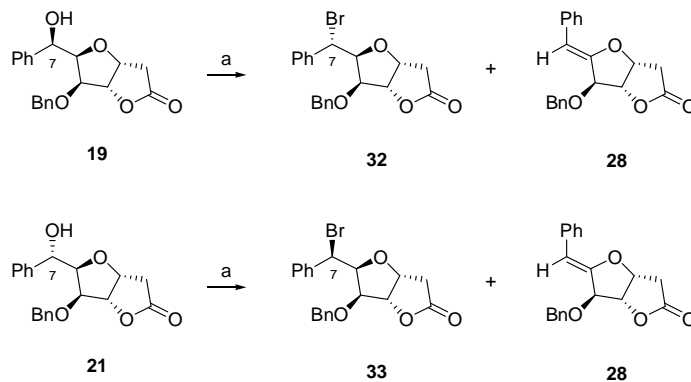
Slika 3.2.2. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **27** (levo) i **26** (desno).



Slika 3.2.3. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **29** (levo) i **30** (desno).

Primenom sličnih hemijskih transformacija dobijeni su bromidni analozi prirodnih proizvoda (+)-goniofufurona (**I**) i 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) polazeći iz početnih intermedijera **19**, **21**, **23** i **25**.

Prvo su sintetizovani 5-*O*-benzilovani bromidni analozi (**33** i **32**) primenom Whistler-Anisuzzaman-ove reakcije.⁸⁴ Reakcijom **19**, odnosno **21**, ugljentetrabromida i trifenil-fosfina u anhidrovanom piridinu (0 °C → rt) u toku 27 h, odnosno 4 h, dobijeni su željeni proizvodi **32** (49%), odnosno **33** (54%) (Shema 3.2.8.). Prilikom ove reakcije, kao i kod sinteze hloridni analoga (**27** i **26**), dolazi do inverzije konfiguracije na C-7. Pored toga, u obe reakcije nastaje i olefin **28**, kao sporedni proizvod.

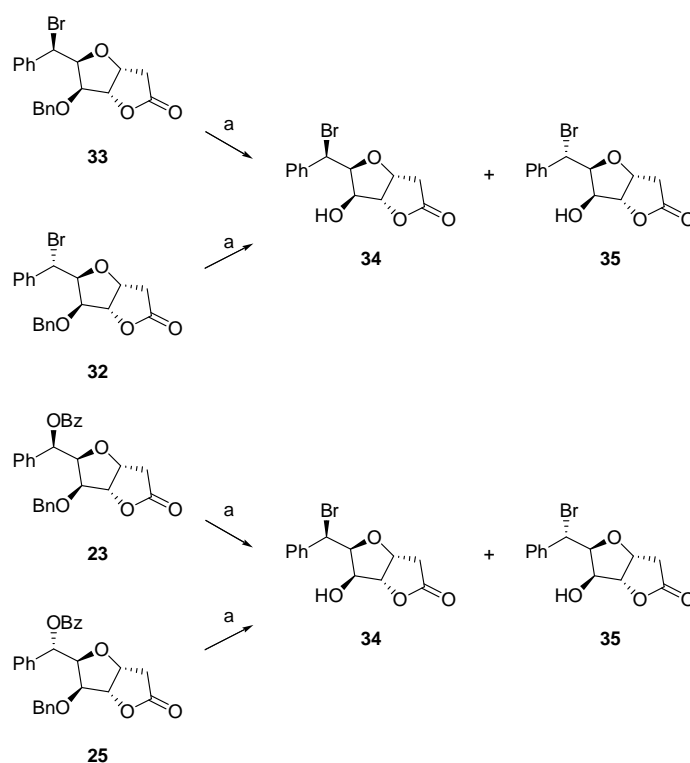


Shema 3.2.8. (a) CBr_4 , Ph_3P , anh. Py, 0 °C → rt, 27 h, **32** 49%, **28** 24%; 4 h, **33** 54%, **28** 8%.

Izostanak karakteristične trake na 3476 cm^{-1} i na 3469 cm^{-1} u IR spektrima jedinjenja **19** i **21**, potvrđuje odsustvo hidroksilnih grupa u molekulima **32** i **33**. Signal koji se u ^{13}C NMR spektru javlja pri višim vrednostima magnetnog polja, δ_{C} 51.49 (C-7), definitivno potvrđuje da molekul **32** sadrži bromidnu funkciju na C-7, kao i signal δ_{C} 48.14 (C-7) u ^{13}C NMR spektru jedinjenja **33**. Identitet i čistoća proizvoda **32** i **33** dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije.

Nakon toga je ispitan uticaj titanijum(IV)-bromida u anhidrovanom metilen-hloridu na jedinjenja **33** i **32**, a zatim i na laktone **23** i **25**. Prilikom tretmana jedinjenja **33** (1 h na 0 °C, a zatim 4 h na

sobnoj temperaturi), dobijeni su C-7 bromidni epimeri **34** i **35**, sa odličnom stereoselektivnošću, pri čemu je D-glicero-D-ido stereoizomer **34** izolovan u prinosu 86%, dok je L-glicero-D-ido derivat **35** dobijen u prinosu od samo 1% (odnos izomera 86:1). Medjutim, prilikom tretmana jedinjenja **32** pri sličnim reakcionim uslovima (1 h na 0 °C, a zatim 5 h na sobnoj temperaturi), dobijeni su C-7 bromidni epimeri kod kojih je dominantni L-glicero-D-ido izomer **35** izolovan u prinosu od 60%, dok je minorni D-glicero-D-ido stereoizomer **34** dobijen u prinosu od 14% (*Shema 3.2.9.*). Kao i u sintezi hloridnih analoga i u ovim reakcijama pored uklanjanja zaštitnih grupa dolazi i do epimerizacije na C-7, ali za razliku od hloridnih analoga možemo primetiti da je stereoselektivnost daleko bolja pogotovo u reakciji sa **33**. Ovu bolju selektivnost titanijumovog reagensa najverovatnije možemo pripisati veličini bromidnog anjona kojem je prilaz molekulu sa *si* strane iz stereohemijskih razloga ograničen, kao posledica toga dobijen je 7*R* izomer **34** u visokom prinosu dok je 7*S* izomer **35** dobijen u tragovima.



Shema 3.2.9. (a) TiBr_4 , anh. CH_2Cl_2 , 0 °C \rightarrow rt, 5 h, **34** 86%, **35** 1% (iz **33**); 6 h, **34** 14%, **35** 60% (iz **32**); 3 h, **34** 53%, **35** 22%, (iz **23**); 5 h, **34** 50%, **35** 21%, (iz **25**).

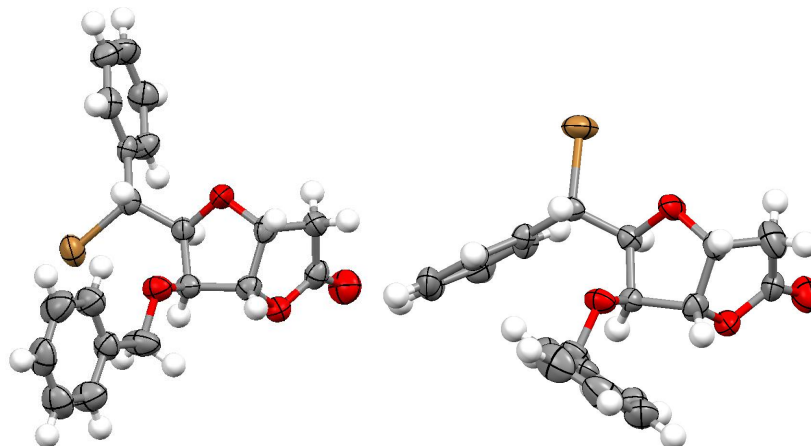
Direktne bromidne izostere goniofufurona (molekul **34**) i 7-*epi*-goniofufurona (molekul **35**) mogu se dobiti i reakcijom jedinjenja **23** i **25** sa TiBr_4 u anhidrovanom metilen-hloridu (*Shema 3.2.9.*). Prilikom tretmana laktone **23** (1 h na 0 °C, a zatim 2 h na sobnoj temperaturi) dobijeni su bromidni C-7 epimeri u približnom odnosu 2:1, pri čemu je dominantni izomer **34** dobijen u prinosu od 53%,

dok je sporedni proizvod **35** dobijen u prinosu od 22%. Prilikom primene sličnih reakcionih uslova na jedinjenje **25** dobijeni su isti izomeri u veoma sličnim prinosima i međusobnim odnosima (50% **34**, 21% **35**, približan odnos 2:1). Ovakav odnos proizvoda u reakciji bez obzira na stereochemiju polaznog jedinjenja potvrđuje pretpostavku da mehanizam ove reakcije teče preko karbokationa **23a** (Shema 3.1.1.). Takodje je važno napomenuti da u reakcijama sa TiBr_4 ne nastaje benzoksepan kao sporedni proizvod, ovo je posledica osobina reagenasa, odnosno činjenice da TiCl_4 predstavlja jaču Lewis-ovu kiselinu u odnosu na TiBr_4 i samim tim favorizuje Friedel-Crafts-ovu reakciju intramolekulskog alkilovanja.

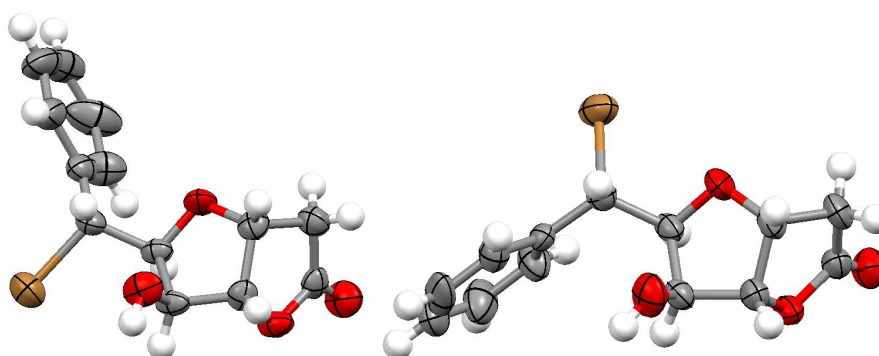
Prisustvo hidroksilne grupe u molekulu **34** potvrđuje karakteristična traka koja je u IR spektru locirana na 3395 cm^{-1} . Signal u ^{13}C NMR spektru [δ_{C} 49.76 (C-7)], definitivno potvrđuje da molekul **34** sadrži bromidnu funkciju na C-7. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **34**: δ_{H} 2.34 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8$ Hz, H-2a), 2.78 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.5$, $J_{2b,3}=5.4$ Hz, H-2b); δ_{C} 36.55 (C-2), 175.97 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **34**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1753 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istezanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **34** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [m/e 313.0066 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BrO}_4$: 313.0070].

Karakteristična traka koja se u IR spektru jedinjenja **35** javlja na 3417 cm^{-1} , kao i signal u ^1H NMR spektru lociran na 2.31 ppm (bs, 1 H, OH) potvrđuju prisustvo slobodne hidroksilne grupe na C-5. Signal koji je u ^{13}C NMR spektru prisutan na nižim vrednostima ppm [δ_{C} 51.40 (C-7)], definitivno potvrđuje da molekul **35** sadrži bromidnu funkciju na C-7. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **35**: δ_{H} 2.73 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$ Hz, $J_{2a,3}=5.2$ Hz, H-2a), 2.85 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.6$ Hz, H-2b); δ_{C} 35.90 (C-2), 175.46 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **35**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1773 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istezanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **35** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [m/e 313.0064 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BrO}_4$: 313.0070].

Konačna potvrda struktura i stereochemije bromidnih analoga **33**, **32**, **34** i **35** dobijena je primenom rendgeno-strukturne analize odgovarajućih monokristala (*Slike 3.2.4.* i *3.2.5.*).



Slika 3.2.4. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **33** (levo) i **32** (desno).

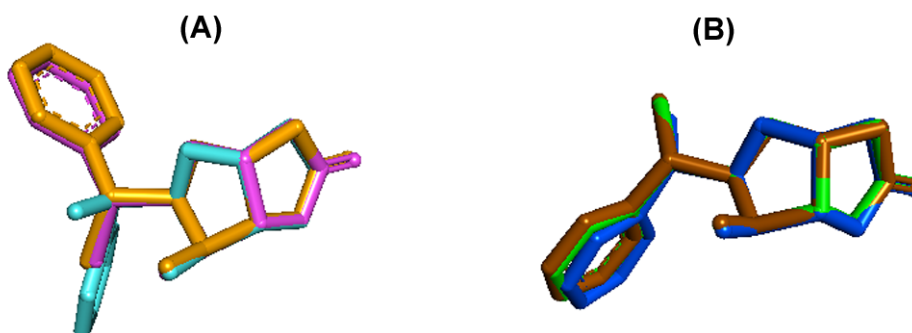


Slika 3.2.5. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **34** (levo) i **35** (desno).

Nakon uradjenih rendgeno-strukturnih analiza hloridnih (**29**, **30**, **27** i **26**) i bromidnih analoga (**34**, **35**, **33** i **32**), uporedili smo njihove 3D strukture sa strukturama prirodnih proizvoda **I** i **II** koje su ranije opisane u literaturi.⁸⁵ Nakon superponiranja 3D strukture prirodnog proizvoda **I** sa strukturama analoga **29** i **34**, odnosno prirodnog proizvoda **II** sa **30** i **35**, dobijena je *Slika 3.2.6.*[†] Kao što možemo videti sa *Slike 3.2.6.A*, na kojoj su superponirane strukture izomera **7R** konfiguracije, analozi **29** i **34** imaju istu 3D strukturu, dok struktura prirodnog proizvoda **I** ima drugačiju orijentaciju fenilnog prstena i hidroksilne grupe sa C-7 u odnosu na analoge. Naime, torzioni ugao izmedju H-6 i H-7 u kristalnoj strukturi **I** iznosi 72.1°, što je posledica intramolekulske vodonične veze izmedju 5-OH i 7-OH.²¹ Nasuprot tome, kako se sa *Slike 3.2.6.B* može videti,

[†] *Slika 3.2.6.* je dobijena primenom „Molecular Overlay“ opcije programa Accelrys Discovery Studio Visualizer v 3.1, koji automatski daje optimalno preklapanje.

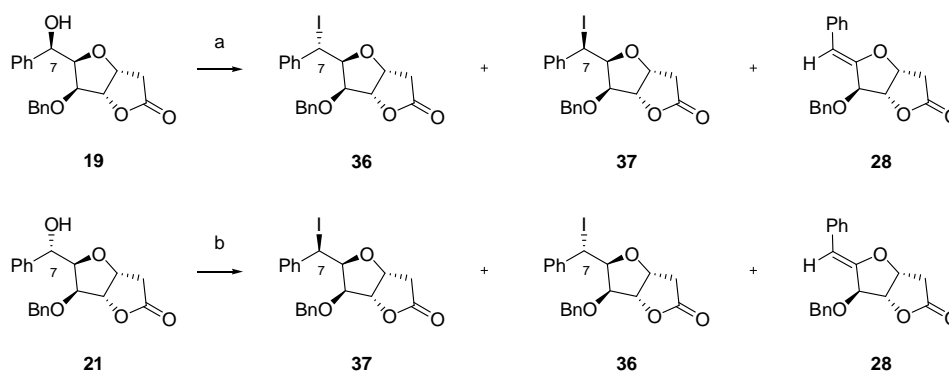
strukture derivata sa 7*S* konfiguracijom se mnogo bolje slažu, odnosno 7-*epi*-goniofufuron i analozi **30** i **35** imaju iste konformacije. Torzioni ugao između H-6 i H-7 kod kristalnih struktura jedinjenja **II**,⁸⁵ **29**, **30**, **34** i **35** iznosi 174.3–178.4°. Ove vrednosti odgovaraju ¹H-NMR vicinalnim kuplovanjima ($J_{6,7}=7.9\text{--}10.3$ Hz), što ukazuje da sva tri molekula imaju sličnu konformaciju kako u rastvoru, tako i u kristalnom obliku. Vicinalno kuplovanje kod goniofufurona **I** ($J_{6,7}=5.3$ Hz) takodje upućuje na različitu geometriju acikličnog dela molekula u odnosu na ostale posmatrane derivate. Pretpostavljamo da će se ova razlika u geometriji odraziti i na biološku aktivnost ovih derivata, o čemu će se nešto kasnije, detaljno diskutovati.



Slika 3.2.6. Superponirane strukture (A) (+)-goniofufuron **I** (tirkizna), **29** (roza) i **34** (narandžasta), (B) 7-*epi*-goniofufuron **II** (plava), **30** (zelena) i **35** (braon).

Za sintezu 5-*O*-benzil jodidnih derivata (+)-goniofufurona **37** i 7-*epi*-(+)-goniofufurona **36** korišćena je Garegg-Samuelsson-ova reakcija za direktnu supstituciju OH grupe atomom joda.⁸⁶ Naime jedinjenje **19** je tretirano jodom, trifenil-fosfinom i imidazolom u anhidrovanom toluenu, u atmosferi azota, na 70 °C u toku 3 h, pri čemu je dobijena smeša jodidnih analoga **36** i **37** (približno 4:1) i olefina **28**. Nakon prečišćavanja preparativnom TLC uspešno su razdvojeni **36** (41%), **37** (11%) i **28** (10%). Kao što se vidi glavni proizvod je analog prirodnog proizvoda **II** 7*S* izomer **36**, što znači da u ovoj reakciji dolazi pretežno do inverzije konfiguracije na C-7 (*Shema 3.2.10.*).

Prilikom primene istih reakcionih uslova na jedinjenje **21** dobijeni su znatno niži prinosi i odnos izomera je bio svega 2:1 u korist **37**. Ovo je bio razlog da na jedinjenje **21** primenimo drugačije reakcione uslove, pa je umesto imidazola, kao baza korišćen 2,6-lutidin, a kao rastvarač je primenjen anhidrovani CH₂Cl₂. Reakcija je izvedena u atmosferi azota, na temperaturi 0 °C→rt, u toku 28.5 h (*Shema 3.2.10.*). Pri tome je dobijena smeša jodidnih analoga (**37** i **36**) i olefina **28**, koja je razdvojena preparativnom TLC. Kao dominantni proizvod izolovana je jodidna izostera (+)-goniofufurona (jedinjenje **37**) u prinosu od 44.5%, dok je sporedni proizvod bila jodidna izostera 7-*epi*-(+)-goniofufurona **36** u prinosu od 2%. Primenom ove metode dobijena je odlična stereoselektivnost tj. odnos izomera je 22:1 u korist **37**. Olefin **28** je izolovan u prinosu od 11%.



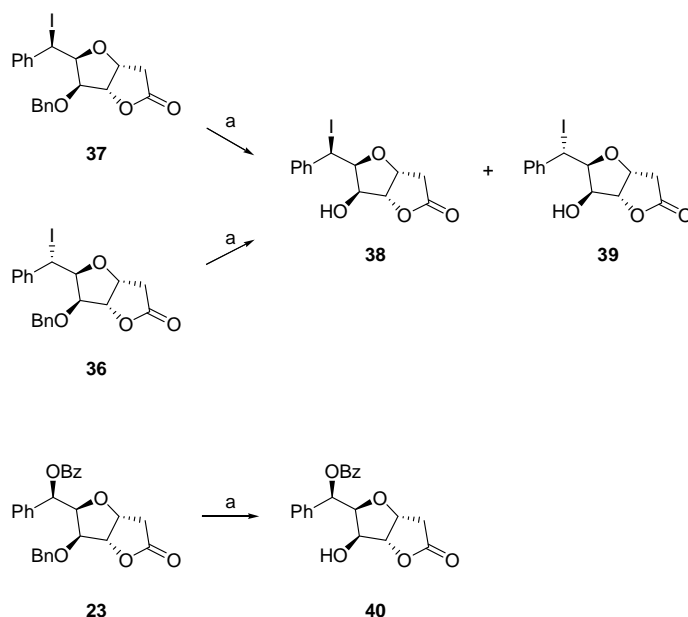
Shema 3.2.10. (a) I₂, Ph₃P, imidazol, anh. toluen, 70 °C, 3 h, **36** 41%, **37** 11%, **28** 10%; (b) I₂, Ph₃P, 2,6-lutidin, anh. CH₂Cl₂, 0 °C→rt, 28.5 h, **37** 44.5%, **36** 2%, **28** 11%.

Odsustvo hidroksilne grupe u molekulima **37** i **36** potvrđuju izostanci karakterističnih traka u IR spektrima, koje su se u spektrima jedinjenja **19** i **21** javljale na 3476 cm⁻¹ i na 3469 cm⁻¹. U ¹³C NMR spektrima prisutni su signali na niskim vrednostima ppm, što potvrđuje da molekuli **37** [δ_C 26.18 (C-7)] i **36** [δ_C 27.87 (C-7)] sadrže jod u položaju C-7, što uzrokuje dijamagnetno pomeranje. Pored toga, NMR spektri oba jedinjenja pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ-laktonskog prstena u strukturama [**37**: δ_H 2.54 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2a), 2.64 (dd, 1 H, J_{2b,3}=4.8, J_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2b); δ_C 36.35 (C-2), 175.11 (C-1); **36**: δ_H 2.76 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.9, J_{2a,3}=5.8 Hz, H-2a), 2.88 (bd, 1 H, J_{2a,2b}=18.6 Hz, H-2b); δ_C 35.91 (C-2), 175.13 (C-1)]. Prisustvo laktonskih funkcija u molekulima **37** i **36**, dodatno potvrđuju i njihovi IR spektri, koji na 1789 cm⁻¹ (kod oba) sadrže karakteristične trake koje odgovaraju valencionom istežanju laktonskih karbonilnih grupa. Identitet i čistoća proizvoda **37** i **36** dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije [*m/e* 468.0653 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₃INO₄: 468.0666 za **37**, odnosno *m/e* 468.0658 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₃INO₄: 468.0666 za **36**].

Uklanjanje benzilne zaštitne grupe u položaju C-5, postignuto je primenom Ti(IV)-jodida u anhidrovanom metilen-hloridu. Prilikom tretmana **37** (1 h na 0 °C, a zatim 2.5 h na sobnoj temperaturi), dobijene su direktne jodidne izostere prirodnih proizvoda **38** i **39**, pri čemu je D-*glicero*-D-*ido* stereoisomer **38** izolovan u prinosu 31%, dok je L-*glicero*-D-*ido* derivat **39** dobijen u prinosu od 11%. Prilikom tretmana jedinjenja **36** pri istim reakcionim uslovima dobijeni su C-7 jodidni epimeri u približnom odnosu 1:1, odnosno D-*glicero*-D-*ido* derivat **38** dobijen je u prinosu od 17%, dok je L-*glicero*-D-*ido* stereoisomer **39** dobijen u prinosu od 17.5% (Shema 3.2.11.). Kao što možemo videti u ovim reakcijama pored uklanjanja zaštitnih grupa dolazi i do epimerizacije na C-7.

Kada je TiI₄ primenjen na jedinjenje **23** umesto očekivanih 7-jodo-7-deoksi-derivata dobijen je 7-O-benzoil-(+)-goniofufuron **40**. Proizilazi da ovaj reagens samo uklanja benziletarsku zaštitu sa C-5,

za razliku od TiCl_4 i TiBr_4 koji pored debenzilovanja supstituišu estarsku grupu odgovarajućim atomom halogena.

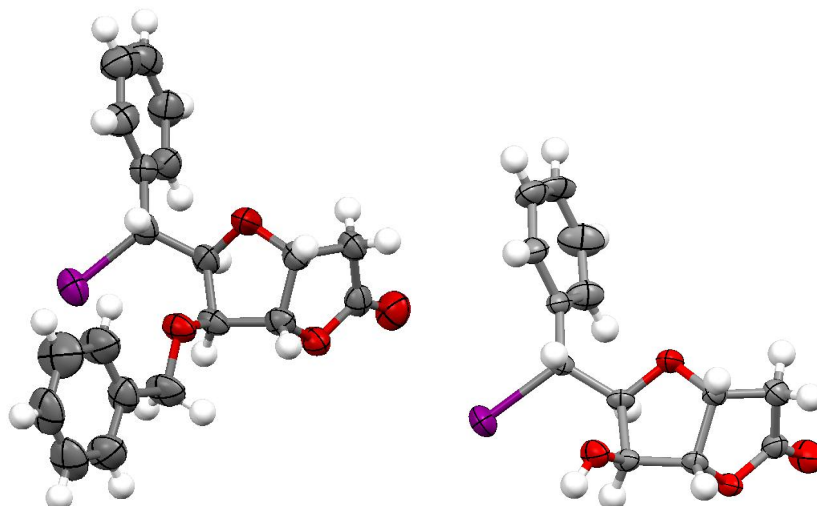


Shema 3.2.11. (a) TiI_4 , anh. CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$; 3 h, **38** 31%, **39** 11% (iz **37**); 3.5 h, **38** 17%, **39** 17.5% (iz **36**); 4 h, **40** 55% (iz **23**).

Prisustvo jodidnih grupa u molekulima **38** i **39** potvrđuju signali koji se u ^{13}C NMR spektrima javljaju pri niskim ppm vrednostima: δ_{C} 26.84 i 27.15 (C-7). Karakteristične trake koje se u IR spektrima javljaju na 3396, odnosno 3440 cm^{-1} potvrđuju prisustvo slobodnih hidroksilnih grupa na C-5. Pored toga, NMR spektri oba jedinjenja pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u njihovim molekulima: δ_{H} 2.62 (d, 2 H, $J_{2a,2b}=17.4$ Hz, H-2a i OH), 2.66 (dd, 1 H, $J_{2b,3}=5.0$ Hz, $J_{2a,2b}=18.8$ Hz, H-2b); δ_{C} 36.41 (C-2), 175.16 (C-1); odnosno, δ_{H} 2.77 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$ Hz, $J_{2a,3}=5.7$ Hz, H-2a), 2.88 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8$ Hz, H-2b); δ_{C} 35.87 (C-2), 175.12 (C-1).

Prisustvo laktonskih funkcija u molekulima **38** i **39**, dodatno potvrđuju i njihovi IR spektri koji na 1752, i 1739 cm^{-1} sadrže karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća jodidnih derivata dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije; m/e 378.0196 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{INO}_4$: 378.0197 (jedinjenje **38**); m/e 378.0194 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{INO}_4$: 378.0197 (jedinjenje **39**).

Konačna potvrda struktura i stereochemije jodidnih analoga (7*R*)-konfiguracije **37** i **38** dobijena je primenom rendgeno-strukturne analize odgovarajućih monokristala (Slika 3.2.7.).



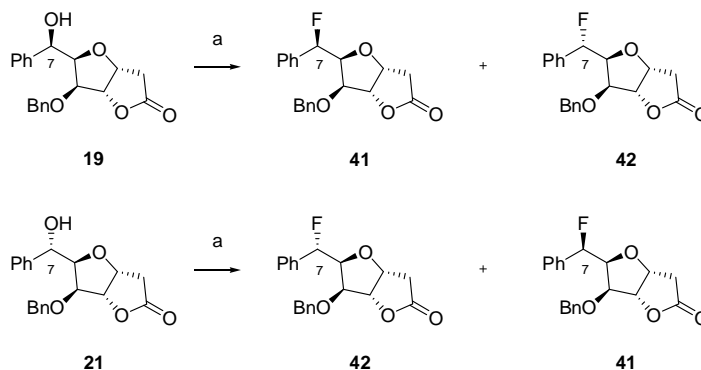
Slika 3.2.7. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **37** (levo) i **38** (desno).

Suprotno tome, jodidni izomeri (*7S*)-konfiguracije **36** i **39** ne kristališu u vidu monokristala.

Prisustvo hidroksilne grupe u molekulu **40** potvrđuje njegov IR spektar koji na 3454 cm^{-1} sadrži traku koja potiče od valencionog istežanja O-H veze. Takođe, signal koji je u ^1H NMR spektru lociran na 1.30 ppm (bs, 1 H, OH) potvrđuje prisustvo slobodne hidroksilne grupe na C-5. Signal koji je u ^{13}C NMR spektru prisutan na visokim vrednostima ppm [δ_{C} 166.90 (C=O iz Bz)], definitivno potvrđuje da molekul **40** sadrži benzoiloksi-funkciju na C-7. Prisustvo karbonilne funkcije u molekulu **40**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1722 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju estarske karbonilne grupe. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **40**: δ_{H} 2.55 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8\text{ Hz}$, H-2a), 2.67 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8\text{ Hz}$, $J_{2b,3}=5.1\text{ Hz}$, H-2b); δ_{C} 35.77 (C-2), 175.40 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **40**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1787 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **40** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [m/e 377.0984 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NaO}_6$: 377.0996; m/e 393.0723 (M^+K), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{KO}_6$: 393.0735].

Za dobijanje 5-*O*-benzil-derivata prirodnih proizvoda **I** i **II** koji u položaju C-7 imaju fluor primenjen je dietilaminosumpor-trifluorid (DAST) u anhidrovanom metilen-hloridu. Prilikom tretmana jedinjenja **19** ovim reagensom u toku 4 h pri čemu je temperatura postepeno povećavana od $0\text{ }^\circ\text{C}$ do sobne, dobijene su fluoridne izostere **41** i **42** u respektivnim prinosima od 63% i 12%. Prilikom primene istih reakcionih uslova na jedinjenje **21** u toku 3 h, takođe su dobijeni analozi **41** i **42**, samo što je u ovom slučaju dominantni proizvod bio stereoisomer **42** (76%), dok je sporedni

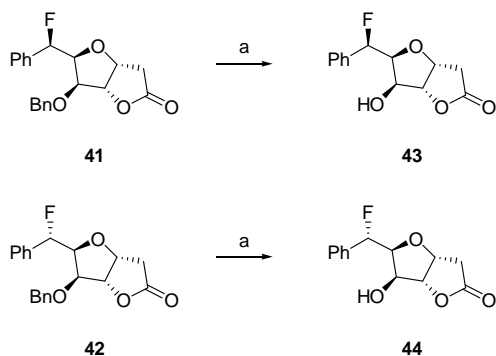
proizvod bio **41** (24%) (*Shema 3.2.12.*). Proizilazi da ova reakcija teče uz retenciju konfiguracije na C-7 pa su dominantni proizvodi u obe reakcije imali istu konfiguraciju kao polazno jedinjenje.



Shema 3.2.12. (a) DAST, anh. CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$; 4 h, **41** 63%, **42** 12%; 3 h, **42** 76%, **41** 24%.

Odsustvo hidroksilnih grupa u molekulima **41** i **42** potvrđuju izostanci karakterističnih traka koje su se u IR spektrima jedinjenja **19** i **21** javljale na 3476 cm^{-1} i 3469 cm^{-1} . Signali koji se u ^{13}C NMR spektrima javljaju pri višim ppm vrednostima, $\delta_{\text{C}} 89.78$ (d, $J_{\text{F},7}=167.8\text{ Hz}$, C-7) i $\delta_{\text{C}} 93.25$ (d, $J_{\text{F},7}=172.6\text{ Hz}$, C-7), definitivno potvrđuje da molekuli **41** i **42** sadrže fluoridnu funkciju na C-7, koja uzrokuje paramagnetno pomeranje. Pored toga, NMR spektri oba jedinjenja pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturama **41** [$\delta_{\text{H}} 2.54$ (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.5\text{ Hz}$, H-2a), 2.66 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.5\text{ Hz}$, H-2b); $\delta_{\text{C}} 35.84$ (C-2), 174.99 (C-1)] i **42** [$\delta_{\text{H}} 2.63\text{--}2.87$ (m, 2 H, $2\times\text{H-2}$); $\delta_{\text{C}} 35.98$ (C-2), 174.99 (C-1)]. Prisustvo laktonske funkcije u **41** i **42**, dodatno potvrđuju i njihovi IR spektri, koji na 1785 cm^{-1} i 1793 cm^{-1} sadrže karakteristične trake koje potiču od valencionog istežanja laktonskih karbonilnih grupa. Identitet i čistoća proizvoda **41** i **42** dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije [$m/e 360.1608$ (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{FNO}_4$: 360.1606], [$m/e 360.1604$ (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{FNO}_4$: 360.1606].

Direktne fluoridne izostere goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona **43** i **44** dobijene su uklanjanjem benziletarske grupe iz jedinjenja **41** i **42** hidrogenolizom (*Shema 3.2.13.*). Hidrogenovanjem jedinjenja **41** u prisustvu 10% Pd/C, u etil-acetatu sa 2% cc HCl, u toku 30 h, dobijena je direktna fluorna izostera goniofufurona (jedinjenje **43**) u prinosu od 70%. Pri sličnim reakcionim uslovima iz jedinjenja **42** je dobijena direktna fluorna izostera 7-*epi*-goniofufurona (jedinjenje **44**) u prinosu od 79%.

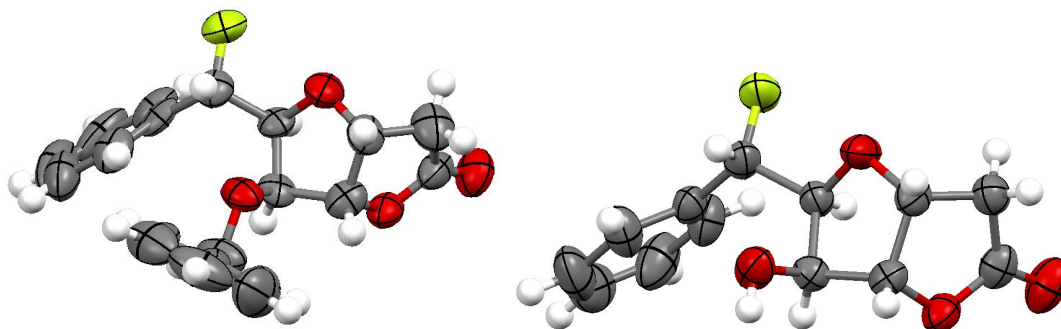


Shema 3.2.13. (a) $\text{H}_2\text{-Pd/C}$, EtOAc, tragovi cc HCl, rt, 30 h, **43** 70%; 21 h, **44** 79%.

Prisustvo hidroksilne grupe u jedinjenju **43** potvrđuje karakteristična traka koja je u IR spektru locirana na 3456 cm^{-1} . Signal koji je u ^{13}C NMR spektru lociran na $\delta_{\text{C}} 90.99$ (d, $J_{\text{F},7}=167.8\text{ Hz}$, C-7), definitivno potvrđuje da molekul **43** sadrži fluoridnu izosternu funkciju na C-7. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **43**: $\delta_{\text{H}} 2.62$ (d, 1 H, $J_{2\text{a},2\text{b}}=18.4\text{ Hz}$, H-2a), 2.74 (dd, 1 H, $J_{2\text{a},2\text{b}}=18.8\text{ Hz}$, $J_{2\text{b},3}=5.4\text{ Hz}$, H-2b); $\delta_{\text{C}} 35.91$ (C-2), 175.15 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **43**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1771 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **43** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [$m/e 270.1138$ (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FNO}_4$: 270.1136].

Karakteristična traka koja se u IR spektru jedinjenja **44** javlja na 3497 cm^{-1} , kao i signal u ^1H NMR spektru lociran na 2.49 ppm (d, 1 H, $J_{5,\text{OH}}=5.7\text{ Hz}$, OH) potvrđuju prisustvo slobodne hidroksilne grupe na C-5. Signal koji je u ^{13}C NMR spektru prisutan na višim vrednostima ppm [$\delta_{\text{C}} 93.28$ (d, $J_{\text{F},7}=172.6\text{ Hz}$, C-7)], definitivno potvrđuje da molekul **44** sadrži fluoridnu funkciju na C-7. Pored toga, oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **44**: $\delta_{\text{H}} 2.77$ (m, 2 H, $2\times\text{H-2}$); $\delta_{\text{C}} 35.97$ (C-2), 175.25 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **44**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1763 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju laktonske karbonilne grupe. Identitet i čistoća proizvoda **44** dodatno su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije [$m/e 270.1135$ (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FNO}_4$: 270.1136].

Konačna potvrda strukture i stereohemije fluoridnih analoga (7*S*)-konfiguracije (**42** i **44**) dobijena je rendgeno-strukturnom analizom odgovarajućih monokristala (Slika 3.2.8.).



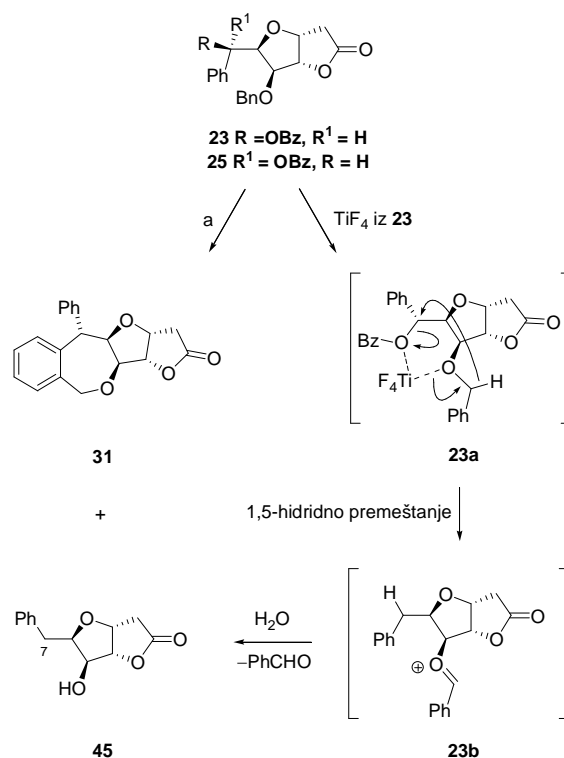
Slika 3.2.8. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **42** (levo) i **44** (desno).

Za razliku od njih fluoridni izomeri (*7R*)-konfiguracije (**41** i **43**) ne kristališu u vidu monokristala.

Prilično neočekivani rezultati su dobijeni nakon reakcije jedinjenja **23** i **25** sa TiF_4 (Shema 3.2.14.). Naime, tretiranjem jedinjenja **23** sa titanijum(IV)-fluoridom u anhidrovanom metilen-hloridu u toku 7 dana na temperaturi $-18\text{ }^\circ\text{C}$, dobijena su dva proizvoda od kojih je dominantni proizvod bio 7-deoksigenovani analog goniofufurona **45** (44%), dok je kao sporedni proizvod dobijen benzoksepan **31** (19%).

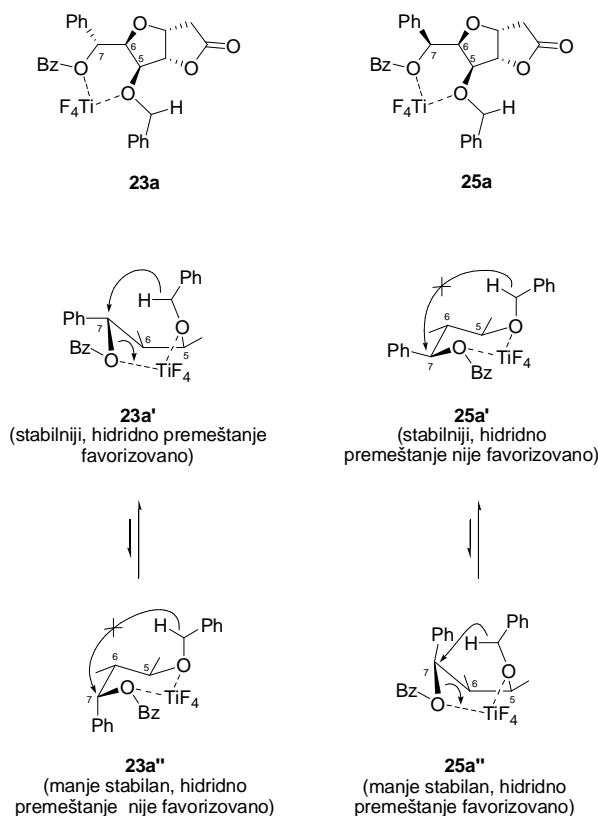
Primenom sličnih reakcionih uslova, iz jedinjenja **25** je dobijena smeša istih proizvoda, ali je dominantni proizvod u ovom slučaju bio benzoksepan **31** (48%), dok je kao sporedni proizvod izolovan deoksigenovani derivat **45** (31%).

Ovo je novi primer takozvane „supstratom kontrolisane hemoselektivnosti“ koja omogućava preferencijalno dobijanje oksepana **31**, kao proizvoda intramolekulske Friedel-Crafts-ove reakcije iz **25**, odnosno deoksigenovanog derivata **45**, kao proizvoda [1,5]-hidridnog premeštanja, iz stereoizomera **23**. Mogući mehanizam preferencijalnog formiranja **45** prikazan je na Shemi 3.2.14.



Shema 3.2.14. (a) TiF₄, CH₂Cl₂, -18 °C, 7 dana za **23**, 14 dana za **25**; **45** 44%, **31** 19% (iz **23**); **31** 48%, **45** 31% (iz **25**).

Moguće objašnjenje ovog mehanizma leži u stereochemijskim osobinama titanijum(IV) kompleksa (**23a** i **25a**) (Shema 3.2.15.). Naime, [1,5]-hidridno premeštanje je favorizovano u kompleksima **23a'** i **25a''** zbog blizine benzilnog hidrida i elektrofilnog C-7 atoma. Kao što je na shemi prikazano kod kompleksa **23a'** i **23a''** konformaciona ravnoteža je pomerenjena u korist kompleksa (**23a'**) koji je u obliku uvijene kade i u kom je favorizovano transanularno [1,5]-hidridno premeštanje, te iz toga proizilazi da će iz kompleksa **23a** nastajati deoksigenovan **45** kao dominantni proizvod. U slučaju kompleksa **25a'** i **25a''** ravnoteža je pomerenjena u korist konformera u obliku stolice (**25a'**), ovde su benzilni hidridi udaljeniji od C-7 atoma te iz toga proizilazi da [1,5]-hidridno premeštanje nije favorizovano, te iz kompleksa **25a** nastaje oksepan **31** kao dominantni derivat.



Shema 3.2.15. Stereohemijske osobine titanijum(IV) kompleksa **23a** i **25a**.

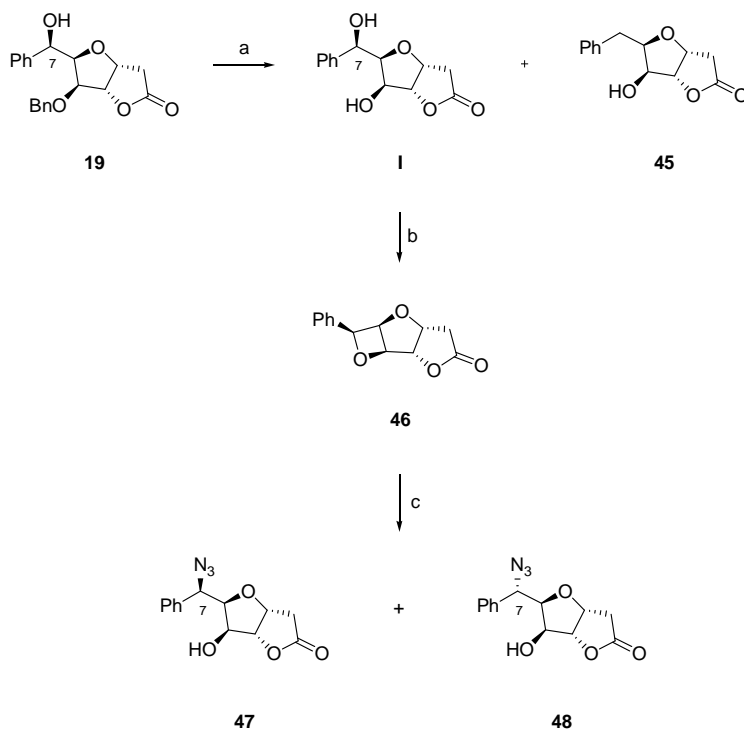
Nakon dobijanja halogenidnih analoga goniofufurona, pristupili smo sintezi i pseudo-halogenidnih analoga goniofufurona, odnosno azido-derivata **47** i **48**. Sintaza ovih analoga započeta je iz 5-*O*-benzil-derivata goniofufurona (**19**) i 7-*epi*-goniofufurona (**21**), a prva faza obuhvatala je uklanjanje benziletarskih zaštitnih grupa primenom standardnog postupka hidrogenolize (Sheme 3.2.16. i 3.2.17.).

Jedinjenje **19** je podvrgnuto katalitičkoj hidrogenolizi u prisustvu Pd/C u MeOH, na sobnoj temperaturi u toku 7.5 h, pri čemu je dobijen goniofufuron (**I**) kao glavni proizvod u prinosu od 69%, dok je izolovan i sporedni proizvod **45** u prinosu od 10%. Spektroskopski i fizički podaci dobijenog prirodnog proizvoda (**I**) su u saglasnosti sa literaturnim podacima.^{87,88}

Prirodni proizvod **I** je zatim podvrgnut intramolekulskoj Mitsunobu-ovoj reakciji, u prisustvu trifetil-fosfina i dietilazodikarboksilata, u anhidrovanom toluenu, na 0 °C pri čemu je temperatura postepeno povećavana do temperature ključanja. Dobijen je oksetan **46** u prinosu od 40%.

Finalna faza u sintezi azidnih analoga obuhvatala je otvaranje oksetanskog prstena jedinjenja **46** sa trimetilsilil-azidom i bortrifluorid-eteratom u metilen-hloridu (0 °C, 2.5 h). Pri tome je dobijen 7-azido-derivat (+)-goniofufurona **47** (18%) kao i manja količina azidne izostere 7-*epi*-(+)-

goniofufurona **48** (6%) (*Shema 3.2.16.*). Svi naši pokušaji usmereni na povećanje prinosa azidnih izostera **47** i **48** nisu dali pozitivne rezultate.



Shema 3.2.16. (a) H₂, 10% Pd/C, MeOH, rt, 7.5 h, **I** 69%, **45** 10%; (b) Ph₃P, DEAD, anh. toluen, 0 °C → ↑↓, 2.5 h, **46** 40%; (c) Me₃SiN₃, BF₃·Et₂O, anh. CH₂Cl₂, 0 °C, 2.5 h, potom Et₃N, rt, 0.5 h, **47** 18%, **48** 6%.

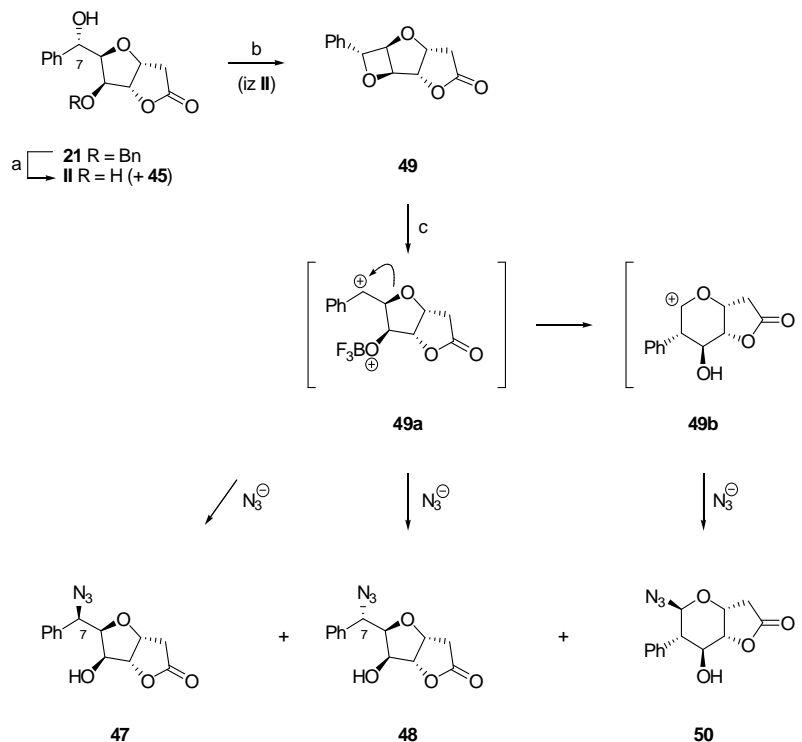
Katalitičkom hidrogenolizom u prisustvu 10% Pd/C, u metanolu, na sobnoj temperaturi, u toku 49 h, uklonjena je benzil-etarska zaštita iz molekula **21**. Pri tome je dobijen prirodni proizvod **II** u prinosu od 84%. Osim toga, izolovan je i deoksigenovani proizvod **45** u prinosu od 15% (*Shema 3.2.17.*).

Spektroskopski podaci sintetizovanih uzoraka bili su u dobroj saglasnosti sa odgovarajućim podacima objavljenim u literaturi.^{89–91}

Prirodni proizvod **II** zatim je preveden u oksetan **49** u uslovima intramolekulske Mitsunobu-ove reakcije, koja je izvedena dejstvom dietilazodikarboksilata i trifenil-fosfina, u ključalom anhidrovanom toluenu, u toku 4 h. Željeni proizvod **49** je dobijen u prinosu od 37%.

Finalna faza naših radova obuhvatala je otvaranje oksetanskog prstena jedinjenja **49** sa trimetilsililazidom i bortrifluorid-eteratom u metilen-hloridu (0 °C, 4 h), pri čemu su dobijeni odgovarajući 7-azido-derivati oba prirodna proizvoda. Dominantni proizvod u ovoj reakciji je azidna izostera 7-*epi*-(+)-goniofufurona (jedinjenje **48**) koji je izolovan u prinosu od 24%, dok je kao sporedni proizvod izolovana azidna izostera (+)-goniofufurona (jedinjenje **47**), u prinosu od 10%. Pored toga,

izolovana je i manja količina azidnog derivata **50** (12%) sa piranofuranonskim sistemom prstenova. Molekul **50** najverovatnije nastaje kao proizvod ekspanzije prstena (furanozni \rightarrow piranozni), preko benzilnih karbokacija **49a** i **49b** kao intermedijera (*Shema 3.2.17.*).



Shema 3.2.17. (a) H_2 , 10% Pd/C, MeOH, rt, 49 h, **II** 84%, **45** 15%; (b) Ph_3P , DEAD, anh. toluen/anh. THF (1:1), $0^\circ\text{C} \rightarrow \uparrow\downarrow$, 4.5 h, **49** 37%; (c) Me_3SiN_3 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, anh. CH_2Cl_2 , 0°C , 4 h, potom Et_3N , rt, 0.5 h, **47** 10%, **48** 24%, **50** 12%.

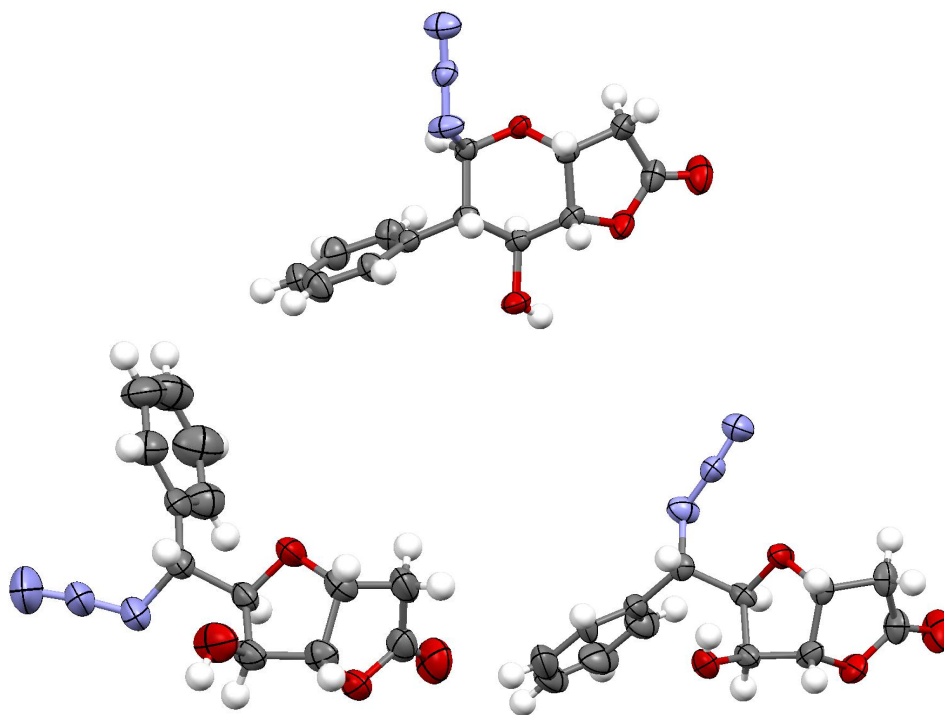
Prisustvo azidnih grupa kod izostera **47** i **48** potvrđuju karakteristične trake koje su u IR spektrima locirane na 2106, odnosno 2104 cm^{-1} . Signali koji se u ^{13}C NMR spektrima javljaju pri nižim ppm vrednostima, δ_{C} 64.08 i 64.83 (C-7), definitivno potvrđuju da molekuli **47** i **48** sadrže azidnu funkciju na C-7. Karakteristične trake koje se javljaju u IR spektrima na 3448, odnosno 3442 cm^{-1} , kao i signali u ^1H NMR spektrima locirani na 2.43 ppm (bs, 1 H, OH), odnosno na 2.40 ppm (bs, 1 H, OH) potvrđuju prisustvo slobodnih hidroksilnih grupa na C-5. Pored toga, NMR spektri oba jedinjenja pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturama **47** i **48**: δ_{H} 2.61 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.5$ Hz, H-2a), 2.71 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7$ Hz, $J_{2b,3}=5.4$ Hz, H-2b); δ_{C} 35.94 (C-2), 175.06 (C-1); odnosno, δ_{H} 2.79 (d, 2 H, $J_{2,3}=3.2$ Hz, 2H-2); δ_{C} 35.96 (C-2), 175.18 (C-1).

Prisustvo laktonskih funkcija u molekulima **47** i **48**, dodatno potvrđuju i njihovi IR spektri pri čemu oba spektra na 1785 cm^{-1} sadrže karakterističnu traku koja odgovara valencionom istezanju laktanske karbonilne grupe. Identitet i čistoća azidnih derivata definitivno su potvrđeni masenim

spektrima visoke rezolucije; m/e 298.0797 (M^+Na), izračunato za $C_{13}H_{13}N_3NaO_4$ (jedinjenje **47**): 298.0798; m/e 298.0803 (M^+Na), izračunato za $C_{13}H_{13}N_3NaO_4$ (jedinjenje **48**): 298.0798.

Prisustvo azidne grupe u molekulu **50** potvrđuje karakteristična traka u IR spektru locirana na 2105 cm^{-1} . Dodatna potvrda azidne funkcije u benzilnom položaju C-7 je signal koji se u ^{13}C NMR spektru javlja na δ_C 93.06 (C-7). Prisustvo hidroksilne grupe potvrđuju karakteristična IR apsorpcija na 3439 cm^{-1} , kao i signal koji je u ^1H NMR spektru lociran na 1.83 ppm (bs, 1 H, OH). Karakteristična traka koja je u IR spektru jedinjenja **50** locirana na 1774 cm^{-1} potvrđuje prisustvo γ -laktonskog prstena, dodatna potvrda prisustva γ -laktonskog prstena su i signali u oba NMR spektra: δ_H 2.73 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7\text{ Hz}$, H-2a), 2.98 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.7\text{ Hz}$, $J_{2b,3}=6.9\text{ Hz}$, H-2b); δ_C 35.06 (C-2), 174.29 (C-1). Identitet i čistoća azidnog pirano-furanona **50**, konačno je potvrđen masenim spektrom visoke rezolucije: m/e 293.1243 (M^+NH_4), izračunato za $C_{13}H_{17}N_4O_4$: 293.1244.

Strukture i stereochemija azidnih izostera definitivno su potvrđene rendgeno-strukturnom analizom odgovarajućih monokristala (Slika 3.2.9.).

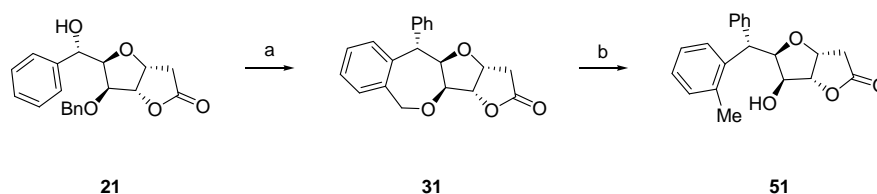


Slika 3.2.9. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture izosternih analoga **50** (gore), **47** (levo) i **48** (desno).

Sinteza bioizostera stiril-laktona tipa goniofufurona

Strategija zatvaranja i otvaranja prstena je primenjena pri dizajnu i sintezi benzoksepana i odgovarajućih otvorenih analoga. Benzoksepanski derivat **31** koji je dobijen kao jedan od sporednih

proizvoda u reakcijama sa TiCl_4 i TiF_4 , dobijen je kao glavni proizvod u reakciji sa koncentrovanom trifluorosirćetnom kiselinom. Naime, kada je jedinjenje **21** podvrgnuto dejstvu anhidrovane TFA na $77\text{ }^\circ\text{C}$, u toku 2 h u atmosferi argona, dobijen je benzoksepan **31** u prinosu od 39%. Zatim je benzoksepan **31** podvrgnut otvaranju prstena u reakciji hidrogenolize (H_2 , 10% Pd/C i 50% vode na masu Pd/C, MeOH, rt, 139 h), pri čemu je dobijen analog **51** (46%), kao rezultat raskidanja $\text{C}_{10}\text{-O}_5$ veze benzoksepna **31** (Shema 3.2.18.).



Shema 3.2.18. (a) cc TFA, $77\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 39%; (b) H_2 , Pd/C, MeOH, rt, 139 h, 46%.

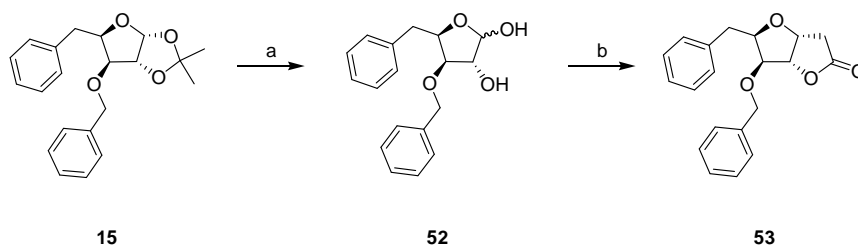
Izostanak karakteristične trake koja je u IR spektru jedinjenja **21** bila locirana na 3469 cm^{-1} , potvrđuje da molekul **31** ne sadrži hidroksilnu grupu. Oba NMR spektra pokazuju signale koji potvrđuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **31**: δ_{H} 2.69 (d, 2 H, $J_{2,3}=3.5\text{ Hz}$, H-2a i H-2b); δ_{C} 36.18 (C-2), 175.33 (C-1). Prisustvo laktonske funkcije u molekulu **31**, dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1787 cm^{-1} sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju laktonske karbonilne grupe.

Prisustvo hidroksilne grupe u molekulu **51** potvrđuje karakterističan signal koji se u njegovom IR spektru javlja na 3451 cm^{-1} . Dodatna potvrda prisustva hidroksilne grupe u strukturi **51** je signal koji se u njegovom ^1H NMR spektru javlja na 1.98 ppm (bs, 1 H, OH). Signali koji se u NMR spektrima javljaju na δ_{H} 2.38 (s, 3 H, Me), odnosno na δ_{C} 19.88 (Me), dokazuju prisustvo metilgrupe u molekulu **51**. Sledeći signali u oba NMR spektra dokazuju prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **51**: δ_{H} 2.61 (dd, 1 H, $J_{2a,3}=1.7\text{ Hz}$, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2b,3}=5.5\text{ Hz}$, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, H-2b); δ_{C} 35.91 (C-2), 175.71 (C-1). Prisustvo laktonske funkcionalne grupe takodje potvrđuje i signal koji se u IR spektru javlja na 1784 cm^{-1} .

Identitet i čistoća proizvoda **31** i **51** dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije: m/e 323.1267 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_4$: 323.1278; m/e 345.1089 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NaO}_4$: 345.1097; m/e 361.0829 ($\text{M}^+\text{+K}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{KO}_4$: 361.0837; m/e 645.2474 ($2\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{40}\text{H}_{37}\text{O}_8$: 645.2483 (jedinjenje **31**); m/e 325.1423 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4$: 325.1434 (jedinjenje **51**).

Za dobijanje alternativnog analoga sa otvorenim benzoksepanskim prstenom koji formalno nastaje raskidanjem $\text{C}_7\text{-C}_8$ veze korišćen je 7-deoksi-derivat **15** kao polazno jedinjenje. Prvo je jedinjenje

15 podvrgnuto hidrolizi sa 90% TFA (rt, 0.5 h), pri čemu je dobijen željeni laktol **52** u prinosu od 47%. Naredna faza je bila bazno-katalizovana kondenzacija laktola **52** sa Meldrum-ovom kiselinom. Reakcija je izvedena u DMF na 46 °C, u toku 49 h, u prisustvu Et₃N, pri čemu je dobijen odgovarajući lakton **53** u prinosu od 80% (*Shema 3.2.19.*).

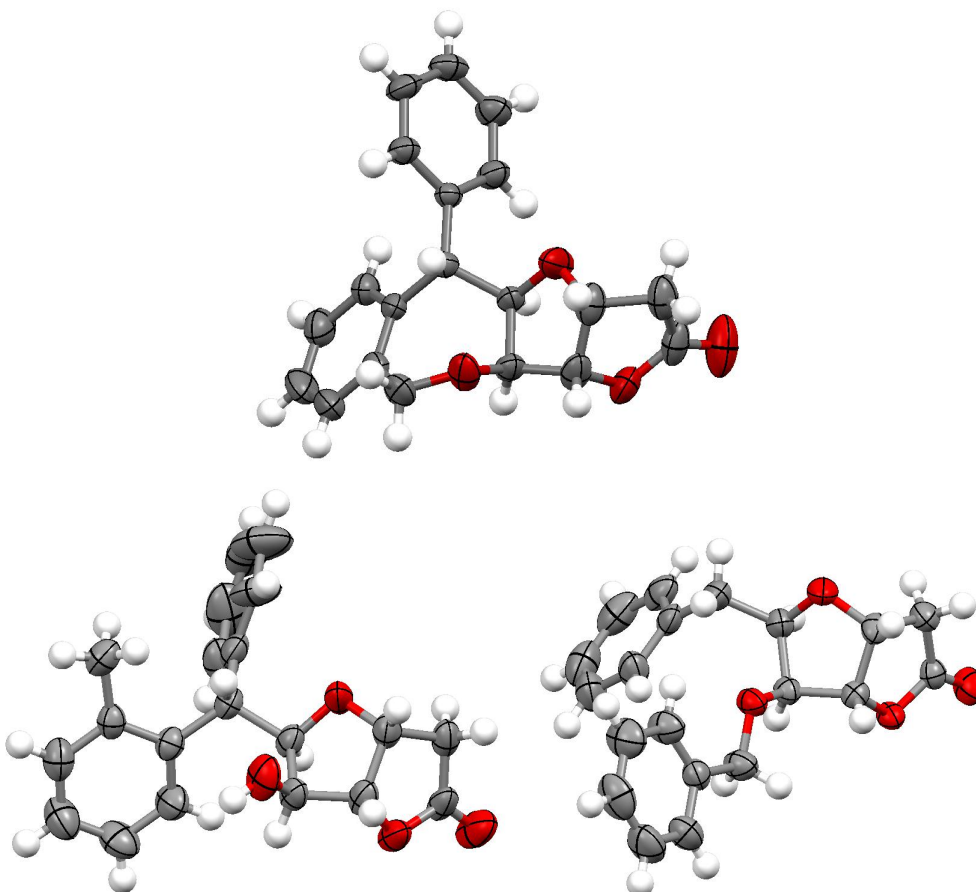


Shema 3.2.19. (a) 90% aq TFA, rt, 0.5 h, 47%; (b) Meldrum-ova kiselina, Et₃N, anh. DMF, 46 °C, 49 h, 80%.

Struktura i čistoća jedinjenja **52** potvrđene su NMR, IR i masenim spektrom visoke rezolucije m/e 323.1247 (M^+Na), izračunato za C₁₈H₂₀NaO₄: 323.1254; m/e 339.0984 (M^+K), izračunato za C₁₈H₂₀KO₄: 339.0993.

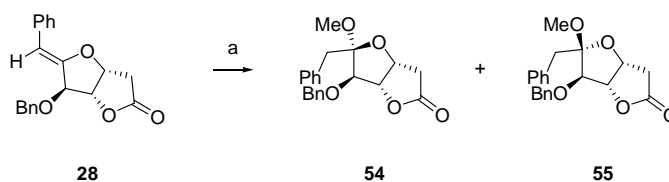
U strukturi **53** prisustvo dva aromatična prstena potvrđuju signali u oba NMR spektra [δ_H 7.16–7.50 (m, 10 H, 2×Ph); δ_C 126.46, 127.82, 128.16, 128.46, 128.59, 128.99, 137.04 i 137.74 (2×Ph)]. Prisustvo γ -laktonskog prstena u strukturi **53** dokazuju signali iz oba NMR spektra δ_H 2.64 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$ Hz, $J_{2a,3}=1.1$ Hz, H-2a), 2.75 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$ Hz, $J_{2b,3}=5.8$ Hz, H-2b); δ_C 35.87 (C-2), 175.54 (C-1), kao i karakteristična traka koja je u IR spektru locirana na 1787 cm⁻¹, koja odgovara valencionom istezanju laktonske karbonilne grupe.

Strukture i stereohemija benzoksepana **31** i otvorenih analoga **51** i **53** potvrđene su rendgenostrukturalnom analizom odgovarajućih monokristala (*Slika 3.2.10.*).



Slika 3.2.10. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture benzoksepana i otvorenih analoga **31** (gore), **51** (levo) i **53** (desno).

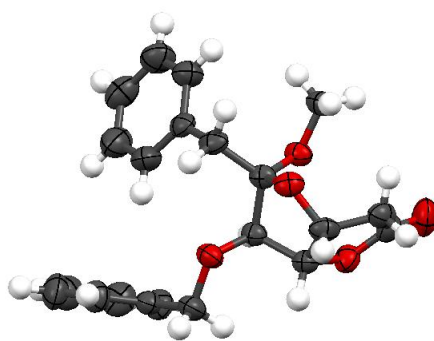
U cilju alternativnog dobijanja C-7 deoksigenovanog derivata **53**, odnosno odgovarajućeg C-6 epimera proučavano je hidrogenovanje olefina **28**, koji je dobijen kao sporedni proizvod u reakcijama halogenovanja. Naime, primenom platina(IV)-oksida kao katalizatora u metanolu, u atmosferi vodonika, na sobnoj temperaturi u toku 15 dana, neočekivano je dobijena smeša 6-*O*-metil-derivata **54** i **55** u ukupnom prinosu od 40%. Glavni proizvod **55** izolovan je u prinosu od 26%, dok je sporedni proizvod **54** dobijen u prinosu od 14% (Shema 3.2.20.).



Shema 3.2.20. (a) H₂, PtO₂, MeOH, rt, 15 dana, **54** 14%, **55** 26%.

Signali koji potiču od rezonance novouvedenih metil-grupa prisutni su u NMR spektrima oba jedinjenja, **54**: δ_{H} 3.36 (OCH₃), δ_{C} 48.93 (OMe); **55**: δ_{H} 3.45 (OCH₃), δ_{C} 48.53 (OMe). Prisustvo

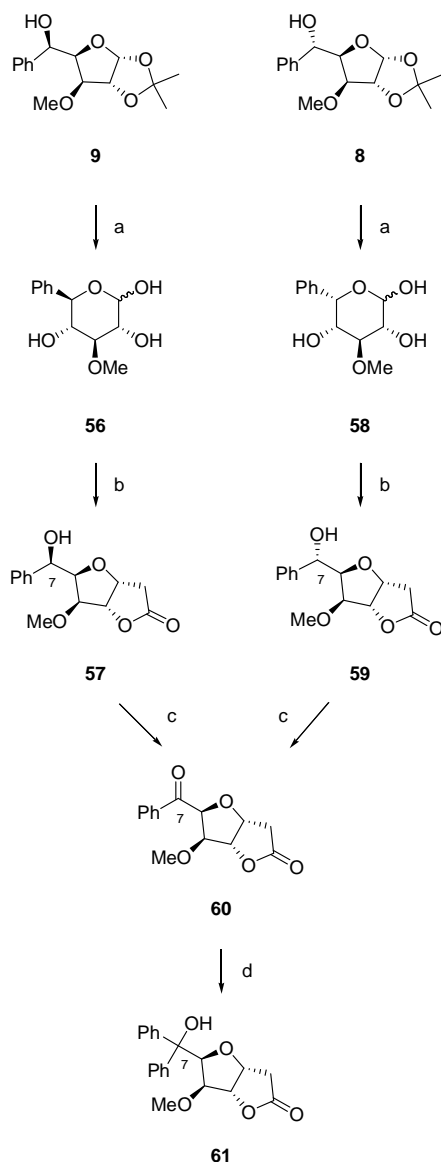
laktoskog prstena u oba molekula potvrđuju sledeće trake u IR spektrima: 1779 cm^{-1} za **54**, 1772 cm^{-1} za **55**. Dodatna potvrda prisustva laktoskih funkcionalnih grupa u molekulima **54** i **55** su sledeći signali u njihovim NMR spektrima, **54**: δ_{H} 2.68 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, $J_{2a,3}=2.3\text{ Hz}$, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, $J_{2b,3}=6.9\text{ Hz}$, H-2b); δ_{C} 36.29 (C-2), 174.95 (C-1); **55**: δ_{H} 2.56 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, $J_{2a,3}=2.1\text{ Hz}$, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9\text{ Hz}$, $J_{2b,3}=7.3\text{ Hz}$, H-2b); δ_{C} 37.25 (C-2), 174.83 (C-1). Struktura i identitet proizvoda **54** i **55** potvrđeni su i masenim spektrima visoke rezolucije [m/e 372.1788 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{NO}_5$: 372.1806 (jedinjenje **54**); m/e 372.1808 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{NO}_5$: 372.1806; m/e 377.1356 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NaO}_5$: 377.1359 (jedinjenje **55**)]. Rendgeno-strukturnom analizom definitivno je potvrđena stereochemija samo jedinjenja **54**, obzirom da **55** ne kristališe u vidu monokristala (Slika 3.2.11.).



Slika 3.2.11. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture jedinjenja **54**.

Za dobijanje trećeg analoga sa otvorenim benzoksepsanskim prstenom (formalnim raskidanjem $\text{C}_9\text{-C}_{10}$ veze) bilo je potrebno prvo sintetizovati 5-*O*-metil-analoge goniofufurona (**57**) i 7-*epi*-goniofufurona (**59**), polazeći iz odgovarajućih Grignard-ovih alkohola **9** i **8** (Shema 3.2.21.).

Alkoholi **9** i **8** su prvo podvrgnuti dejstvu 90% trifluorosirćetne kiseline na sobnoj temperaturi u toku 0.5 h, pri čemu su dobijeni odgovarajući laktoli **56** i **58**, koji su zatim podvrgnuti bazno-katalizovanoj kondenzaciji sa Meldrum-ovom kiselinom u anhidrovanom DMF-u. Reakcije su tekle u prisustvu Et_3N na $46\text{ }^\circ\text{C}$, u toku 74, odnosno 70 h. Pri tome su dobijeni laktioni **57**, odnosno **59**, u respektivnim prinosima od 41 i 46%.



Shema 3.2.21. (a) 90% aq. TFA, rt, 0.5 h, **56** 99%; 0.5 h, **58** 81%; (b) Meldrum-ova kiselina, Et₃N, anh. DMF, 46 °C; 74 h, **57** 41%; 70 h, **59** 46%; (c) PCC, anh. CH₂Cl₂ ↑↓; 2.5 h, 99% (iz **57**); 2 h, 91% (iz **59**); (d) PhMgBr/THF, anh. THF, 0 °C, 1.5 h, 35%.

Kao što se iz IR spektara može videti oba jedinjenja (**57** i **59**) imaju slobodne hidroksilne grupe na C-7, što potvrđuju karakteristične trake na 3482 i 3450 cm⁻¹. Obe strukture sadrže γ -laktonski prsten što jasno potvrđuju NMR spektri oba jedinjenja, **57**: δ_{H} 2.63 (bd, 1 H, $J_{2\text{a},2\text{b}}=18.3$ Hz, H-2a), 2.69 (dd, 1 H, $J_{2\text{a},2\text{b}}=18.9$ Hz, $J_{2\text{b},3}=5.6$ Hz, H-2b); δ_{C} 35.70 (C-2), 175.27 (C-1); **59**: δ_{H} 2.63 (d, 1 H, $J_{2\text{a},2\text{b}}=18.8$ Hz, H-2a), 2.72 (dd, 1 H, $J_{2\text{a},2\text{b}}=18.9$ Hz, $J_{2\text{a},3}=4.9$ Hz, H-2b); δ_{C} 35.79 (C-2), 175.27 (C-1). Dodatna potvrda prisustva laktorskog prstena u ovim molekulima su i sledeće karakteristične trake u IR spektrima, za **57** 1786 cm⁻¹, za **59** 1783 cm⁻¹. Prisustvo metil-grupe u molekulu **57** potvrđuje signal koji je u protonskom NMR spektru lociran na 3.48 ppm (s, 3 H, OCH₃), kao i signal koji se u ¹³C NMR spektru javlja na 58.28 ppm (OCH₃). U oba NMR spektra jedinjenja **59**, takodje su prisutni signali koji potvrđuju prisustvo metil-grupe [δ_{H} 3.29 ppm (s, 3 H, OCH₃); δ_{C}

57.86 ppm (OCH₃)]. Identitet i čistoća oba proizvoda dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije: m/e 282.1334 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₂₀NO₅: 282.1336 (jedinjenje **57**); m/e 282.1343 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₂₀NO₅: 282.1336 (jedinjenje **59**).

Naredna faza ovog dela naših radova bila je oksidacija hidroksilne grupe u položaju C-7 jedinjenja **57** i **59**. Oksidacija je postignuta dejstvom PCC u anhidrovanom CH₂Cl₂ na temperaturi ključanja, u toku 2–2.5 h, pri čemu je iz obe reakcije dobijen isti proizvod, keton **60** (99% iz **57**, 91% iz **59**).

Na prisustvo karbonilne grupe u molekulu **60** ukazuje karakteristična traka koja se javlja u IR spektru na 1698 cm⁻¹. Prisustvo karbonilne grupe dodatno potvrđuje signal koji je u ¹³C NMR spektru lociran na 194.35 ppm (C-7). Takodje, u IR spektru se može naći dokaz za prisustvo laktonske karbonilne grupe, što potvrđuje karakteristična traka na 1779 cm⁻¹. Dodatna potvrda prisustva laktonskog prstena u strukturi **60** su signali u oba NMR spektra δ_H 2.63 (d, 1 H, $J_{2a,2b}$ =18.4 Hz, H-2a), 2.72 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}$ =18.6 Hz, $J_{2b,3}$ =4.5 Hz, H-2b); δ_C 35.86 (C-2), 174.72 (C-1). Čistoća i identitet ketona **60** su potvrđeni masenim spektrom visoke rezolucije m/e 263.0909 (M⁺+H), izračunato za C₁₄H₁₅O₅: 263.0914; m/e 280.1175 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₁₈NO₅: 280.1180; m/e 285.0729 (M⁺+Na), izračunato za C₁₄H₁₄NaO₅: 285.0733; m/e 301.0476 (M⁺+K), izračunato za C₁₄H₁₄KO₅: 301.0473.

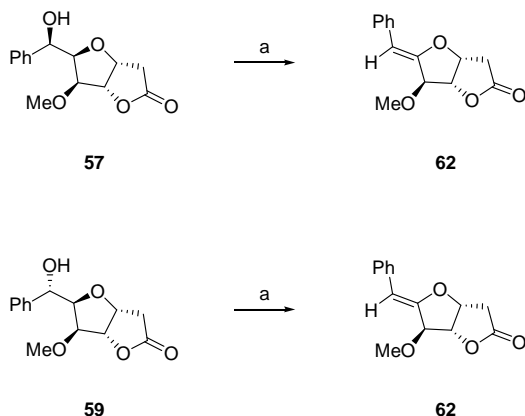
Keton **60** je zatim tretiran PhMgBr u anhidrovanom THF u toku 1.5 h na 0 °C, pri čemu je dobijen difenilni derivat **61** u prinosu od 35%. I pored više pokušaja nije nam pošlo za rukom da povećamo prinos tercijarnog alkohola **61**. Verovatno je Grignard-ova reakcija ketona **60** sa PhMgBr otežana jer voluminozna Ph grupa na C-7 prouzrokuje snažne sterne smetnje za prilaz reagensa karbonilnom C-atomu.

Prisustvo dva fenilna prstena u strukturi **61** potvrđuje multiplet koji se u protonskom NMR spektru javlja na 7.14–7.56 ppm (10 H, 2×Ph), kao i signali u ¹³C NMR spektru locirani na 124.95, 125.95, 126.93, 126.96, 128.05, 128.20, 144.29 i 145.50 ppm (2×Ph). Karakteristična traka u IR spektru na 3424 cm⁻¹, koja odgovara valencionom istezanju hidroksilne grupe, ukazuje na prisustvo slobodne OH grupe u molekulu **61**, kao i signal u ¹H NMR spektru na 4.70 ppm (s, 1 H, izmenljiv sa D₂O, OH). Prisustvo laktonskog prstena u molekulu **61** potvrđuju i oba NMR spektra [δ_H 2.78 (d, 2 H, $J_{2,3}$ =3.4 Hz, H-2); δ_C 35.95 (C-2), 175.16 (C-1)], kao i IR spektar (1738 cm⁻¹).

Pokušaji uklanjanja hidroksilne grupe sa C-7 jedinjenja **61**, primenom različitih metoda, nisu dali željeni rezultat, tako da treći analog sa otvorenim benzoksepanskim prstenom nije dobijen iz ovog jedinjenja.

Friedel-Crafts-ova reakcija benzena sa benzilnim alkoholima **57** i **59** u prisustvu skandijum(III)-triflata,⁹² takodje nije dala željeni ishod. Reakcija je izvedena na temperaturi ključanja u toku 18.5,

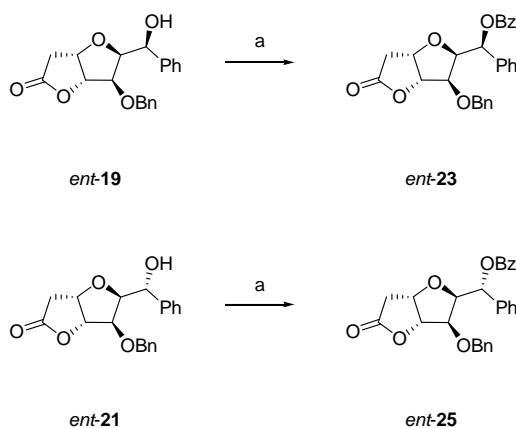
odnosno 20 h, pri čemu je umesto željenog difenil-derivata, dobijen olefin **62** u prinosu od 26% (iz **57**), odnosno 31% (iz **59**) (Shema 3.2.22.).



Shema 3.2.22. (a) $\text{Sc}(\text{OTf})_3/\text{CH}_3\text{NO}_2$, anh. benzen $\uparrow\downarrow$; 18.5 h, 26% iz **57**; 20 h, 31% iz **59**.

Sinteza enantiomernih biozostera stiril-laktona tipa goniofufurona

Za sintezu suprotnog enantiomera benzoksepana *ent*-**31** i njegovih otvorenih analoga *ent*-**51** i *ent*-**53**, bilo je potrebno započeti sintezu iz poznatih derivata (–)-goniofufurona i 7-*epi*-(–)-goniofufurona, koji u položaju C-5 imaju benzilnu zaštitnu grupu (*ent*-**19** i *ent*-**21**).^{93,94} Prva faza obuhvatala je esterifikaciju benzilne hidroksilne grupe na C-7 (Shema 3.2.23.). Ovo je postignuto dejstvom benzoil-hlorida u anhidrovanom piridinu ($0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$), u toku 20 h polazeći iz *ent*-**19**, odnosno tokom 18 h kada se polazi iz *ent*-**21**. Pri tome je iz *ent*-**19** dobijen 7-*O*-benzoil-derivat *ent*-**23** u prinosu od 94%, dok je iz *ent*-**21** dobijen 7-*O*-benzoil-derivat *ent*-**25** u prinosu od 68%.



Shema 3.2.23. (a) BzCl , anh. Py, $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$; 20 h, *ent*-**23** 94%; 18 h, *ent*-**25** 68%.

Strukture sintetizovanih 7-*O*-benzoil-derivata *ent*-**23** i *ent*-**25** su potvrđene upoređivanjem njihovih spektroskopskih podataka sa odgovarajućim podacima od suprotnih enantiomera (**23** i **25**), pri čemu je u oba slučaja dobijena puna saglasnost (Tabele 3.2.1. i 3.2.2.). Identitet i čistoća proizvoda *ent*-**23** i *ent*-**25** dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije [za *ent*-**23**: *m/e* 467.1460 (M^+Na), izračunato za $C_{27}H_{24}NaO_6$: 467.1465. Za *ent*-**25**: *m/e* 462.1910 (M^+NH_4), izračunato za $C_{27}H_{28}NO_6$: 462.1911].

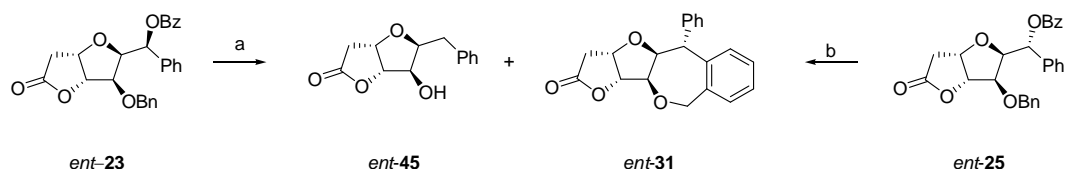
Tabela 3.2.1. Poređenje spektroskopskih NMR podataka za skeletne H/C enantiomera **23** i *ent*-**23**

C/H	(+)-enantiomer 23		(-)-enantiomer <i>ent</i> - 23	
	δ_H (J)	δ_C	δ_H (J)	δ_C
1		175.2		175.2
2a	2.58 d (18.3)		2.58 d (18.4)	
2b	2.70 dd (18.3, 4.6)	35.9	2.69 dd (18.4, 4.8)	35.9
3	4.93–5.01 m	77.4	4.94–5.03 m	77.4
4	4.93–5.01 m	84.5	4.94–5.03 m	84.5
5	4.34 d (3.4)	80.2	4.39 d (3.3)	80.2
6	4.54 dd (3.4, 9.2)	82.1	4.56 dd (3.3, 9.2)	82.1
7	6.21 d (9.2)	72.6	6.22 d (9.2)	72.6

Tabela 3.2.2. Poređenje spektroskopskih NMR podataka za skeletne H/C enantiomera **25** i *ent*-**25**

C/H	(+)-enantiomer 25		(-)-enantiomer <i>ent</i> - 25	
	δ_H (J)	δ_C	δ_H (J)	δ_C
1		175.4		175.2
2a	2.75 m (2 H)		2.74 m (2 H)	
2b		36.2		35.9
3	5.12 m	77.7	5.12 m	77.5
4	4.84 d (4.4)	84.6	4.85 d (4.6)	84.4
5	3.90 d (3.7)	81.5	3.82 d (3.7)	81.4
6	4.65 dd (3.7, 8.3)	82.9	4.66 dd (3.8, 8.3)	82.7
7	6.34 d (8.3)	75.3	6.34 d (8.3)	75.2

Jedinjenja *ent*-**23** i *ent*-**25** su podvrgnuta tretmanu sa Ti(IV)-fluoridom u anhidrovanom metilenhloridu, na $-18^\circ C$, u toku 7 odnosno 14 dana (Shema 3.2.24.). Tom prilikom su dobijeni različiti odnosi benzoksepana *ent*-**31** i deoksigenovanog derivata *ent*-**45**. Kada je polazno jedinjenje bio *ent*-**23**, kao glavni proizvod je dobijen deoksigenovani derivat *ent*-**45** u prinosu od 47%, dok je kao sporedni proizvod dobijen benzoksepan *ent*-**31** u prinosu od 36%. Međutim, kada su isti reakcioni uslovi primenjeni na *ent*-**25**, kao glavni proizvod je dobijen benzoksepan *ent*-**31** u prinosu od 42%, dok je sporedni deoksigenovani derivat *ent*-**45** izolovan u prinosu od 33%. Priroda i međusobni odnos proizvoda u ovoj reakciji je sličan onom koji je ranije dobijen u (+)-enantiomernoj seriji (Shema 3.2.14.).



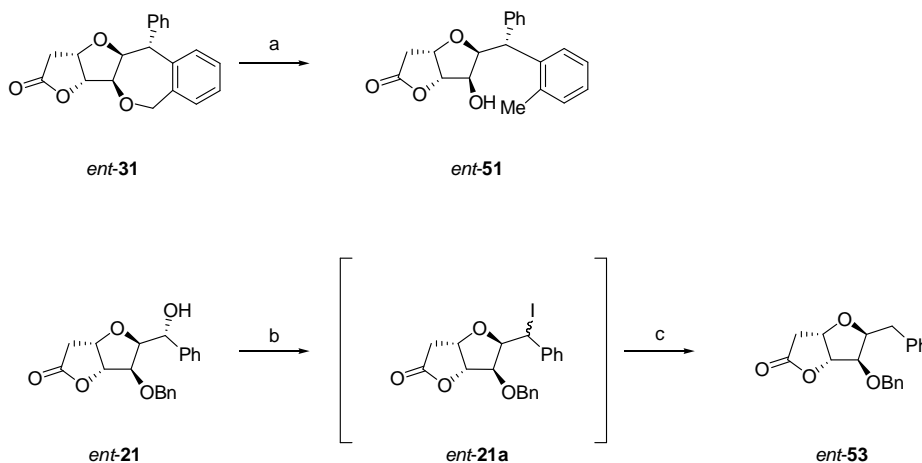
Shema 3.2.24. (a) TiF_4 , anh. CH_2Cl_2 , $-18\text{ }^\circ\text{C}$, 7 dana, *ent-45* 47%, *ent-31* 36%; (b) TiF_4 , anh. CH_2Cl_2 , $-18\text{ }^\circ\text{C}$, 14 dana, *ent-31* 42%, *ent-45* 33%.

IR, NMR i M-spektri proizvoda *ent-31* su u veoma dobroj saglasnosti sa istim od odgovarajućeg (+)-enantiomera **31**. Temperature topljenja i apsolutne vrednosti optičke rotacije takodje su bile u dobroj saglasnosti (za *ent-31*: tt $222\text{--}224\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}} = -53.4$; za **31**: tt $218\text{--}221\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}} = +54.8$). U slučaju 7-deoksi-derivata *ent-45* dobijena je ista vrednost temperature topljenja kao kod suprotnog enantiomera **45** (tt $139\text{ }^\circ\text{C}$). Medjutim apsolutna vrednost optičke rotacije (–)-enantiomera *ent-45* ($[\alpha]_{\text{D}} = -65.0$) je značajno odstupala od apsolutne vrednosti (+)-enantiomera **45** ($[\alpha]_{\text{D}} = +49.5$). Medjutim, spektroskopski podaci proizvoda *ent-45* su bili u dobroj saglasnosti sa istim prethodno dobijenim za suprotni enantiomer **45** (Tabela 3.2.3.).

Tabela 3.2.3. Poredjenje spektroskopskih NMR podataka za skeletne H/C enantiomera **45** i *ent-45*

C/H	(+)–enantiomer 45		(–)–enantiomer <i>ent-45</i>	
	δ_{H} (J)	δ_{C}	δ_{H} (J)	δ_{C}
1		175.9		176.0
2a	2.62 d (18.6)	35.8	2.61 d (18.9)	35.8
2b	2.73 dd (18.6, 6.1)		2.75 dd (18.9, 6.1)	
3	4.99 m (6.1, 4.6, 1.0)	76.0	4.99 m (6.1, 4.7, 1.0)	76.0
4	4.88 d (4.6)	87.7	4.88 d (4.7)	87.8
5	4.20 bd (2.6)	73.9	4.24 bd (2.7)	73.8
6	4.17 td (6.9, 2.6)	81.4	4.13 td (6.8, 2.7)	81.4
7	2.99 d (6.9)	34.2	2.99 d (6.8)	34.2

Otvoreni analozi *ent-51* i *ent-53* takodje su dizajnirani metodom otvaranja prstena, kao i pri dizajniranju otvorenih analoga (+)-serije (Shema 3.1.4.). Prvi otvoreni analog (–)-benzoksepana (molekul *ent-51*) dobijen je hidrogenolitičkim raskidanjem benzilne $\text{C}_{10}\text{-O}_5$ veze, kao što je to ranije već uradjeno u (+)-seriji. Rastvor oksepana *ent-31* u metanolu hidrogenovan je u prisustvu 10% Pd/C u toku 8 dana na sobnoj temperaturi. Pri tome je dobijena bioizostera *ent-51* u prinosu od 69% (Shema 3.2.25.).



Shema 3.2.25. (a) H_2 , Pd/C, MeOH, rt, 8 dana, 69%; (b) HI, crveni fosfor, anh. toluen, 80 °C, 13 h; (c) Bu_3SnH , AIBN, anh. toluen, 100 °C, 1.5 h, 54%.

Temperatura topljenja proizvoda *ent-51* (tt 142–144 °C) je u veoma dobroj saglasnosti sa istom od (+)-enantiomera **51** (tt 141–142 °C), međutim apsolutne vrednosti optičkih rotacija enantiomera su se donekle razlikovale (za *ent-51*: $[\alpha]_D = -129.8$; za **51**: $[\alpha]_D = +115.0$). Dobra saglasnost ^1H i ^{13}C NMR spektra definitivno je potvrdila strukturu molekula *ent-51* (Tabela 3.2.4.).

Tabela 3.2.4. Poredjenje spektroskopskih NMR podataka za skeletne H/C enantiomera **51** i *ent-51*

C/H	(+)-enantiomer 51		(–)-enantiomer <i>ent-51</i>	
	δ_{H} (J)	δ_{C}	δ_{H} (J)	δ_{C}
1		175.7		175.7
2a	2.61 dd (18.9, 1.7)	35.9	2.61 dd (18.8, 1.6)	35.9
2b	2.70 dd (18.9, 5.5)		2.72 dd (18.9, 5.6)	
3	5.02 m	76.6	5.03 m	76.6
4	4.83 d (4.8)	87.5	4.86 d (4.5)	87.5
5	4.30 d (2.4)	74.0	4.32 d (2.2)	74.1
6	4.79 dd (10.2, 2.4)	84.0	4.79 dd (10.2, 2.2)	84.0
7	4.48 d (10.2)	45.8	4.46 d (10.2)	45.8

Drugi otvoreni analog (*ent-53*) koji se dobija formalnim raskidanjem $\text{C}_7\text{-C}_8$ veze benzoksepanskog prstena dobijen je na drugačiji način u odnosu na (+)-enantiomer **53**. Naime, primenom direktne supstitucije hidroksilna grupa jedinjenja *ent-21* je zamenjena atomom joda (HI, crveni fosfor, anh. toluen, 80 °C, 13 h), a rezultujući intermedijer *ent-21a* je zatim, bez prečišćavanja, dalje podvrgnut reduktivnom dehalogenovanju u slobodno-radikalnim uslovima (Bu_3SnH i AIBN, anh. toluen, 100 °C, 1.5 h), pri čemu je dobijen željeni 7-deoksi-derivat *ent-53* u prinosu od 54%.

Struktura i identitet analoga *ent-53* potvrđena je upoređivanjem spektroskopskih podataka sa odgovarajućim podacima suprotnog enantiomera **53**, pri čemu je dobijena dobra saglasnost. Fizičke konstante su takodje bile u veoma dobroj saglasnosti (za *ent-53*: tt 97–99 °C; $[\alpha]_D = -9.2$; za **53**: tt 96–98 °C; $[\alpha]_D = +6.8$).

Identitet i čistoća oba otvorena analoga *ent-51* i *ent-53* dodatno su potvrđeni masenim spektrima visoke rezolucije, [za *ent-51*: m/e 325.1430 (M^+H), izračunato za $C_{20}H_{21}O_4$: 325.1434; za *ent-53*: m/e 347.1244 (M^+Na), izračunato za $C_{20}H_{20}NaO_4$: 347.1254].

3.3. Biološka aktivnost izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona

Ispitivanje citotoksičnosti izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona

Prilikom dizajniranja i sinteze antineoplastičnih agenasa, najvažnije je postići da nova jedinjenja ispoljavaju što veći stepen inhibicije rasta tumorskih ćelija pri što manjim koncentracijama. Sposobnost neke supstance da inhibira rast kulture ćelija kvantitativno se izražava kao IC_{50} vrednost, a odgovara koncentraciji ispitivane supstance pri kojoj se broj tretiranih ćelija smanjuje za 50% u odnosu na netretiranu kontrolu. Prema opšte prihvaćenim kriterijumima, zadovoljavajuću citotoksičnu aktivnost pokazuju oni molekuli čija je IC_{50} vrednost niža od 20 μM . Ako je IC_{50} u intervalu 20–100 μM supstanca pokazuje umerenu ili slabu citotoksičnost, dok se jedinjenja čija vrednost IC_{50} prelazi 100 μM smatraju neaktivnim.

Saglasno postavljenom cilju ove doktorske disertacije, nakon sinteze izostera i bioizostera prirodnih proizvoda (+)-goniofufurona i 7-*epi*-(+)-goniofufurona, u finalnoj etapi naših radova ispitivan je njihov uticaj na rast sledećih humanih malignih ćelija: hronična mijeloidna leukemija (K562), promijelocitna leukemija (HL-60), leukemija T-limfocita (Jurkat), Burkitt-ov limfom (Raji), karcinom debelog creva (HT-29), adenokarcinom dojke (MCF-7) pozitivan na estrogenske i progesteronske receptore (ER^+), adenokarcinom dojke (MDA-MB 231) negativan na estrogenske receptore (ER^-), karcinom grlića materice (HeLa) i karcinom pluća (A549). Pored toga, ispitana je antiproliferativna aktivnost novosintetizovanih analoga prema jednoj zdravoj humanoj ćelijskoj liniji (fetalni fibroblasti pluća, MRC-5), da bi se utvrdilo da li oni pokazuju selektivnu citotoksičnost, kao što je to slučaj sa prirodnim proizvodima, za koje je ranije utvrđeno da uglavno ne inhibiraju rast normalnih ćelijskih linija.

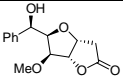
In vitro citotoksičnost je određena kolorimetrijskim MTT testom. Princip metode se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromida, (MTT) u plavo obojeni proizvod (formazan), u prisustvu mitohondrijalnog enzima sukcinat dehidrogenaze. Količina nagradjenog formazana direktno je srazmerna broju živih (vijabilnih) ćelija, a apsorbancija je određena na mikročitaču, na dve talasne dužine: test talasnoj dužini od 540 nm i referentnoj talasnoj dužini od 690 nm. Komercijalni antitumorski agens doksorubicin (DOX) i prirodni proizvodi **I** i **II** primenjeni su kao referentna jedinjenja. Kulture ćelija su izložene dejstvu rastućih koncentracija (0.01, 0.1, 1, 10 i 100 μM) ispitivanih jedinjenja u toku 72 h, a koncentracija pri kojoj

se postiže 50% inhibicije rasta (IC_{50}) određena je “Median effect” analizom, primenom *CalcuSyn* programa. Dobijeni rezultati su prikazani u *Tabelama 3.3.1–3.3.4*.

Radi lakšeg upoređivanja antiproliferativne aktivnosti ispitivana jedinjenja su razvrstana u četiri grupe na osnovu strukturne sličnosti: (a) (+)-goniofufuron (**I**) i analozi sa 7*R* konfiguracijom (*Tabela 3.3.1.*), (b) 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**) i analozi sa 7*S* konfiguracijom (*Tabela 3.3.2.*), (c) (+)- i (–)-enantiomeri dobijeni formalnim otvaranjem i zatvaranjem benzoksepanskog prstena (*Tabela 3.3.3.*) i (d) stiril-laktone sa netipičnim strukturnim karakteristikama (*Tabela 3.3.4.*).

Tabela 3.3.1. In vitro citotoksičnost (+)-goniofufurona (**I**), odgovarajućih izostera (**19**, **29**, **27**, **34**, **33**, **38**, **37**, **43**, **41**, **47** i **57**) i doksorubicina (**DOX**).

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μ M), 72 h									
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
	0.41	201.32	32.45	18.45	0.59	16.59	75.34	8.32	35.21	>100
I										
	0.12	20.62	9.45	56.37	12.45	4.21	67.50	0.03	24.11	>100
19										
	2.28	7.37	13.17	0.04	1.25	208.65	79.13	0.81	15.45	>100
29										
	8.65	1.37	1.02	1.57	877.63	75.34	12.56	0.16	78.15	>100
27										
	1.12	0.11	3.07	18.87	465.32	13.51	124.35	0.68	48.85	>100
34										
	1.06	9.45	15.37	6.87	115.36	16.34	158.64	9.24	28.88	>100
33										
	5.95	13.64	11.77	0.04	211.89	21.01	11.36	21.85	11.75	>100
38										
	15.36	5.89	45.36	15.32	159.64	5.87	21.57	11.56	35.78	>100
37										
	10.98	15.87	5.41	1.85	264.58	21.39	211.64	2.31	30.45	>100
43										
	6.78	33.69	1.33	14.66	421.69	41.87	871.23	5.48	14.21	>100
41										
	11.54	27.14	5.96	18.64	279.58	8.85	15.56	19.56	33.78	>100

	5.36	25.01	24.85	8.69	852.31	4.04	28.64	8.63	23.55	>100
57										
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Kao što se iz *Tabele 3.3.1.* vidi, direktne halogenidne izostere (+)-goniofufurona (**29**, **34**, **38** i **43**) pokazuju značajnu antiproliferativnu aktivnost prema sedam od devet ispitivanih malignih ćelijskih linija, sem hloridne (**29**) i jodidne izostere (**38**) koje su aktivne prema osam od devet ćelijskih linija. Hloridna izostera goniofufurona (**29**) je ispoljila najznačajniju submikromolarnu antitumorsku aktivnost prema Raji (IC₅₀ 0.04 μM) i prema HeLa ćelijskoj liniji (IC₅₀ 0.81 μM). Bromidna izostera goniofufurona (**34**) je takodje pokazala submikromolarnu citotoksičnost prema dve ćelijske linije HL-60 (IC₅₀ 0.11 μM) i HeLa (IC₅₀ 0.68 μM). Jodidna izostera (**38**) je ispoljila submikromolarnu aktivnost samo prema Raji ćelijama (IC₅₀ 0.04 μM). Direktna fluoridna izostera goniofufurona (**43**) nije ispoljila submikromolarnu aktivnost ni prema jednoj od devet ispitivanih malignih ćelijskih linija. Hloridni i jodidni analozi (+)-goniofufurona **29** i **38** su prema Raji ćelijama ispoljili čak 75 puta veću aktivnost od komercijalnog citostatika doksorubicina (DOX: IC₅₀ 2.98 μM, **29**: IC₅₀ 0.04 μM, **38**: IC₅₀ 0.04 μM). Prema ovoj ćelijskoj liniji veću aktivnost od doksorubicina je pokazao i fluoridni derivat **43** (IC₅₀ 1.85 μM) i to preko 1.5 put. Generalno svi halogenidni analozi goniofufurona (**29**, **34**, **38** i **43**) bili su zadovoljavajuće, odnosno jako aktivni prema sledećim tumorskim ćelijskim linijama: K562 (IC₅₀ 2.28, 1.12, 5.95, 10.98 μM), HL-60 (IC₅₀ 7.37, 0.11, 13.64, 15.87 μM), Jurkat (IC₅₀ 13.17, 3.07, 11.77, 5.41 μM), Raji (IC₅₀ 0.04, 18.87, 0.04, 1.85 μM) i HeLa (IC₅₀ 0.81, 0.68, 21.85, 2.31 μM). Prema HT-29 ćelijskoj liniji jedino je hloridni analog **29** ispoljio zapaženu aktivnost od (IC₅₀ 1.25 μM), dok su ostale tri halogenidne izostere ostale neaktivne. Prema MDA-MB 231 ćelijama, prihvatljivu aktivnost je pokazao samo jodidni analog **38** (IC₅₀ 11.36 μM). Prema ćelijama humanog tumora pluća (A549) sva četiri analoga su ispoljila aktivnost ali su prihvatljivu aktivnost ispoljili samo analozi sa hlorom **29** (IC₅₀ 15.45 μM) i jodom **38** (IC₅₀ 11.75 μM). Prema MCF-7 ćelijskoj liniji jedino je bromidna izostera **34** pokazala dobru aktivnost (IC₅₀ 13.51 μM), dok su jodidni i fluoridni analozi (**38** i **43**) pokazali umerenu aktivnost od 21.01, odnosno 21.39 μM, dok je hloridni analog **29** ostao neaktivan prema ovoj ćelijskoj liniji.

Kao što se iz *Tabele 3.3.1.* dalje vidi, pseudo-halogenidna izostera (+)-goniofufurona (azid **47**) ispoljio je značajnu aktivnost prema osam od devet ispitivanih ćelijskih linija, a najpotentniju aktivnost je pokazao prema Jurkat ćelijama (IC₅₀ 5.96 μM).

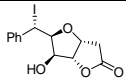
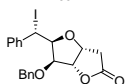
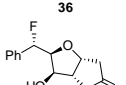
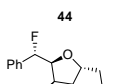
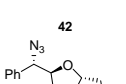
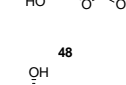
Druga grupa jedinjenja čija aktivnost je prikazana u *Tabeli 3.3.1.* su halogenidne izostere (+)-goniofufurona koji u položaju C-5 imaju benzil-grupu (**27**, **33**, **37** i **41**). Pri ispitivanju ovih jedinjenja 5-*O*-benzil-(+)-goniofufuron (**19**) i doksorubicin su primenjeni kao kontrolni molekuli.

Lipofilniji halogenidni analozi (+)-goniofufurona (**27** i **37**) su ispoljili dobru aktivnost prema osam, a **33** i **41** prema sedam, od ispitivanih devet tumorskih ćelijskih linija. Hloridni derivat **27** je pokazao najpotentniju aktivnost prema HeLa ćelijama (IC_{50} 0.16 μ M), ali ipak dva puta slabiju od komercijalnog citostatika doksorubicina (IC_{50} 0.07 μ M). Generalno, svi 5-*O*-benzil-derivati halogenidnih izostera goniofufurona (**27**, **33**, **37** i **41**) pokazali su zadovoljavajuću aktivnost prema sledećim tumorskim ćelijskim linijama: K562 (IC_{50} 8.65, 1.06, 15.36, 6.78 μ M), Raji (IC_{50} 1.57, 6.87, 15.32, 14.66 μ M) i HeLa (IC_{50} 0.16, 9.24, 11.56, 5.48 μ M). Prema HL-60 i Jurkat ćelijskim linijama svi halogenidi su uglavnom bili aktivni, mada je registrovana nešto slabija aktivnost fluoridnog derivata **41** prema HL-60 (IC_{50} 33.69 μ M), a jodidnog **37** prema Jurkat ćelijama (IC_{50} 45.36 μ M). Slabije aktivnosti halogenidnih analoga (**27**, **33**, **37** i **41**) su registrovane prema MCF-7 i A549 ćelijskim linijama, dok su prema HT-29 svi analozi bili neaktivni. Prema MDA-MB 231 ćelijama dva analoga (**27** i **37**) su ispoljila solidnu aktivnost od 12.56, odnosno 21.57 μ M, dok su druga dva analoga **33** i **41** ostali neaktivni.

Ono što se još može videti u *Tabeli 3.3.1.*, je 5-*O*-metil-(+)-goniofufuron **57** koji je pokazao antiproliferativnu aktivnost prema osam od devet ispitivanih tumorskih linija, a najznačajniju aktivnost je ispoljio prema ćelijama MCF-7 (IC_{50} 4.04 μ M), što je ujedno i najbolja aktivnost od svih analoga (+)-goniofufurona prema ovoj ćelijskoj liniji.

Tabela 3.3.2. In vitro citotoksičnost 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**), odgovarajućih izostera (**21**, **30**, **26**, **35**, **32**, **39**, **36**, **44**, **42**, **48** i **59**) i doksorubicina (**DOX**).

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μ M), 72 h									
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
	0.028	22.02	18.64	1.25	1.34	9.24	58.70	0.89	21.02	>100
II										
	0.086	987.36	12.79	68.46	56.25	26.58	214.56	3.79	32.25	>100
21										
	0.11	0.15	0.03	1.85	1711.33	357.19	578.19	1.11	47.35	>100
30										
	0.18	5.64	0.54	11.31	586.21	1.65	1.11	0.54	39.99	96.54
26										
	0.98	0.32	5.44	15.34	864.23	23.32	102.45	1.64	51.24	>100
35										
	1.21	2.31	7.85	3.38	98.66	48.89	10.38	0.54	21.14	>100
32										

	11.08	24.36	9.56	2.85	132.02	1.28	102.36	5.69	25.61	>100
39										
	24.35	4.47	30.87	11.36	678.49	3.35	35.45	14.21	30.21	>100
35										
	11.68	14.58	1.55	0.03	145.69	31.15	101.65	23.64	34.25	>100
44										
	8.64	24.85	8.48	21.65	246.58	45.65	121.22	3.67	21.54	>100
42										
	3.09	15.47	46.32	2.12	387.11	44.88	84.16	0.12	18.34	>100
48										
	8.45	18.95	15.46	12.22	357.19	12.65	35.22	11.01	38.25	>100
59										
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Kao što se iz *Tabele 3.3.2.* vidi, direktne halogenidne izostere 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**35**, **39** i **44**) pokazuju dobru citotoksičnost prema sedam od ispitivanih devet neoplastičnih ćelijskih kultura, dok hloridna izostera **30** ispoljava značajnu aktivnost prema šest tumorskih ćelijskih linija. Ipak, baš ovaj derivat ispoljava submikromolarnu aktivnost prema čak tri ćelijske linije, a to su K562 ćelije (IC₅₀ 0.11 μM) prema kojima je preko dva puta aktivniji od doksorubicina (IC₅₀ 0.25 μM), zatim HL-60 ćelije (IC₅₀ 0.15 μM) prema kojima je preko šest puta aktivniji od DOX-a (IC₅₀ 0.92 μM), i Jurkat ćelije prema kojima ispoljava istu aktivnost kao komercijalni antitumorski agens DOX (IC₅₀ 0.03 μM). Ono što bi još trebalo istaći za jedinjenje **30** je njegova snažna aktivnost prema HeLa (IC₅₀ 1.11 μM), odnosno prema Raji ćelijama (IC₅₀ 1.85 μM). Prema Raji ćelijama ovaj molekul je ispoljio preko 1.5 puta bolju aktivnost od doksorubicina (IC₅₀ 2.98 μM). Što se tiče ostalih halogenidnih analoga posebno treba istaći značajne submikromolarne aktivnosti bromidnog analoga **35** prema ćelijama K562 i HL-60 (IC₅₀ 0.98 i 0.32 μM), od kojih je prema promijelocitnoj leukemiji (HL-60) ta aktivnost bila veća od doksorubicina (IC₅₀ 0.92 μM) skoro tri puta. Fluoridni analog **44** je pokazao submikromolarnu aktivnost u kulturi Raji ćelija (IC₅₀ 0.03 μM) koja je skoro 100 puta veća od aktivnosti DOX-a (IC₅₀ 2.98 μM). Iako jodidna izostera 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**39**) nije ispoljila submikromolarnu aktivnost prema ispitivanim ćelijskim linijama, njena aktivnost detektovana u kulturi Raji ćelija je slična aktivnosti komercijalnog antitumorskog agensa doksorubicina (IC₅₀ 2.85 μM). Svi halogenidni analozi su pokazali značajnu aktivnost prema K562, Jurkat i Raji ćelijama. Prema HL-60 ćelijama jodidni analog **39** je ispoljio umerenu aktivnost, dok je fluoridni derivat **44** pokazao umerenu aktivnost prema HeLa ćelijama. Prema ćelijama karcinoma pluća A549 svi derivati (**30**, **35**, **39** i **44**) su bili umereno aktivni. Od svih ispitivanih analoga 7-*epi*-

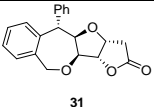
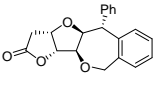
(+)-goniofufurona jedino je jodidni derivat **39** ispoljio značajnu aktivnost prema MCF-7 ćelijskoj liniji (IC_{50} 1.28 μ M).

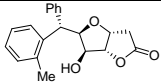
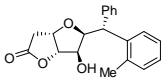
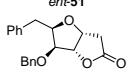
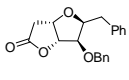
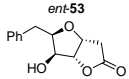
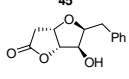
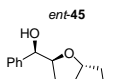
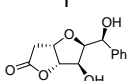
Kao što se iz *Tabele 3.3.2.* dalje vidi, pseudo-halogenidna izostera 7-*epi*-(+)-goniofufurona, azid **48** ispoljio je aktivnost prema osam od devet ispitivanih ćelijskih linija, a najbolju aktivnost je pokazao prema HeLa ćelijama od 0.12 μ M. Takođe treba istaći aktivnost ovog analoga prema Raji ćelijskoj liniji od 2.12 μ M, koja je nešto veća od aktivnosti doksorubicina (IC_{50} 2.98 μ M).

Halogenidne izostere 5-*O*-benzil-derivata 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**26**, **32**, **36** i **42**) pokazale su antitumorsku aktivnost prema osam od devet ispitivanih neoplastičnih ćelijskih linija, dok su prema HT-29 ćelijama sva četiri analoga bila neaktivna. Hloridni analog **26** je ispoljio submikromolarnu aktivnost prema tri ćelijske linije, a to su K562 (IC_{50} 0.18 μ M), Jurkat (IC_{50} 0.54 μ M) i HeLa (IC_{50} 0.54 μ M). Bromidni analog **32** je ispoljio submikromolarnu aktivnost prema HeLa ćelijama (IC_{50} 0.54 μ M), dok su IC_{50} vrednosti jodidnog (**36**) i fluoridnog (**42**) analoga bile iznad 1 μ M. Značajnu antiproliferativnu aktivnost sva četiri analoga su ispoljila prema ćelijskoj liniji HeLa. Osim toga, sve četiri halogenidne izostere su pokazale značajnu aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL-60, Jurkat i Raji, mada je kod svake ćelijske linije po jedan analog pokazao slabiju aktivnost: prema K562 jodid **36**, prema HL-60 fluorid **42**, prema Jurkat jodid **36** i prema Raji fluorid **42**. Prema ćelijama karcinoma dojke (MCF-7) značajnu aktivnost od 1.65 i 3.35 μ M pokazali su hloridni i jodidni derivati (**26** i **36**), dok su druga dva analoga pokazala slabu aktivnost. ER⁻ ćelijska linija karcinoma dojke (MDA-MB 231) je manje osetljiva na stiril-laktone sa halogenidnim izosternim grupama, pa su prema njoj aktivni samo hlorid **26** i bromid **32**, dok je jodid **36** slabo aktivan, a fluorid **42** neaktivan.

5-*O*-Metil-7-*epi*-(+)-goniofufuron (**59**), je pokazao antiproliferativnu aktivnost prema osam od devet ispitivanih tumorskih ćelija, a najznačajniju aktivnost je ispoljio prema K562 ćelijama (IC_{50} 8.45 μ M).

Tabela 3.3.3. In vitro citotoksičnost (+)-goniofufurona (**I**), (-)-goniofufurona (*ent*-**I**), (+)- i (-)-enantiomernih analoga (**31**, *ent*-**31**, **51**, *ent*-**51**, **53**, *ent*-**53**, **45** i *ent*-**45**) i doksorubicina (**DOX**).

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μ M), 72 h									
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
	1.43	0.78	0.074	0.46	0.24	183.97	110.32	154.32	18.48	>100
31 	1.21	11.69	18.45	15.88	349.56	6.69	20.11	6.56	25.64	>100
<i>ent</i> - 31										

	1.56	11.67	21.36	5.67	364.25	21.11	148.36	11.40	35.12	>100
51										
	21.97	35.05	41.66	25.64	89.36	100.64	159.64	24.12	20.21	>100
<i>ent</i> - 51										
	0.14	0.56	1.01	9.48	24.56	14.54	425.36	4.32	45.22	>100
53										
	25.64	8.45	11.97	21.88	154.89	4.69	36.45	7.54	8.97	>100
<i>ent</i> - 53										
	0.51	43.81	2.52	1.03	331.25	12.25	254.31	4.42	41.23	>100
45										
	0.02	0.17	0.12	0.03	45.12	13.54	412.36	1.21	52.31	>100
<i>ent</i> - 45										
	0.41	201.32	32.45	18.45	0.59	16.59	75.34	8.32	35.21	>100
I										
	2.96	224.61	2.49	23.42	1.64	51.27	598.66	785.31	2.36	>100
<i>ent</i> - DOX										
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Kao što se iz *Tabele 3.3.3.* vidi, benzoksepan (+)-serije (**31**) je pokazao značajnu antiproliferativnu aktivnost prema šest od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija. Međutim, u četiri neoplastične ćelijske kulture detektovana je submikromolarna aktivnost od kojih su dve bile bolje od komercijalnog citostatika doksorubicina. Naj snažnija aktivnost registrovana je prema Jurkat ćelijama (IC_{50} 0.074 μ M) koja je ipak dvostruko slabija od aktivnosti DOX-a (IC_{50} 0.03 μ M). Veoma jaka aktivnost je detektovana prema ćelijama HT-29 (IC_{50} 0.24 μ M), ali je i ona nešto slabija od doksorubicina (IC_{50} 0.15 μ M). Molekul **31** (IC_{50} 0.46 μ M) je pokazao šest puta jaču aktivnost od DOX (IC_{50} 2.98 μ M) u kulturi Raji ćelija, a sličnu aktivnost (IC_{50} 0.78 μ M), kao DOX (IC_{50} 0.92 μ M) ovaj molekul je ispoljio prema HL-60 ćelijama. Otvoreni analozi benzoksepana (+)-serije (molekuli **51** i **53**) su se pokazali kao slabiji citotoksični agensi, ali šireg spektra dejstva, obzirom da su aktivni prema sedam, odnosno osam od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija. Naime, **51** ne ispoljava ni prema jednoj ćelijskoj kulturi submikromolarnu aktivnost, dok **53** ispoljava submikromolarnu aktivnost prema dve ćelijske linije i to prema K562 i HL-60 (IC_{50} 0.14 i 0.56 μ M). Pri tome je važno napomenuti da su ovi analozi skoro dva puta aktivniji od doksorubicina (IC_{50} 0.25 i 0.92 μ M respektivno).

Kao što se iz *Tabele 3.3.3.* dalje vidi, benzoksepan (-)-serije (*ent*-**31**) je aktivan prema osam od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija, a najpotentnija aktivnost je registrovana prema K562

ćelijama (IC_{50} 1.21 μ M). Otvoreni analozi benzoksepana (–)-serije *ent-51* i *ent-53*, su se pokazali kao dosta slabiji citotoksični agensi. Naime, *ent-51* je ispoljio aktivnost prema sedam od devet ispitivanih malignih ćelijskih linija, a najbolja aktivnost je registrovana prema ćelijama A549 i iznosi 20.21 μ M. Za razliku od njega otvoreni analog *ent-53* je pokazao citotoksičnost prema osam od devet ispitivanih ćelijskih kultura, pri čemu je prema MCF-7 ćelijama registrovana najbolja aktivnost (4.69 μ M).

U *Tabeli 3.3.3.* su prikazani i rezultati antiproliferativne aktivnosti ranije dobijenih deoksigenovanih derivata **45** i *ent-45*. Vidi se da (+)-enantiomer **45** pokazuje submikromolarnu aktivnost (IC_{50} 0.51 μ M) samo prema K562 ćelijama, dok je (–)-enantiomer *ent-45* ispoljio submikromolarnu aktivnost prema čak četiri vrste ćelija, K562, HL-60, Jurkat i Raji (IC_{50} 0.02, 0.17, 0.12 i 0.03 μ M).

Tabela 3.3.4. In vitro citotoksičnost (+)-goniofufurona (**I**), stilil-laktona sa netipičnim strukturnim karakteristikama (**50**, **28**, **62**, **54**, **55**, **61** i **60**) i doksorubicina (**DOX**).

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μ M), 72 h									
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
	0.41	201.32	32.45	18.45	0.59	16.59	75.34	8.32	35.21	>100
50 	2.39	54.87	89.15	66.45	89.61	23.15	>100	0.96	21.54	>100
28 	34.22	22.23	2.22	4.09	87.45	36.21	5.36	0.91	48.68	>100
62 	18.32	36.35	29.85	16.45	101.36	52.05	8.68	35.63	12.36	>100
54 	12.54	8.56	17.76	26.34	458.65	1.36	22.02	8.78	21.44	>100
55 	4.11	4.36	8.61	21.21	212.31	3.21	35.20	5.64	18.08	>100
61 	28.69	2.36	9.79	18.95	369.71	11.36	51.02	12.64	15.08	>100
60 	22.47	11.21	8.97	25.61	246.58	3.44	41.02	6.39	2.58	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Kao što se iz *Tabele 3.3.4.* vidi, azidni derivat sa pirano-furanonskim skeletom (**50**) pokazuje citotoksičnost prema osam od devet neoplastičnih ćelijskih linija. Najpotentniju, submikromolarnu aktivnost ovaj analog je ispoljio prema HeLa ćelijama (IC_{50} 0.96 μ M), a značajnu aktivnost je

ispoljio i prema ćelijama K562 (IC_{50} 2.39 μ M), dok je njegova aktivnost prema ostalim ćelijskim kulturama znatno slabija.

Iz *Tabele 3.3.4.* se dalje vidi, da olefini **28** i **62** takodje inhibiraju rast osam od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija, pri čemu najznačajniju aktivnost **28** pokazuje prema HeLa (IC_{50} 0.91 μ M), a **62** prema MDA-MB 231 ćelijama (IC_{50} 8.68 μ M). Analog **62** je neaktivan samo prema HT-29 ćelijama, dok je **28** ispoljio veoma slabu antiproliferativnu aktivnost prema ovoj ćelijskoj liniji.

Analozi **54** i **55** takodje značajno inhibiraju rast osam od devet testiranih neoplastičnih ćelijskih linija. Najpotentnija aktivnost analoga **54** i **55** registrovana je prema ćelijama tumora dojke MCF-7 (IC_{50} 1.36 i 3.21 μ M).

Kao što se iz *Tabele 3.3.4.* dalje vidi, 5-*O*-metil-derivati **61** i **60** su inhibirali rast osam od devet ispitivanih malignih ćelijskih linija. Najjaču aktivnost difenilni analog **61** je pokazao prema ćelijama promijelocitne leukemije HL-60 (IC_{50} 2.36 μ M). Najpotentnija aktivnost ketona **60** je registrovana prema ćelijama adenokarcinoma pluća A549 (IC_{50} 2.58 μ M), koja je ujedno i najbolja aktivnost svih testiranih analoga (+)-goniofufurona na ovu ćelijsku liniju. Pored toga, ova aktivnost analoga **60** je i skoro dvostruko bolja od aktivnosti komercijalnog antitumorskog leka doksorubicina (IC_{50} 4.91 μ M).

Važna osobina svih novosintetizovanih stiril-laktona koju posebno treba istaći, ogleda se u njihovoj potpunoj neaktivnosti prema normalnim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5), što ukazuje na njihovu potencijalnu selektivnost. Medjutim ovu pretpostavku bi trebalo proveriti dodatnim *in vitro* eksperimentima na većem broju zdravih ćelijskih linija.

Uspostavljanje korelacionih odnosa (SAR) kod izostera i bioizostera sintetizovanih stiril-laktona

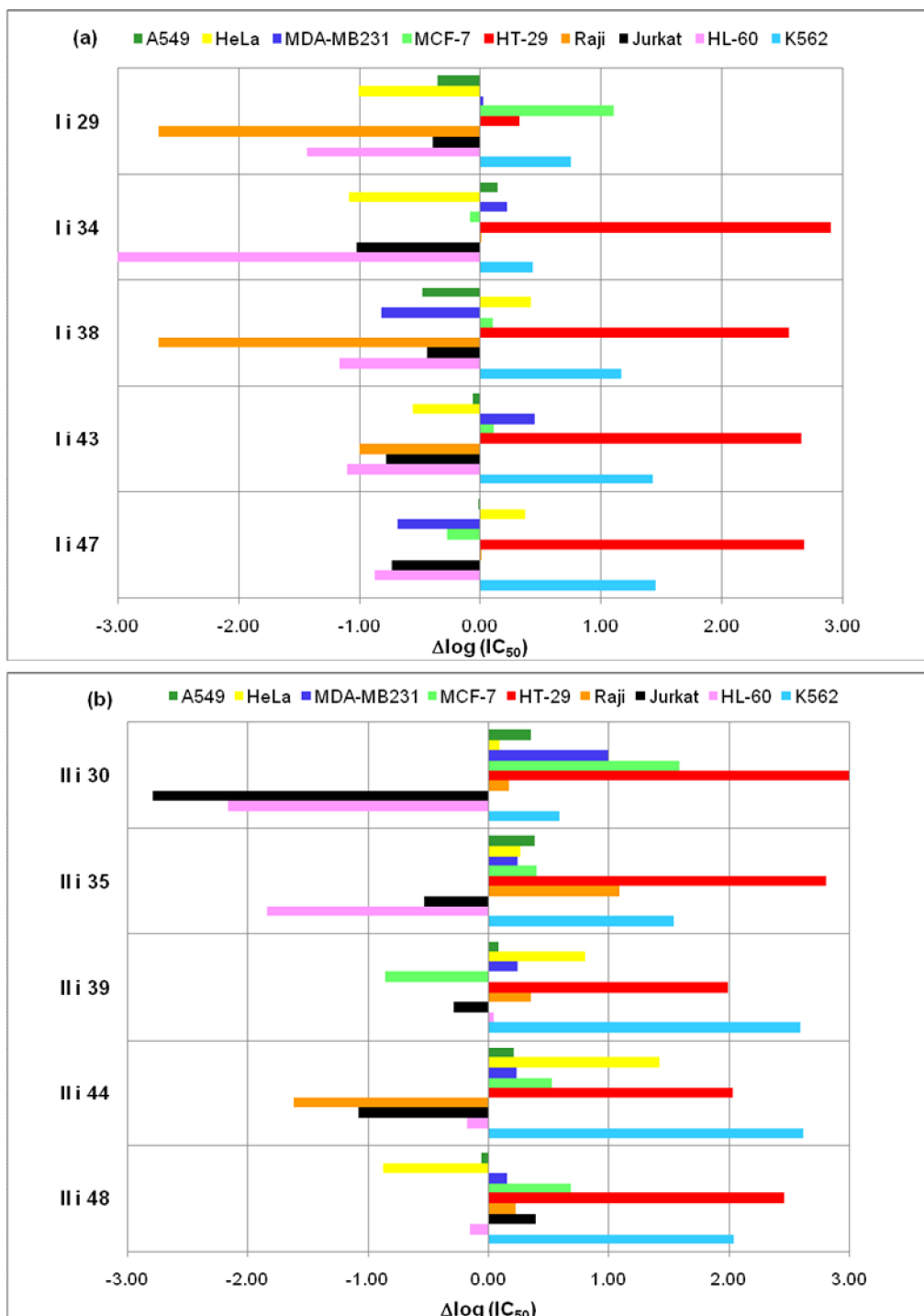
Pokušaj uspostavljanja korelacionih odnosa (SAR) između strukture i antiproliferativne aktivnosti sintetizovanih izostera i bioizostera goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona, predstavljalo je naredni zadatak naših radova. Uticaj izosterne varijacije na antitumorsku aktivnost određen je upoređivanjem citotoksičnosti parova stiril-laktona koji imaju istu osnovnu strukturu, a razlikuju se samo u vrsti supstituenata, dok je uticaj stereochemije na antiproliferativnu aktivnost procenjen upoređivanjem citotoksičnosti parova stiril-laktona koji imaju iste funkcionalne grupe, a razlikuju se po konfiguraciji na C-7 stereocentru.

Citotoksičnost je kvantitativno izražena kao $\Delta \log (IC_{50})$, a predstavlja razliku dekadnih logaritama od IC_{50} vrednosti analoga i kontrolnog molekula [$\log (IC_{50})_{an} - \log (IC_{50})_{ko}$]. Dobijene negativne vrednosti $\Delta \log (IC_{50})$ ukazuju da analog ima snažniju antiproliferativnu aktivnost od kontrolnog molekula, dok pozitivne vrednosti odgovaraju većoj aktivnosti kontrolnog molekula u odnosu na analog.

Radi bolje preglednosti uspostavljenih korelacionih odnosa svi SAR dijagrami od jedinjenja koja su upoređivana su razvrstani u pet grupa.

Prva grupa dijagrama predstavlja korelacije između osnovnog molekula (+)-goniofufurona (**I**), odnosno 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) i odgovarajućih analoga kod kojih je samo OH grupa u položaju C-7 zamenjena odgovarajućom halogenidnom funkcijom (**I** i **29**, **I** i **34**, **I** i **38**, **I** i **43**, **I** i **47**; *Slika 3.3.1a*), odnosno (**II** i **30**, **II** i **35**, **II** i **39**, **II** i **44**, **II** i **48**; *Slika 3.3.1b*).

Prilikom uspostavljanja korelacionih odnosa (*Slika 3.3.1a*), (+)-goniofufuron (**I**) predstavlja kontrolni molekul, dok jedinjenja **29**, **34**, **38**, **43** i **47** predstavljaju odgovarajuće analoge, dok 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**) predstavlja kontrolni molekul, u odnosu na analoge **30**, **35**, **39**, **44** i **48** (*Slika 3.3.1b*).



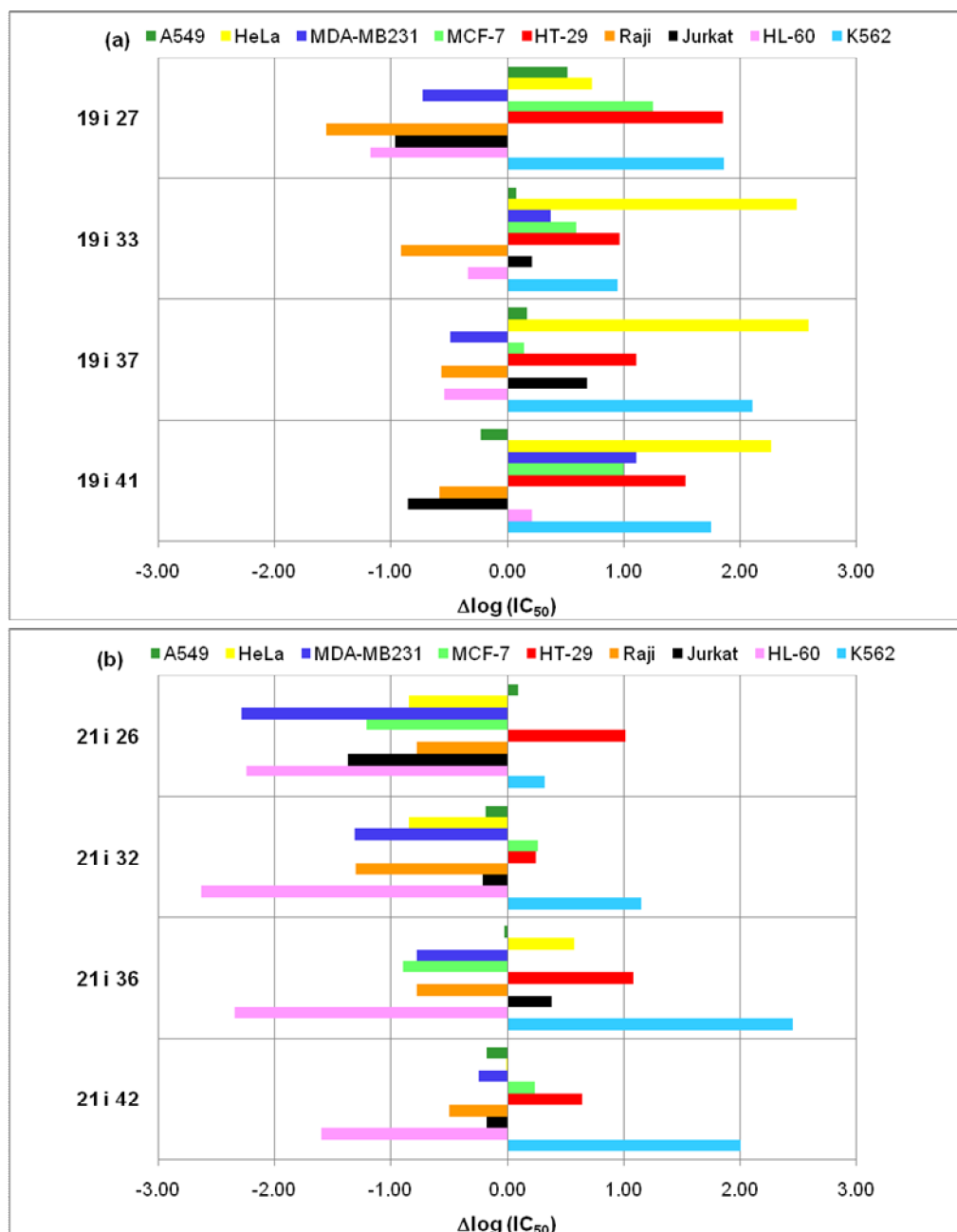
Slika 3.3.1. Korelacije izmedju strukture i antiproliferativne aktivnosti stilir-laktone **I**, **II** i analoga (SAR): (a) Uticaj izosterne varijacije (OH → Cl, Br, I, F, N₃) kod (+)-goniofufurona (**I**); (b) Uticaj izosterne varijacije (OH → Cl, Br, I, F, N₃) kod 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**).

Kao što se sa *Slike 3.3.1a.* vidi, izosterna zamena C-7 hidroksilne grupe u molekulu (+)-goniofufurona (**I**) halogenidnim i pseudohalogenidnim izosternim funkcijama prouzrokuje povoljne promene antiproliferativne aktivnosti rezultujućih analoga **29**, **34**, **38**, **43** i **47**. Naime, hloridna (**29**), jodidna (**38**), fluoridna (**43**) i azidna (**47**) izostera pokazuju jaču antiproliferativnu aktivnost od

osnovnog molekula **I** prema pet od devet ispitanih tumorskih ćelija, dok je bromidna izostera **34** pokazala jaču antitumorsku aktivnost prema četiri od devet neoplastičnih ćelija, a prema Raji ćelijama su i analog **34** i kontrola (**I**) ispoljili istu antiproliferativnu aktivnost. Najveća razlika u aktivnosti registrovana je prema HL-60 ćelijskoj liniji, gde su svi halogenidni analozi pokazali relativno jaku citotoksičnost, dok je osnovni molekul **I** bio potpuno neaktivan. Značajno veća antiproliferativna aktivnost analoga takodje je registrovana u kulturi Jurkat ćelija, dok su prema Raji ćelijama analozi **29**, **38** i **43** pokazali oko 461, odnosno 10 puta jaču aktivnost od prirodnog proizvoda **I**. Značajna razlika u antiproliferativnoj aktivnosti takodje je registrovana i prema HeLa neoplastičnim ćelijama, gde su analozi **29**, **34** i **43** pokazali preko 10, 12, odnosno 3 puta snažniju inhibiciju rasta u odnosu na kontrolni molekul **I**. Prirodni proizvod **I** pokazao je veću citotoksičnost od halogenidnih i pseudohalogenidnih analoga samo prema dve maligne ćelijske linije (K562 i HT-29).

Kao što se sa *Slike 3.3.1b.* može videti, izosterna zamena C-7 hidroksilne grupe u molekulu 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) atomom halogena, ili azidnom grupom prouzrokuje znatno manje povoljne promene u antiproliferativnoj aktivnosti rezultujućih izostera **30**, **35**, **39**, **44** i **48**. Naime, prirodni proizvod **II** je bio znatno aktivniji od svih halogenidnih analoga prema tri neoplastične ćelijske linije (K562, HT-29 i MDA-MB 231), takodje četiri od pet halogenidnih analoga bili su manje aktivni od **II**, prema četiri tumorske ćelijske linije (Raji, MCF-7, HeLa i A549). S druge strane, analozi su ispoljili jaču antiproliferativnu aktivnost od osnovnog molekula **II** samo prema dve tumorske ćelijske linije, Jurkat (svi sem azida **48**) i HL-60 (svi sem jodida **39**). Medutim, posebno treba istaći hloridni analog **30** koji je preko 620 puta jače ihibirao rast Jurkat ćelija, dok je u kulturi HL-60 ćelija bio preko 140 puta aktivniji od 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**). Takodje, bromidni analog **35** je ispoljio skoro 70 puta veću aktivnost od **II** prema ćelijama HL-60, a fluorid **44** preko 40 puta veću aktivnost od osnovnog molekula **II** prema Raji ćelijama.

Naredna dva dijagrama prikazuju korelaciju izmedju 5-*O*-benzil-(+)-goniofufurona **19**, odnosno 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona **21**, i odgovarajućih C-7 halogenidnih analoga (**19** i **27**, **19** i **33**, **19** i **37**, **19** i **41**; *Slika 3.3.2a*), odnosno (**21** i **26**, **21** i **32**, **21** i **36**, **21** i **42**; *Slika 3.3.2b*).



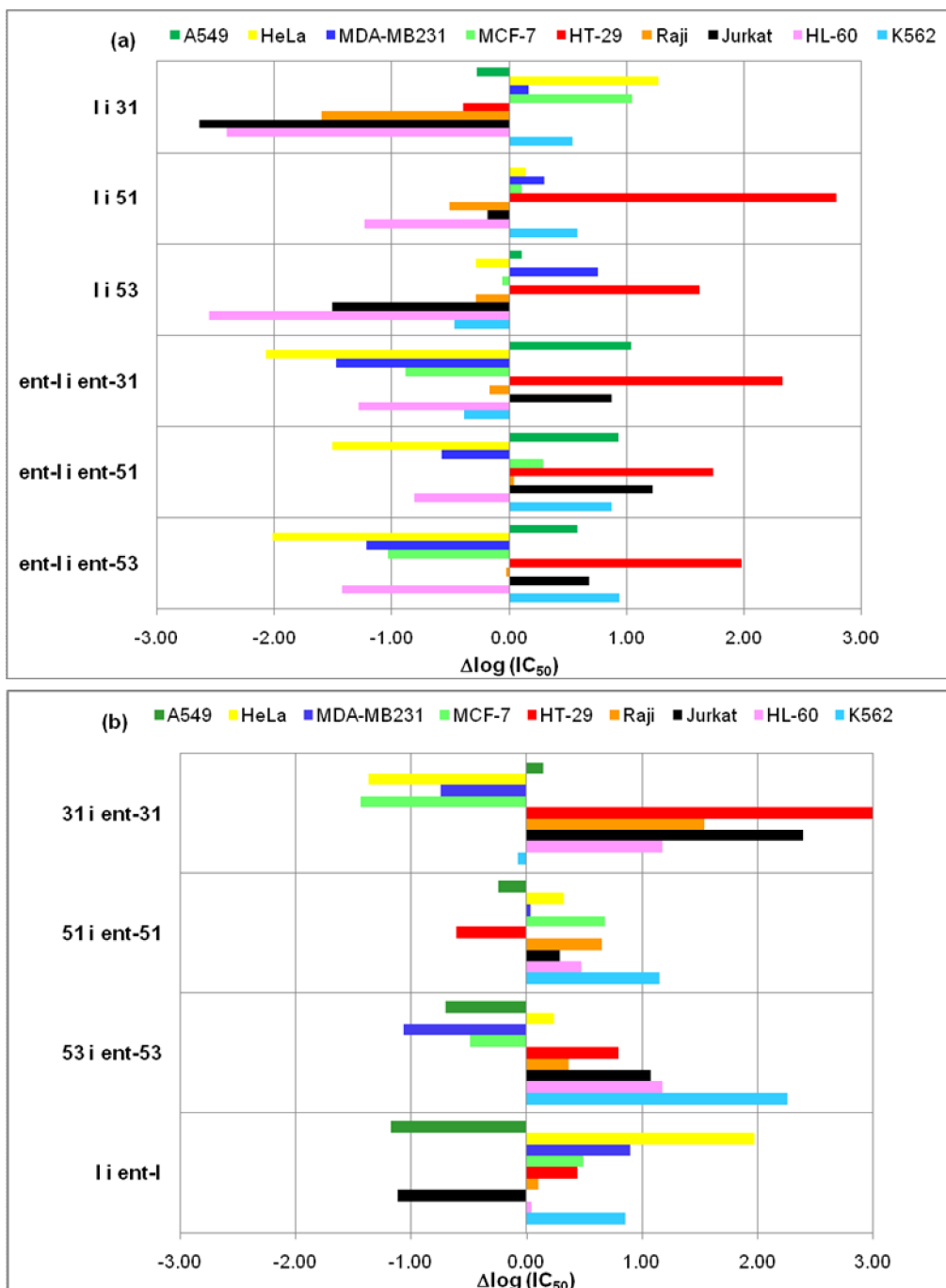
Slika 3.3.2. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti lipofilnih stiril-laktona **19**, **21** i analoga (SAR): (a) Uticaj izosterne varijacije (OH → Cl, Br, I, F) kod 5-O-benzil-(+)-goniofufurona (**19**); (b) Uticaj izosterne varijacije (OH → Cl, Br, I, F) kod 5-O-benzil-7-epi-(+)-goniofufurona (**21**).

Prilikom uspostavljanja korelacije (Slika 3.3.2a.), 5-O-benzil-(+)-goniofufuron (**19**) je arbitrano posmatran kao kontrolni molekul, dok su derivati **27**, **33**, **37** i **41** predstavljali odgovarajuće analoge. 5-O-Benzil-7-epi-(+)-goniofufuron (**21**) arbitrano je posmatran kao kontrolni molekul, dok su jedinjenja **26**, **32**, **36** i **42** predstavljali odgovarajuće analoge u sledećem dijagramu (Slika 3.3.2b).

Kao što se sa *Slike 3.3.2a.* vidi, izosterna zamena C-7 hidroksilne grupe u molekulu **19** halogenidnim izosternim funkcijama ne prouzrokuje značajnije promene antiproliferativne aktivnosti rezultujućih analoga **27**, **33**, **37** i **41**. Naime, sve četiri halogene izostere pokazuju jaču antiproliferativnu aktivnost od osnovnog molekula **19** samo prema jednoj tumorskoj ćelijskoj liniji (Raji), dok je najpotentnija aktivnost registrovana kod hlorida **27** koji je ispoljio čak 11 puta jaču aktivnost od osnovnog jedinjenja **19**. Hlorid **27**, bromid **33** i jodid **37** su aktivniji od kontrole **19** i prema HL-60 ćelijama. Ipak, kontrolni molekul **19** je ispoljio značajno veću citotoksičnost u odnosu na halogene analoge prema čak četiri maligne ćelijske linije (K562, HT-29, MCF-7 i HeLa).

Kao što se sa *Slike 3.3.2b.* može videti, izosterna zamena C-7 hidroksilne grupe u molekulu 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (**21**) atomom halogena prouzrokuje veoma povoljne promene u antiproliferativnoj aktivnosti rezultujućih izostera **26**, **32**, **36** i **42**. Naime, sve halogenidne izostere su pokazale značajno veću aktivnost prema tri ćelijske linije HL-60, Raji i MDA-MB 231, zatim tri (**26**, **32** i **42**) od četiri analoga su ispoljili snažniju aktivnost prema Jurkat ćelijama, a po dva analoga su značajno aktivniji u odnosu na osnovni molekul **21** prema HeLa ćelijama (**26** i **32**), odnosno prema MCF-7 ćelijama (**26** i **36**). Najpotentnija aktivnost lipofilnijih analoga je registrovana prema ćelijama HL-60 i MDA-MB 231 prema kojima je osnovni molekul potpuno neaktivan. Ipak, kontrolni molekul **21** je ispoljio snažniju aktivnost u odnosu na sve halogene izostere prema dve ćelijske linije (K562 i HT-29).

Treći histogram prikazuje uspostavljanje korelacionih odnosa između (+)-goniofufurona (**I**), odnosno (–)-goniofufurona (*ent*-**I**) i odgovarajućih analoga dobijenih primenom strategije otvaranja i zatvaranja prstena (**I** i **31**, **I** i **51**, **I** i **53**; *Slika 3.3.3a*), odnosno (*ent*-**I** i *ent*-**31**, *ent*-**I** i *ent*-**51**, *ent*-**I** i *ent*-**53**; *Slika 3.3.3a*) i uspostavljanje korelacije između (+)- i (–)-enantiomera (**31** i *ent*-**31**, **51** i *ent*-**51**, **53** i *ent*-**53**, **I** i *ent*-**I**; *Slika 3.3.3b*).



Slika 3.3.3. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti kod enantiomernih stilir-laktona (+)-goniofufurona (**I**), (-)-goniofufurona (*ent-I*) i analoga (SAR): (a) Uticaj zatvaranja i otvaranja prstena kod (+)-goniofufurona (**I**) i (-)-goniofufurona (*ent-I*); (b) Uticaj enantiomerizacije kod (+)-goniofufurona (**I**) i analoga [(+) \rightarrow (-)].

Prilikom uspostavljanja korelacionih odnosa kod parova stilir-laktona sa otvorenim/zatvorenim benzoksepankim prstenom (Slika 3.3.3a), (+)-goniofufuron (**I**) i (-)-goniofufuron (*ent-I*) predstavljaju kontrolne molekule, a bioizostere (**31**, **51**, **53**, *ent-31*, *ent-51* i *ent-53*) su odgovarajući analozi. Prilikom ispitivanja uticaja promene konfiguracije na svim stereocentrima (+)-enantiomeri

(**31**, **51**, **53** i **I**) su posmatrani kao kontrolni molekuli, dok su (–)-enantiomeri (*ent-31*, *ent-51*, *ent-53* i *ent-I*) predstavljali analoge (Slika 3.3.3b).

Kao što se sa Slike 3.3.3a vidi, zatvaranje benzoksepanskog prstena kod (+)-goniofufurona (**I**) doprinosi značajnom povećanju citotoksičnosti rezultujućeg analoga **31**. Naime benzoksepan **31** je aktivniji od prirodnog proizvoda **I** prema pet (HL-60, Jurkat, Raji, HT-29 i A549) od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija. Najpotentnija aktivnost **31** u odnosu na kontrolni molekul registrovana je prema Jurkat (preko 400 puta) i HL-60 ćelijama (preko 250 puta). Otvaranje benzoksepanskog prstena u položaju C₁₀-O₅ nije doprinelo značajnijem poboljšanju citotoksičnosti novonastalog analoga **51**. Naime, on je ispoljio bolju aktivnost od osnovnog molekula **I** samo prema tri ćelijske linije, a najznačajnija razlika je registrovana kod HL-60 ćelija, prema kojim je prirodni proizvod **I** potpuno neaktivan. Otvaranje prstena u položaju C₇-C₈ dovelo je do značajnog povećanja aktivnosti rezultujućeg analoga **53**. Naime, on se pokazao aktivniji prema pet od devet ispitivanih neoplastičnih ćelijskih kultura. Najznačajnija aktivnost registrovana je u kulturi HL-60 ćelija, prema kojim je analog **53** ispoljio čak 350 puta veću aktivnost u odnosu na prirodni proizvod **I**. Veoma značajna razlika u aktivnosti u korist analoga **53** je detektovana i prema ćelijama mijeloidne leukemije (K562), prema kojim je kontrolni molekul bio aktivniji u odnosu na preostala dva analoga (**31** i **51**).

Kao što se sa Slike 3.3.3a dalje vidi, zatvaranje i otvaranje benzoksepanskog prstena kod (–)-goniofufurona (*ent-I*) dovodi do sličnih promena u citotoksičnosti rezultujućih analoga, kao kod (+)-enantiomera. Naime, (–)-benzoksepan *ent-31* je ispoljio veću aktivnost od kontrolnog molekula *ent-I* čak prema šest od devet ispitivanih malignih ćelija. Najveća razlika u aktivnosti u korist analoga *ent-31* registrovana je u kulturi HeLa ćelija, prema kojim je kontrolni molekul neaktivan. Što se tiče analoga sa otvorenim benzoksepanskim prstenom, manja razlika u aktivnosti primećena je kod analoga *ent-51*, koji je aktivniji u odnosu na kontrolu prema tri ćelijske linije (HL-60, MDA-MB 231 i HeLa), prema kojima je *ent-I* bio neaktivan. Veća razlika u aktivnosti registrovana je kod analoga *ent-53* koji je ispoljio snažniju antiproliferativnu aktivnost prema pet od devet ispitivanih neoplastičnih ćelija. Pored tri ćelijske linije (HL-60, MDA-MB 231 i HeLa) prema kojim je kontrolni molekul neaktivan, analog *ent-53* je prema MCF-7 ćelijama, preko deset puta aktivniji od osnovnog molekula *ent-I*.

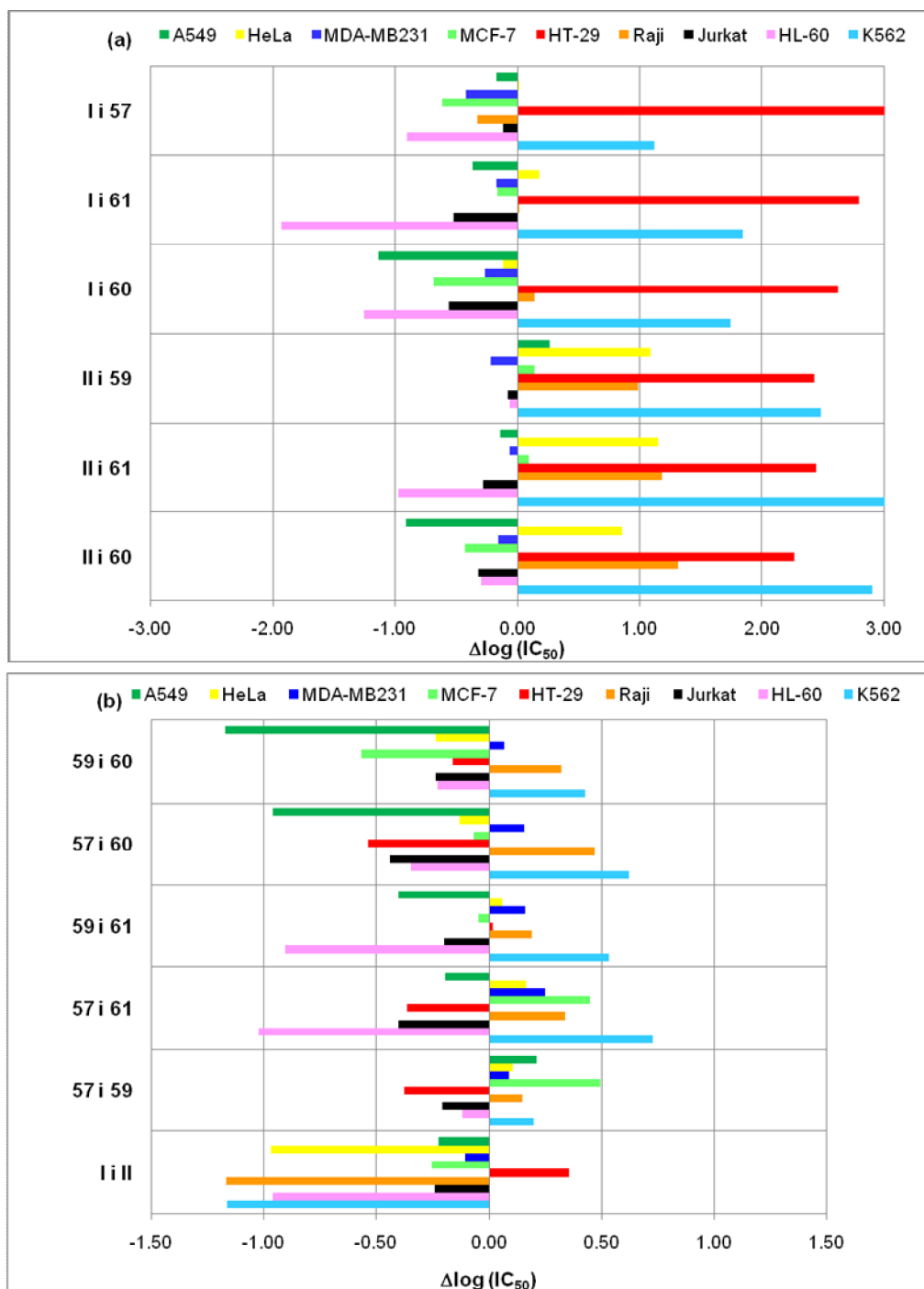
Kao što se sa Slike 3.3.3b vidi, (+)-enantiomeri (kontrolni molekuli) su mnogo aktivniji od (–)-enantiomera. Naime, (–)-benzoksepan *ent-31* je ispoljio jaču aktivnost prema samo tri ćelijske linije (MCF-7, MDA-MB 231 i HeLa) prema kojima je (+)-benzoksepan **31** bio neaktivan. Ovakva razlika u aktivnosti je registrovana i kod analoga sa otvorenim oksepanskim prstenom, odnosno analog *ent-51* je bio aktivniji od kontrolnog molekula **51** samo prema dve maligne ćelijske linije

(HT-29 i A549). Vrlo slični efekti su detektovani i kod drugog para otvornih analoga. Naime (-)-enantiomer *ent*-**53** je aktivniji od kontrolnog (+)-enantiomera **53** prema samo tri maligne ćelijske linije (MCF-7, MDA-MB 231 i A549). (+)-Enantiomer je aktivniji i u slučaju prirodnog proizvoda (+)-goniofufurona (**I**) koji je aktivniji u odnosu na (-)-goniofufuron (*ent*-**I**) prema čak sedam od devet ispitivanih tumorskih ćelija.

Naredna dva dijagrama prikazuju korelacije između (+)-goniofufurona (**I**), odnosno 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**), i odgovarajućih 5-*O*-metil-derivata kod kojih su uradjene određene izosterne zamene (**I** i **57**, **I** i **61**, **I** i **60**, **II** i **59**, **II** i **61**, **II** i **60**; *Slika 3.3.4a*), i uspostavljanje međusobnih korelacionih odnosa između dobijenih 5-*O*-metil-analoga (**59** i **60**, **57** i **60**, **59** i **61**, **57** i **61**; *Slika 3.3.4b*), kao i uspostavljanje stereochemijskih korelacionih odnosa između jedinjenja sa (*7R*) i (*7S*)-konfiguracijom (**57** i **59**, **I** i **II**; *Slika 3.3.4b*).

Prilikom uspostavljanja korelacionih odnosa (*Slika 3.3.4a*), (+)-goniofufuron (**I**) i 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**) arbitrano su posmatrani kao kontrolni molekuli, dok su molekuli **57**, **61**, **60** i **59** predstavljali odgovarajuće analoge. Na *Slici 3.3.4b* 5-*O*-metil-(+)-goniofufuron (**57**) i 5-*O*-metil-7-*epi*-(+)-goniofufuron (**59**) su kontrolni molekuli, dok jedinjenja **61** i **60** predstavljaju odgovarajuće analoge. Na istom dijagramu (*Slika 3.3.4b*), poslednja dva primera predstavljaju uspostavljanje stereochemijskih korelacija, pa su kao kontrolni molekuli arbitrano posmatrani (*7R*)-izomeri **57** i (+)-goniofufuron (**I**), dok su kao odgovarajući analozi posmatrani (*7S*)-izomeri **59** i 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**).

Kao što se *Slike 3.3.4a* dalje vidi, prisustvo metil-grupe u položaju C-5 dovodi do značajnih promena u antiproliferativnoj aktivnosti analoga. Naime, 5-*O*-metil-derivat **57** je aktivniji od kontrole **I** prema čak šest tumorskih ćelijskih linija, dok je prema HeLa ćelijama aktivnost oba jedinjenja veoma slična. Najveća razlika u antitumorskoj aktivnosti primećena je u ćelijskoj kulturi HL-60, prema kojoj je prirodni proizvod potpuno neaktivan. Analози **61** i **60** takodje su značajno aktivniji od (+)-goniofufurona: difenil-derivat **61** je aktivniji od kontrole prema pet ćelijskih linija, dok je prema Raji ćelijama ispoljio istu aktivnost kao **I**. Keton **60** je ispoljio jaču citotoksičnost od goniofufurona prema čak šest od devet ispitanih tumorskih ćelijskih linija.



Slika 3.3.4. Korelacije izmedju strukture i antiproliferativne aktivnosti stilir-laktona **I**, **II** i analoga sa metoksi grupom na C-5 (SAR): (a) Uticaj izosterne varijacije kod (+)-goniofufurona (**I**) i 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) (OH → OMe); (b) Uticaj izosterne varijacije kod 5-*O*-metil-analoga (+)-goniofufurona (**57** i **59**) (OH → =O, H → Ph, 7*R* → 7*S*).

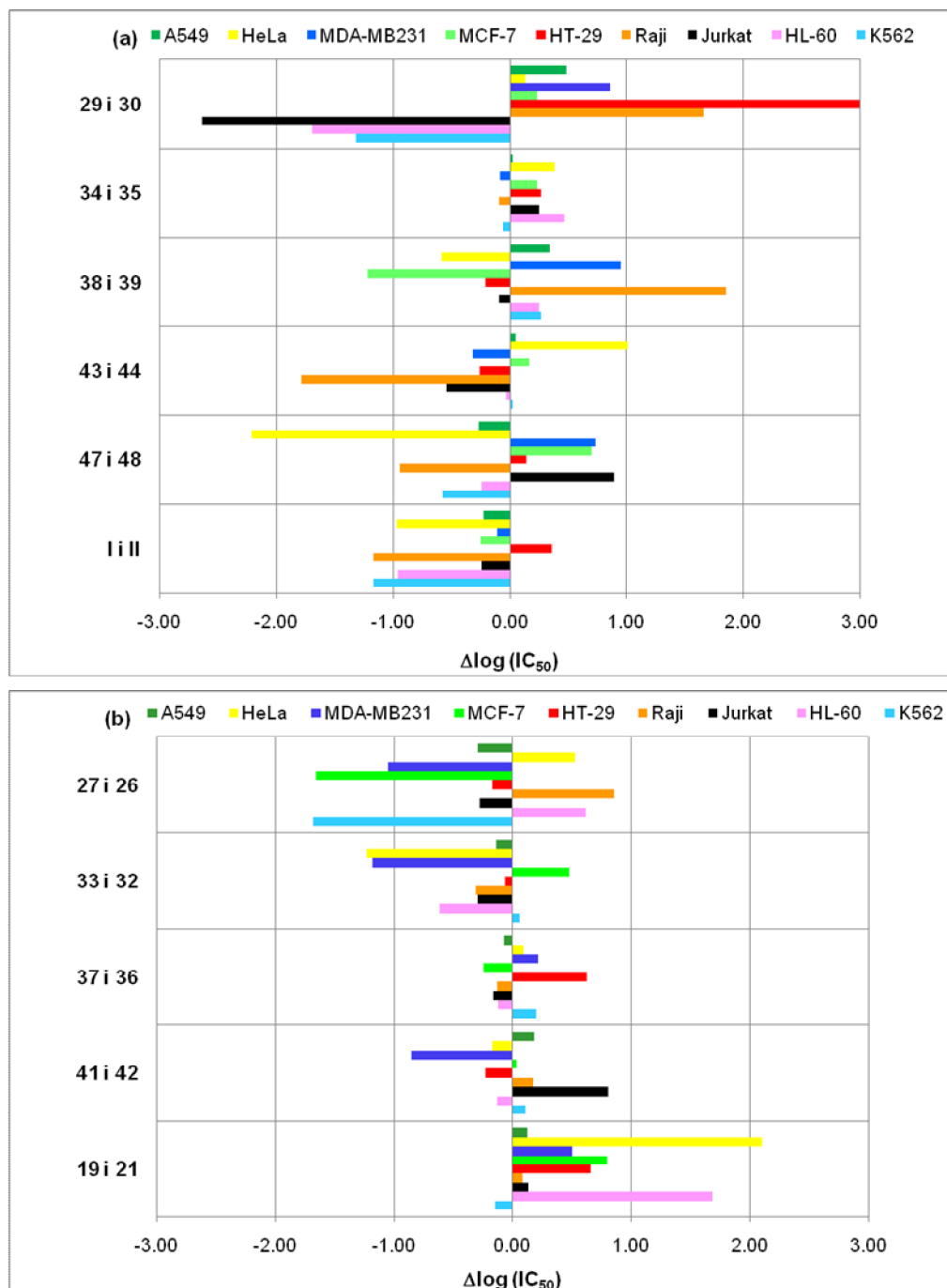
Sa Slike 3.3.4a se takodje vidi, da zamena OH grupe na C-5 sa metoksidnom izosterom nije dovelo do značajnih promena u antiproliferativnoj aktivnosti rezultujućeg analoga **59** koji se pokazao aktivnijim od kontrole **II** samo prema tri neoplastične ćelijske linije, mada su te razlike bile minimalne. Druga dva derivata (**61** i **60**) su dosta aktivnija od prirodnog 7-*epi*-(+)-goniofufurona.

Naime, difenil-derivat **61** je aktivniji od **II** prema četiri ćelijske linije, dok je keton **60** aktivniji od **II** prema pet tumorskih ćelijskih linija. Značajno poboljšanu aktivnost keton **60** je ispoljio prema ćelijama A549, prema kojim je registrovana preko osam puta jača aktivnost od prirodnog proizvoda. Ipak, prirodni proizvodi **I** i **II** ostaju najaktivniji prema ćelijama K562 i HT-29.

Kao što se sa *Slike 3.3.4b* vidi, izosterne varijacije 5-*O*-metil-derivata goniofufurona **57** i 7-*epi*-goniofufurona **59**, dovele su do značajnih promena u biološkoj aktivnosti. Naime, jedinjenje **61** koje je dobijeno zamenom vodonika sa fenil grupom u položaju C-7, je aktivnije od 5-*O*-metil-goniofufurona (**57**) i 5-*O*-metil-7-*epi*-goniofufurona (**59**), prema četiri od devet neoplastičnih ćelijskih linija, pri čemu je najpotentnija aktivnost registrovana prema HL-60 ćelijama. Keton **60** je aktivniji u odnosu na **57** i **59** prema čak pet od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija, od kojih je najznačajnija upravo prema ćelijama A549, prema kojima je **60** ispoljio čak 9, odnosno skoro 15 puta bolju aktivnost od **57**, odnosno **59**. Analози **57** i **59** su daleko najaktivniji prema K562, Raji i MDA-MB 231 ćelijskim linijama.

Kao što se sa *Slike 3.3.4b* dalje vidi, promena konfiguracije na C-7 može dovesti do promene biološke aktivnosti. Naime, promena konfiguracije iz (7*R*) u (7*S*) kod prirodnih proizvoda (**I** i **II**) dovodi do veoma zapaženih promena, pri čemu je (7*S*)-izomer [7-*epi*-goniofufuron (**II**)] aktivniji od (7*R*)-izomera [(+)-goniofufurona (**I**)] prema osam od devet ispitivanih ćelijskih linija. Međutim, takva promena kod 5-*O*-metil-derivata (**57** i **59**), ne dovodi do tako značajne promene u aktivnosti derivata. (7*S*)-Izomer **59** je ispoljio bolju citotoksičnost prema svega tri neoplastične kulture, dok je (7*R*)-izomer **57** bio aktivniji prema čak šest ispitivanih ćelijskih linija.

Da bi se detaljnije ispitao uticaj konfiguracije na C-7 na aktivnost halogenidnih analoga, upoređivane su aktivnosti odgovarajućih (7*R*)- i (7*S*)-izomera. Prilikom uspostavljanja ovih korelacija jedinjenja sa (7*R*)-stereohe mijom (**29**, **34**, **38**, **43**, **47** i **I**) arbitrano predstavljaju kontrolne molekule, dok jedinjenja sa (7*S*)-konfiguracijom (**30**, **35**, **39**, **44**, **48** i **II**) predstavljaju analoge (*Slika 3.3.5a*). Kod 5-*O*-benzil-halogenidnih derivata, (7*R*)-izomeri (**27**, **33**, **37**, **41** i **19**) su takodje kontrolni molekuli, dok (7*S*)-izomeri (**26**, **32**, **36**, **42** i **21**) predstavljaju odgovarajuće analoge (*Slika 3.3.5b*).



Slika 3.3.5. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti stiril-laktona **I**, **II** i analoga (SAR): (a) Uticaj promene konfiguracije na C-7 (na C-5 OH), (7*R*) → (7*S*); (b) Uticaj promene konfiguracije na C-7 (na C-5 OBn) (7*R*) → (7*S*).

Kao što se sa *Slike 3.3.5a* vidi, promena apsolutne stereochemije na C-7, kod prirodnih proizvoda uslovljava veoma značajne promene u biološkoj aktivnosti. Međutim, kod halogenidnih analoga ova promena ne uslovljava značajnije promene citotoksičnosti. Najveće promene u antitumorskoj aktivnosti uočene su kod azidnih i fluoridnih stereoizomera. Tako je (7*S*) stereoizomerni azid **48** ispoljio jaču aktivnost od **47** (7*R*) prema pet neoplastičnih ćelijskih linija, a isti efekat je registrovan

i kod fluoridnih izostera gde je **44** aktivniji od **43** prema pet ćelijskih linija. Nešto manja razlika u korist (7*S*)-stereoizomera u odnosu na (7*R*), registrovana je kod jodidnih analoga gde je **39** aktivniji od **38** prema četiri tumorske ćelije. Mala razlika u korist (7*S*)-izomera je primećena kod hloridnih izomera gde je (7*S*)-izomer **30** aktivniji od (7*R*)-izomera **29** prema samo tri ćelijske linije, ali je registrovana razlika u aktivnosti prema Jurkat ćelijama čak 400 puta. Najmanji uticaj promene konfiguracije na C-7 stereocentru je primećen kod bromidnih analoga, gde je (7*R*)-izomer **34** aktivniji prema čak šest ćelijskih kultura, dok su prema tri ćelijske linije aktivnosti oba izomera bile slične.

Kao što se sa *Slike 3.3.5b* vidi, promena konfiguracije [(7*R*) → (7*S*)] kod benzilnih analoga (+)-goniofufurona **19** i 7-*epi*-(+)-goniofufurona **21** ima potpuno suprotan efekat u odnosu na prirodne proizvode **I** i **II**. Naime, analog **19** (7*R*) je pokazao bolju citotoksičnost od **21** (7*S*) prema osam od devet ispitivanih tumorskih ćelijskih linija. Ipak kod halogenidnih analoga je registrovana daleko jača aktivnost (7*S*)- u odnosu na (7*R*)-izomere, a ovaj efekat je posebno uočljiv kod bromidnih i hloridnih analoga. Bromidni (7*S*)-izomer **32** je aktivniji od (7*R*)-izomera **33** prema sedam od devet ćelijskih linija, dok je kod hlorida bolja aktivnost (7*S*)-analog **26** u odnosu na (7*R*)-izomer **27** registrovana prema šest neoplastičnih ćelija. Nešto manji uticaj je primećen kod jodidnih analoga gde je (7*S*)-izomer **36** ispoljio bolju aktivnost od (7*R*)-epimera **37** prema pet linija tumorskih ćelija, kao i kod fluoridnih analoga gde je (7*S*)-izomer **42** pokazao veću citotoksičnost od (7*R*)-epimera **41** prema samo četiri od devet ispitivanih ćelijskih linija.

Mehanizam biološkog dejstva sintetizovanih izostera i bioizostera goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona

Ćelijski ciklus

Obzirom da sintetizovane izostere i bioizostere goniofufurona, odnosno 7-*epi*-goniofufurona pokazuju značajne antiproliferativne aktivnosti, naš sledeći zadatak bio je da ispitamo mehanizam njihovog delovanja. Naime, iz MTT testova citotoksičnosti dobili smo podatke o preživljavanju i proliferativnoj sposobnosti ćelija, ali ne i informacije o mehanizmima antitumorske aktivnosti novosintetizovanih analoga.

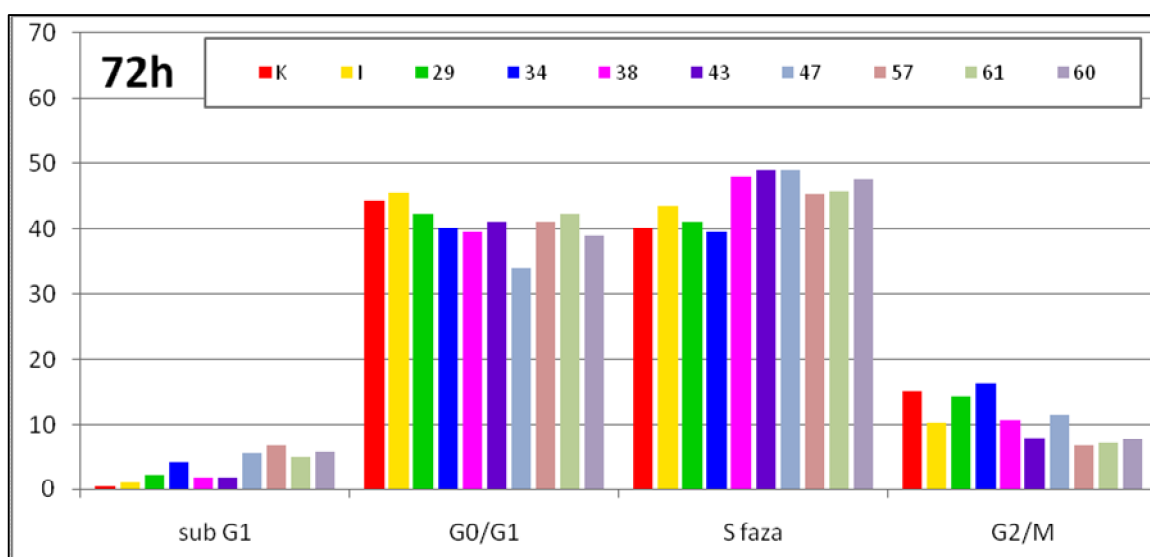
U cilju odredjivanja mehanizma antiproliferativnog dejstva sintetizovanih analoga goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona, ispitivan je uticaj analoga na faze ćelijskog ciklusa primenom protočne citometrije. Kao model sistem poslužile su K562 ćelije hronične mijelogene leukemije prema kojima su sva ispitivana jedinjenja ispoljila značajnu antiproliferativnu aktivnost. Eksperimenti su

izvedeni tako što su K562 ćelije kontinualno tretirane ispitivanim jedinjenjima tokom 72 h, pri koncentraciji koja odgovara IC₅₀ vrednosti ispitivanih jedinjenja za 72 h.

Kao što se iz *Tabele 3.3.5.* i *Slike 3.3.6.* vidi, (+)-goniofufuron (**I**) kao i njegove izostere značajno povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi. Jedinjenja **29**, **34**, **47**, **57**, **61** kao i **60** povećavaju procenat ćelija u ovoj fazi od 4 do 12 puta u odnosu na kontrolu, a 2 do 7 puta u odnosu na prirodni proizvod **I**. Procenat ćelija u G0/G1 i S fazi ćelijskog ciklusa za sva ispitivana jedinjenja, kao i za goniofufuron, sličan je vrednostima dobijenim u kontrolnom uzorku.

Tabela 3.3.5. Uticaj (+)-goniofufurona (**I**) i njegovih analoga (**29**, **34**, **38**, **43**, **47**, **57**, **61** i **60**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

72 h	Sub G1	G0/G1	S faza	G2/M
K	0.55	44.16	40.15	15.14
I	0.97	45.45	43.35	10.23
29	2.25	42.17	41.11	14.47
34	4.17	40.01	39.43	16.39
38	1.77	39.61	48.01	10.61
43	1.91	41.06	49.02	8.01
47	5.56	34.06	49.03	11.35
57	6.78	41.15	45.30	6.77
61	5.03	42.27	45.61	7.09
60	5.81	38.99	47.48	7.72



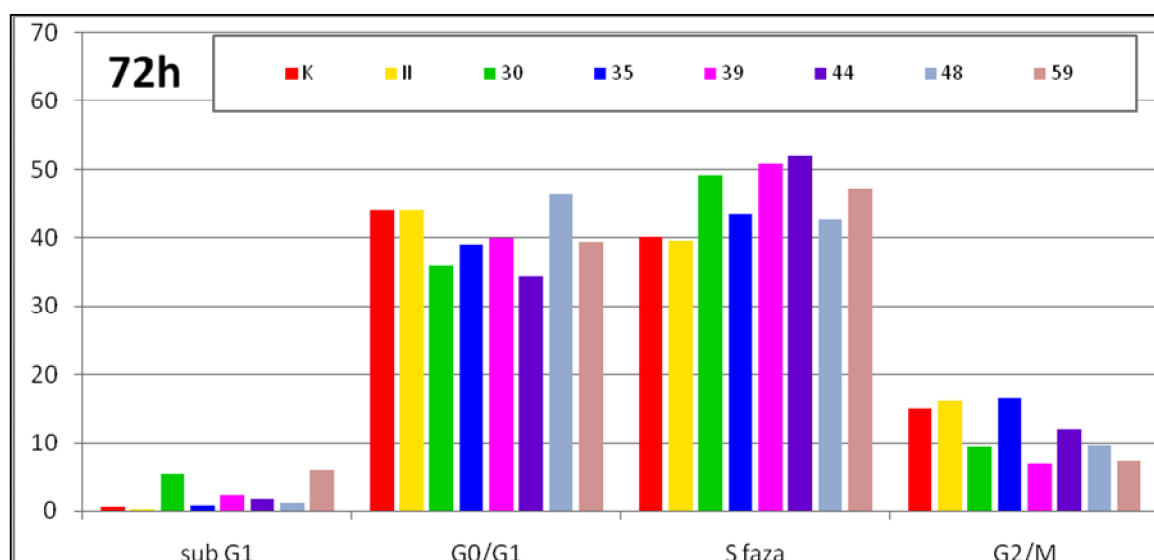
Slika 3.3.6. Uticaj (+)-goniofufurona (**I**) i njegovih analoga (**29**, **34**, **38**, **43**, **47**, **57**, **61** i **60**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Kao što se iz *Tabele 3.3.6.* i *Slike 3.3.7.* vidi, izostere 7-*epi*-(+)-goniofufurona takodje povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi. Jedinjenja **30** i **59** povećavaju skoro 10, odnosno 11 puta procenat ćelija u sub G1 fazi u odnosu na kontrolu i približno 23 odnosno 25 puta u odnosu na prirodni proizvod **II**. Prirodni 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**) dvostruko smanjuje procenat ćelija u sub G1 fazi u

odnosu na kontrolu, što je neobično pošto ispoljava veoma značajnu citotoksičnost (IC_{50} 0.028 μ M) prema ćelijama K562, pa se može pretpostaviti da je mehanizam njegovog delovanja drugačiji. Procenat ćelija u G0/G1 i S fazi za sve ispitivane analoge, kao i za 7-*epi*-(+)-goniofufuron, sličan je vrednostima dobijenim u kontrolnom uzorku. Za G2/M fazu ćelijskog ciklusa značajno niže vrednosti od kontrolnih nađene su za jedinjenja **30**, **39**, **48** i **59**.

Tabela 3.3.6. Uticaj 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) i njegovih analoga (**30**, **35**, **39**, **44**, **48** i **59**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

72 h	Sub G1	G0/G1	S faza	G2/M
K	0.55	44.16	40.15	15.14
II	0.24	44.11	39.56	16.09
30	5.46	36.13	49.06	9.35
35	0.75	39.12	43.53	16.60
39	2.26	39.93	50.75	7.06
44	1.68	34.26	51.98	12.08
48	1.20	46.29	42.82	9.69
59	6.10	39.42	47.03	7.45

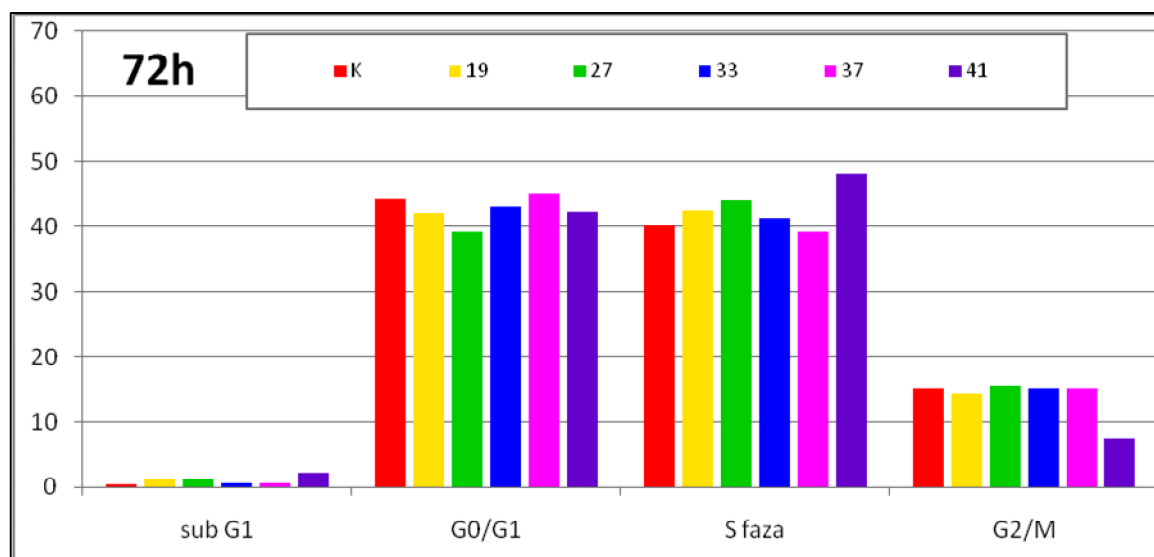


Slika 3.3.7. Uticaj 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) i njegovih analoga (**30**, **35**, **39**, **44**, **48** i **59**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Analozi 5-*O*-benzil-(+)-goniofufurona (molekuli **27**, **33**, **37** i **41**), kao i sam **19** veoma slabo povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi u poređenju sa kontrolom. Procenat pomenutih ćelija je, u odnosu na osnovni molekul **19**, takođe nizak za sve analoge osim za jedinjenje **41** (četiri i približno dva puta veći procenat ćelija u sub G1 fazi u poređenju sa kontrolnim uzorkom odnosno sa osnovnim molekulom **19**). Procenat ćelija u G0/G1, S i G2/M fazi ćelijskog ciklusa za sve ispitivane analoge, kao i za osnovno jedinjenje **19**, sličan je kontrolom uzorku s izuzetkom jedinjenja **41** kod kojeg su vrednosti u G2/M fazi dvostruko manje od kontrole (Tabela 3.3.7. i Slika 3.3.8.).

Tabela 3.3.7. Uticaj 5-*O*-benzil-(+)-goniofufurona (**19**) i njegovih analoga (**27**, **33**, **37** i **41**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

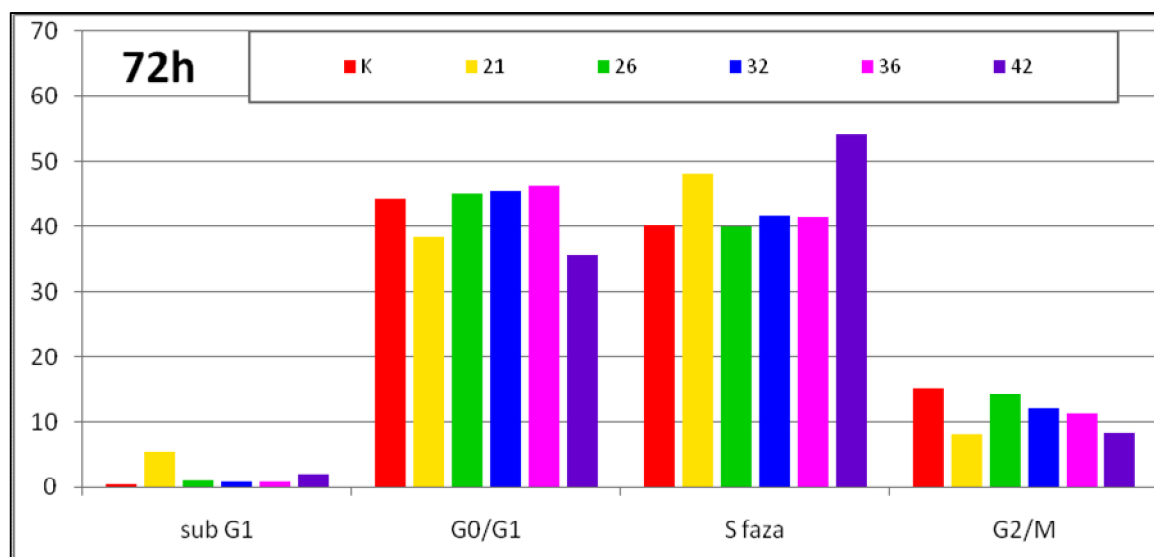
72 h	Sub G1	G0/G1	S faza	G2/M
K	0.55	44.16	40.15	15.14
19	1.25	42.01	42.41	14.33
27	1.32	39.15	44.01	15.52
33	0.63	43.06	41.21	15.10
37	0.69	45.04	39.08	15.19
41	2.25	42.31	48.11	7.33

Slika 3.3.8. Uticaj 5-*O*-benzil-(+)-goniofufurona (**19**) i njegovih analoga (**27**, **33**, **37** i **41**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Slični rezultati su dobijeni i sa derivatima 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (molekuli **26**, **32**, **36** i **42**). Svi analozi neznatno povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi, ali osnovni molekul 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufuron **21**, povećava procenat ovih ćelija deset puta u odnosu na kontrolu. Analog **42** je povećao procenat ćelija u sub G1 fazi skoro četiri puta u odnosu na kontrolu, ali je ta vrednost dvostruko manja od procenta koji je dobijen sa osnovnim molekulom **21**. Procenat ćelija u G0/G1 i S fazi ćelijskog ciklusa je sličan za sva ispitivana jedinjenja, dok je za G2/M fazu ćelijskog ciklusa kod svih jedinjenja, osim osnovnog molekula **21** i analoga **42**, dobijena vrednost slična vrednostima kontrolnog uzorka (Tabela 3.3.8. i Slika 3.3.9.).

Tabela 3.3.8. Uticaj 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (**21**) i njegovih analoga (**26**, **32**, **36** i **42**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

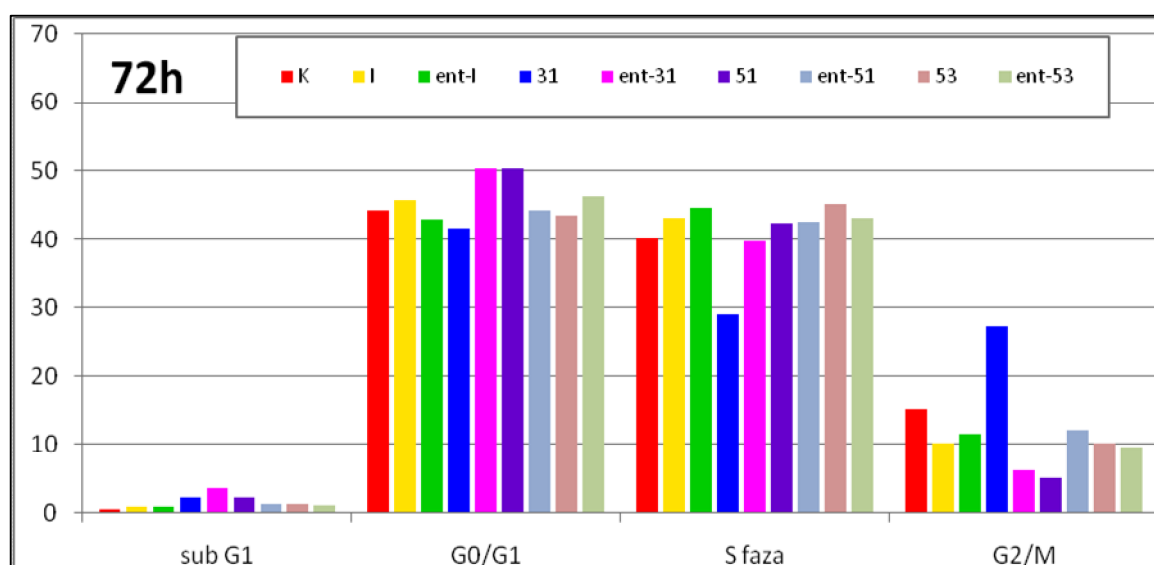
72 h	Sub G1	G0/G1	S faza	G2/M
K	0.55	44.16	40.15	15.14
21	5.39	38.25	48.19	8.17
26	0.95	44.95	39.98	14.12
32	0.88	45.34	41.70	12.08
36	0.94	46.23	41.55	11.28
42	2.06	35.54	54.19	8.21

Slika 3.3.9. Uticaj 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (**21**) i njegovih analoga (**26**, **32**, **36** i **42**) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Na kraju smo uporedili uticaj enantiomernih parova na ćelijski ciklus K562 ćelija. Zapaženo je da svi analozi umereno povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi u odnosu na kontrolu. Upoređujući ih međusobno, utvrdili smo da je povećanje registrovano kod svih (+)-enantiomera u odnosu na (-)-enantiomere, osim za jedinjenja **31** i *ent*-**31**. Naime (-)-*ent*-**31** je indukovao skoro dva puta veći procenat ćelija u sub G1 fazi u poređenju sa (+)-**31**. Zanimljivo je da su osnovni molekuli (+)-goniofufuron (**I**) i (-)-goniofufuron (*ent*-**I**) indukovali vrlo slične vrednosti u svim fazama ćelijskog ciklusa. Od svih prikazanih jedinjenja posebno se ističe (-)-benzoksepan *ent*-**31** koji je ispoljio oko sedam puta veći procenat ćelija u sub G1 fazi u odnosu na kontrolu (Tabela 3.3.9. i Slika 3.3.10.).

Tabela 3.3.9. Uticaj enantiomernih stiril-laktona, (+)-goniofufurona (**I**), (-)-goniofufurona (*ent-I*) i analoga (**31** i *ent-31*, **51** i *ent-51*, **53** i *ent-53*) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

72 h	Sub G1	G0/G1	S faza	G2/M
K	0.55	44.16	40.15	15.14
I	0.97	45.65	43.15	10.23
<i>ent-I</i>	0.97	42.96	44.53	11.54
31	2.16	41.56	29.10	27.18
<i>ent-31</i>	3.72	50.33	39.71	6.24
51	2.15	50.33	42.26	5.26
<i>ent-51</i>	1.25	44.21	42.52	12.02
53	1.32	43.38	45.04	10.26
<i>ent-53</i>	0.99	46.32	43.04	9.65

Slika 3.3.10. Uticaj enantiomernih stiril-laktona, (+)-goniofufurona (**I**), (-)-goniofufurona (*ent-I*) i analoga (**31** i *ent-31*, **51** i *ent-51*, **53** i *ent-53*) na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da izostere i bioizostere prirodnih proizvoda **I** i **II** dovode do promena u distribuciji faza ćelijskog ciklusa K562 ćelija, dok pojedini analozi značajno povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi koji je pokazatelj prisustva apoptotskih ćelija.

Apoptoza

Poznato je da se mehanizam antitumorskog delovanja stiril-laktona može pripisati njihovoj sposobnosti da indukuju apoptozu.⁵⁷ Pošto su rezultati ćelijskog ciklusa uputili na proapoptotski efekat ispitivanih jedinjenja, naredni cilj ovog dela rada bilo je ispitivanje tipa ćelijske smrti koju indukuju sintetizovani analozi.

Prisustvo apoptotskih ćelija praćeno je primenom dvostrukog bojenja sa Annexin V-FITC/propidijum-jodidom (PI) uz korišćenje protočnog citometra. Ovaj postupak omogućava da razlikujemo nekoliko tipova ćelija: normalne žive ćelije (slabo obojene Annexin-om i PI), ćelije u

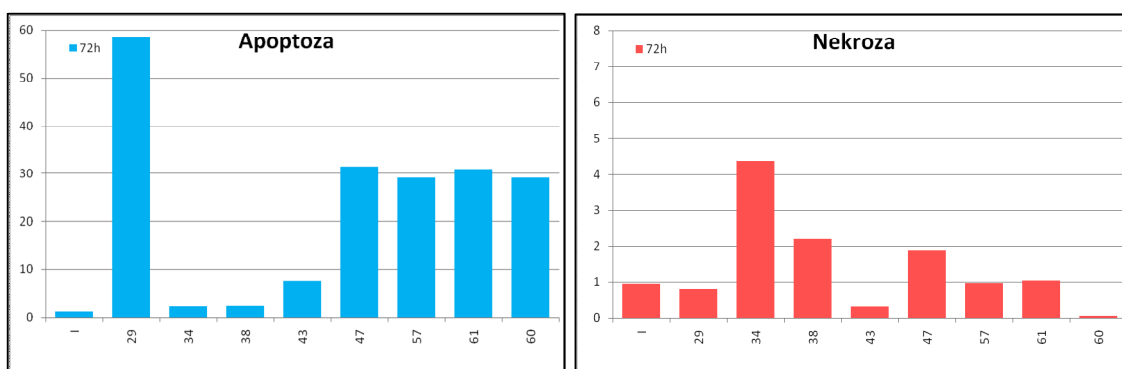
apoptozi (izraženo bojenje Annexin-om, a slabo bojenje PI) i nekrotične ćelije (slabo bojenje Annexin-om, a izraženo bojenje PI). Jedan od prvih indikatora apoptoze je premeštanje fosfatidil-serina (membranskog fosfolipida) sa unutrašnje na spoljašnju stranu plazma membrane,⁹⁵ čime se omogućava vezivanje Annexin-a V koji ima visok afinitet prema fosfatidil-serinu. Za Annexin V je vezana fluorescentna boja fluorescein izotiocijanat (FITC) što omogućava detekciju ćelija pomoću protočnog citometra. Kod nekrotičnih ćelija, premeštanje fosfatidil-serina na spoljašnju stranu membrane je posledica narušenog integriteta ćelijske membrane. Da bi se razlikovale apoptotske od nekrotičnih ćelija koristi se bojenje sa propidijum-jodidom. PI boji DNK, te se njime boje samo nekrotične ćelije pošto im je integritet membrane narušen. Ćelije u ranim fazama apoptoze imaju očuvanu plazma membranu pa se ne boje PI. Primena ovakvog dvostrukog bojenja omogućava ne samo razlikovanje apoptotskih od nekrotičnih ćelija, već omogućava i detekciju ćelija u ranoj fazi apoptoze. Po tome se ovaj test razlikuje od testova zasnovanih na detektovanju nuklearnih promena, kao što je DNK fragmentacija.

K562 ćelije su izlagane dejstvu referentnih jedinjenja (**I**, **II**, **19**, **21** i *ent-I*) i analoga, u toku 72 h, u koncentracijama koje odgovaraju IC₅₀ vrednostima za 72 h, a potom su podvrgnute dvostrukom bojenju (Annexin V–FITC/propidijum-jodid), nakon čega je određivan procenat apoptotskih, nekrotičnih i živih ćelija protočnom citometrijom. Dobijeni procenti specifične apoptoze i specifične nekroze prikazani su tabelarno i grafički.

Apoptotski odgovor, predstavljen kao procenat specifične apoptoze (+)-goniofufurona i njegovih analoga (**29**, **34**, **38**, **43**, **47**, **57**, **61** i **60**) prikazan je u *Tabeli 3.3.10* i na *Slici 3.3.11*. Kao što se vidi, (+)-goniofufuron indukuje slabu specifičnu apoptozu i nekrozu u toku 72 h. Međutim, izostere prirodnog proizvoda **I** (jedinjenja **29**, **34**, **38**, **43**, **47**, **57**, **61** i **60**) višestruko povećavaju procenat specifične apoptoze i u odnosu na kontrolu i u odnosu na osnovni molekul **I**. Najpotentnije jedinjenje je hloridni analog **29**. Procenat specifične apoptoze (58.36%) je čak 47 puta veći od specifične apoptoze koju izaziva **I**. Takodje su i jedinjenja **47**, **57**, **61** i **60** indukovala značajan procenat specifične apoptoze (29% do 31%), a veća je 24 odnosno 25 puta od procenta specifične apoptoze izazvane goniofufuronom. Najveći, mada relativno nizak procenat specifične nekroze (4.35%), izazvao je bromidni derivat **34**.

Tabela 3.3.10. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod (+)-goniofufurona (**I**) i njegovih analoga (**29**, **34**, **38**, **43**, **47**, **57**, **61** i **60**).

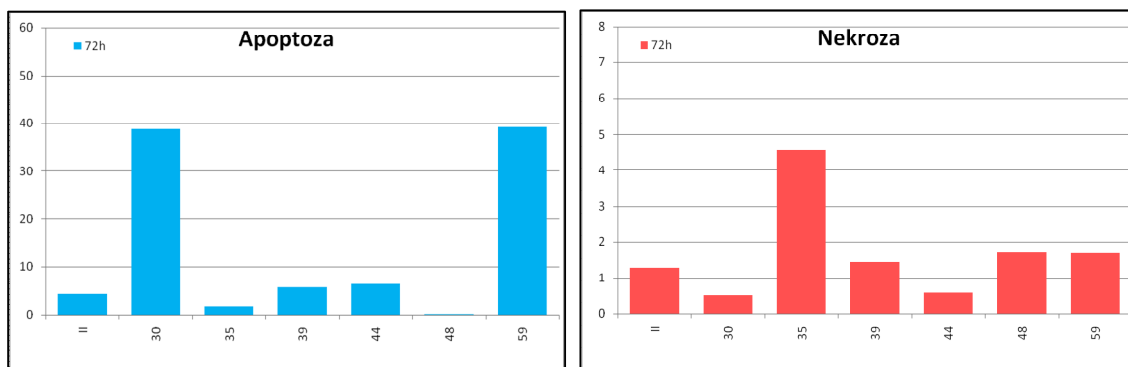
72 h	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
I	1.23	0.95
29	58.36	0.81
34	2.27	4.35
38	2.61	2.20
43	7.63	0.31
47	31.42	1.89
57	29.15	0.96
61	30.88	1.04
60	29.16	0.05

Slika 3.3.11. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod (+)-goniofufurona (**I**) i njegovih analoga (**29**, **34**, **38**, **43**, **47**, **57**, **61** i **60**).

Kao što se iz Tabele 3.3.11. i sa Slike 3.3.12. vidi, 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**) i svi njegovi analozi osim jedinjenja **48** indukuju apoptozu u K562 ćelijama. Najveći procenat specifične apoptoze su indukovali derivat **59** (39.20%) i hlorna izostera **30** (38.77%), što je skoro devet puta veća vrednost od vrednosti za 7-*epi*-(+)-goniofufuron. Kao i kod analoga **I** i ovde je najveća specifična nekroza registrovana kod bromnog derivata (jedinjenje **35**) i iznosi 4.56%.

Tabela 3.3.11. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) i njegovih analoga (**30**, **35**, **39**, **44**, **48** i **59**).

72 h	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
II	4.39	1.28
30	38.77	0.51
35	1.70	4.56
39	5.81	1.45
44	6.43	0.58
48	0.16	1.74
59	39.20	1.72

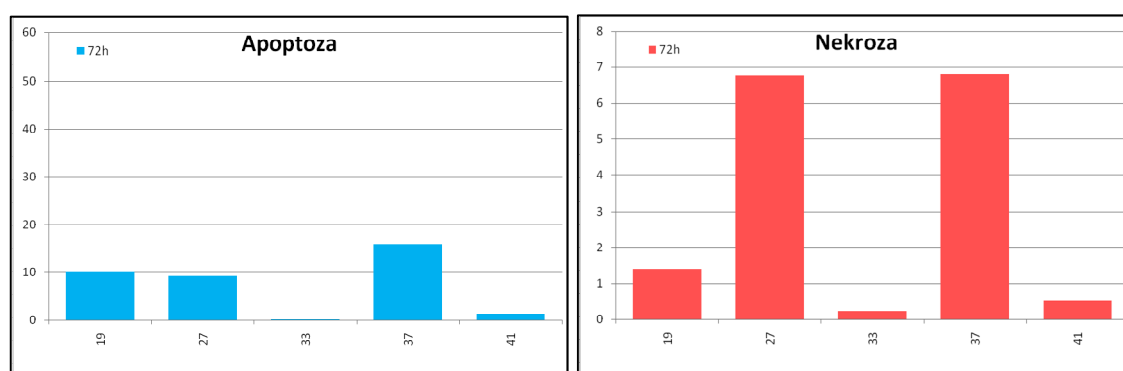


Slika 3.3.12. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**) i njegovih analoga (**30**, **35**, **39**, **44**, **48** i **59**).

5-*O*-Benzil-(+)-goniofufuron **19** i analozi **27** i **37**, ispoljavaju značajan procenat specifične apoptoze. Najaktivniji u ovoj grupi je jodidni analog **37** sa 15.91% specifične apoptoze i 6.80% specifične nekroze. Značajni procenti specifične apoptoze i nekroze su detektovani i kod jedinjenja **27** (9.16%, odnosno 6.77%) (Tabela 3.3.12. i Slika 3.3.13.).

Tabela 3.3.12. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod 5-*O*-benzil-(+)-goniofufurona (**19**) i njegovih analoga (**27**, **33**, **37** i **41**).

72 h	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
19	10.09	1.41
27	9.16	6.77
33	0.11	0.22
37	15.91	6.80
41	1.29	0.51

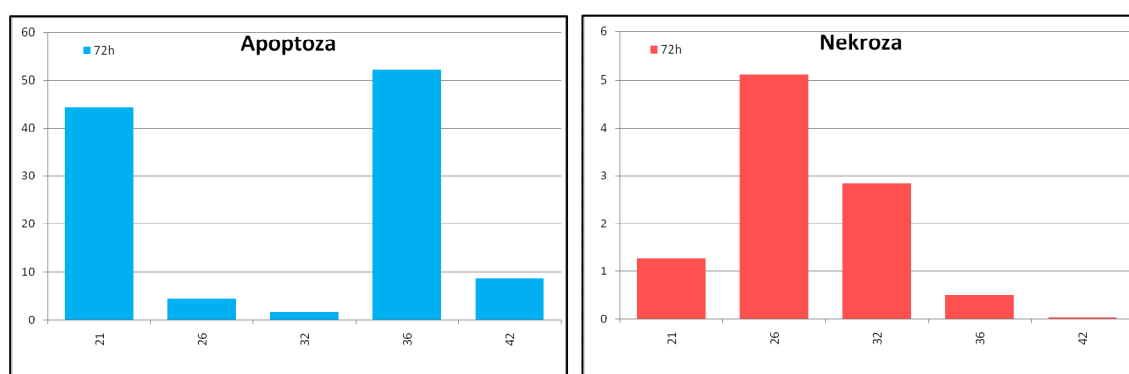


Slika 3.3.13. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod 5-*O*-benzil-(+)-goniofufurona (**19**) i njegovih analoga (**27**, **33**, **37** i **41**).

Rezultati dobijeni nakon tretmana sa grupom jedinjenja: 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufuronom **21** i analogima **26**, **32**, **36** i **42**, pokazuju da su samo osnovno jedinjenje **21** i analog **36** indukovali visok procenat apoptoze u K562 ćelijama (Tabela 3.3.13). Jedinjenje **26** je indukovalo apoptozu i nekrozu u oko 5% K562 ćelija (Tabela 3.3.13. i Slika 3.3.14.).

Tabela 3.3.13. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (**21**) i njegovih analoga (**26**, **32**, **36** i **42**).

72 h	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
21	44.33	1.27
26	4.39	5.11
32	1.78	2.83
36	52.06	0.49
42	8.65	0.03

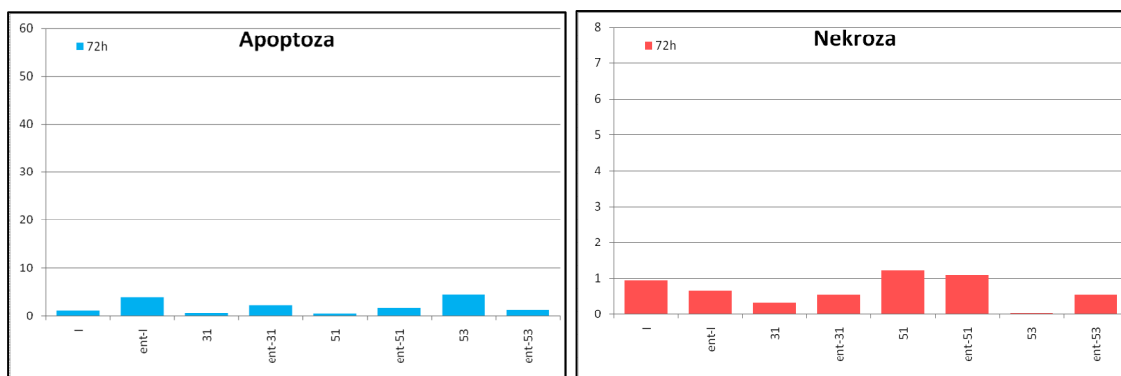


Slika 3.3.14. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (**21**) i odgovarajućih analoga (**26**, **32**, **36** i **42**).

U Tabeli 3.3.14. i na Slici 3.3.15. prikazan je apoptotski odgovor za enantiomerne parove stiril-laktona. Procenat K562 ćelija u apoptozi je generalno nizak za sve enantiomerne parove, osim što je kod para **53** i *ent*-**53** nešto veća apoptoza detektovana kod (+)-enantiomera (jedinjenje **53**). Kod ostalih enantiomernih parova veći procenat specifične apoptoze su ispoljili (-)-enantiomeri (jedinjenja *ent*-**I**, *ent*-**31** i *ent*-**51**).

Tabela 3.3.14. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod enantiomernih stiril-laktona, (+)-goniofufurona (**I**), (-)-goniofufurona (*ent*-**I**) i enantiomernih parova analoga (**31** i *ent*-**31**, **51** i *ent*-**51**, **53** i *ent*-**53**).

72 h	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
I	1.23	0.95
<i>ent</i> - I	3.86	0.64
31	0.57	0.33
<i>ent</i> - 31	2.22	0.53
51	0.38	1.22
<i>ent</i> - 51	1.71	1.09
53	4.39	0.01
<i>ent</i> - 53	1.30	0.54



Slika 3.3.15. Procenat specifične apoptoze i nekroze kod enantiomernih stiril-laktona, (+)-goniofufurona (**I**), (-)-goniofufurona (*ent-I*) i enantiomernih parova analoga (**31** i *ent-31*, **51** i *ent-51*, **53** i *ent-53*).

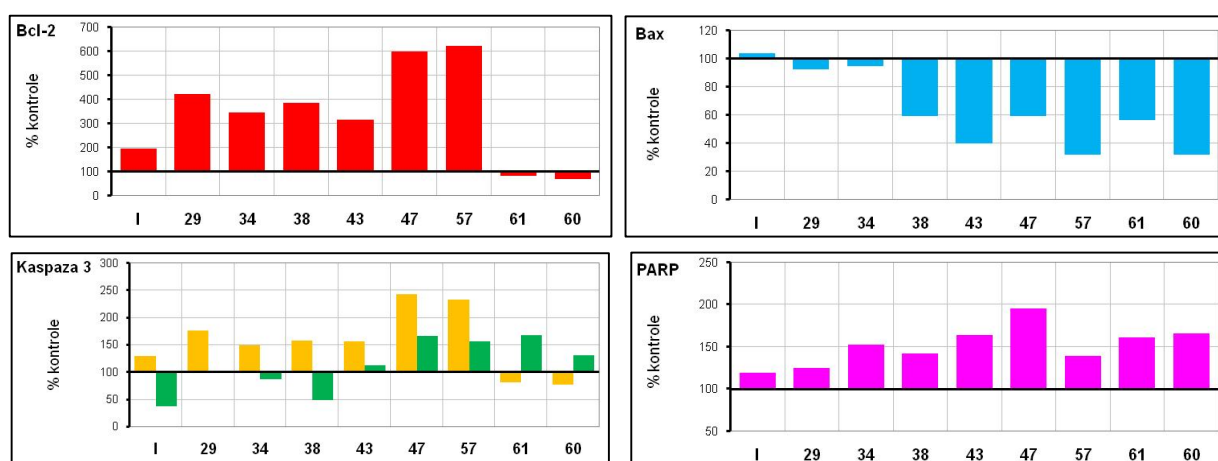
Western blot analiza

Nakon odredjivanja specifične apoptoze, sledeći zadatak bio je utvrđivanje ekspresije proteina koji su uključeni u signalnu kaskadu apoptoze. Semi-kvantitativna Western blot metoda je korišćena za utvrđivanje efekta testiranih derivata na promenu nivoa pro-apoptotskih i anti-apoptotskih proteina u K562 ćelijama. Da bi otkrili mehanizam nastanka apoptoze posmatrana su dejstva analoga i osnovnih jedinjenja (ukupno 33 jedinjenja) na ekspresiju Bcl-2, Bax, kaspaze 3 i poli-ADP-riboza polimeraze. Poznato je da su ovi proteini i enzimi uključeni u kritične faze apoptotskog puta i da stiril-laktoni mogu ispoljiti svoje efekte upravo na ovim kritičnim tačkama.⁵⁷ Testovi su izvedeni na kulturi ćelija humane hronične mijeloidne leukemije K562. Ćelije su izlagane odgovarajućoj IC₅₀ koncentraciji testiranih jedinjenja u toku 72 h, a nakon toga su pripremljeni ćelijski lizati za Western blot analizu. Proteini su razdvojeni elektroforezom i preneti na PVDF membrane, koje su zatim inkubirane sa anti-Bax, Bcl-2, kaspaza 3, PARP i anti-β-aktin antitelima. Za detekciju proteina korišćen je komercijalni kit (ECL Plus kit). Nivo β-aktin proteina korišćen je kao kontrola uspešnosti Western blot analize. Na *Slikama 3.3.16.–3.3.20.* prikazani su rezultati kvantifikacije traka dobijenih Western blot analizom, koje odgovaraju Bax, Bcl-2, kaspaza 3 i PARP proteinima. Kvantifikacija je uradjena denzitometrijskom analizom, koristeći ImageJ softver, a relativne količine proteina su prikazane u arbitrarnim jedinicama.

Uticao analoga na ekspresiju proteina Bcl-2 familije. Proteini Bcl-2 familije su glavni regulatori apoptoze. Apoptoza zavisi od odnosa pro- i anti-apoptotskih proteina Bcl-2 familije. Bax pripada pro-apoptotskim proteinima Bcl-2 familije. Nakon apoptotskog stimulansa dolazi do određenih konformacionih promena u njegovoj strukturi koje rezultuju oslobađanjem citohroma C i drugih apoptogenih proteina iz mitohondrija u citoplazmu i tako započinje proces apoptoze. Za razliku od njega anti-apoptotski protein Bcl-2, blokira oslobađanje citohroma C u citoplazmu, odnosno

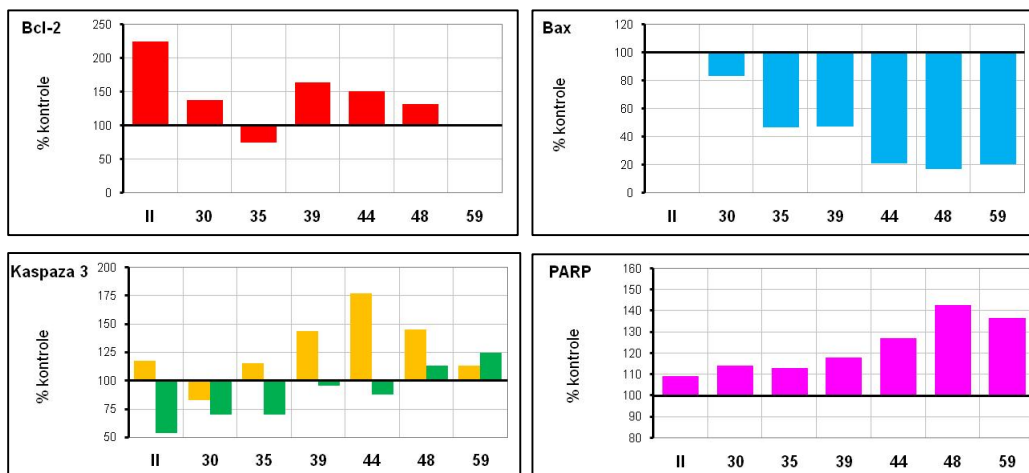
suprotstavlja se dejstvu pro-apoptotskih proteina, sprečavajući nastanak apoptoze. Smatra se da su upravo članovi anti-apoptotskih proteina familije Bcl-2 odgovorni za rezistenciju tumorskih ćelija na antitumorske agense.⁹⁶⁻⁹⁹

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa goniofufuronom **I** i analogima **29, 34, 38, 43, 47, 57, 61** i **60** (Slika 3.3.16.) pokazuju da svi analozi smanjuju ekspresiju Bax-a, dok osnovni molekul (+)-goniofufuron povećava ekspresiju Bax-a u odnosu na kontrolu. Prirodni proizvod **I** povećava ekspresiju Bcl-2, kao i većina analoga (izostere **29, 34, 38, 43, 47** i **57**). Analozi sa 5-*O*-metil-grupom **61** i **60** za razliku od ostalih, izazivaju smanjenje ekspresije Bcl-2 proteina u odnosu na netretirane ćelije.



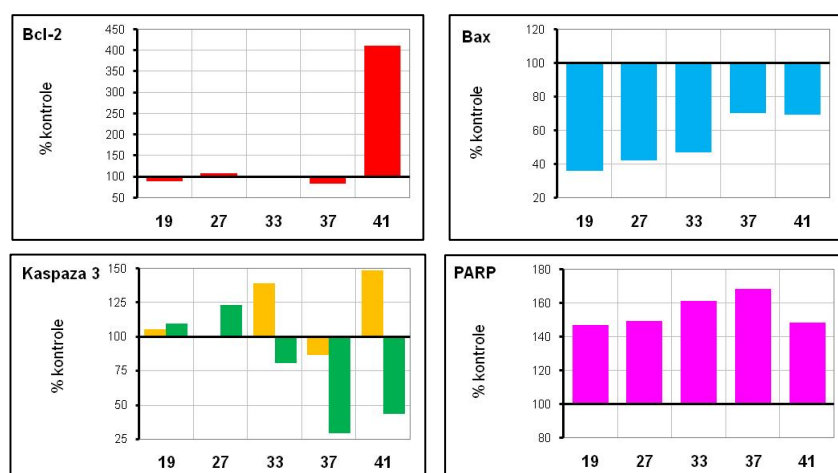
Slika 3.3.16. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa (+)-goniofufuronom (**I**) i analogima (**29, 34, 38, 43, 47, 57, 61** i **60**).

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 7-*epi*-(+)-goniofufuronom (**II**) i njegovim analogima (**30, 35, 39, 44, 48** i **59**) pokazuju da svi analozi smanjuju ekspresiju Bax-a u odnosu na kontrolu, osim osnovnog molekula **II** kod kojeg nije registrovana ekspresija ovog proteina (Slika 3.3.17.). Prirodni proizvod **II** povećava ekspresiju Bcl-2, kao i većina analoga (izostere **30, 39, 44** i **48**). Međutim, bromidni analog **35** pokazuje smanjenje ekspresije Bcl-2, dok je kod derivata **59** registrovana ista vrednost kao kod kontrole, odnosno nije detektovana ekspresija ovog proteina.



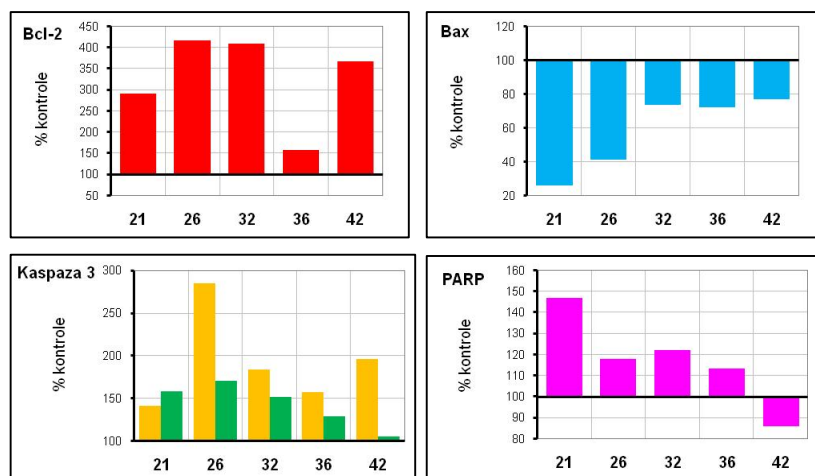
Slika 3.3.17. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 7-*epi*(+)-goniofufuronom (**II**) i analogima (**30, 35, 39, 44, 48** i **59**).

Kao što se sa *Slike 3.3.18.* vidi, rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 5-*O*-benzil(+)-goniofufuronom (**19**) i njegovim analogima (**27, 33, 37** i **41**) pokazuju da su vrednosti koje odgovaraju ekspresiji Bcl-2 proteina slične za referentni molekul **19** i za analoge **27, 33** i **37**. Samo je za analog **41** registrovana izuzetno velika ekspresija Bcl-2, koja je preko 4 puta veća u poređenju sa kontrolnim uzorkom i osnovnim molekulom. Takodje je registrovana smanjena ekspresija Bax-a za sva testirana jedinjenja ove grupe u odnosu na kontrolu.



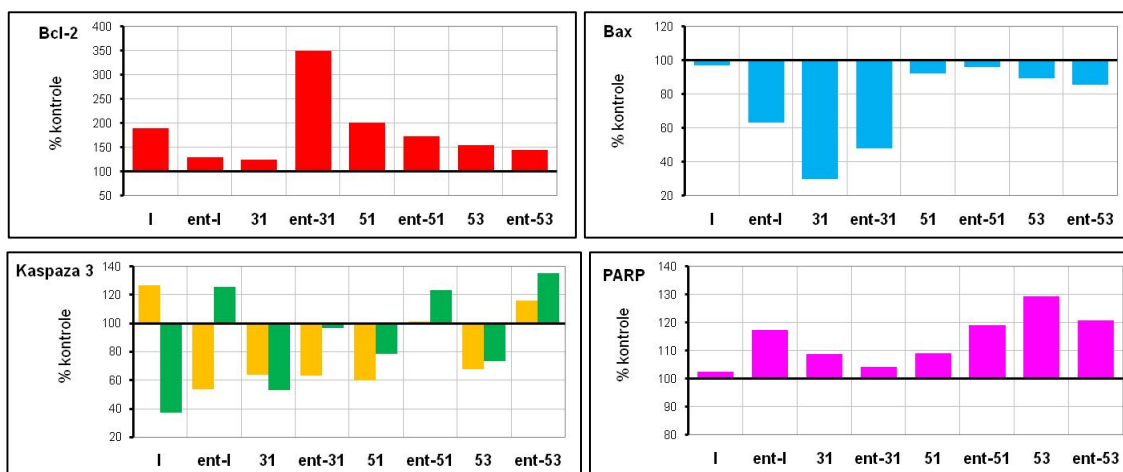
Slika 3.3.18. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 5-*O*-benzil(+)-goniofufuronom (**19**) i analogima (**27, 33, 37** i **41**).

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufuronom (**21**) i analogima (**26**, **32**, **36** i **42**) pokazuju značajno povećanje ekspresije Bcl-2 i značajno smanjenje ekspresije Bax-a u odnosu na kontrolu (Slika 3.3.19.).



Slika 3.3.19. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufuronom (**21**) i analogima (**26**, **32**, **36** i **42**).

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa enantiomernim stiril-laktonima, (+)-goniofufuronom (**I**), (-)-goniofufuronom (*ent*-**I**) i analogima (**31** i *ent*-**31**, **51** i *ent*-**51**, **53** i *ent*-**53**) prikazani su na Slici 3.3.20. Nađena je povećana ekspresija Bcl-2 proteina i smanjena ekspresija Bax proteina kod svih enantiomernih parova u odnosu na kontrolu. Najznačajnije povećanje ekspresije Bcl-2 proteina registrovano je kod benzoksepana *ent*-**31**, dok je najveće smanjenje ekspresije Bax-a detektovano kod benzoksepana **31**.



Slika 3.3.20. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa enantiomernim stiril-laktonima, (+)-goniofufuronom (**I**), (-)-goniofufuronom (*ent*-**I**) i analogima (**31** i *ent*-**31**, **51** i *ent*-**51**, **53** i *ent*-**53**).

Uticaj analoga na ekspresiju enzima, kaspaze 3 i PARP (poli-ADP-riboza polimeraze). Pored praćenja ekspresije proteina iz Bcl-2 familije, praćena je i ekspresija enzima koji su uključeni u proces apoptoze Western blot analizom. Najznačajniji apoptotski enzimi su svakako kaspaze, koje pripadaju familiji aspartat-specifičnih cisteinskih proteaza. One predstavljaju medijatore u iniciranju i izvršenju apoptotskog signala.¹⁰⁰ Praćena je ekspresija kaspaze 3 koja predstavlja ključnu kaspazu u apoptotskoj kaskadi. Međutim, poznato je da morfologija apoptoze može biti ostvarena delovanjem i proteaza iz drugih familija, a ne nužno dejstvom kaspaza.¹⁰¹ Uglavnom je programirana ćelijska smrt izazvana dejstvom antitumorskog agensa povezana sa kaspaza-zavisnim putem, ali kaspaza-nezavisni put takodje može biti uključen.^{99,102} Naime, apoptoza može biti izazvana i bez aktivacije kaspaza, odnosno aktivacija kaspaze ne mora nužno da izazove ćelijsku smrt.¹⁰³

Posle aktivacije kaspaze 3, dolazi do cepanja drugih proteina koji se nalaze niže u apoptotskoj kaskadi, kao što je poli-ADP-riboza polimeraza (PARP). Ovaj enzim je inače uključen u popravljjanje oštećene DNK te je njegovo cepanje značajan biohemijski pokazatelj apoptoze.¹⁰⁴

Kao što se *Slika 3.3.16.* vidi, Western blot analiza ekspresije prekursora (prikazano žutom bojom) i aktivne jedinice (prikazano zelenom bojom) kaspaze 3 u ćelijama K562 koje su izložene dejstvu (+)-goniofufurona (**I**) i njegovih analoga je pokazala da jedinjenja **43**, **47**, **57**, **61** i **60** indukuju ekspresiju. Western blot analizom ove grupe jedinjenja je takodje pokazano da svi analozi izazivaju cepanje PARP-a. Najznačajnije cepanje PARP-a je detektovano kod azidnog derivata **47**, kod kojeg je registrovana skoro dvostruko veća vrednost u odnosu na kontrolu. Takodje je kod svih izostera registrovana veća vrednost ovog parametra u odnosu na kontrolu, a takodje i u odnosu na osnovni molekul **I**.

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana K562 ćelija 7-*epi*-(+)-goniofufuronom (**II**) i njegovim analogima (*Slika 3.3.17.*) ukazuju značajnu ekspresiju kaspaze 3, koja je registrovana nakon tretmana sa jedinjenjima **48** i **59**. Prilikom tretmana ostalim analogima nije detektovana ekspresija kaspaze 3. Treba napomenuti da su svi analozi izazvali veću ekspresiju ovog enzima u odnosu na referentni molekul 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**). Sve izostere uzrokuju značajnije cepanje PARP-a, kako u odnosu na kontrolu tako i u odnosu na osnovni molekul **II**. Najveća vrednost ovog parametra je detektovana nakon tretmana azidnom izosterom **48**.

Rezultati Western blot analize dobijeni posle tretmana 5-*O*-benzil-(+)-goniofufuronom (**19**) i odgovarajućim derivatima **27**, **33**, **37** i **41** (*Slika 3.3.18.*), potvrđuju povećanu ekspresiju kaspaze 3 kod osnovnog molekula **19** i hlornog derivata **27**. Cepanje PARP-a je detektovano kod svih analoga, kao i kod osnovnog molekula u visokim vrednostima u odnosu na kontrolu, a najznačajnija vrednost je registrovana za jedinjenje **37**, iako je u ovom slučaju izostala ekspresija kaspaze 3.

Na *Slici 3.3.19.* prikazani su rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa 5-*O*-benzil-7-*epi*(+)-goniofufuronom (**21**) i analogima (**26**, **32**, **36** i **42**). Uočljivo je veoma značajno povećanje ekspresije kaspaze 3 kod svih jedinjenja, kako prekursora, tako i aktivne jedinice, a najznačajnija ekspresija je detektovana sa hloridnim analogom **26** (tri puta veća ekspresija prekursora i dva puta veća ekspresija aktivne jedinice u odnosu na kontrolu). Ceganje PARP-a je registrovano kod primene osnovnog molekula (**21**) i analoga **26**, **32** i **36**.

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana enantiomernim parovima, (+)-goniofufuronom (**I**), (-)-goniofufuronom (*ent*-**I**) i analogima (**31** i *ent*-**31**, **51** i *ent*-**51**, **53** i *ent*-**53**) prikazani su na *Slici 3.3.20.* Ekspresija kaspaze 3 je detektovana nakon tretmana sa *ent*-**I**, *ent*-**51** i *ent*-**53**. Smanjenje ekspresije kaspaze 3 u odnosu na kontrolu registrovano je kod primene ostalih jedinjenja (**I**, benzoksepani **31** i *ent*-**31**, **51** i **53**). Proteolitičko ceganje PARP-a je detektovano nakon dejstva svih enantiomernih parova, a najizraženije je kod analoga **53** i *ent*-**53**, u odnosu na kontrolu.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je većina ispitivanih jedinjenja ispoljila proapoptotski mehanizam antiproliferativnog dejstva. Za 15 od ukupno 33 ispitana jedinjenja (**29**, **34**, **47**, **57**, **61**, **60**, **30**, **59**, **39**, **41**, **21**, **42**, **31**, *ent*-**31** i **51**) registrovano je značajno povećanje sub G1 faze koja ukazuje na prisustvo ćelija u apoptozi. Vrednosti sub G1 faze kreću se u intervalu od 2.06 do 6.78 što je 4 do 12 puta veće od kontrole. Visoke vrednosti specifične apoptoze (29.15–58.36%), su detektovane za 9 jedinjenja (**29**, **47**, **57**, **61**, **60**, **30**, **59**, **21**, i **36**), a dobre vrednosti (8.65–15.91%) su dobijene i sa jedinjenjima **19**, **27**, **37** i **42**. Svega pet jedinjenja (**34**, **35**, **27**, **37** i **26**) je takodje indukovalo i specifičnu nekrozu u intervalu od 4.35 do 6.80%. Rezultati Western blot analize ukazuju da sva sintetizovana jedinjenja (ukupno 33) indukuju apoptozu kaspazno-zavisnim putem, odnosno utiču na povećanje ekspresije kaspaze 3 i/ili PARP-a. Za šest jedinjenja medju kojima se ističu 7-azidni i 5-*O*-metil-derivati (**47**, **57**, **61**, **60**, **59** i **21**) definitivno je potvrđeno da se apoptoza odigrava kaspazno-zavisnim putem. Naime, nakon tretmana ovim jedinjenjima dobijena je izražena sub G1 faza, visoke vrednosti specifične apoptoze, kao i ekspresija kaspaze 3 i PARP-a, što sve ukupno potvrđuje da proces apoptoze u K562 ćelijama teče kaspazno-zavisnim putem. Za ostala jedinjenja se ne može pouzdano tvrditi da li se apoptoza odigrava kaspazno-zavisnim putem, odnosno moguće da se apoptoza odigrava kaspazno-nezavisnim putem ili su uključeni i drugi mehanizmi ćelijske smrti (npr. regulisana nekroza, mitotska smrt ili autofagija).

Naši rezultati ukazuju da se antiproliferativna aktivnost većine ispitivanih novosintetizovanih izostera i bioizostera prirodnih stiril-laktona tipa goniofufurona i 7-*epi*-goniofufurona, prema ćelijskoj liniji humane leukemije K562, može pripisati njihovoj sposobnosti da indukuju apoptozu kaspazno-zavisnim putem, ali se ne mogu isključiti i neki drugi mehanizmi.

4. EKSPERIMENTALNI DEO

Opšte metode — Tačke topljenja su određene na aparatu Büchi 510 i nisu korigovane. Vrednosti optičke rotacije su izmerene na automatskim polarimetrima P 3002 (Krüss) i Rudolph research analytical AUTOPOL IV na sobnoj temperaturi. IR Spektri su snimljeni na FT spektrofotometru Nexus 670 (ThermoNicolet, detektor DTGS), a položaj traka je dat u cm^{-1} . NMR spektri su snimljeni na instrumentu Bruker AC 250 E, 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, dok su ^{13}C NMR spektri asignirani metodom selektivnog dekuplovanja. Maseni spektri niske rezolucije (LRMS) su snimljeni na Finningan-MAT 8230 spektrometru (CI) ili na instrumentu Agilent Technologies HPLC/MS 3Q system, series 1200/6410 (ESI⁺). Maseni spektri visoke rezolucije (HRMS) su snimljeni na aparatu 6210 Time-of-Flight LC/MS Agilent Technologies (ESI⁺). Tok reakcija je praćen tankoslojnom hromatografijom na aluminijumskim folijama Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck). Hromatogrami su izazivani sa 50% H₂SO₄ uz naknadno zagrevanje na 120 °C. Fleš hromatografija je uradjena na kolonama Kieselgel 60 (0.040–0.063 mm, E. Merck). Preparativna TLC je rađena na pločama sopstvene izrade dimenzija 20×20 cm i debljine sloja ~1 mm. Kao stacionarna faza korišćen je silikagel Kieselgel 60 G (E. Merck) sa fluorescentnim indikatorom F₂₅₄. Razdvojene zone su zgrebane i eluirane odgovarajućim rastvaračima pomoću hromatografskih kolona. Ekstrakti su sušeni sa anhidrovanim Na₂SO₄. 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 (1)

Ohladjenom rastvoru D-glukoze (20.0 g, 0.11 mmol) u anhidrovanom acetonu (400 mL) dodavana je cc H₂SO₄ (16 mL) u porcijama (2 mL) svakih 10–15 minuta, pri čemu je temperatura održavana na 5–10 °C. Reakciona smeša je mešana u toku 5 h pri čemu se temperatura postepeno povećala do sobne temperature (20–25 °C). Ohladjeni rastvor je neutralisan dodatkom 50% NaOH (30 mL) i čvrstog NaHCO₃ (do pH=8). Rastvor je ostavljen na sobnoj temperaturi u toku noći, neorganske soli su odfiltrovane, a rastvarač je uparen pri čemu je dobijen sirup koji stajanjem očvrstne. Ostatak je

rastvoren u metilen-hloridu, rastvor je ispran vodom, a vodeni sloj je dodatno ekstrahovan metilen-hloridom. Spojene organske faze se suše i upare, pri čemu zaostaje sirovi **1**. Nakon rekristalizacije iz cikloheksana dobijen je čist proizvod **1** (12.7 g, 44%), u vidu belih pahulja, t_t 110 °C, $[\alpha]_D = -17.2$ (c 1.0, H₂O), lit.⁷⁵ t_t 110–111 °C, $[\alpha]_D = -18.5$ (c 5.0, H₂O); $R_f = 0.78$ (Et₂O).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 3440 (OH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.25, 1.30, 1.38 i 1.43 (4×s, 3 H svaki, 2×Me₂C), 3.22 (bs, 1 H, OH), 3.95 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.1$, $J_{6a,6b} = 8.7$ Hz, H-6a), 3.98 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.7$, $J_{4,5} = 5.8$ Hz, H-4), 4.08 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.3$, $J_{6a,6b} = 8.7$ Hz, H-6b), 4.22 (bs, 1 H, $J_{3,4} = 2.7$ Hz, H-3), 4.26 (m, 1 H, $J_{4,5} = 5.8$, $J_{5,6a} = 5.1$, $J_{5,6b} = 6.3$ 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).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 25.01, 26.00 i 26.64 (2×Me₂C), 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×Me₂C).

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

Ohladjenom rastvoru (0 °C) jedinjenja **1** (5.0 g, 19.21 mmol) u anhidrovanom DMF-u (100 mL), dodat je NaH (1.034 g, 43.09 mmol) i BnBr (3.0 mL, 25.22 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C, u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 1.5 h. Nakon toga se doda MeOH (20 mL) i mešanje nastavi još 20 min na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se upari, a ostatak se rasporedi između CH₂Cl₂ (100 mL) i vode (100 mL). Organski sloj se odvoji, a vodeni rastvor se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (100 mL). Organske faze se spoje i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (19:1 toluen/Et₂O). Pri tome je dobijen čist proizvod **2** (6.14 g, 91%) kao bezbojni sirup, $[\alpha]_D = -28.1$ (c 1.0, CHCl₃), lit.⁷⁶ $[\alpha]_D = -26.4$ (c 1.2, CHCl₃); $R_f = 0.33$ (17:3 PE/Et₂O).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1602 (Ph).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.32, 1.39, 1.45 i 1.51 (4×s, 3 H svaki, 2×Me₂C), 3.98–4.07 (m, 2 H, $J_{3,4} = 3.0$, $J_{5,6a} = 5.9$, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz, H-3 i H-6a), 4.09–4.20 (m, 2 H, $J_{4,5} = 7.0$, $J_{5,6b} = 6.1$, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz, H-4 i H-6b), 4.39 (m, 1 H, $J_{4,5} = 7.0$, $J_{5,6a} = 5.9$, $J_{5,6b} = 6.1$ Hz, H-5), 4.60 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-2), 4.65 i 4.61 (2×d, 1 H svaki, $J_{\text{gem}} = 11.8$ Hz, PhCH₂), 5.91 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 7.30–7.40 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 25.38, 26.18, 26.73 i 26.77 (2×Me₂C), 67.32 (C-6), 72.29 (PhCH₂), 72.45 (C-5), 81.24 (C-4), 81.61 (C-3), 82.57 (C-2), 105.22 (C-1), 108.90 i 111.71 (2×Me₂C), 127.77, 128.33, 129.63 i 137.57 (Ph).

HRMS (ESI): m/e 373.1618 (M^+Na), izračunato za $C_{19}H_{26}NaO_6$: 373.1622; m/e 368.2062 (M^+NH_4), izračunato za $C_{19}H_{30}NO_6$: 368.2068.

4.3. 3-O-Benzil-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- β -L-ido- (4) i α -D-gluko-pentofuranoza (5)

U rastvor jedinjenja **2** (0.797 g, 2.27 mmol) u anhidrovanom EtOAc (80 mL) doda se H_5IO_6 (0.636 g, 2.79 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi 1.5 h, zatim se filtruje, talog se ispere EtOAc i upari. Ohladjenom rastvoru sirovog **3** (0.605 g) u anhidrovanom toluenu (30 mL) dodat je 1 M rastvor $PhMgBr^*$ (6.0 mL, 6.0 mmol) u anhidrovanom THF. Reakciona smeša je mešana na 0 °C u atmosferi azota u toku 4.5 h, a zatim je izlivena u hladan rastvor NH_4Cl (70 mL). Nakon ekstrakcije sa CH_2Cl_2 (2 \times 50 mL), ekstrakti su spojeni i isprani sa vodenim $NaCl$ (50 mL). Organska faza se suši i upari, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 PE/ Et_2O). Sa kolone je prvo eluiran sporedni proizvod **5** (0.076 g, 9%) u obliku bezbojnog ulja, $[\alpha]_D=-83.1$ (c 1.0, $CHCl_3$), lit.⁷⁷ $[\alpha]_D=-76.0$ (c 1.0, $CHCl_3$); $R_f=0.5$ (3:2 PE/ Et_2O), a zatim i glavni proizvod **4** (0.538 g, 66%) u obliku bezbojnog ulja, $[\alpha]_D=-40.7$ (c 1.0, $CHCl_3$), lit.⁷⁷ $[\alpha]_D=-33.5$ (c 2.0, $CHCl_3$); $R_f=0.24$ (3:2 PE/ Et_2O). Na kraju je sa kolone eluiran i neizreagovani aldehid **3** (0.018 g, 3%).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **4**:

IR ($CHCl_3$): ν_{max} 3497 (OH).

1H NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 1.33 i 1.52 (2 \times s, 3 H svaki, Me_2C), 3.36 (bs, 1 H, OH), 3.62 (d, 1 H, $J_{3,4}=3.1$ Hz, H-3), 4.26 i 4.52 (2 \times d, 1 H svaki, $J_{gem}=11.5$ Hz, $PhCH_2$), 4.39 (dd, 1 H, $J_{3,4}=3.1$, $J_{4,5}=7.8$ Hz, H-4), 4.61 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-2), 5.09 (d, 1 H, $J_{4,5}=7.8$ Hz, H-5), 6.04 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-1), 7.28–7.48 (m, 10 H, 2 \times Ph).

^{13}C NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 25.88 i 26.39 (2 \times Me_2C), 71.26 ($PhCH_2$), 71.89 (C-5), 81.60 (C-2), 81.70 (C-3), 84.29 (C-4), 104.76 (C-1), 111.37 (Me_2C), 126.78, 127.26, 127.56, 127.72, 127.89, 128.10, 136.75 i 139.62 (2 \times Ph).

HRMS (ESI): m/e 395.1253 (M^+K), izračunato za $C_{21}H_{24}KO_5$: 395.1255; m/e 379.1509 (M^+Na), izračunato za $C_{21}H_{24}NaO_5$: 379.1516; m/e 374.1953 (M^+NH_4), izračunato za $C_{21}H_{28}NO_5$: 374.1962.

Spektroskopski podaci za sporedni proizvod **5**:

* Grignard-ov reagens ($PhMgBr$) je pripremljen *in situ*, dokapavanjem brombenzena (0.8 mL, 8.0 mmol) u ohladjenu suspenziju elementarnog magnezijuma (0.191 g, 7.82 mmol) u anhidrovanom THF (8 mL). Rastvor reagensa je prvo mešan na sobnoj temperaturi uz povremeno hladjenje, u atmosferi azota, do potpunog rastvaranja Mg, nakon čega je rastvor reagensa (6 mL) dokapavan u rastvor sirovog jedinjenja **3**.

IR (CHCl₃): ν_{\max} 3481 (OH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.32 i 1.48 (2×s, 3 H svaki, Me₂C), 3.14 (bs, 1 H, OH), 4.04 (d, 1 H, $J_{3,4}$ =3.2 Hz, H-3), 4.35 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ =3.2, $J_{4,5}$ =6.5 Hz, H-4), 4.49 i 4.69 (2×d, 1 H svaki, J_{gem} =11.5 Hz, PhCH₂), 4.63 (d, 1 H, $J_{1,2}$ =3.9 Hz, H-2), 5.10 (d, 1 H, $J_{4,5}$ =6.5 Hz, H-5), 6.03 (d, 1 H, $J_{1,2}$ =3.9 Hz, H-1), 7.25–7.43 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.05 i 26.57 (2×Me₂C), 71.69 (C-5), 72.07 (PhCH₂), 81.60 (C-2), 82.43 (C-4), 82.53 (C-3), 105.00 (C-1), 111.47 (Me₂C), 126.03, 127.47, 127.84, 128.17, 128.23, 128.57, 136.66 i 141.26 (2×Ph).

HRMS (ESI): m/e 395.1251 (M⁺+K), izračunato za C₂₁H₂₄KO₅: 395.1255; m/e 379.1508 (M⁺+Na), izračunato za C₂₁H₂₄NaO₅: 379.1516; m/e 374.1955 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₁H₂₈NO₅: 374.1962.

4.4. 1,2:5,6-Di-O-izopropiliden-3-O-metil- α -D-glukofuranoza (6)

Ohladjenom rastvoru (0 °C) jedinjenja **1** (5.26 g, 20.21 mmol) u anhidrovanom DMF-u (105 mL), dodat je NaH (1.446 g, 60.26 mmol) i MeI (3.8 mL, 60.50 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C, u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 1.5 h. Reakciona smeša se upari, ostatak se rastvori u EtOAc i ispere vodom (100 mL). Organska faza se odvoji, a vodeni rastvor se ekstrahuje sa EtOAc (2×70 mL). Organske faze se spoje, osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (9:1 toluen/EtOAc). Pri tome je dobijen čist proizvod **6** (4.17 g, 75%) kao bezbojno ulje, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +11.4$ (c 0.5, CHCl₃), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -37.0$ (c 0.5, EtOH), lit.⁷⁸ $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -33.0$ (c 0.4, EtOH); $R_f = 0.63$ (1:1 PE/Et₂O).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1083 i 1020 (C-O-C), 2987 i 2937 (CH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.21, 1.25, 1.32 i 1.38 (4×s, 3 H svaki, 2×Me₂C), 3.34 (s, 3 H, OCH₃), 3.66 (d, 1 H, $J_{3,4}$ =2.9 Hz, H-3), 3.82–4.03 (m, 3 H, 2×H-6 i H-4), 4.18 (m, 1 H, H-5), 4.45 (d, 1 H, $J_{1,2}$ =3.7 Hz, H-2), 5.75 (d, 1 H, $J_{1,2}$ =3.7 Hz, H-1).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 25.14, 26.98 i 26.59 (2×Me₂C), 57.88 (OCH₃), 66.94 (C-6), 72.15 (C-5), 80.82 (C-4), 81.68 (C-2), 83.46 (C-3), 104.94 (C-1), 108.69 i 111.41 (2×Me₂C).

HRMS (ESI): m/e 275.1487 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₂₃O₆: 275.1489; m/e 292.1755 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₂₆NO₆: 292.1755.

4.5. 5-C-Fenil-1,2-O-izopropiliden-3-O-metil- β -L-ido- (8) i α -D-gluko-pentofuranoza (9)

U rastvor jedinjenja **6** (3.40 g, 12.39 mmol) u anhidrovanom EtOAc (340 mL) doda se H_5IO_6 (3.544 g, 15.55 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi 1.5 h, a zatim se filtruje. Talog se ispere sa EtOAc, organske faze se spoje i upare. Ohladjenom rastvoru sirovog jedinjenja **7** (3.51 g) u anhidrovanom toluenu (80 mL) dodat je 2 M rastvor $PhMgBr^*$ (16.0 mL, 32.0 mmol) u anhidrovanom THF. Reakciona smeša je mešana na 0 °C u atmosferi azota u toku 5 h, a zatim je neutralisana sa hladnim rastvorom NH_4Cl (150 mL). Rezultujuća emulzija je ekstrahovana sa EtOAc (2×100 mL), ekstrakti su spojeni i isprani sa vodenim rastvorom $NaCl$ (100 mL). Organska faza je osušena i uparena, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (1:1 PE/ Et_2O). Sa kolone je prvo eluiran sporedni proizvod **9** (0.204 g, 6%) u obliku kristalne mase, koja nakon rekristalizacije iz sistema CH_2Cl_2 /heksan daje kristale u obliku prozirnih krupnih prizmi, t_f 71–73 °C, $[\alpha]_D = -43.7$ (c 0.5, $CHCl_3$), $R_f = 0.33$ (1:1 Et_2O/PE). Zatim je sa kolone eluiran glavni proizvod **8** (1.954 g, 56%) u obliku kristalne mase. Nakon rekristalizacije iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijaju se bezbojne prizme, t_f 97–98 °C, $[\alpha]_D = -70.6$ (c 0.5, $CHCl_3$), $R_f = 0.25$ (1:1 Et_2O/PE). Nakon toga je sa kolone eluiran neizreagovali aldehid **7** (0.183 g, 7%).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **8**:

IR (KBr): ν_{max} 3528 (OH).

1H NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 1.29 i 1.46 (2×s, 3 H svaki, Me_2C), 2.88 (bs, 1 H, OH), 3.25 (s, 3 H, OCH_3), 3.25 (d, 1 H, H-3), 4.23 (dd, 1 H, $J_{3,4}=3.2$, $J_{4,5}=7.9$ Hz, H-4), 4.53 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-2), 5.00 (d, 1 H, $J_{4,5}=7.9$ Hz, H-5), 5.97 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-1), 7.20–7.55 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 26.08 i 26.60 (2× Me_2C), 57.16 (OCH_3), 72.22 (C-5), 81.35 (C-2), 83.74 (C-3), 84.58 (C-4), 105.04 (C-1), 111.66 (Me_2C), 126.88, 127.95, 128.17 i 139.72 (Ph).

HRMS (ESI): m/e 298.1648 ($M^+ + NH_4$), izračunato za $C_{15}H_{24}NO_5$: 298.1649.

Spektroskopski podaci za sporedni proizvod **9**:

IR (KBr): ν_{max} 3508 (OH).

1H NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 1.31 i 1.46 (2×s, 3 H svaki, Me_2C), 3.41 (s, 3 H, OCH_3), 3.62 (bs, 1 H, OH), 3.71 (d, 1 H, $J_{3,4}=3.2$ Hz, H-3), 4.28 (dd, 1 H, $J_{3,4}=3.2$, $J_{4,5}=5.7$ Hz, H-4), 4.56 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-2), 5.09 (d, 1 H, $J_{4,5}=5.6$ Hz, H-5), 6.01 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-1), 7.20–7.50 (m, 5 H, Ph).

* Postupak za pripremanje Grignard-ovog reagensa opisan je u fusnoti na strani 104.

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.11 i 26.66 ($2\times\text{Me}_2\text{C}$), 57.53 (OCH_3), 72.31 (C-5), 81.00 (C-2), 82.26 (C-4), 85.08 (C-3), 105.11 (C-1), 111.54 (Me_2C), 125.97, 127.60, 128.41 i 141.39 (Ph).

HRMS (ESI): m/e 298.1646 (M^+NH_4), izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{NO}_5$: 298.1649; m/e 561.2679 ($2\text{M}^+\text{H}$), izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{O}_{10}$: 561.2694.

4.6. 3-O-Benzil-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- α -D-ksilo-pent-5-ulo-furanoza (10)

Rastvoru jedinjenja **4** (1.014 g, 2.85 mmol) u anhidrovanom metilen-hloridu (96 mL) se doda PCC (1.638 g, 7.60 mmol). Reakciona smeša se meša na temperaturi ključanja u toku 3 h, a nakon toga se upari sa silikagelom. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 cikloheksan/ Et_2O), pri čemu je izolovano čisto jedinjenje **10** (0.952 g, 94%) u vidu bezbojnog ulja, $[\alpha]_{\text{D}}=-95.8$ (c 1.0, CHCl_3); lit.⁷⁹ $[\alpha]_{\text{D}}=-79.0$ (c 0.9, CHCl_3); $R_f=0.59$ (3:2 PE/ Et_2O).

IR (CHCl_3): ν_{max} 1704 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.36 i 1.54 ($2\times\text{s}$, 3 H svaki, Me_2C), 4.24 i 4.47 ($2\times\text{d}$, 1 H svaki, $J_{\text{gem}}=12.1$ Hz, PhCH_2), 4.39 (d, 1 H, $J_{3,4}=3.7$ Hz, H-3), 4.68 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.6$ Hz, H-2), 5.56 (d, 1 H, $J_{3,4}=3.7$ Hz, H-4), 6.18 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.6$ Hz, H-1), 6.83–7.93 (m, 10 H, $2\times\text{Ph}$).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.18, 26.88 ($2\times\text{Me}_2\text{C}$), 71.68 (PhCH_2), 81.86 (C-2), 83.02 (C-3), 83.32 (C-4), 105.28 (C-1), 112.07 (Me_2C), 127.55, 127.65, 127.99, 128.08, 128.44, 133.14, 135.65 i 136.13 ($2\times\text{Ph}$), 193.56 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 393.1094 (M^+K), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{KO}_5$: 393.1099; m/e 377.1350 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NaO}_5$: 377.1359; m/e 355.1538 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_5$: 355.1540.

4.7. 3-O-Benzil-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- α -D-gluko-pentofuranoza (5)

Suspenziji L-vinske kiseline (2.111 g, 14.07 mmol) u anhidrovanom THF (30 mL) se doda NaBH_4 (0.513 g, 13.55 mmol) u četiri jednake porcije na sobnoj temperaturi, a rezultujuća smeša se zagreva na temperaturi ključanja 2.5 h. Reakcioni rastvor se potom ohladi na -7 °C i uz intenzivno mešanje doda se rastvor jedinjenja **10** (0.952 g, 2.69 mmol) u anhidrovanom THF (26 mL) u tri jednake porcije. Nakon 0.5 h temperatura se poveća na 0 °C i meša još 0.5 h. Na kraju se reakciona smeša meša 4 h na sobnoj temperaturi, upari do suva sa silikagelom i prečisti fleš hromatografijom

(19:1 toluen/EtOAc). Čisto jedinjenje **5** (0.89 g, 93%) je izolovano u obliku bezbojnog ulja, $[\alpha]_{\text{D}}=-83.1$ (c 1.0, CHCl_3), lit.⁷⁷ $[\alpha]_{\text{D}}=-76.0$ (c 1.0, CHCl_3), $R_f=0.5$ (3:2 PE/Et₂O).

Spektroskopski podaci jedinjenja **5** su dati u postupku 4.3.

4.8. 1,2-*O*-Izopropiliden- α -D-ksilofuranoza (**12**)

Rastvoru jedinjenja **1** (2.0 g, 7.68 mmol) u anhidrovanom EtOAc (150 mL), doda se H₅IO₆ (1.58 g, 6.92 mmol), a rezultujuća suspenzija se meša na sobnoj temperaturi 4.5 h. Pošto je utvrđeno da polazno jedinjenje nije izreagovalo (TLC) dodata je još jedna porcija H₅IO₆ (0.531 g, 2.31 mmol) i mešanje je na sobnoj temperaturi nastavljeno još 1.5 h. Reakciona smeša se filtruje i upari, pri čemu se dobija sirovi aldehid **11** (1.832 g). Ostatak je rastvoren u MeOH (50 mL) i tretiran sa NaBH₄ (0.583 g, 15.37 mmol) uz mešanje na sobnoj temperaturi 1.5 h. U reakcionu smešu je dodat MeOH (40 mL), rastvor je koncentrovan, a na ostatak je ponovo dodat MeOH (40 mL) i smeša je uparena. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silika gela (2:1 EtOAc/PE), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **12** (1.353 g, 92%) u obliku bezbojnog sirupa, $[\alpha]_{\text{D}}=-18.3$ (c 1.0, H₂O), lit.⁸⁰ $[\alpha]_{\text{D}}=-19.7$ (c 1.1, H₂O); $R_f=0.11$ (3:2 toluen/EtOAc).

IR (CHCl_3): ν_{max} 3410 (OH).

¹H NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 1.24 i 1.39 (2 \times s, 3 H svaki, Me₂C), 3.52 (dd, 1 H, $J_{4,5a}=5.6$, $J_{5a,5b}=11.0$ Hz, H-5a), 3.63 (dd, 1 H, $J_{4,5b}=4.9$, $J_{5a,5b}=11.1$ Hz, H-5b), 3.95–4.04 (m, 2 H, H-3 i H-4), 4.39 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-2), 4.60–5.21 (bs, 2 H, 2 \times OH), 5.82 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-1).

¹³C NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 26.14 i 26.69 (2 \times Me₂C), 58.93 (C-5), 73.51 (C-3), 81.38 (C-4), 85.12 (C-2), 104.33 (C-1), 110.37 (Me₂C).

HRMS (ESI): m/e 208.1171 (M⁺+NH₄), izračunato za C₈H₁₈NO₅: 208.1180.

4.9. 3,5-Anhidro-1,2-*O*-izopropiliden- α -D-ksilofuranoza (**13**)

U ohladjen rastvor (0 °C) jedinjenja **12** (0.858 g, 4.51 mmol) i Ph₃P (2.958 g, 11.28 mmol) u anhidrovanom toluenu (10 mL), postepeno se, u toku nekoliko minuta, dokapava komercijalni rastvor dietilazodikarboksilata u toluenu (5.2 mL, 11.35 mmol). Ledeno kupatilo se zatim zameni uljanim i reakciona smeša se zagreva na temperaturi ključanja u toku 1.5 h, a zatim se upari. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 PE/Et₂O), pri čemu je dobijen čist proizvod **13**

(0.485 g, 62%) kao bezbojno ulje, $[\alpha]_D^{25} = +12.6$ (*c* 1.0, CHCl₃), lit.⁸¹ $[\alpha]_D^{25} = +12.0$ (*c* 0.8, CHCl₃), lit.⁸² $[\alpha]_D^{25} = +11.9$ (*c* 0.8, CHCl₃); $R_f = 0.41$ (7:3 PE/Et₂O).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1088 (C-O-C), 2989 i 2883 (CH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.38 i 1.42 (2×s, 3 H svaki, Me₂C), 4.21 (dd, 1 H, $J_{4,5a} = 2.3$, $J_{5a,5b} = 7.9$ Hz, H-5a), 4.67 (m, 2 H, $J_{1,2} = 3.5$, $J_{4,5b} = 4.1$ Hz, H-5b i H-2), 5.07 (m, 1 H, H-4), 5.16 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.8$ Hz, H-3), 6.22 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.99 i 27.69 (2×Me₂C), 78.09 (C-4), 78.27 (C-5), 84.44 (C-2), 87.33 (C-3), 108.03 (C-1), 113.65 (Me₂C).

4.10. 5-Deoksi-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- α -D-ksilo-pentofuranoza (14)

U rastvor jedinjenja **13** (0.369 g, 2.14 mmol) u anhidrovanom THF (1.6 mL) dodat je 1 M rastvor PhMgBr* (5.3 mL, 5.3 mmol) u anhidrovanom THF. Reakciona smeša je mešana u atmosferi N₂ na temperaturi ključanja u toku 13.5 h. Reakciona smeša se izlije u hladan 10%-ni rastvor NH₄Cl i rezultujuća emulzija se ekstrahuj sa CH₂Cl₂ (2×20 mL). Organski rastvor je ispran sa NaCl, osušen i uparen, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (1:1 PE/Et₂O). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **13** (0.036 g, 10%), a zatim i finalni proizvod **14** (0.413 g, 77%) u obliku kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijeni su beli igličasti kristali, *mp* 132–133 °C, $[\alpha]_D^{25} = -11.9$ (*c* 1.0, CHCl₃); lit.⁸³ *mp* 125–127 °C, $[\alpha]_D^{25} = -12.0$ (*c* 1.1, CHCl₃); $R_f = 0.41$ (1:1 PE/Et₂O).

IR (KBr): ν_{\max} 3418 (OH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.31 i 1.48 (2×s, 3 H svaki, Me₂C), 3.00 (dd, 1 H, $J_{4,5a} = 7.9$, $J_{5a,5b} = 13.8$ Hz, H-5a), 3.08 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 13.8$, $J_{4,5b} = 6.4$ Hz, H-5b), 4.00 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.4$ Hz, H-3), 4.38 (ddd, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$, $J_{4,5a} = 7.9$, $J_{4,5b} = 6.4$ Hz, H-4), 4.52 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-2), 5.95 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 7.20–7.35 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.04 i 26.51 (2×Me₂C), 33.85 (CH₂-5), 74.68 (C-3), 81.11 (C-4), 85.16 (C-2), 104.37 (C-1), 111.45 (Me₂C), 126.49, 128.54, 129.08, 137.45 (Ph).

HRMS (ESI): *m/e* 268.1536 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₂₂NO₄: 268.1543; *m/e* 273.1105 (M⁺+Na), izračunato za C₁₄H₁₈NaO₄: 273.1097.

* Postupak za pripremanje Grignard-ovog reagensa opisan je u fusnoti na strani 104.

4.11. 3-O-Benzil-5-deoksi-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- α -D-ksilo-pentofuranoza (15)

Ohladjenom rastvoru (0 °C) jedinjenja **14** (0.359 g, 1.43 mmol) u suvom DMF-u (7.2 mL), dodati su NaH (0.093 g, 3.87 mmol) i BnBr (0.22 mL, 1.85 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C, u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 1.5 h. Zatim se doda MeOH (2 mL) i mešanje nastavi još 0.5 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se upari i ostatak se rasporedi u smeši CH₂Cl₂/H₂O. Organska faza se odvoji, vodeni rastvor se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (2×20 mL). Spojeni ekstrakti se suše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 PE/Et₂O). Pri tome je dobijen čist proizvod **15** (0.481 g, 99%) u vidu kristalne mase. Nakon rekristalizacije iz hladnog EtOH (+4 °C) dobijeni su prozirni igličasti kristali, *tt* 62–63 °C, $[\alpha]_D = -80.8$ (*c* 1.0, CHCl₃), *R_f* = 0.20 (9:1 PE/Et₂O).

IR (KBr): ν_{\max} 1090 (C-O-C).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.35 i 1.52 (2×s, 3 H svaki, Me₂C), 3.12 (d, 2 H, *J*_{4,5} = 7.2 Hz, H-5), 3.77 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.1 Hz, H-3), 4.45 (td, 1 H, *J*_{3,4} = 3.1, *J*_{4,5} = 7.2 Hz, H-4), 4.50 i 4.72 (2×d, 2 H, OCH₂Ph), 4.67 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, H-2), 6.01 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, H-1), 7.17–7.48 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 25.98 i 26.51 (2×Me₂C), 71.46 (C-5), 81.16 (C-4), 81.53 (C-3), 81.71 (C-2), 104.68 (C-1), 111.13 (Me₂C), 126.13, 127.54, 127.73, 128.25, 128.33, 128.98, 137.50 i 137.91 (2×Ph).

HRMS (ESI): *m/e* 358.2012 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₁H₂₈NO₄: 358.2013.

4.12. 3-O-Benzil-5-O-benzoil-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- α -D-gluko-pentofuranoza (16)

(A) U ohladjen rastvor (0 °C) jedinjenja **4** (1.04 g, 2.92 mmol), benzojeve kiseline (0.474 g, 3.88 mmol) i Ph₃P (1.634 g, 6.23 mmol) u anhidrovanom THF (35 mL), postepeno se, u toku nekoliko minuta, dokapava rastvor dietilazodikarboksilata (2.4 mL, 5.24 mmol). Reakciona smeša je mešana na ledenom kupatilu (0 °C) u toku 1 h i još 3 h na sobnoj temperaturi, a zatim se izlije u 10% NaHCO₃ (150 mL). Organski sloj je odvojen, a vodena faza je ekstahovana sa CH₂Cl₂ (4×80 mL). Ekstrakt je osušen i uparen, a ostatak prečišćen na koloni fleš silikagela (4:1 PE/Et₂O), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **16** (1.098 g, 82%) u obliku bezbojnog sirupa, $[\alpha]_D = -2.7$ (*c* 1.0, CHCl₃), *R_f* = 0.33 (7:3 PE/Et₂O).

(B) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **5** (0.611 g, 1.71 mmol) u anhidrovanom piridinu (12 mL) dodat je BzCl (1.2 mL, 10.38 mmol). Rezultujuća smeša se meša na 0 °C, u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi u toku 21.5 h. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u 10% rastvor NaHCO₃ (40 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (2×40 mL). Spojene organske faze su prvo isprane razblaženom HCl (1:2, 100 mL), zatim sa 10% NaHCO₃ (40 mL), a zatim su osušene i uparene. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 PE/Et₂O), pri čemu je izolovan čist proizvod **16** (0.697 g, 88%) u obliku bezbojnog sirupa, [α]_D=-2.7 (*c* 1.0, CHCl₃), R_f=0.33 (7:3 PE/Et₂O).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1645 (PhC=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.34 i 1.52 (2×s, 3 H svaki, Me₂C), 4.17 (d, 1 H, J_{3,4}=3.1 Hz, H-3), 3.42 (d, 1 H, J_{gem}=11.6 Hz, PhCH_a), 4.59–4.73 (m, 3 H, J_{3,4}=3.1, J_{4,5}=9.5 Hz, H-2, H-4, PhCH_b), 5.95 (d, 1 H, J_{1,2}=3.7 Hz, H-1), 6.25 (d, 1 H, J_{4,5}=9.5 Hz, H-5), 7.09–8.05 (m, 15 H, 3×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.25 i 26.87 (2×Me₂C), 72.15 (PhCH₂), 72.71 (C-5), 80.84 (C-3), 81.62 (C-4), 81.72 (C-2), 105.31 (C-1), 111.80 (Me₂C), 127.46, 127.92, 128.19, 128.36, 128.46, 129.67, 130.08, 133.02, 136.66 i 138.21 (3×Ph), 164.63 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 483.1766 (M⁺+Na), izračunato za C₂₈H₂₈NaO₆: 483.1778; *m/e* 499.1504 (M⁺+K), izračunato za C₂₈H₂₈KO₆: 499.1518 (M⁺+K).

4.13. 3-O-Benzil-5-O-benzoil-5-C-fenil-1,2-O-izopropiliden- β -L-ido-pentofuranoza (**17**)

U hladan (0 °C) rastvor jedinjenja **4** (1.08 g, 3.03 mmol) u anhidrovanom piridinu (22 mL) se doda BzCl (2.1 mL, 18.09 mmol) i reakciona smeša se meša na 0 °C, u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 18 h. Reakciona smeša se izlije u 10% NaHCO₃ (70 mL) i ekstrahuje sa EtOAc (2×70 mL). Organske faze se spoje i isperu sa 1:2 HCl/H₂O (200 mL), a zatim i sa 10% NaHCO₃ (70 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 PE/Et₂O), pri čemu je dobijen nedovoljno čist proizvod **17** (1.483 g). Ponovnim prečišćavanjem na koloni fleš silikagela, primenom istog eluenta, dobijeno je čisto jedinjenje **17** (1.357 g, 97%) u obliku bezbojnog ulja, [α]_D=-54.7 (*c* 1.0, CHCl₃), R_f=0.55 (7:3 PE/Et₂O).

IR Spektar (CHCl₃): ν_{\max} 1721 (PhC=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.35 i 1.62 (2×3 H, Me₂C), 3.57 (d, 1 H, J_{3,4}=3.2 Hz, H-3), 4.18 i 4.48 (2×d, 2 H, J_{gem}=11.4 Hz, CH₂Ph), 4.62 (d, 1 H, J_{1,2}=3.8 Hz, H-2), 4.81 (dd, 1 H, J_{3,4}=3.2, J_{4,5}=9.2 Hz, H-4), 6.10 (d, 1 H, J_{1,2}=3.8 Hz, H-1), 6.42 (d, 1 H, J_{4,5}=9.2 Hz, H-5), 7.28–8.19 (m, 15 H, 3×Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.19 i 26.87 ($2\times\text{Me}_2\text{C}$), 71.78 (CH_2Ph), 75.18 (C-5), 81.59 (C-2), 82.12 (C-3), 82.35 (C-4), 105.64 (C-1), 127.55, 127.88, 127.90, 128.16, 128.46, 128.62, 129.80, 130.36, 132.79, 137.04 i 137.07 ($3\times\text{Ph}$), 165.62 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 483.1773 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{NaO}_6$: 483.1778; m/e 499.1515 (M^+K), izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{KO}_6$: 499.1518.

4.14. 3-*O*-Benzil-5-*C*-fenil-*D*-gluko-pentopiranoza (18)

Jedinjenje **5** (0.707 g, 1.98 mmol) se rastvori u 90% TFA (7 mL) i meša se na sobnoj temperaturi u toku 40 min. Reakciona smeša se potom azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 toluen/EtOAc), pri čemu je dobijen čist laktol **18** (0.553 g, 88%) u obliku belih kristala, koji su nakon rekristalizacije iz sistema MeOH/ CH_2Cl_2 pokazivali t_t 153–155 °C, $[\alpha]_D^{20} = +23.7 \rightarrow +39.6$ (c 0.9, Py, 77 h); $R_f = 0.34$ (7:3 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).

IR (film): ν_{max} 3396 (OH).

^1H NMR Spektar ($\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$): δ 3.58 (t, 1 H, H-4), 3.76–3.84 (m, 2 H, H-2 i H-3), 4.76 (d, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-5), 4.83 i 4.91 ($2\times$ d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.1$ Hz, PhCH_2), 5.30 (d, 1 H, $J_{1,2} = 2.7$ Hz, H-1), 7.20–7.50 (m, 10 H, $2\times\text{Ph}$).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 72.42 (C-2), 73.85 (C-5), 74.97 (C-4), 75.02 (PhCH_2), 81.71 (C-3), 92.78 (C-1), 127.44, 127.50, 127.54, 127.88, 127.98, 128.20, 128.35, 128.54, 128.63, 128.68, 137.88 i 138.45 ($2\times\text{Ph}$).

LRMS (CI): m/e 317 (M^+H).

Elementarna mikroanaliza: Nadjeno: C, 68.11; H, 6.57. Izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$: C, 68.34; H, 6.37.

4.15. 3,6-Anhidro-5-*O*-benzil-2-deoksi-7-*C*-fenil-*D*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (19)

Jedinjenju **18** (0.692 g, 2.19 mmol) u anhidrovanom DMF (9 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (0.954 g, 6.62 mmol) i Et_3N (0.96 mL, 6.78 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 65 h i uparena kodestilacijom sa toluenom. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 toluen/EtOAc) pri čemu je dobijen čist lakton **19** (0.382 g, 51%) kao bela kristalna masa.

Rekristalizacijom iz sistema Et₂O/EtOAc/heksan dobijaju se bezbojni kristali, *t*_m 40–42 °C, $[\alpha]_{\text{D}} = -4.8$ (*c* 1.0, CHCl₃), *R*_f = 0.3 (3:2 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{max} 3476 (OH), 1785 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.61 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b} = 18.8, *J*_{2a,3} = 1.5 Hz, H-2a), 2.71 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b} = 18.8, *J*_{2b,3} = 5.4 Hz, H-2b), 2.87 (d, 1 H, *J*_{7,OH} = 5.7 Hz, izmenljiv sa D₂O, OH), 4.21 (dd, 1 H, *J*_{5,6} = 3.6, *J*_{6,7} = 7.2 Hz, H-6), 4.30 (d, 1 H, *J*_{5,6} = 3.6 Hz, H-5), 4.61 i 4.71 (2×d, 2 H, *J*_{gem} = 11.6 Hz, PhCH₂), 4.92 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.4 Hz, H-4), 5.01 (m, 2 H, H-3 i H-7), 7.30–7.47 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.87 (C-2), 71.71 (C-7), 73.10 (PhCH₂), 77.18 (C-3), 81.73 (C-5), 83.19 (C-6) 84.71 (C-4), 126.19, 127.95, 128.09, 128.46, 128.57, 128.82, 136.37 i 140.89 (2×Ph), 175.26 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 341.1384 (M⁺+H), izračunato za C₂₀H₂₁O₅: 341.1384; *m/e* 358.1646 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₄NO₅: 358.1649; *m/e* 379.0943 (M⁺+K), izračunato za C₂₀H₂₀KO₅: 379.0942.

4.16. 3-*O*-Benzil-5-*C*-fenil-L-ido-pentopiranoza (20)

Čisto jedinjenje **4** (1.722 g, 4.83 mmol) se rastvori u 90% TFA (17 mL) i dobijeni rastvor se meša na sobnoj temperaturi 0.5 h. Reakciona smeša se uparava azeotropnom destilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 toluen/EtOAc), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **20** (1.27 g, 83%) u vidu bezbojnog ulja, $[\alpha]_{\text{D}} = +15.7$ (*c* 1.6, CHCl₃), *R*_f = 0.19 (3:1 toluen/Et₂O).

IR (CHCl₃): ν_{max} 3396 (OH), 1605 (C=C, iz Ph).

¹H NMR Spektar (CDCl₃+D₂O): α - i β -anomer: δ 3.78 (m, 2 H, H-2 i H-4), 4.02 (t, 1 H, *J* = 3.0 Hz, H-3), 4.61 i 4.69 (2×d, 1 H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, OCH₂Ph), 4.99 (bs, 1 H, H-5), 5.11 (bs, 1 H, H-1), 7.22–7.47 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR (CDCl₃): β -anomer: δ 67.91 i 69.56 (C-2 i C-4), 72.44 (OCH₂Ph), 75.10 (C-5), 76.05 (C-3), 92.97 (C-1), 126.14, 127.59, 127.67, 127.75, 127.91, 127.96, 128.52 i 137.34 (2×Ph); α -anomer: δ 65.90, 67.64, 69.38, 73.27, 75.58 i 96.00.

LRMS (CI): *m/z* 598 (2M⁺+H–2H₂O), 300 (M⁺+H–H₂O).

Elementarna mikroanaliza: Nadjeno: C, 67.98; H, 6.52. Izračunato za C₁₈H₂₀O₅: C, 68.34; H, 6.37.

4.17. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-2-deoksi-7-C-fenil-L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (21)

U rastvor jedinjenja **20** (0.426 g, 1.35 mmol) u anhidrovanom DMF (6 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (0.592 g, 4.1 mmol) i Et₃N (0.57 mL, 4.09 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 70 h, a zatim je uparena. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (1:1 Et₂O/PE), pri čemu je dobijen nedovoljno čist lakton **21** koji je ponovo prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Pri tome je dobijen potpuno čist **21** (0.22 g, 48%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijeni su beli pločasti kristali, *tt* 144–146 °C, $[\alpha]_D^{25} = +55.2$ (*c* 1.0, CHCl₃), *R_f* = 0.26 (1:1 Et₂O/toluen).

IR (KBr): ν_{\max} 3469 (OH), 1754 (C=O, lakton).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.75 (d, 3 H, *J*_{2,3} = 3.6 Hz, 2×H-2 i OH), 3.93 (d, 1 H, *J*_{5,6} = 3.9 Hz, H-5), 4.26 (dd, 1 H, *J*_{5,6} = 3.9, *J*_{6,7} = 6.6 Hz, H-6), 4.45 i 4.55 (2×d, 2 H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, PhCH₂), 4.92 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.7 Hz, H-4), 5.04 (d, 1 H, *J*_{6,7} = 6.6 Hz, H-7), 5.11 (m, 1 H, H-3), 7.28–7.45 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.03 (C-2), 72.71 (C-7), 72.82 (PhCH₂), 77.37 (C-3), 81.85 (C-5), 84.63 (C-6), 85.12 (C-4), 126.87, 127.83, 128.29, 128.37, 128.48, 128.71, 136.52 i 139.48 (2×Ph), 175.25 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 358.1646 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₄NO₅: 358.1649.

4.18. 3-O-Benzil-5-O-benzoil-5-C-fenil-D-gluko-pentofuranoza (22)

Jedinjenje **16** (0.547 g, 1.19 mmol) se rastvori u 90% TFA (5.5 mL) i meša na sobnoj temperaturi 0.5 h. Reakciona smeša se potom upari azeotropnom destilacijom sa toluenom. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 toluen/EtOAc), pri čemu se dobija smeša anomernih laktola **22** (0.427 g, 86%), u obliku belih pahuljastih kristala, koji su nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan pokazivali *tt* 156–157 °C, $[\alpha]_D^{25} = +29.1 \rightarrow +33.9$ (*c* 1.3, CHCl₃, 72 h), odnos anomera (iz ¹H NMR): $\alpha/\beta = 2:5$, *R_f* = 0.23 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR (film): ν_{\max} 3441 (OH), 1712 (PhC=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.82 (s, OH), 2.52 (d, *J* = 3.8 Hz, OH), 3.02 (d, *J* = 4.4 Hz, OH), 3.75 (d, *J*_{1,OH} = 11.6 Hz, OH na H-1 β), 4.01–4.18 (m, 3 H, H-2 α , H-3 α , H-3 β), 4.23 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 2.8 Hz, H-2 β), 4.33–4.66 (m, 4 H, 2×PhCH₂ α i β), 4.68–4.81 (m, 2 H, H-4 α , H-4 β), 5.07 (d, 1 H, *J*_{1,OH} = 11.5

Hz, H-1 β), 5.39 (t, 1 H, $J_{1,2}=3.9$, $J_{1,\text{OH}}=4.7$ Hz, H-1 α), 6.19 (d, 1 H, $J_{4,5}=9.6$ Hz, H-5 α), 6.20 (d, 1 H, $J_{4,5}=9.6$ Hz, H-5 β), 7.11–8.04 (m, 30 H, 3 \times Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 72.05 i 72.77 (2 \times PhCH $_2$), 73.07 (C-5 α), 73.46 (C-5 β), 74.28 (C-2 α), 76.68 (C-2 β), 80.16 (C-4 α), 82.70 (C-4 β), 81.20 (C-3 α), 82.37 (C-3 β), 96.33 (C-1 α), 103.51 (C-1 β), 127.39, 127.67, 127.69, 127.98, 128.23, 128.30, 128.41, 129.50, 129.93, 132.91, 133.00, 135.95, 136.87, 137.99, 138.06 (3 \times Ph), 164.62 i 164.76 (2 \times PhC=O, α i β).

LRMS (CI): m/e 421 ($\text{M}^+\text{+H}$).

Elementarna mikroanaliza: Nadjeno: C, 68.80; H, 5.92. Izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_6 \times \text{H}_2\text{O}$: C, 68.48; H, 5.98.

4.19. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-7-O-benzoil-2-deoksi-7-C-fenil-D-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (23)

Jedinjenju **22** (0.423 g, 1.01 mmol) u anhidrovanom DMF (5.5 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (0.298 g, 2.07 mmol) i Et_3N (0.3 mL, 2.15 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 68 h, a zatim je uparena ko-destilacijom sa toluenom. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 toluen/EtOAc), pri čemu je dobijen čist proizvod **23** (0.317 g, 71%) obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan, dobijeni su beli kristali, t_f 163–165 °C, $[\alpha]_D^{25} = +62.7$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.46$ (7:3 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1788 (C=O, lakton), 1721 (PhC=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.58 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.3$ Hz, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.3$, $J_{2b,3}=4.6$ Hz, H-2b), 4.34 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.4$ Hz, H-5), 4.49 i 4.61 (2 \times d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.6$ Hz, PhCH $_2$), 4.54 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.4$, $J_{6,7}=9.2$ Hz, H-6), 4.93–5.01 (m, 2 H, H-3 i H-4), 6.21 (d, 1 H, $J_{6,7}=9.2$ Hz, H-7), 7.12–8.02 (m, 15 H, 3 \times Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.86 (C-2), 72.61 (C-7), 72.96 (PhCH $_2$), 77.37 (C-3), 80.19 (C-5), 82.10 (C-6), 84.54 (C-4), 127.46, 128.20, 128.28, 128.42, 128.48, 128.52, 129.60, 129.86, 133.13, 136.24 i 137.90 (3 \times Ph), 164.51 (C=O iz Bz), 175.22 (C-1).

LRMS (CI): m/e 445 ($\text{M}^+\text{+H}$).

Elementarna mikroanaliza: Nadjeno: C, 72.41; H, 5.18. Izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_6 \times 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 72.37; H, 5.49.

4.20. 3-*O*-Benzil-5-*O*-benzoil-5-*C*-fenil-*L*-ido-pentofuranoza (24)

Jedinjenje **17** (1.013 g, 2.2 mmol) se rastvori u 90% TFA (10 mL) i meša 0.5 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se potom uparava azeotropnom destilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (11:9 toluen/Et₂O), pri čemu je dobijen čist laktol **24** (0.625 g, 68%) u obliku bezbojnog sirupa, $[\alpha]_D = -14.1 \rightarrow -22.3$ (*c* 0.7, CHCl₃, 143 h), odnos anomera (iz ¹H NMR): $\alpha/\beta = 10:3$, $R_f = 0.25$ (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR Spektar (CHCl₃): ν_{\max} 3431 (OH), 1720 (PhC=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃+D₂O): δ 3.50 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.8$ Hz, H-3 β), 3.55 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 1.9$, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, H-3 α), 4.08 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-2 α), 4.10–4.50 (m, 4 H, CH₂Ph- α , CH₂Ph- β), 4.81 (dd, 2 H, H-4 α , H-4 β), 5.24 (s, 1 H, H-1 β), 5.62 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, H-1 α), 6.26 (d, 1 H, $J_{4,5\alpha} = 8.2$ Hz, H-5 α), 6.33 (d, 1 H, $J_{4,5\beta} = 9.0$ Hz, H-5 β), 7.10–8.21 (m, 3 \times Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃+D₂O): δ 71.96 (CH₂Ph- α), 72.62 (CH₂Ph- β), 73.70 (C-2 α), 75.47 (C-5 α), 76.31 (C-5 β), 76.48 (C-2 β), 81.03 (C-4 α), 82.27 (C-4 β), 83.15 (C-3 α), 83.34 (C-3 β), 96.99 (C-1 α), 103.96 (C-1 β), 127.65, 127.74, 127.81, 127.88, 128.07, 128.18, 128.28, 128.38, 128.43, 128.51, 128.64, 129.70, 130.12, 132.92, 136.24, 136.76, 137.01, 137.15 (3 \times Ph), 165.57 (C=O α), 165.79 (C=O β).

HRMS (ESI): m/e 443.1449 (M⁺+Na), izračunato za C₂₅H₂₄NaO₆: 443.1465; m/e 459.1188 (M⁺+K), izračunato za C₂₅H₂₄KO₆: 459.1204.

4.21. 3,6-Anhidro-5-*O*-benzil-7-*O*-benzoil-2-deoksi-7-*C*-fenil-*L*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (25)

U rastvor jedinjenja **24** (0.558 g, 1.33 mmol) u anhidrovanom DMF (7.5 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (0.394 g, 2.73 mmol) i anhidrovani Et₃N (0.37 mL, 2.65 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 67 h, a zatim uparena ko-destilacijom sa toluenom. Nakon prečišćavanja na koloni fleš silikagela (4:1 toluen/Et₂O) izolovan je čist lakton **25** (0.377 g, 64%) u obliku belih kristala, koji su nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan pokazali t_t 160–162 °C, $[\alpha]_D = +15.7$ (*c* 0.4, CHCl₃), $R_f = 0.37$ (3:2 Et₂O/heksan).

IR (KBr): ν_{\max} 1788 (C=O, lakton), 1710 (PhC=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.75 (m, 2 H, $J_{2,3}=3.0$ Hz, $2\times\text{H-2}$), 3.90 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.7$ Hz, H-5), 4.30 i 4.40 ($2\times\text{d}$, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.5$ Hz, CH_2Ph), 4.65 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.7$, $J_{6,7}=8.3$ Hz, H-6), 4.84 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.4$ Hz, H-4), 5.12 (m, 1 H, $J_{2,3}=3.0$, $J_{3,4}=4.4$ Hz, H-3), 6.34 (d, 1 H, $J_{6,7}=8.3$ Hz, H-7), 7.21–8.11 (m, 15 H, $3\times\text{Ph}$).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 36.15 (C-2), 72.74 (CH_2Ph), 75.34 (C-7), 77.66 (C-3), 81.54 (C-5), 82.89 (C-6), 84.59 (C-4), 127.70, 128.13, 128.29, 128.54, 128.78, 129.64, 130.08, 132.97, 136.60, 136.70 ($3\times\text{Ph}$), 165.41 (C=O iz Bz), 175.39 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 445.1656 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{O}_6$: 445.1646; m/e 467.1471 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{NaO}_6$: 467.1465.

4.22. 3,6-Anhidro-5-*O*-benzil-7-*O*-benzoil-2-deoksi-7-*C*-fenil-*L*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (25)

Ohladjenom rastvoru (0 °C) jedinjenja **21** (0.106 g, 0.31 mmol) u anhidrovanom piridinu (2 mL) se doda BzCl (0.24 mL, 2.07 mmol) i reakciona smeša se meša na 0 °C, u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi u toku 16.5 h. Reakciona smeša se zatim izlije u vodeni NaHCO_3 (10 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (2×10 mL). Organske faze se spoje i isperu sa 1:2 $\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$ (15 mL), a zatim i sa vodenim NaHCO_3 (10 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O}$), pri čemu je dobijen nečist proizvod **25** (0.15 g). Kristalizacijom iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ dobijeno je čisto jedinjenje **25** (0.12 g, 87%) u obliku belih kristala, koji su nakon rekristalizacije iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ pokazivali t_{t} 160–162 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+15.7$ (c 0.4, CHCl_3), $R_{\text{f}}=0.37$ (3:2 $\text{Et}_2\text{O}/\text{heksan}$).

Spektroskopski podaci jedinjenja **25** su dati u postupku 4.21.

4.23. 3,6-Anhidro-5-*O*-benzil-2,7-dideoksi-7-*C*-fenil-7-hloro-*L*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (26) i olefin (28)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **19** (0.104 g, 0.31 mmol) i trifenil-fosfina (0.154 g, 0.59 mmol) u anhidrovanom piridinu (1.2 mL), doda se postepeno uz mešanje CCl_4 (0.1 mL, 1.03 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a potom na sobnoj temperaturi još 6 h.

Reakcija se prekida dokapavanjem ohlađenog (0 °C) rastvora 6 M HCl (7 mL, do pH=1) uz mešanje na ledenom kupatilu. Emulzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (5×7 mL), a spojeni ekstrakti se ispiraju 10% rastvorom NaCl (2 × 14 mL) do pH=7. Ekstrakti se suše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 CH₂Cl₂/PE). Sa kolone je prvo eluiran sporedni proizvod **28** (0.022 g, 23%) u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se pahuljasti kristali, *t*_m 165 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +7.5$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.52 (CH₂Cl₂). Naknadnim eluiranjem kolone izolovan je glavni proizvod **26** (0.048 g, 44%), u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se beli štapići, *t*_m 159 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +115.0$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.16 (3:2 PE/Et₂O).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **26**:

IR (film): ν_{max} 1789 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.76 (dd, 1 H, *J*_{2a,3}=5.7, *J*_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2a), 2.87 (bd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2b), 3.68 (d, 1 H, *J*_{5,6}=3.2 Hz, H-5), 4.16 i 4.29 (2×d, 2 H, *J*_{gem}=11.4 Hz, CH₂Ph), 4.57 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=3.2, *J*_{6,7}=9.4 Hz, H-6), 4.83 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.4 Hz, H-4), 5.09–5.16 (m, 2 H, H-3 i H-7), 7.18–7.42 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.00 (C-2), 61.09 (C-7), 72.87 (CH₂Ph), 77.56 (C-3), 81.07 (C-5), 84.46 (C-4), 84.97 (C-6), 127.66, 128.19, 128.53, 128.70, 128.96, 136.41 i 137.82 (2×Ph), 175.12 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 359.1029 (M⁺+H). Izračunato za C₂₀H₂₀ClO₄: 359.1045.

Spektroskopski podaci za sporedni proizvod **28**:

IR (film): ν_{max} 1793 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.83 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.6, *J*_{2a,3}=4.6 Hz, H-2a), 2.94 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.6 Hz, H-2b), 4.60 (s, 1 H, H-5), 4.61 i 4.79 (2×d, 2 H, *J*_{gem}=11.5 Hz, CH₂Ph), 4.94 (d, 1 H, *J*_{3,4}=3.7 Hz, H-4), 5.34 (t, 1 H, *J*_{2a,3}=4.3, *J*_{3,4}=4.0 Hz, H-3), 5.55 (s, 1 H, H-7), 7.17–7.63 (m, 10 H, 2×Ph). NOE Kontakt: H-5 i H-7.

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.79 (C-2), 70.56 (CH₂Ph), 80.97 (C-3), 81.52 (C-5), 83.48 (C-4), 105.64 (C-7), 126.54, 127.93, 128.17, 128.30, 128.60, 128.65, 134.65 i 136.85 (2×Ph), 151.98 (C-6), 173.81 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 323.1270 (M⁺+H), izračunato za C₂₀H₁₉O₄: 323.1278; *m/e* 345.1089 (M⁺+Na), izračunato za C₂₀H₁₈NaO₄: 345.1097; *m/e* 361.0838 (M⁺+K), izračunato za C₂₀H₁₈KO₄: 361.0837.

4.24. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-2,7-dideoksi-7-C-fenil-7-hloro-D-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (27) i olefin (28)

Ohladjenom rastvoru (0 °C) jedinjenja **21** (0.113 g, 0.33 mmol) i trifenil-fosfina (0.239 g, 0.91 mmol) u anhidrovanom piridinu (1.35 mL), doda se postepeno uz mešanje CCl₄ (0.15 mL, 1.55 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 27 h. Reakcija se prekida dokapavanjem ohladjenog (0 °C) rastvora 6 M HCl (7.5 mL, do pH=1) uz mešanje na ledenom kupatilu. Emulzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (5×7.5 mL), spojeni ekstrakti se ispiraju 10% rastvorom NaCl (2×14.5 mL) do pH=7. Ekstrakti se spoje, suše i upare. Prečišćavanje na koloni fleš silikagela (3:2 PE/Et₂O) nije bilo uspešno, jer je sa kolone eluirana smeša hlornog derivata **27** i sporednog proizvoda **28**. Smeša je razdvojena preparativnom TLC (10 ploča), razvijajući 3:2 CH₂Cl₂/PE. Ploče su razvijane pet puta. Čist sporedni proizvod **28** (0.009 g, 8%) izolovan je u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se pahuljasti kristali, *t_m* 165 °C, $[\alpha]_D^{25} = +7.5$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R_f* = 0.52 (CH₂Cl₂). Glavni proizvod **27** (0.049 g, 41%) je izolovan u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se bezbojni štapići, *t_m* 136–138 °C, $[\alpha]_D^{25} = -33.6$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R_f* = 0.25 (3:2 PE/Et₂O).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **27**:

IR (film): ν_{\max} 1790 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.54 (dd, 1 H, *J*_{2a,3} = 1.3, *J*_{2a,2b} = 18.8 Hz, H-2a), 2.65 (dd, 1 H, *J*_{2b,3} = 5.0 Hz, H-2b), 4.49 (d, 1 H, *J*_{5,6} = 3.1 Hz, H-5), 4.55 (dd, 1 H, *J*_{5,6} = 3.1, *J*_{6,7} = 9.8 Hz, H-6), 4.75 i 4.84 (2×d, 2 H, *J*_{gem} = 11.1 Hz, CH₂Ph), 4.88 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.3 Hz, H-4), 4.94 (td, 1 H, H-3), 5.10 (d, 1 H, H-7), 7.32–7.54 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.07 (C-2), 57.53 (C-7), 74.03 (CH₂Ph), 78.27 (C-3), 81.28 (C-5), 83.98 (C-6), 84.46 (C-4), 127.95, 128.43, 128.68, 128.83, 136.89 i 138.43 (2×Ph), 175.12 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 359.1030 (M⁺+H). Izračunato za C₂₀H₂₀ClO₄: 359.1045.

Spektroskopski podaci jedinjenja **28** su dati u postupku 4.23.

4.25. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-C-fenil-7-hloro-D-glicero-D-ido- (29), L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (30) i oksepan (31)

(A) Ohladjenom rastvoru jedinjenja **27** (0.087 g, 0.24 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (5 mL) doda se TiCl₄ (0.07 mL, 0.64 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na ledenom kupatilu, a zatim još 3 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se zatim izlije u smešu leda i vode (20 mL), a dobijena suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (20 mL), osuše i upare, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran glavni proizvod **29** (0.027 g, 42%) u obliku belih kristala. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 139–140 °C, $[\alpha]_D = -50.4$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.25$ (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Naknadnim eluiranjem kolone izolovan je sporedni proizvod **30** (0.016 g, 25%) u obliku bezbojnog ulja, koje rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan daje bele pločice, *tt* 142–143 °C, $[\alpha]_D = +235.2$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.15$ (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

(B) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **26** (0.053 g, 0.15 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (3 mL) doda se TiCl₄ (0.04 mL, 0.37 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na ledenom kupatilu, a zatim još 3 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se zatim izlije u smešu leda i vode (15 mL), a rezultujuća suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (15 mL), osuše i upare, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran glavni proizvod **29** (0.015 g, 37%) u obliku belih kristala, rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 139–140 °C, $[\alpha]_D = -50.4$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.25$ (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc), a zatim je eluiran i minorni stereoizomer **30** (0.011 g, 28%) u obliku svetlog ulja, koje rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan daje bele pločice, *tt* 142–143 °C, $[\alpha]_D = +235.2$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.15$ (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

(C) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **23** (0.159 g, 0.36 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (9 mL) doda se TiCl₄ (0.1 mL, 0.91 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na 0 °C, a zatim još 3 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se zatim izlije u smešu leda i vode (20 mL), a dobijena suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (20 mL), osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 cikloheksan/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran sporedni proizvod **31** (0.02 g, 17%) u obliku blede žutog sirupa, koji kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan dajući bele igličaste kristale, *tt* 218–221 °C, $[\alpha]_D = +54.8$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.2$ (CH₂Cl₂). Naknadnim eluiranjem kolone izolovan je glavni proizvod **29** (0.032 g, 33%) u obliku bezbojnog ulja. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 139–140 °C, $[\alpha]_D = -50.4$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.25$ (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Na kraju je eluiran čist sporedni

proizvod **30** (0.019 g, 19%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan dajući bele pločice, *t*_m 142–143 °C, [α]_D=+235.2 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.15 (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

Napomena: izolovane su i minimalne količine 5-*O*-benzil-derivata **27** i **26**.

(D) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **25** (0.113 g, 0.25 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (6.5 mL) doda se TiCl₄ (0.07 mL, 0.64 mmol). Reakciona smeša se prvo meša 1 h na ledenom kupatilu, a zatim još 3 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se izlije u smešu leda i vode (20 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL), spojene organske faze se isperu sa vodenim NaHCO₃ (20 mL), osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 PE/EtOAc). Sa kolone su prvo eluirane nečiste frakcije jedinjenja **31**, a zatim i smeša jedinjenja **29** i **30**. Smeše su zatim razdvojene preparativnom TLC hromatografijom: **31** (4:1 PE/EtOAc; 3× razvijeno), smeša **29** i **30** (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc; 3× razvijeno). Dobijeni su: sporedni proizvod **31** (0.015 g, 18%) u obliku blede žutog sirupa, koji kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan dajući bele iglice, *t*_m 218–221 °C, [α]_D=+54.8 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.2 (CH₂Cl₂); glavni proizvod **29** (0.022 g, 33%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan u vidu belih iglica, *t*_m 139–140 °C, [α]_D=−50.4 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.25 (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc) i nečisto jedinjenje **30** koje je dodatno prečišćeno na jednoj preparativnoj ploči (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc; 3× razvijeno). Čist sporedni proizvod **30** (0.011 g, 16%) je izolovan u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan u vidu belih pločica, *t*_m 142–143 °C, [α]_D=+235.2 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.15 (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

Spektroskopski podaci za proizvod **29**:

IR (film): *v*_{max} 3440 (OH), 1784 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.50–2.70 (bs, 1 H, OH), 2.57 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.68 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.8, *J*_{2b,3}=5.1 Hz, H-2b), 4.53 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=2.8, *J*_{6,7}=10.0 Hz, H-6), 4.80 (bd, 1 H, H-5), 4.95 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.1 Hz, H-4), 5.02 (m, 1 H, H-3), 5.02 (d, 1 H, *J*_{6,7}=10.0 Hz, H-7), 7.31–7.51 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.07 (C-2), 58.04 (C-7), 74.36 (C-5), 78.14 (C-3), 84.23 (C-6), 87.00 (C-4), 127.89, 128.73, 128.97 i 138.08 (Ph), 175.15 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 269.0579 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₄ClO₄: 269.0575.

Elementarna mikroanaliza: Nadjeno: C, 58.01; H, 5.00. Izračunato za C₁₃H₁₃ClO₄: C, 58.11; H, 4.88.

Spektroskopski podaci za proizvod **30**:

IR (CHCl₃): *v*_{max} 3446 (OH), 1785 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.01 (bs, 1 H, OH), 2.76 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2a,3}=5.3$ Hz, H-2a), 2.87 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2b,3}=1.7$ Hz, H-2b), 4.00 (bs, 1 H, H-5), 4.48 (dd, 1 H, $J_{5,6}=2.9$, $J_{6,7}=9.3$ Hz, H-6), 4.84 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.3$ Hz, H-4), 5.09 (d, 1 H, $J_{6,7}=9.2$ Hz, H-7), 5.13 (td, 1 H, $J_{2b,3}=1.6$, $J_{3,4}=4.3$ Hz, $J_{2a,3}=5.3$ Hz, H-3), 7.33–7.49 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.91 (C-2), 61.10 (C-7), 73.71 (C-5), 77.22 (C-3), 85.00 (C-6), 87.48 (C-4), 127.61, 129.01, 129.24, 137.70 (Ar-C), 175.12 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 313.0489 ($\text{M}^- + \text{HCOO}$), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClO}_6$: 313.0484.

Spektroskopski podaci za proizvod **31**:

IR (KBr): ν_{max} 1787 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.69 (d, 2 H, $J_{2,3}=3.5$ Hz, H-2a i H-2b), 4.35 (d, 1 H, $J_{5,6}=2.3$ Hz, H-5), 4.74 (dd, 1 H, $J_{5,6}=2.3$, $J_{6,7}=9.1$ Hz, H-6), 4.78 (d, 1 H, $J_{6,7}=9.1$ Hz, H-7), 4.92 i 5.27 ($2 \times$ d, 2 H, $J_{\text{gem}}=13.8$ Hz, $2 \times$ H-10), 4.99 (m, 2 H, $J_{3,4}=4.3$ Hz, H-3 i H-4), 6.80 (d, 1 H, $J=7.3$ Hz, ArH), 7.13–7.46 (m, 8 H, $2 \times$ Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 36.18 (C-2), 49.28 (C-7), 72.88 (C-10), 77.56 (C-3), 79.61 (C-5), 83.18 (C-6), 86.94 (C-4), 127.16, 127.28, 128.23, 128.81, 128.91, 129.18, 135.35, 138.37, 138.90 ($2 \times$ Ph), 175.33 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 323.1267 ($\text{M}^+ + \text{H}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_4$: 323.1278; m/e 345.1089 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NaO}_4$: 345.1097; m/e 361.0829 ($\text{M}^+ + \text{K}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{KO}_4$: 361.0837; m/e 645.2474 ($2\text{M}^+ + \text{H}$), izračunato za $\text{C}_{40}\text{H}_{37}\text{O}_8$: 645.2483.

4.26. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-7-bromo-2,7-dideoksi-7-C-fenil-L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (32) i olefin (28)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **19** (0.121 g, 0.35 mmol) i trifenil-fosfina (0.282 g, 1.07 mmol) u anhidrovanom piridinu (1.5 mL), doda se postepeno uz mešanje CBr_4 (0.494 g, 1.48 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 26.5 h. Reakcija se prekida dokapavanjem ohladjenog (0 °C) rastvora 6 M HCl (9 mL, do pH=1) uz mešanje na ledenom kupatilu. Emulzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (5×8 mL), spojeni ekstrakti se isperu sa 10% rastvorom NaCl (2×15 mL, do pH=7), osuše i upare. Hromatografskim prečišćavanjem na koloni fleš silikagela (3:2 CH_2Cl_2 /heksan), prvo je izolovan čist sporedni proizvod **28** (0.027 g, 24%), u vidu belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan

dobijaju se pahuljasti kristali čistog **28**, *tt* 165 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+7.5$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f=0.52$ (CH₂Cl₂). Nakon daljeg eluiranja kolone izolovan je glavni proizvod **32** (0.07 g, 49%), u obliku belih kristala. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se beli igličasti kristali, *tt* 158–159 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+145.0$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f=0.51$ (CH₂Cl₂).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **32**:

IR (CHCl₃): ν_{max} 1788 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.75 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2a,3}=5.8$ Hz, H-2a), 2.87 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.6$ Hz, H-2b), 3.72 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.2$ Hz, H-5), 4.02 i 4.24 (2×d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.4$ Hz, CH₂Ph), 4.69 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.3$, $J_{6,7}=9.7$ Hz, H-6), 4.86 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.4$ Hz, H-4), 5.09 (bt, 1 H, $J=4.6$ Hz, H-3), 5.18 (d, 1 H, $J_{6,7}=9.7$ Hz, H-7), 7.11–7.21 (m, 2 H, Ph), 7.29–7.44 (m, 8 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.92 (C-2), 51.49 (C-7), 72.82 (CH₂Ph), 77.23 (C-3), 80.55 (C-5), 84.61 (C-6), 84.80 (C-4), 127.70, 127.79, 128.21, 128.53, 128.79, 128.93, 136.35 i 138.38 (2×Ph), 175.10 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 403.0533 (M⁺+H). Izračunato za C₂₀H₂₀BrO₄: 403.0540; *m/e* 425.0357 (M⁺+Na), izračunato za C₂₀H₁₉BrNaO₄: 425.0359; *m/e* 420.0822 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₃BrNO₄: 420.0805.

Spektroskopski podaci jedinjenja **28** su dati u postupku 4.23.

4.27. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-7-bromo-2,7-dideoksi-7-C-fenil-D-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (**33**) i olefin (**28**)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **21** (0.143 g, 0.42 mmol) i trifenil-fosfina (0.202 g, 0.77 mmol) u anhidrovanom piridinu (1.7 mL), doda se postepeno uz mešanje CBr₄ (0.42 g, 1.26 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 3.5 h. Reakcija se prekida dokapavanjem ohladjenog (0 °C) 6 M rastvora HCl (9 mL, do pH=1) uz mešanje na ledenom kupatilu. Emulzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (5×8 mL), spojeni ekstrakti se ispiraju 10% rastvorom NaCl (2×15 mL; do pH=7), osuše i upare. Nakon hromatografskog prečišćavanja na koloni fleš silikagela (3:2 Et₂O/PE), dobijena je smeša bromnog derivata **33** i olefina **28** (0.123 g). Smeša je razdvojena preparativnom TLC (3:2 CH₂Cl₂/PE), a ploče su razvijane pet puta. Razdvojene zone su sastrugane sa ploča i prebačene u hromatografske kolone, sa kojih su proizvodi eluirani čistim EtOAc. Sporedni proizvod **28** dobijen je u obliku belih kristala (0.01 g, 8%). Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se pahuljasti kristali čistog **28**, *tt* 165 °C,

$[\alpha]_D^{+7.5}$ (*c* 0.5, CHCl_3), $R_f=0.52$ (CH_2Cl_2). Glavni proizvod **33** je izolovan u obliku belih kristala (0.091 g, 54%). Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobija se analitički uzorak **33**, u vidu belih iglica, *tt* 147–149 °C, $[\alpha]_D^{-46.8}$ (*c* 0.5, CHCl_3), $R_f=0.17$ (3:2 PE/Et₂O).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **33**:

IR (CHCl_3): ν_{max} 1787 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.53 (dd, 1 H, $J_{2a,3}=1.2$, $J_{2a,2b}=18.6$ Hz, H-2a), 2.65 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8$, $J_{3,2b}=4.6$ Hz, H-2b), 4.58 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.2$ Hz, H-5), 4.80 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.1$, $J_{6,7}=10.3$ Hz, H-6), 4.77 i 4.86 (2×d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.0$ Hz, CH_2Ph), 4.90 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.3$ Hz, H-4), 4.96 (m, 1 H, H-3), 5.19 (d, 1 H, $J_{6,7}=10.3$ Hz, H-7), 7.32–7.59 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl_3): δ 36.11 (C-2), 48.14 (C-7), 74.02 (CH_2Ph), 78.47 (C-3), 81.75 (C-5), 83.46 (C-6), 84.26 (C-4), 128.10, 128.28, 128.37, 128.62, 128.69, 128.73, 136.85 i 138.78 (2×Ph), 175.07 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 403.0527 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{BrO}_4$: 403.0540.

Spektroskopski podaci jedinjenja **28** su dati u postupku 4.23.

4.28. 3,6-Anhidro-7-bromo-2,7-dideoksi-7-C-fenil-D-glicero-D-ido- (34) i L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (35)

(A) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **33** (0.11 g, 0.27 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (6.5 mL) doda se TiBr_4 (0.26 g, 0.71 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na ledenom kupatilu, a zatim još 4 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se izlije u smešu leda i vode (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×8 mL), spojene organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO_3 (15 mL), osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 toluen/EtOAc). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **33** (0.012 g, 11%), a zatim i glavni proizvod **34** (0.073 g, 86%) u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijene su bele iglice čistog **34**, *tt* 161–164 °C, $[\alpha]_D^{-63.0}$ (*c* 0.5, Me_2CO), $R_f=0.35$ (9:1 CH_2Cl_2 /EtOAc). Sa kolone je eluiran i nečist sporedni proizvod **35**, koji je dodatno prečišćen preparativnom TLC (3:2 toluen/EtOAc; 2 × razvijeno). Čisto jedinjenje **35** (0.001 g, 1%) dobijeno je u obliku bezbojnog ulja, koje nakon kristalizacije iz sistema Et₂O/heksan daje bele pahulje, *tt* 138–139 °C, $[\alpha]_D^{+220.8}$ (*c* 0.5, CHCl_3), $R_f=0.30$ (9:1 CH_2Cl_2 /EtOAc).

(B) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **32** (0.068 g, 0.17 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (4 mL) doda se TiBr₄ (0.179 g, 0.49 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na 0 °C, a zatim još 5 h na sobnoj temperaturi, a zatim se izlije u smešu leda i vode (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×8 mL), organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (15 mL), osuše i upare. Sirova reakciona smeša je prečišćena na koloni fleš silikagela (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **32** (0.007 g, 10%) u obliku belih kristala, a potom i sporedni proizvod **34** (0.007 g, 14%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 161–164 °C, $[\alpha]_D = -63.0$ (*c* 0.5, Me₂CO), *R_f*=0.35 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Na kraju je eluiran čist glavni proizvod **35** (0.032 g, 60%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema Et₂O/heksan u obliku belih pahulja, *tt* 138–139 °C, $[\alpha]_D = +220.8$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R_f*=0.30 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

(C) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **23** (0.174 g, 0.39 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (10 mL) doda se TiBr₄ (0.359 g, 0.98 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na ledenom kupatilu, a zatim još 2 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se izlije u smešu leda i vode (30 mL), a formirana suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×15 mL). Spojene organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (30 mL), osuše i upare, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (7:3 toluen/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran glavni proizvod **34** (0.065 g, 53%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 161–164 °C, $[\alpha]_D = -63.0$ (*c* 0.5, Me₂CO), *R_f*=0.35 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Naknadnim eluiranjem kolone dobijena je smeša minornog stereoizomera **35** i glavnog proizvoda **34** (0.056 g), koja je razdvojena na deset preparativnih ploča (3:2 toluen/EtOAc). Čisto jedinjenje **35** (0.027 g, 22%) dobijeno je u obliku bezbojnog ulja, koje nakon rekristalizacije iz sistema Et₂O/heksan daje bele pahulje, *tt* 138–139 °C, $[\alpha]_D = +220.8$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R_f*=0.30 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

(D) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **25** (0.176 g, 0.40 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (10 mL) doda se TiBr₄ (0.366 g, 1.00 mmol). Reakciona smeša se meša 1 h na ledenom kupatilu, a zatim još 4 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se izlije u smešu leda i vode (30 mL), a rezultujuća suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×15 mL). Spojene organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (30 mL), osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran glavni proizvod **34** (0.062 g, 50%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 161–164 °C, $[\alpha]_D = -63.0$ (*c* 0.5, Me₂CO), *R_f*=0.35 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Zatim je eluirana smeša sporednog proizvoda **35** i glavnog proizvoda **34** (0.04 g), koja je razdvojena na četiri preparativne ploče (7:3 toluen/EtOAc 2× razvijeno). Čisto jedinjenje **35** (0.026 g, 21%) dobijeno je u obliku bezbojnog

ulja, koje kristališe iz sistema Et₂O/heksan u vidu belih pahulja, *t*_m 138–139 °C, [α]_D=+220.8 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.30 (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

Spektroskopski podaci za proizvod **34**:

IR (KBr): *v*_{max} 3395 (OH), 1753 (C=O).

¹H NMR Spektar (aceton-*d*₆): δ 2.34 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.8 Hz, H-2a), 2.78 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.5, *J*_{2b,3}=5.4 Hz, H-2b), 3.08 (s, 1 H, OH), 4.64 (d, 1 H, *J*_{5,6}=2.7 Hz, H-5), 4.75 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=2.8, *J*_{6,7}=10.3 Hz, H-6), 4.89–5.00 (m, 2 H, H-3 i H-4), 5.21 (d, 1 H, *J*_{6,7}=10.3 Hz, H-7), 7.28–7.57 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (aceton-*d*₆): δ 36.55 (C-2), 49.76 (C-7), 74.45 (C-5), 79.22 (C-3), 84.09 (C-6), 88.10 (C-4), 129.15, 129.26 i 140.68 (Ph), 175.97 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 313.0066 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₄BrO₄: 313.0070.

Spektroskopski podaci za proizvod **35**:

IR (KBr): *v*_{max} 3417 (OH), 1773 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.31 (bs, 1 H, OH), 2.73 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.9, *J*_{2a,3}=5.2 Hz, H-2a), 2.85 (bd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.6 Hz, H-2b), 3.99 (d, 1 H, *J*_{5,6}=2.4 Hz, H-5), 4.57 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=2.7, *J*_{6,7}=9.7 Hz, H-6), 4.86 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.3 Hz, H-4), 5.08 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=4.3 Hz, *J*_{2a,3}=4.9 Hz, H-3), 5.13 (d, 1 H, *J*_{6,7}=9.7 Hz, H-7), 7.31–7.57 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.90 (C-2), 51.40 (C-7), 73.15 (C-5), 76.86 (C-3), 84.85 (C-6), 87.76 (C-4), 127.73, 128.97, 129.09, 138.15 (Ph), 175.46 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 313.0064 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₄BrO₄: 313.0070.

4.29. 3,6-Anhidro-5-*O*-benzil-2,7-dideoksi-7-*C*-fenil-7-jodo-*D*-glicero-*D*-ido- (37), *L*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (36) i olefin (28)

(A) U rastvor jedinjenja **19** (0.081 g, 0.24 mmol) u anhidrovanom toluenu (5.5 mL) sukcesivno se doda jod (0.118 g, 0.47 mmol), imidazol (0.043 g, 0.64 mmol) i Ph₃P (0.162 g, 0.62 mmol). Reakciona smeša se meša u atmosferi azota na 70 °C u toku 3 h, a zatim se upari. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 PE/Et₂O), dajući smešu jodidnih derivata **36**, **37** i olefina **28** (0.079 g). Smeša je razdvojena preparativnom TLC (3:2 CH₂Cl₂/PE), a ploče su razvijane pet puta. Razdvojene zone su sastrugane sa ploča i prebačene u hromatografske kolone, sa kojih su proizvodi eluirani čistim EtOAc. Olefin **28** je dobijen u obliku belih kristala (0.008 g, 10%). Rekrystalizacijom

iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijaju se pahuljasti kristali čistog **28**, tt 165 °C, $[\alpha]_D^{25} = +7.5$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.52$ (CH₂Cl₂). Glavni proizvod **36** dobijen je u obliku belih kristala (0.044 g, 41%). Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobija se analitički uzorak **36**, u vidu belih iglica, tt 136–138 °C, $[\alpha]_D^{25} = +35.0$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.30$ (CH₂Cl₂). Čist sporedni proizvod **37** je izolovan u obliku belih kristala (0.012 g, 11%). Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobija se analitički uzorak **37**, u vidu belih iglica, tt 149–150 °C, $[\alpha]_D^{25} = -9.8$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.38$ (CH₂Cl₂).

(B) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **21** (0.099 g, 0.29 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (1.5 mL) dodat je 2,6-lutidin (0.11 mL, 0.94 mmol), Ph₃P (0.244 g, 0.93 mmol) i jod (0.246 g, 0.97 mmol). Reakciona smeša je mešana na ledenom kupatilu u atmosferi azota, u toku 0.5 h, a zatim još 28 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se zatim izlije u 1 M HCl (4 mL, pH 1) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (5×4 mL). Spojeni ekstrakti se isperu sa 10%-nim NaCl (2×10 mL) do pH 7, osuše i upare. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 PE/Et₂O), dajući smešu jodidnih derivata **37**, **36** i olefina **28** (0.102 g). Smeša je razdvojena preparativnom TLC (3:2 CH₂Cl₂/PE), a ploče su razvijane pet puta. Razdvojene zone su sastrugane sa ploča i prebačene u hromatografske kolone, sa kojih su proizvodi eluirani čistim EtOAc. Sporedni proizvod **28** (0.011 g, 11%) je dobijen u obliku belih pahulja, tt 165 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_D^{25} = +7.5$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.52$ (CH₂Cl₂). Glavni proizvod **37** (0.058 g, 44.5%) je izolovan u vidu belih iglica, tt 149–150 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_D^{25} = -9.8$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.38$ (CH₂Cl₂). Sporedni proizvod **36** (0.002 g, 2%) dobijen je u obliku belih igličastih kristala, tt 136–138 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_D^{25} = +35.0$ (c 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.30$ (CH₂Cl₂).

Spektroskopski podaci za proizvod **37**:

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1789 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.54 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.9$ Hz, H-2a), 2.64 (dd, 1 H, $J_{2b,3} = 4.8$, $J_{2a,2b} = 18.9$ Hz, H-2b), 4.63 (d, 1 H, $J_{5,6} = 2.9$ Hz, H-5), 4.75 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 10.9$ Hz, CH₂Ph), 4.81–5.03 (m, 4 H, CH₂Ph, H-3, H-4 i H-6), 5.31 (d, 1 H, $J_{6,7} = 10.7$ Hz, H-7), 7.28–7.54 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.18 (C-7), 36.35 (C-2), 74.15 (CH₂Ph), 78.80 (C-3), 82.71 (C-5), 84.08 i 84.15 (C-4 i C-6), 127.78, 128.28, 128.37, 128.43, 128.67, 128.76, 136.85 i 140.78 (2×Ph), 175.11 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 468.0653 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₃INO₄: 468.0666.

Spektroskopski podaci za proizvod **36**:

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1789 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.76 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2a,3}=5.8$ Hz, H-2a), 2.88 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.6$ Hz, H-2b), 3.78 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.2$ Hz, H-5), 4.08 i 4.24 ($2\times$ d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.3$ Hz, CH_2Ph), 4.69 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.2$, $J_{6,7}=10.2$ Hz, H-6), 4.92 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.5$ Hz, H-4), 5.07 (bt, 1 H, $J_{3,4}=4.6$ Hz, H-3), 5.29 (d, 1 H, $J_{6,7}=10.2$ Hz, H-7), 7.08–7.48 (m, 10 H, $2\times\text{Ph}$).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 27.87 (C-7), 35.91 (C-2), 72.87 (CH_2Ph), 77.67 (C-3), 79.30 (C-5), 85.10 (C-4), 85.53 (C-6), 127.52, 127.76, 128.21, 128.45, 128.53, 128.83, 136.38 i 140.45 ($2\times\text{Ph}$), 175.13 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 468.0658 (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{INO}_4$: 468.0666.

Spektroskopski podaci jedinjenja **28** su dati u postupku 4.23.

4.30. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-*C*-fenil-7-jodo-*D*-glicero-*D*-ido- (**38**) i *L*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (**39**)

(A) Ohladjenom ($0\text{ }^\circ\text{C}$) rastvoru jedinjenja **37** (0.049 g, 0.11 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (3 mL) se doda TiI_4 (0.156 g, 0.28 mmol). Reakciona smeša se prvo meša 0.5 h na $0\text{ }^\circ\text{C}$, a zatim 2.5 h na sobnoj temperaturi, a zatim se izlije u smešu leda i vode (10 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×5 mL), organske faze se isperu 10% NaHCO_3 (10 mL), suše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$) pri čemu je dobijena smeša proizvoda **38** i **39** (0.017 g). Smeša je naknadno prečišćena preparativnom TLC (9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$), a ploče su razvijane tri puta. Sporedni proizvod **39** dobijen je u obliku pahuljastih kristala (0.004 g, 11%). Rekristalizacijom iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ dobija se analitički uzorak **39**, u vidu belih iglica, t_{t} 204–206 $^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+38.6$ (c 0.5, CHCl_3), $R_{\text{f}}=0.44$ (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$). Čist glavni proizvod **38** (0.012 g, 31%) dobijen je u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ dobija se analitički uzorak **38**, u vidu belih iglica, t_{t} 123–125 $^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=-71.2$ (c 0.5, CHCl_3), $R_{\text{f}}=0.49$ (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).

(B) Ohladjenom ($0\text{ }^\circ\text{C}$) rastvoru jedinjenja **36** (0.049 g, 0.11 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (3 mL) se doda TiI_4 (0.163 g, 0.29 mmol). Reakciona smeša se prvo meša 0.5 h na $0\text{ }^\circ\text{C}$, a zatim 3 h na sobnoj temperaturi (ukupno 3.5 h), nakon čega se izlije u smešu leda i vode (10 mL). Rezultujuća suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×5 mL), organske faze isperu 10% NaHCO_3 (10 mL), osuše i upare. Nakon hromatografskog prečišćavanja na koloni fleš silikagela (19:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$) dobijena je smeša proizvoda **39** i **38** (0.016 g), koja je naknadno razdvojena preparativnom TLC (9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$) uz razvijanje ploča četiri puta. Proizvod **39** dobijen je u obliku pahuljastih

kristala (0.0069 g, 17.5%). Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobija se analitički uzorak **39**, u vidu belih iglica, t_f 204–206 °C, $[\alpha]_D^{25} = +38.6$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.44$ (4:1 CH_2Cl_2 /EtOAc). Čist proizvod **38** je izolovan (0.0066 g, 17%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobija se analitički uzorak **38**, u vidu belih iglica, t_f 123–125 °C, $[\alpha]_D^{25} = -71.2$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.49$ (4:1 CH_2Cl_2 /EtOAc).

Spektroskopski podaci za proizvod **38**:

IR (KBr): ν_{max} 3396 (OH), 1752 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.62 (d, 2 H, $J_{2a,2b} = 17.4$ Hz, H-2a i OH), 2.66 (dd, 1 H, $J_{2b,3} = 5.0$, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, H-2b), 4.84–4.91 (m, 2 H, $J_{5,6} = 2.7$ Hz, H-5 i H-6), 4.96 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.2$ Hz, H-4), 5.04 (m, 1 H, H-3), 5.21 (d, 1 H, $J_{6,7} = 10.5$ Hz, H-7), 7.28–7.54 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 26.84 (C-7), 36.41 (C-2), 75.76 (C-5), 78.73 (C-3), 84.08 (C-6), 86.93 (C-4), 127.80, 128.49, 128.89 i 140.45 (Ph), 175.16 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 378.0196 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{INO}_4$: 378.0197.

Spektroskopski podaci za proizvod **39**:

IR (CHCl_3): ν_{max} 3440 (OH), 1739 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.77 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.9$, $J_{2a,3} = 5.7$ Hz, H-2a), 2.88 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, H-2b), 4.09 (bs, 1 H, H-5), 4.61 (d, 1 H, $J_{5,6} = 2.7$, $J_{6,7} = 10.1$ Hz, H-6), 4.95 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.3$ Hz, H-4), 5.10 (m, 1 H, H-3), 5.24 (d, 1 H, $J_{6,7} = 10.1$ Hz, H-7), 7.28–7.51 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 27.15 (C-7), 35.87 (C-2), 72.24 (C-5), 76.39 (C-3), 85.70 (C-6), 88.01 (C-4), 127.43, 128.48, 129.13 i 140.21 (Ph), 175.12 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 378.0194 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{INO}_4$: 378.0197.

4.31. 3,6-Anhidro-7-O-benzoil-2-deoksi-7-C-fenil-D-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (**40**)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **23** (0.103 g, 0.23 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (6 mL) doda se TiI_4 (0.419 g, 0.75 mmol). Reakciona smeša se meša 0.5 h na ledenom kupatilu, zatim 3.5 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se izlije u smešu leda i vode (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×8 mL), organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO_3 (15 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 CH_2Cl_2 /EtOAc), dajući nedovoljno čist proizvod **40**, koji je dodatno prečišćen preparativnom TLC (1:1 toluen/EtOAc). Čisto jedinjenje **40**

(0.042 g, 55%) dobijeno je u obliku bezbojnog ulja $[\alpha]_D^{20} = +50.0$ (c 1.0, CHCl_3), $R_f = 0.25$ (19:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).

IR (CHCl_3): ν_{max} 3454 (OH), 1787 (C=O, lakton), 1722 (PhC=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.30 (bs, 1 H, OH), 2.55 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.8$ Hz, H-2a), 2.67 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.8$, $J_{2b,3} = 5.1$ Hz, H-2b), 4.32 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 2.1$, $J_{6,7} = 9.2$ Hz, H-6), 4.45 (d, 1 H, $J_{5,6} = 2.1$ Hz, H-5), 4.95–5.04 (m, 2 H, H-3 i H-4), 6.12 (d, 1 H, $J_{6,7} = 9.3$ Hz, H-7), 7.35–8.14 (m, 10 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.77 (C-2), 73.12 (C-5), 73.21 (C-7), 77.11 (C-3), 82.49 (C-6), 87.01 (C-4), 127.59, 128.59, 128.66, 128.94, 129.94, 133.91, 136.76 (Ph), 166.90 (C=O iz Bz), 175.40 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 377.0984 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NaO}_6$: 377.0996; m/e 393.0723 ($\text{M}^+ + \text{K}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{KO}_6$: 393.0735.

4.32. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-2,7-dideoksi-7-C-fenil-7-fluoro-D-glicero-D-ido- (41) i L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (42)

(A) U ohladjeni (0 °C) rastvor jedinjenja **19** (0.115 g, 0.34 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (2 mL) doda se DAST (0.14 mL, 1.06 mmol). Reakciona smeša se prvo meša 0.5 h na ledenom kupatilu, zatim još 3.5 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se izlije u hladan 10%-ni NaHCO_3 (30 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×8 mL), organske faze se osuše i upare, a sirovi ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$). Sa kolone je prvo eluiran čist glavni proizvod **41** (0.074 g, 63%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz etanola dobijene su tanke bele iglice, t_f 89 °C, $[\alpha]_D^{20} = +29.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.3$ (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$). Zatim je eluiran čist sporedni proizvod **42** (0.014 g, 12%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ u obliku belih pločica, t_f 123–124 °C, $[\alpha]_D^{20} = +71.8$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.19$ (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$).

(B) U ohladjeni (0 °C) rastvor jedinjenja **21** (0.112 g, 0.33 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (2 mL) doda se DAST (0.13 mL, 0.98 mmol). Reakciona smeša se meša na ledenom kupatilu 0.5 h, zatim 2.5 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se izlije u hladan 10%-ni NaHCO_3 (30 mL). Rezultujuća suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×8 mL), spojene organske faze se osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$). Sa kolone je prvo eluiran sporedni proizvod **41** (0.03 g, 24%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz etanola dobijene su tanke bele iglice, t_f 89 °C, $[\alpha]_D^{20} = +29.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.3$ (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$). Zatim je eluiran čist glavni

proizvod **42** (0.085 g, 76%) u obliku svetlog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan u obliku belih pločica, *t*_m 123–124 °C, [α]_D=+71.8 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_F=0.19 (4:1 CH₂Cl₂/PE).

Spektroskopski podaci za proizvod **41**:

IR (KBr): *v*_{max} 1785 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.54 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.5 Hz, H-2a), 2.66 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.5, H-2b), 4.34 (m, 1 H, *J*_{5,6}=3.1, *J*_{6,7}=8.8, *J*_{F,6}=4.6 Hz, H-6), 4.46 (d, 1 H, *J*_{5,6}=3.1 Hz, H-5), 4.75 i 4.82 (2d, 2 H, *J*_{gem}=11.6 Hz, CH₂Ph), 4.95 (m, 2 H, H-3 i H-4), 5.70 (dd, 1 H, *J*_{6,7}=8.7 Hz, *J*_{F,7}=44.8 Hz, H-7), 7.20–7.49 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.84 (C-2), 72.60 (CH₂Ph), 77.53 (C-3), 80.83 (C-5), 81.75 (d, *J*_{F,6}=36.2 Hz, C-6), 85.05 (C-4), 89.78 (d, *J*_{F,7}=167.8 Hz, C-7), 126.71, 127.88, 128.25, 128.43, 128.59, 128.80, 136.95 i 137.23 (2×Ph), 174.99 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 360.1608 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₃FNO₄: 360.1606.

Spektroskopski podaci za proizvod **42**:

IR (KBr): *v*_{max} 1793 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.63–2.87 (m, 2 H, 2×H-2), 3.85 (d, 1 H, *J*_{5,6}=3.9 Hz, H-5), 4.32 i 4.47 (2d, 2 H, *J*_{gem}=11.5 Hz, CH₂Ph), 4.49 (ddd, 1 H, *J*_{5,6}=4.1, *J*_{6,7}=7.1, *J*_{F,6}=12.0 Hz, H-6), 4.89 (t, 1 H, *J*_{3,4}=3.1, *J*_{3,F}=3.6 Hz, H-4), 5.14 (m, 1 H, H-3), 5.70 (dd, 1 H, *J*_{6,7}=7.1, *J*_{F,7}=48.2 Hz, H-7), 7.23–7.46 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.98 (C-2), 72.68 (CH₂Ph), 77.83 (C-3), 81.96 (d, *J*_{F,5}=6.7 Hz, C-5), 82.97 (d, *J*_{F,6}=21.9 Hz, C-6), 84.63 (C-4), 93.25 (d, *J*_{F,7}=172.6 Hz, C-7), 126.89, 127.22, 128.22, 128.55, 128.58, 128.88, 135.89 i 136.55 (2×Ph), 174.99 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 360.1604 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₃FNO₄: 360.1606.

4.33. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-*C*-fenil-7-fluoro-*D*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (**43**)

U rastvor jedinjenja **41** (0.041 g, 0.12 mmol) u EtOAc (2 mL) koji sadrži 2% cc. HCl dodat je 10% Pd/C (0.019 g, ~0.01 mmol). Rezultujuća suspenzija je hidrogenovana na sobnoj temperaturi u toku 30 h, nakon čega je katalizator odvojen filtriranjem preko celita. Filtrat je uparen, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (7:3 toluen/EtOAc). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **41** (0.009 g, 21%), a zatim i proizvod **43** (0.021 g, 70%), u vidu kristalne mase.

Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan, dobijene su bezbojne iglice, *t*_m 124–125 °C, [α]_D=+18.2 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.32 (3:2 toluen/EtOAc).

IR (KBr): *v*_{max} 3456 (OH), 1771 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.62 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.4 Hz, H-2a), 2.74 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.8, *J*_{2b,3}=5.4 Hz, H-2b), 4.26 (td, 1 H, *J*_{5,6}=2.9, *J*_{6,7}=*J*_{F,6}=7.5 Hz, H-6), 4.70 (bs, 1 H, H-5), 4.95 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.2 Hz, H-4), 5.05 (t, 1 H, *J*=4.5 Hz, H-3), 5.66 (dd, 1 H, *J*_{6,7}=7.9, *J*_{F,7}=45.5 Hz, H-7), 7.32–7.59 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.91 (C-2), 74.00 (C-5), 77.45 (C-3), 82.11 (d, *J*_{F,6}=31.9 Hz, C-6), 87.35 (C-4), 90.99 (d, *J*_{F,7}=167.8 Hz, C-7), 126.48, 126.58, 129.01, 129.28, 136.32 i 136.62 (Ph), 175.15 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 270.1138 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₇FNO₄: 270.1136.

4.34. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-C-fenil-7-fluoro-L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (44)

U rastvor jedinjenja **42** (0.042 g, 0.12 mmol) u EtOAc (2 mL) sa 2% cc. HCl dodat je 10% Pd/C (0.02 g, ~0.01 mmol). Rezultujuća suspenzija je hidrogenovana na sobnoj temperaturi u toku 21 h, nakon čega je katalizator odvojen filtriranjem preko celita. Filtrat je uparen, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 toluen/EtOAc). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **42** (0.005 g, 11%), a zatim i proizvod **44** (0.024 g, 79%), u vidu kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan, dobijene su bezbojne prizme, *t*_m 152–154 °C, [α]_D=+132.9 (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f=0.24 (3:2 toluen/EtOAc).

IR (KBr): *v*_{max} 3497 (OH), 1763 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.49 (d, 1 H, *J*_{5,OH}=5.7 Hz, OH), 2.77 (m, 2 H, 2×H-2), 4.12 (bs, 1 H, H-5), 4.37 (ddd, 1 H, *J*_{5,6}=4.4, *J*_{6,7}=7.1, *J*_{F,6}=16.8 Hz, H-6), 4.85 (t, 1 H, *J*_{3,4}=3.2, *J*_{3,F}=3.3 Hz, H-4), 5.14 (m, 1 H, H-3), 5.69 (dd, 1 H, *J*_{6,7}=7.1, *J*_{F,7}=48.1 Hz, H-7), 7.33–7.56 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.97 (C-2), 74.47 (*J*_{F,5}=6.7 Hz, C-5), 76.99 (C-3), 83.10 (d, *J*_{F,6}=21.0 Hz, C-6), 87.58 (C-4), 93.28 (d, *J*_{F,7}=172.6 Hz, C-7), 126.73, 126.82, 128.98, 129.49, 135.50 i 135.81 (Ph), 175.25 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 270.1135 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₇FNO₄: 270.1136.

4.35. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-C-fenil-D-gluko-heptono-1,4-lakton (45) i oksepan (31)

(A) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **23** (0.129 g, 0.29 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (7 mL) doda se ohladjeni rastvor TiF₄ (0.115 g, 0.93 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (0.6 mL). Reakciona smeša se ostavi na -18 °C u toku 7 dana, nakon čega se izlije u smešu leda i vode (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×8 mL), organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO₃ (15 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu je sa kolone prvo eluiran sporedni proizvod **31** (0.018 g, 19%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, tt 218–221 °C, [α]_D=+54.8 (c 0.5, CHCl₃), R_f=0.2 (CH₂Cl₂). Zatim je eluiran čist glavni proizvod **45** (0.03 g, 44.05%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan u obliku belih igličastih kristala, tt 139 °C, lit.⁹¹ tt 101–103 °C; [α]_D=+49.5 (c 0.6, CHCl₃), lit.⁹¹ [α]_D=+37 (c 0.1); R_f=0.24 (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

(B) Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **25** (0.072 g, 0.16 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (3.5 mL) doda se ohladjeni rastvor TiF₄ (0.06 g, 0.48 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (0.7 mL). Reakciona smeša se ostavi na -18 °C u toku 14 dana, nakon čega se izlije u smešu leda i vode (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×8 mL), organske faze se isperu sa 10% NaHCO₃ (15 mL), osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran glavni proizvod **31** (0.025 g, 48%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, tt 218–221 °C, [α]_D=+54.8 (c 0.5, CHCl₃), R_f=0.20 (CH₂Cl₂). Sa kolone je zatim eluiran čist sporedni proizvod **45** (0.012 g, 31%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan u obliku belih iglica, tt 139 °C, lit.⁹¹ tt 101–103 °C; [α]_D=+49.5 (c 0.6, CHCl₃), lit.⁹¹ [α]_D=+37 (c 0.1); R_f=0.24 (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

Spektroskopski podaci jedinjenja **31** su dati u postupku 4.25.

Spektroskopski podaci za proizvod **45**:

IR (film): ν_{max} 3438 (OH), 1784 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.62 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2a), 2.73 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.6, J_{2b,3}=6.1 Hz, H-2b), 2.99 (d, 2 H, J_{6,7}=6.9 Hz, PhCH₂), 4.17 (td, 1 H, J_{6,7}=6.9, J_{5,6}=2.6 Hz, H-6), 4.20 (bd, 1 H, H-5), 4.88 (d, 1 H, J_{3,4}=4.6 Hz, H-4), 4.99 (m, 1 H, J_{2b,3}=6.1, J_{3,4}=4.6, J_{2a,3}=1.0 Hz, H-3), 7.07–7.48 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 34.19 (C-7), 35.82 (C-2), 73.89 (C-5), 76.04 (C-3), 81.42 (C-6), 87.73 (C-4), 126.62, 128.56, 128.96 i 137.31 (Ph), 175.91 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 235.0954 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₅O₄: 235.0965.

4.36. (+)-Goniofufuron (I)

U rastvor jedinjenja **19** (0.195 g, 0.62 mmol) u MeOH (10 mL) dodat je 10% Pd/C (0.081 g, ~0.04 mmol). Rezultujuća suspenzija je hidrogenovana na sobnoj temperaturi u toku 7.5 h, nakon čega je katalizator odvojen filtriranjem preko celita. Filtrat je uparen, a ostatak prečišćen na koloni fleš silikagela (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **19** (0.03 g, 16%), a zatim i sporedni proizvod **45** (0.014 g, 10%), u vidu bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan, dobijene su bele iglice, *tt* 139 °C, lit.⁹¹ *tt* 101–103 °C; [α]_D=+49.5 (*c* 0.6, CHCl₃), lit.⁹¹ [α]_D=+37 (*c* 0.1); R_f=0.24 (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Na kraju je sa kolone eluiran glavni proizvod **I** (0.107 g, 69%) u obliku belih kristala, koji su nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan pokazivali *tt* 149–151 °C, lit.⁸⁷ *tt* 149–150 °C. Ponovljenom rekristalizacijom iz smeše EtOAc/heksan dobijeni su bezbojni kristali, *tt* 153.5–155 °C, lit.⁸⁸ *tt* 154–156 °C; [α]_D=+39.2 (*c* 0.9, CHCl₃), lit.⁸⁸ [α]_D=+39.5 (*c* 1.0, CHCl₃); R_f=0.19 (CH₂Cl₂/EtOAc 7:3).

Spektroskopski podaci za (+)-goniofufuron (**I**):

IR (film): ν_{max} 3410 (OH), 1755 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.61 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.74 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.7, J_{2b,3}=5.6 Hz, H-2b), 4.05 (dd, 1 H, J_{5,6}=2.7, J_{6,7}=5.3 Hz, H-6), 4.43 (d, 1 H, J_{5,6}=2.7 Hz, H-5), 4.87 (d, 1 H, J_{3,4}=4.2 Hz, H-4), 5.08 (dd, 1 H, J_{2b,3}=5.6, J_{3,4}=4.2 Hz, H-3), 5.12 (d, 1 H, J_{6,7}=5.3 Hz, H-7), 7.30–7.44 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.96 (C-2), 72.89 (C-7), 74.16 (C-5), 76.98 (C-3), 82.89 (C-6), 87.41 (C-4), 125.99, 128.26, 128.63 i 139.26 (Ph), 175.78 (C-1).

LRMS (CI): *m/e* 251 (M⁺+H), 501 (2M⁺+H).

HRMS (ESI): *m/e* 251.0912 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₅O₅: 251.0914; *m/e* 273.0736 (M⁺+Na), izračunato za C₁₃H₁₄NaO₅: 273.0733.

Spektroskopski podaci jedinjenja **45** su dati u postupku 4.35.

4.37. 3,6:5,7-Dianhidro-2-deoksi-7-C-fenil-L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (46)

U ohladjeni (0 °C) rastvor jedinjenja **I** (0.049 g, 0.20 mmol) i Ph₃P (0.128 g, 0.49 mmol) u anhidrovanom toluenu (4 mL), postepeno se dokapava u toku nekoliko minuta 40% DEAD u toluenu (0.22 mL, 0.51 mmol). Ledeno kupatilo se zameni uljanim i rastvor se zagreva na temperaturi ključanja u toku 2.5 h. Reakciona smeša se zatim upari i ostatak se prečisti, na koloni fleš silikagela (3:2 Et₂O/PE). Pri tomu je prvo dobijen nedovoljno čist proizvod **46** (0.089 g), a nakon dodatnog prečišćavanja na koloni fleš silikagela (CH₂Cl₂), dobijen je čist oksetan **46** (0.018 g, 40%) koji kristališe iz smese CH₂Cl₂/heksan u vidu bezbojnih iglica, *tt* 118–119 °C, [α]_D⁺=+122.6 (*c* 0.5, CHCl₃), R_f=0.27 (CH₂Cl₂).

IR (film): ν_{max} 1789 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.55 (bd, 1 H, J_{2a,2b}=18.2 Hz, H-2a), 2.64 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.3, J_{2b,3}=4.0 Hz, H-2b), 4.67 (m, 1 H, H-3), 5.00 (d, 1 H, J_{3,4}=3.8 Hz, H-4), 5.31 (t, 1 H, J_{5,6}=4.3, J_{6,7}=4.4 Hz, H-6), 5.56 (d, 1 H, J_{5,6}=3.9 Hz, H-5), 5.88 (d, 1 H, J_{6,7}=4.8 Hz, H-7), 7.24–7.46 (m, 5 H, Ph). NOE Kontakt: H-3 i Ar-H.

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 36.27 (C-2), 80.37 (C-3), 81.03 (C-6), 84.75 (C-4), 85.34 (C-5), 86.09 (C-7), 124.41, 127.66, 128.38, 136.69 (Ph), 174.25 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 233.0810 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₃O₄: 233.0808; *m/e* 250.1067 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₆NO₄: 250.1074.

4.38. 3,6-Anhidro-7-azido-2,7-dideoksi-7-C-fenil-D-glicero-D-ido- (47) i L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (48)

U ohladjeni (0 °C) rastvor jedinjenja **46** (0.038 g, 0.16 mmol) u anhidrovanom CH₂Cl₂ (1 mL), dodat je Me₃SiN₃ (0.11 mL, 0.84 mmol) i BF₃×Et₂O (0.03 mL, 0.24 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 2.5 h, zatim se neutrališe dokapavanjem Et₃N (0.05 mL, 0.36 mmol) i mešanje se nastavi još 0.5 h. U reakcionu smešu je dodata voda (20 mL), dobijena emulzija je ekstrahovana sa CH₂Cl₂, a organska faza je osušena i uparena. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu je dobijena smeša proizvoda **47** i **48** (0.014 g), koja je razdvojena preparativnom TLC (Et₂O). Čisto jedinjenje **47** (0.008 g, 18%) dobijeno je u obliku bezbojnog ulja, koje nakon kristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan daje prozirne iglice, *tt* 137–138 °C, [α]_D⁻=-75.2

(*c* 0.25, CHCl₃); R_f=0.66 (Et₂O). Takođe je dobijeno čisto jedinjenje **48** (0.003 g, 6%) u obliku bezbojnog ulja, koje nakon kristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan daje bezbojne pločice, *tt* 133–134 °C, [α]_D=+149.2 (*c* 0.25, CHCl₃); R_f=0.59 (Et₂O).

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **47**:

IR (film): ν_{max} 3448 (OH), 2106 (N₃), 1785 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.43 (bs, 1 H, OH), 2.61 (d, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.5 Hz, H-2a), 2.71 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.7, *J*_{2b,3}=5.4 Hz, H-2b), 4.18 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=2.8, *J*_{6,7}=8.0 Hz, H-6), 4.57 (d, 1 H, *J*_{5,6}=2.7 Hz, H-5), 4.85 (d, 1 H, *J*_{6,7}=8.0 Hz, H-7), 4.92 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.1, H-4), 5.04 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=4.3, *J*_{2b,3}=5.2 Hz, H-3), 7.32–7.52 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.94 (C-2), 64.08 (C-7), 74.11 (C-5), 77.40 (C-3), 82.38 (C-6), 87.18 (C-4), 127.57, 129.07, 129.09 i 135.59 (Ph), 175.06 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 298.0797 (M⁺+Na), izračunato za C₁₃H₁₃N₃NaO₄: 298.0798.

Spektroskopski podaci za sporedni proizvod **48**:

IR (film): ν_{max} 3442 (OH), 2104 (N₃), 1785 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.40 (bs, 1 H, OH), 2.79 (d, 2 H, *J*_{2,3}=3.2 Hz, 2×H-2), 4.04 (d, 1 H, *J*_{5,6}=2.6 Hz, H-5), 4.24 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=2.9, *J*_{6,7}=8.3 Hz, H-6), 4.73–4.95 (m, 2 H, H-4 i H-7), 5.13 (m, 1 H, H-3), 7.32–7.55 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.96 (C-2), 64.83 (C-7), 73.99 (C-5), 77.37 (C-3), 83.63 (C-6), 87.34 (C-4), 127.67, 129.05, 135.67 (Ph), 175.18 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 298.0803 (M⁺+Na), izračunato za C₁₃H₁₃N₃NaO₄: 298.0798.

4.39. 7-*epi*-(+)-Goniofufuron (II)

U rastvor jedinjenja **21** (0.218 g, 0.64 mmol) u MeOH (11 mL) dodat je 10% Pd/C (0.142 g, ~0.07 mmol). Rezultujuća suspenzija je hidrogenovana na sobnoj temperaturi u toku 49 h, nakon čega je katalizator odvojen filtriranjem preko celita. Filtrat je uparen, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (49:1 CH₂Cl₂/MeOH). Sa kolone je prvo eluiran sporedni proizvod **45** (0.023 g, 15%), u vidu kristalne mase. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan, dobijene su bele iglice, *tt* 139 °C, lit.⁹¹ *tt* 101–103 °C; [α]_D=+49.5 (*c* 0.6, CHCl₃), lit.⁹¹ [α]_D=+37 (*c* 0.1); R_f=0.24 (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Na kraju je sa kolone eluiran glavni proizvod **II** (0.134 g, 84%) u obliku belih kristala, koji su

nakon rekristalizacije iz sistema Me₂CO/PE pokazivali tt 197–200 °C, lit.⁸⁹ tt 208–209 °C (EtOAc/heksan), lit.⁹⁰ tt 195–198 °C (EtOAc/heksan 1:1), [α]_D=+108.5 (c 0.8, EtOH), lit.⁸⁹ [α]_D=+103 (c 1.0, EtOH), lit.⁹⁰ [α]_D=+94.5 (c 0.7, EtOH); R_f=0.48 (EtOAc).

Spektroskopski podaci za 7-*epi*-(+)-goniofufuron (**II**):

IR (film): ν_{max} 3368 i 3283 (2×OH), 1755 (C=O).

¹H NMR Spektar (DMSO-*d*₆+D₂O): δ 2.50 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.6 Hz, H-2a), 2.85 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.6, J_{2b,3}=6.4 Hz, H-2b), 3.59 (d, 1 H, J_{5,6}=2.8 Hz, H-5), 3.82 (dd, 1 H, J_{5,6}=2.8, J_{6,7}=7.9 Hz, H-6), 4.73 (d, 1 H, J_{6,7}=7.9 Hz, H-7), 4.78 (d, 1 H, J_{3,4}=4.6 Hz, H-4), 4.93 (dd, 1 H, J_{3,4}=4.6, J_{2b,3}=5.8 Hz, H-3), 5.69 i 5.85 (2×bs, 1 H svaki, izmenljivi sa D₂O, 2×OH), 7.20–7.38 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (DMSO-*d*₆+D₂O): δ 36.71 (C-2), 72.61 (C-7), 73.59 (C-5), 77.76 (C-3), 85.51 (C-6), 88.85 (C-4), 127.90, 128.97, 129.37 i 142.29 (Ph), 178.32 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 268.1177 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₈NO₅: 268.1180.

Spektroskopski podaci jedinjenja **45** su dati u postupku 4.35.

4.40. 3,6:5,7-Dianhidro-2-deoksi-7-*C*-fenil-*D*-glicero-*D*-ido-heptono-1,4-lakton (**49**)

U ohladjen (0 °C) rastvor jedinjenja **II** (0.144 g, 0.57 mmol) i Ph₃P (0.39 g, 1.49 mmol) u smeši anhidrovanog toluena i anhidrovanog THF (1:1; 10 mL), postepeno se dokapava u toku nekoliko minuta dietilazodikarboksilat (0.65 mL, 1.43 mmol). Zatim se ledeno kupatilo zameni uljanim, reakciona smeša se zagreva na temperaturi ključanja u toku 4 h, a zatim se upari i dva puta prečisti fleš hromatografijom (prvo sa sistemom 4:1 Et₂O/PE, a zatim sa čistim CH₂Cl₂). Pri tome je dobijen oksetan **49** (0.049 g, 37%) kao bezbojna čvrsta masa. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijeni su beli igličasti kristali tt 145–147 °C, [α]_D=+46.0 (c 0.5, CHCl₃), R_f=0.39 CH₂Cl₂.

IR (CHCl₃): ν_{max} 1804 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.83 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.0 Hz, H-2a), 2.92 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.0, J_{2b,3}=4.1 Hz, H-2b), 4.83 (dd, 1 H, J_{5,6}=4.2, J_{6,7}=2.5 Hz, H-6), 5.08 (d, 1 H, J_{3,4}=3.6 Hz, H-4), 5.37 (dd, 1 H, J_{2b,3}=4.1, J_{3,4}=3.6 Hz, H-3), 5.49 (d, 1 H, J_{5,6}=4.2 Hz, H-5), 5.52 (d, 1 H, J_{6,7}=2.5 Hz, H-7), 7.30–7.49 (m, 5 H, Ph). *NOE* Kontakt: H-3 i H-7.

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.02 (C-2), 79.22 (C-3), 84.90 (C-4), 85.06 (C-6), 85.29 (C-5), 89.10 (C-7), 124.99, 128.49, 128.83, 138.55 (Ph), 174.13 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 233.0813 ($M^+ + H$), izračunato za $C_{13}H_{13}O_4$: 233.0808.

4.41. 3,6-Anhidro-7-azido-2,7-dideoksi-7-C-fenil-D-glicero-D-ido- (47), L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (48) i (3aR,5S,6S,7S,7aR)-5-azido-7-hidroksi-6-fenil-heksahidrofuro[3,2-b]piran-2-on (50)

U ohladjeni rastvor (0 °C) jedinjenja **49** (0.042 g, 0.18 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (1 mL), dodat je Me_3SiN_3 (0.12 mL, 0.90 mmol) i $BF_3 \times Et_2O$ (0.03 mL, 0.24 mmol). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 4 h, a zatim se neutrališe dokapavanjem Et_3N (0.05 mL, 0.33 mmol) i mešanje se nastavi još 0.5 h. U reakcionu smešu je dodata voda (20 mL), dobijena emulzija je ekstrahovana sa CH_2Cl_2 , osušena i uparena. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 $CH_2Cl_2/EtOAc$), pri čemu je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **49** (0.006 g, 14%), a potom smeša proizvoda **50**, **47** i **48** (0.031 g), koja je naknadno razdvojena preparativnom TLC (Et_2O ; 2× razvijeno). Dobijeno je čisto jedinjenje **50** (0.006 g, 12%) u obliku kristalne mase, koja nakon rekristalizacije iz sistema CH_2Cl_2 /heksan daje igličaste kristale, tt 185–186 °C, $[\alpha]_D = +225.8$ (c 0.4, $CHCl_3$); $R_f = 0.25$ (9:1 $CH_2Cl_2/EtOAc$). Čisto jedinjenje **47** (0.005 g, 10%) dobijeno je u obliku bezbojnog ulja, koje nakon kristalizacije iz sistema CH_2Cl_2 /heksan daje bezbojne iglice, tt 137–138 °C, $[\alpha]_D = -75.2$ (c 0.25, $CHCl_3$); $R_f = 0.66$ (Et_2O). Takođe je dobijeno čisto jedinjenje **48** (0.012 g, 24%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz smese CH_2Cl_2 /heksan u obliku bezbojnih pločica, tt 133–134 °C, $[\alpha]_D = +149.2$ (c 0.25, $CHCl_3$); $R_f = 0.59$ (Et_2O).

Spektroskopski podaci za sporedni proizvod **50**:

IR (film): ν_{max} 3439 (OH), 2105 (N_3), 1774 (C=O).

1H NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 1.83 (bs, 1 H, OH), 2.70 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 12.4$, $J_{6,7} = 8.3$ Hz, H-6), 2.73 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.7$ Hz, H-2a), 2.98 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.7$, $J_{2b,3} = 6.9$ Hz, H-2b), 4.23 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 5.9$, $J_{5,6} = 12.4$ Hz, H-5), 4.58 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 4.9$, $J_{4,5} = 5.7$ Hz, H-4), 4.93 (dd, 1 H, $J_{2b,3} = 6.4$, $J_{3,4} = 5.0$, H-3), 5.37 (d, 1 H, $J_{6,7} = 8.3$ Hz, H-7), 7.20–7.48 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 35.06 (C-2), 50.68 (C-6), 68.49 (C-3), 71.64 (C-5), 85.34 (C-4), 93.06 (C-7), 128.51, 128.57, 129.46 i 135.71 (Ph), 174.29 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 293.1243 ($M^+ + NH_4$), izračunato za $C_{13}H_{17}N_4O_4$: 293.1244.

Spektroskopski podaci proizvoda **47** i **48** su dati u postupku 4.38.

4.42. 10-fenil-3a,3b,5,10,10a,11a-heksahidro-1H-3,4,11-trioksa-benzo[f]ciklopenta[a]azulen-2-on (oksepan 31)

Rastvor jedinjenja **21** (0.084 g, 0.25 mmol) u TFA (2.5 mL) je mešan u atmosferi argona, na 77 °C u toku 2 h, nakon čega je uparen azeotropnom destilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **31** (0.031 g, 39%) u obliku bledo žutog sirupa. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, tt 218–221 °C, $[\alpha]_D^{20} = +54.8$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.2$ (CH₂Cl₂).

Spektroskopski podaci jedinjenja **31** su dati u postupku 4.25.

4.43. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-C-fenil-7-C-(2-metil-fenil)-D-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (51)

Rastvoru jedinjenja **31** (0.073 g, 0.23 mmol) u metanolu (1.8 mL) dodat je 10% Pd/C (0.033 g, ~0.02 mmol) i voda (0.015 mL, 50% na masu paladijuma). Reakciona smeša je mešana na sobnoj temperaturi u atmosferi H₂ u toku 139 h, a zatim je filtrirana preko celita i uparena. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **31** (0.031 g, 42%). Zatim je sa kolone eluiran čist proizvod **51** (0.033 g, 46%) u obliku bezbojnog sirupa. Kristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijeni su beli štapići, tt 141–142 °C, $[\alpha]_D^{20} = +115.0$ (*c* 1.0, CHCl₃), $R_f = 0.25$ (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 3451 (OH), 1784 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.98 (bs, 1 H, OH), 2.38 (s, 3 H, Me), 2.61 (dd, 1 H, $J_{2a,3} = 1.7$, $J_{2a,2b} = 18.9$ Hz, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2b,3} = 5.5$, $J_{2a,2b} = 18.9$ Hz, H-2b), 4.30 (d, 1 H, $J_{5,6} = 2.4$ Hz, H-5), 4.48 (d, 1 H, $J_{6,7} = 10.2$ Hz, H-7), 4.79 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 10.2$, $J_{5,6} = 2.6$ Hz, H-6), 4.83 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.8$ Hz, H-4), 5.02 (m, 1 H, H-3), 7.12–7.40 (m, 8 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 19.88 (Me), 35.91 (C-2), 45.78 (C-7), 74.01 (C-5), 76.61 (C-3), 83.97 (C-6), 87.50 (C-4), 126.40, 126.55, 126.83, 128.35, 128.39, 130.94, 136.12, 139.38, 141.24 (Ph), 175.71 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 325.1423 (M⁺+H), izračunato za C₂₀H₂₁O₄: 325.1434.

4.44. 3-O-Benzil-5-deoksi-5-C-fenil-D-ksilo-pentofuranoza (52)

Rastvor kristalnog jedinjenja **15** (0.386 g, 1.13 mmol) u 90% TFA (4 mL) meša se na sobnoj temperaturi u toku 0.5 h, a zatim se koncentruje kodestilacijom sa toluenom. Ostatak je prečišćen fleš hromatografijom (7:3 Et₂O/PE). Dobijeno je čisto jedinjenje **52** (0.159 g, 47%) u obliku belih igličastih kristala, koji su nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan pokazivali *t*_t 85–86 °C i $[\alpha]_D = -14.5 \rightarrow -19.5$ (*c* 0.4, CHCl₃, 70 h), odnos anomera (iz ¹H NMR): α/β=13:5, *R*_f=0.55 (Et₂O).

IR (KBr): ν_{\max} 3453 (OH).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.91–3.21 (m, 2 H, H-5α, H-5β), 3.60–4.75 (m, H-2α, H-2β, H-3α, H-3β, H-4α, H-4β, H-5α, H-5β), 5.15 (s, 0.38 H, H-1β), 5.49 (d, 1 H, *J*_{1,2}=3.8 Hz, H-1α), 7.18–7.51 (m, 10 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.02 (C-5α), 35.87 (C-5β), 71.60 (CH₂Ph-α), 72.18 (CH₂Ph-β), 74.43, 77.24, 79.70, 82.01, 82.48 i 83.29 (C-2α, C-2β, C-3α, C-3β, C-4α, C-4β), 95.81 (C-1α), 102.92 (C-1β), 126.12, 127.60, 127.69, 127.75, 127.86, 127.94, 128.00, 128.09, 128.21, 128.32, 128.42, 128.51, 129.07, 137.58 i 138.07 (2×Ph).

HRMS (ESI): *m/e* 323.1247 (M⁺+Na), izračunato za C₁₈H₂₀NaO₄: 323.1254; *m/e* 339.0984 (M⁺+K), izračunato za C₁₈H₂₀KO₄: 339.0993.

4.45. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-2,7-dideoksi-7-C-fenil-D-gluko-heptono-1,4-lakton (53)

U rastvor jedinjenja **52** (0.065 g, 0.22 mmol) u anhidrovanom DMF (1 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (0.066 g, 0.46 mmol) i Et₃N (0.06 mL, 0.43 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 49 h. Rastvarač je uparen, a ostatak prečišćen fleš hromatografijom (1:1 Et₂O/cikloheksan). Pri tome je dobijen čist proizvod **53** (0.056 g, 80%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijeni su igličasti kristali, *t*_t 96–98 °C; $[\alpha]_D = +6.8$ (*c* 0.9, CHCl₃); *R*_f=0.24 (49:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1787 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.64 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.9, *J*_{2a,3}=1.1 Hz, H-2a), 2.75 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.9, *J*_{2b,3}=5.8 Hz, H-2b), 3.03 (d, 2 H, *J*_{6,7}=7.1 Hz, CH₂Ph), 3.99 (d, 1 H, *J*_{5,6}=3.1 Hz, H-5), 4.27 (td, 1 H, *J*_{5,6}=3.1, *J*_{6,7}=7.1 Hz, H-6), 4.57 i 4.69 (2×d, 2 H, *J*_{gem}=11.7 Hz, OCH₂Ph), 4.94 (d, 1

H, $J_{3,4}=4.7$ Hz, H-4), 5.00 (m, 1 H, $J_{2a,3}=1.1$, $J_{2b,3}=5.8$, $J_{3,4}=4.7$ Hz, H-3), 7.16–7.50 (m, 10 H, 2×Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 34.45 (CH_2Ph), 35.87 (C-2), 72.46 (OCH_2Ph), 76.32 (C-3), 81.09 (C-5), 81.55 (C-6), 84.83 (C-4), 126.46, 127.82, 128.16, 128.46, 128.59, 128.99, 137.04 i 137.74 (2×Ph) i 175.54 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 325.1446 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4$: 325.1434; m/e 347.1267 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$: 347.1254.

4.46. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-2,7-dideoksi-7-C-fenil-6-O-metil-D-ido- (54) i L-gluko-heptono-1,4-lakton (55)

Rastvoru jedinjenja **28** (0.093 g, 0.29 mmol) u metanolu (2 mL) dodat je PtO_2 (0.003 g, 0.007 mmol). Reakciona smeša je mešana u atmosferi H_2 na sobnoj temperaturi u toku 15 dana, zatim je uparena, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (CH_2Cl_2). Sa kolone je prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **28** (0.009 g, 10%), a zatim i sporedni proizvod **54** (0.014 g, 14%) u obliku bezbojnog sirupa. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijeni su beli pločasti kristali, t_f 135–138 °C, $[\alpha]_D=-34.6$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f=0.46$ (3:2 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$). Nakon toga je eluiran glavni proizvod **55** (0.027 g, 26%) u obliku bezbojnog sirupa. Kristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijeni su beli ljustasti kristali, t_f 75–77 °C, $[\alpha]_D=+7.6$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f=0.29$ (3:2 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

Spektroskopski podaci za sporedni proizvod **54**:

IR (KBr): ν_{max} 1779 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.68 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2a,3}=2.3$ Hz, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2b,3}=6.9$ Hz, H-2b), 3.12 i 3.33 (2×d, 2 H, $J_{7a,7b}=15.4$ Hz, 2×H-7), 3.36 (OCH_3), 3.98 (s, 1 H, H-5), 4.32 i 4.45 (2×d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.4$ Hz, PhCH_2), 4.90 (d, 1 H, $J_{3,4}=5.9$ Hz, H-4), 5.13 (m, 1 H, $J_{2a,3}=2.4$, $J_{3,4}=6.5$, $J_{2b,3}=6.8$ Hz, H-3), 7.07–7.42 (m, 10 H, 2×Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 34.32 (C-7), 36.29 (C-2), 48.93 (OMe), 72.34 (CH_2Ph), 77.17 (C-3), 83.99 i 84.10 (C-5 i C-4), 112.16 (C-6), 126.48, 127.95, 128.10, 128.25, 128.49, 129.40, 135.80 i 136.60 (2×Ph), 174.95 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 372.1788 (M^+NH_4), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{NO}_5$: 372.1806.

Spektroskopski podaci za glavni proizvod **55**:

IR (KBr): ν_{\max} 1772 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.56 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2a,3}=2.1$ Hz, H-2a), 2.70 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2b,3}=7.3$ Hz, H-2b), 2.82 i 3.17 (2xd, 2 H, $J_{7a,7b}=14.1$ Hz, 2xH-7), 3.45 (OCH₃), 3.64 (d, 1 H, $J_{4,5}=3.3$ Hz, H-5), 4.32 i 4.71 (2xd, 2 H, $J_{gem}=11.9$ Hz, PhCH₂), 4.82 (m, 1 H, H-3), 4.98 (dd, 1 H, $J_{3,4}=6.0$, $J_{4,5}=3.3$ Hz, H-4), 6.80–7.59 (m, 10 H, 2xPh).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 34.57 (C-7), 37.25 (C-2), 48.53 (OMe), 72.36 (CH₂Ph), 74.02 (C-3), 84.28 (C-5), 87.20 (C-4), 106.99 (C-6), 126.79, 128.16, 128.49, 128.98, 130.00, 134.69 i 136.50 (2xPh), 174.83 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 372.1808 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{NO}_5$: 372.1806; m/e 377.1356 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NaO}_5$: 377.1359.

4.47. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7-C-fenil-5-O-metil-D-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (57)

Rastvor jedinjenja **9** (0.59 g, 2.10 mmol) u 90% TFA (6 mL) meša se na sobnoj temperaturi u toku 0.5 h. Reakciona smeša se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 EtOAc/toluen), pri čemu je dobijen čist laktol **56** (0.499 g, 99%) u obliku belih kristala, $R_f=0.22$ (3:7 toluen/EtOAc). Jedinjenju **56** (0.183 g, 0.76 mmol) u anhidrovanom DMF (2.5 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (0.333 g, 2.31 mmol) i Et₃N (0.32 mL, 2.30 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 74 h i uparena kodestilacijom sa toluenom. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (7:3 toluen/EtOAc) pri čemu je dobijen čist **57** (0.082 g, 41%) kao bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{25}=+5.5$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f=0.23$ (7:3 Et₂O/PE).

IR (CHCl_3): ν_{\max} 3482 (OH), 1786 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.63 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.3$ Hz, H-2a), 2.69 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2b,3}=5.6$ Hz, H-2b), 3.20 (bs, 1 H, OH), 3.48 (s, 3 H, OCH₃), 4.01 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.6$ Hz, H-5), 4.61 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.6$, $J_{6,7}=7.0$ Hz, H-6), 4.88–5.01 (m, 3 H, $J_{3,4}=4.6$ Hz, H-4, H-7 i H-3), 7.26–7.49 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.70 (C-2), 58.28 (OCH₃), 71.78 (C-7), 77.00 (C-3), 82.96 (C-6), 83.84 (C-5), 83.96 (C-4), 126.11, 127.78, 128.31 i 141.05 (Ph), 175.27 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 282.1334 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_5$: 282.1336.

4.48. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7-C-fenil-5-O-metil-L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (59)

Rastvor jedinjenja **8** (0.482 g, 1.72 mmol) u 90% aq. TFA (5 mL) meša se na sobnoj temperaturi 0.5 h. Reakciona smeša se zatim uparava kodestilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 toluen/EtOAc), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **58** (0.333 g, 81%) u vidu kristalne mase, $R_f=0.26$ (1:1 toluen/EtOAc). U rastvor jedinjenja **58** (0.967 g, 4.03 mmol) u anhidrovanom DMF (13 mL) dodata je Meldrum-ova kiselina (1.744 g, 12.10 mmol) i Et_3N (1.7 mL, 12.08 mmol). Reakciona smeša je mešana na 46 °C u toku 70 h. Rastvarač je udaljen uparavanjem, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (4:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$). Dobijen je čist lakton **59** (0.488 g, 46%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ dobijene su iglice, t_f 144–146 °C, $[\alpha]_D^{25}=+122.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f=0.36$ (Et_2O).

IR (KBr): ν_{max} 3450 (OH), 1783 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.63 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=18.8$ Hz, H-2a), 2.72 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=18.9$, $J_{2a,3}=4.9$ Hz, H-2b), 2.99 (bs, 1 H, OH), 3.29 (s, 3 H, OCH_3), 3.52 (d, 1 H, $J_{5,6}=3.7$ Hz, H-5), 4.61 (dd, 1 H, $J_{5,6}=3.8$, $J_{6,7}=7.1$ Hz, H-6), 4.87 (d, 1 H, $J_{3,4}=4.6$ Hz, H-4), 4.94 (d, 1 H, $J_{6,7}=7.1$ Hz, H-7), 5.00 (m, 1 H, H-3), 7.20–7.44 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.79 (C-2), 57.86 (OCH_3), 72.54 (C-7), 77.24 (C-3), 83.31 (C-5), 84.26 (C-4), 84.66 (C-6), 126.72, 128.05, 128.25 i 139.73 (Ph), 175.27 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 282.1343 (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_5$: 282.1336.

4.49. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7-C-fenil-5-O-metil-D-ido-hept-7-ulozono-1,4-lakton (60)

(A) Rastvoru jedinjenja **57** (0.17 g, 0.64 mmol) u anhidrovanom metilen-hloridu (17 mL) doda se PCC (0.355 g, 1.64 mmol). Reakciona smeša se meša na temperaturi ključanja u toku 2.5 h, a nakon toga se upari sa silikagelom. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$), pri čemu je izolovano čisto jedinjenje **60** (0.168 g, 99%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$ dobijene su iglice, t_f 135–136 °C, $[\alpha]_D^{25}=+27.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f=0.30$ (4:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

(B) Rastvoru jedinjenja **59** (0.149 g, 0.56 mmol) u anhidrovanom metilen-hloridu (15 mL) se doda PCC (0.31 g, 1.46 mmol). Reakciona smeša se meša na temperaturi ključanja u toku 2 h, a nakon

toga se upari sa silikagelom. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 Et₂O/PE), pri čemu je izolovano čisto jedinjenje **60** (0.134 g, 91%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su iglice, *tt* 135–136 °C, [α]_D=+27.4 (*c* 0.5, CHCl₃), R_f=0.30 (4:1 Et₂O/PE).

IR (KBr): ν_{max} 1779 (C=O, lakton), 1698 (PhC=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.63 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.4 Hz, H-2a), 2.72 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.6, J_{2b,3}=4.5 Hz, H-2b), 3.12 (s, 3 H, OCH₃), 4.43 (d, 1 H, J_{5,6}=5.1 Hz, H-5), 4.94 (d, 1 H, J_{3,4}=4.0 Hz, H-4), 5.19 (m, 1 H, J=4.3 Hz, H-3), 5.56 (d, 1 H, J_{5,6}=5.1 Hz, H-6), 7.32–7.92 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.86 (C-2), 58.47 (OCH₃), 78.19 (C-3), 83.24 (C-6), 84.56 (C-4), 85.27 (C-5), 127.55, 128.47, 133.13 i 135.65 (Ph), 174.72 (C-1), 194.35 (C-7).

HRMS (ESI): *m/e* 263.0909 (M⁺+H), izračunato za C₁₄H₁₅O₅: 263.0914; *m/e* 280.1175 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₁₈NO₅: 280.1180; *m/e* 285.0729 (M⁺+Na), izračunato za C₁₄H₁₄NaO₅: 285.0733; *m/e* 301.0476 (M⁺+K), izračunato za C₁₄H₁₄KO₅: 301.0473.

4.50. 3,6-Anhidro-2-deoksi-7-C-difenil-7-hidroksi-5-O-metil-D-ido-heptono-1,4-lakton (**61**)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **60** (0.11 g, 0.42 mmol) u anhidrovanom THF (2 mL) dodat je rastvor PhMgBr* (0.46 mL, 0.46 mmol) u anhidrovanom THF. Reakciona smeša je mešana u atmosferi azota na 0 °C u toku 1.5 h, a zatim je izlivena u hladan rastvor NH₄Cl (15 mL) i ekstrahovana sa CH₂Cl₂ (2×10 mL). Spojeni ekstrakti se isperu sa rastvorom NaCl (15 mL), osuše i upare. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 Et₂O/PE), pri čemu je dobijena smeša proizvoda **61** i polaznog jedinjenja **60** (0.093 g), koja je ponovo prečišćena na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Sa kolone je prvo eluiran čist proizvod **61** (0.05 g, 35%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema Et₂O/heksan dobijene su iglice, *tt* 122–125 °C, [α]_D=–18.6 (*c* 1.0, CHCl₃), R_f=0.35 (24:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Potom je eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **60** (0.039 g, 35%).

IR (KBr): ν_{max} 3424 (OH), 1738 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.78 (d, 2 H, J_{2,3}=3.4 Hz, H-2), 3.13 (s, 3 H, OCH₃), 3.80 (d, 1 H, J_{5,6}=3.5 Hz, H-5), 4.70 (s, 1 H, OH, signal nestaje nakon tretmana sa D₂O), 4.84 (d, 1 H, J_{3,4}=4.4 Hz, H-4), 5.04 (d, 1 H, J_{5,6}=3.5 Hz, H-6), 5.12 (m, 1 H, H-3), 7.14–7.56 (m, 10 H, 2×Ph).

* Postupak za pripremanje Grignard-ovog reagensa opisan je u fusnoti na strani 104.

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.95 (C-2), 58.38 (OCH_3), 77.83 (C-3), 78.23 (C-7), 82.70 (C-6), 83.56 (C-4), 85.14 (C-5), 124.95, 125.95, 126.93, 126.96, 128.05, 128.20, 144.29 i 145.50 ($2\times\text{Ph}$), 175.16 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 323.1274 ($\text{M}^+\text{H}-\text{H}_2\text{O}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_4$: 323.1278; m/e 363.1200 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NaO}_5$: 363.1203.

4.51. (3aR, 6R, 6aS, Z)-5-Benziliden-6-metoksi-tetrahidrofuro-[3,2-b]-furan-2(5H)-on (62)

(A) Jedinjenju **57** (0.054 g, 0.20 mmol) u anhidrovanom benzenu (1 mL) dodat je rastvor $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ u nitrometanu (1 mg/1 mL). Reakciona smeša se meša na temperaturi ključanja u toku 18.5 h, a nakon toga se izlije u vodu (10 mL), ekstrahuje sa Et_2O (4×5 mL), osuši i upari. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (19:1 toluen/ EtOAc), pri čemu je izolovano čisto jedinjenje **62** (0.013 g, 26%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijene su iglice, t_t 94–95 °C, $[\alpha]_D^{25} = -49.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.22$ (7:3 CH_2Cl_2 /PE). Takodje je izolovano i neizreagovalo polazno jedinjenje **57** (0.015 g, 28%).

(B) Jedinjenju **59** (0.038 g, 0.14 mmol) u anhidrovanom benzenu (1.5 mL) dodat je rastvor $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ u nitrometanu (1.5 mg/1.5 mL). Reakciona smeša se meša na temperaturi ključanja u toku 20 h, a nakon toga se izlije u vodu (10 mL), ekstrahuje sa Et_2O (4×5 mL), osuši i upari. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (9:1 toluen/ EtOAc), pri čemu je izolovano čisto jedinjenje **62** (0.011 g, 31%) u obliku belih kristala. Nakon rekristalizacije iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijene su bezbojne iglice, t_t 94–95 °C, $[\alpha]_D^{25} = -49.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.22$ (7:3 CH_2Cl_2 /PE). Takodje je izolovano i neizreagovalo polazno jedinjenje **59** (0.004 g, 11%).

IR (film): ν_{max} 1790 (C=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.78 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.6$, $J_{2a,3} = 4.6$ Hz, H-2a), 2.93 (bd, 1 H, $J_{2a,2b} = 18.6$ Hz, H-2b), 3.47 (s, 3 H, OCH_3), 4.38 (s, 1 H, H-5), 4.90 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.8$ Hz, H-4), 5.33 (m, 1 H, H-3), 5.56 (s, 1 H, H-7), 7.15–7.62 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.81 (C-2), 56.41 (OCH_3), 80.85 (C-3), 83.23 (C-5), 83.79 (C-4), 105.53 (C-7), 126.51, 128.27, 128.29 i 134.65 (Ph), 151.71 (C-6), 173.79 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 247.0960 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_4$: 247.0965; m/e 269.0778 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{NaO}_4$: 269.0784.

4.52. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-7-O-benzoil-2-deoksi-7-C-fenil-L-glicero-L-ido-heptono-1,4-lakton (*ent*-23)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja *ent*-**19**^{93,94} (0.171 g, 0.50 mmol) u anhidrovanom piridinu (3 mL) doda se BzCl (0.35 mL, 3.01 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 20 h, zatim se izlije u 10% NaHCO₃ (30 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (2×30 mL). Organske faze se spoje i isperu prvo sa 1:2 HCl/H₂O (40 mL), a zatim sa 10% NaHCO₃ (30 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (1:1 PE/Et₂O), pri čemu je dobijen čist proizvod *ent*-**23** (0.211 g, 94%) u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistem CH₂Cl₂/heksan dobijaju se beli paperjasti kristali, *t*_m 179 °C; [α]_D = -60.0 (*c* 0.5, CHCl₃), R_f = 0.46 (7:3 PE/EtOAc).

IR (KBr): ν_{max} . 1791 (C=O, lakton), 1707 (PhC=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.58 (d, 1 H, $J_{2a,2b}$ = 18.4 Hz, H-2a), 2.69 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}$ = 18.4, $J_{2b,3}$ = 4.8 Hz, H-2b), 4.39 (d, 1 H, $J_{5,6}$ = 3.3 Hz, H-5), 4.50 i 4.61 (2×d, 2 H, J_{gem} = 11.6 Hz, PhCH₂), 4.56 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ = 3.3, $J_{6,7}$ = 9.2 Hz, H-6), 4.94–5.03 (m, 2 H, H-3 i H-4), 6.22 (d, 1 H, H-7), 7.12–8.03 (m, 15 H, 3×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 35.86 (C-2), 72.62 (C-7), 72.96 (PhCH₂), 77.38 (C-3), 80.18 (C-5), 82.11 (C-6), 84.54 (C-4), 127.47, 128.20, 128.29, 128.43, 128.49, 128.54, 129.61, 129.86, 133.15, 136.26 i 137.92 (3×Ph), 164.53 (PhC=O), 175.24 (C-1).

LRMS (ESI): *m/e* 483.1 (M⁺+K), 467.2 (M⁺+Na).

HRMS (ESI): *m/e* 467.1460 (M⁺+Na), izračunato za C₂₇H₂₄NaO₆: 467.1465.

4.53. 3,6-Anhidro-5-O-benzil-7-O-benzoil-2-deoksi-7-C-fenil-D-glicero-L-ido-heptono-1,4-lakton (*ent*-25)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja *ent*-**21**⁹³ (0.362 g, 1.06 mmol) u anhidrovanom piridinu (7 mL) se doda BzCl (0.75 mL, 6.46 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 18 h, zatim se izlije u 10% NaHCO₃ (40 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (2×40 mL). Organske faze se spoje i isperu prvo sa 1:2 HCl/H₂O (50 mL), a zatim i sa 10% NaHCO₃ (40 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 PE/Et₂O), pri čemu je dobijen čist proizvod *ent*-**25**

(0.322 g, 68%) u obliku belih kristala. Rekristalizacijom iz sistem CH_2Cl_2 /heksan dobijaju se bezbojne pločice, t_f 148 °C; $[\alpha]_D^{20} = -10.0$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.37$ (3:2 Et_2O /heksan).

IR (KBr): ν_{max} 1783 (C=O, lakton), 1717 (PhC=O).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.71–2.78 (m, 2 H, 2×H-2), 3.82 (d, 1 H, $J_{5,6} = 3.7$ Hz, H-5), 4.31 i 4.40 (2×d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, CH_2Ph), 4.66 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 3.8$, $J_{6,7} = 8.3$ Hz, H-6), 4.85 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.6$ Hz, H-4), 5.12 (m, 1 H, H-3), 6.34 (d, 1 H, $J_{6,7} = 8.3$ Hz, H-7), 7.21–8.11 (m, 15 H, 3×Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 35.94 (C-2), 72.53 (CH_2Ph), 75.20 (C-7), 77.52 (C-3), 81.44 (C-5), 82.72 (C-6), 84.45 (C-4), 127.58, 127.95, 128.16, 128.38, 128.60, 129.48, 130.00, 132.82, 136.53, 136.64 (3×Ph), 165.23 (C=O iz Bz), 175.19 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 462.1910 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{NO}_6$: 462.1911.

4.54. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-C-fenil-L-gluko-heptono-1,4-lakton (*ent*-45) i oksepan (*ent*-31)

(A) Ohladjenom (−18 °C) rastvoru jedinjenja *ent*-23 (0.11 g, 0.25 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (4 mL) doda se ohladjeni (−18 °C) rastvor TiF_4 (0.082 g, 0.62 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (2.5 mL). Reakciona smeša se ostavi na −18 °C u toku 7 dana, a nakon toga se izlije u ledenu vodu (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×8 mL), organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO_3 (15 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$), pri čemu je sa kolone prvo eluiran sporedni proizvod *ent*-31 (0.029 g, 36%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijene su bele iglice, t_f 222–224 °C, $[\alpha]_D^{20} = -53.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.2$ (CH_2Cl_2). Zatim je eluiran čist glavni proizvod *ent*-45 (0.027 g, 47%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH_2Cl_2 /heksan u obliku belih iglica, t_f 139 °C, $[\alpha]_D^{20} = -65.0$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.24$ (4:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).

(B) Ohladjenom (−18 °C) rastvoru jedinjenja *ent*-25 (0.07 g, 0.16 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (3.5 mL) doda se ohladjeni (−18 °C) rastvor TiF_4 (0.056 g, 0.39 mmol) u anhidrovanom CH_2Cl_2 (0.6 mL). Reakciona smeša se ostavi na −18 °C u toku 14 dana. Nakon toga reakciona smeša se izlije u smešu leda i vode (15 mL). Nastala suspenzija se ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×8 mL), organske faze se isperu sa 10%-nim NaHCO_3 (15 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$), pri čemu je sa kolone prvo eluiran glavni proizvod *ent*-31 (0.021 g, 42%) u obliku bele kristalne mase. Rekristalizacijom iz sistema CH_2Cl_2 /heksan dobijene su bele iglice, t_f 222–224 °C, $[\alpha]_D^{20} = -53.4$ (c 0.5, CHCl_3), $R_f = 0.2$ (CH_2Cl_2). Nakon toga je eluiran čist

sporedni proizvod **ent-45** (0.012 g, 33%) u obliku bezbojnog ulja, koje kristališe iz sistema CH₂Cl₂/heksan u obliku belih iglica, *t*_m 139 °C, [α]_D²⁰ = -65.0 (*c* 0.5, CHCl₃), R_f = 0.24 (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

Spektroskopski podaci za proizvod **ent-31**:

IR (KBr): ν_{max} 1784 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.68 (d, 2 H, *J*_{2,3} = 3.0 Hz, H-2a i H-2b), 4.35 (bs, 1 H, H-5), 4.68–5.05 (m, 5 H, H-6, H-7, H-3, H-4 i H-10a), 5.26 (d, 1 H, *J*_{10a,10b} = 13.9 Hz, H-10b), 6.80 (d, 1 H, *J* = 7.2 Hz, Ar-H), 7.10–7.50 (m, 8 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 36.14 (C-2), 49.28 (C-7), 71.78 (C-10), 77.51 (C-3), 79.64 (C-5), 83.17 (C-6), 86.93 (C-4), 127.13, 127.25, 127.98, 128.20, 128.76, 128.89, 129.18, 129.26, 135.36, 138.38, 138.91 (2×Ph), 175.23 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 340.1548 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₀H₂₂NO₄: 340.1543.

Spektroskopski podaci za proizvod **ent-45**:

IR (film): ν_{max} 3423 (OH), 1785 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.61 (bd, 1 H, *J*_{2a,2b} = 18.9, *J*_{2a,3} = 1 Hz, H-2a), 2.75 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b} = 18.9, *J*_{2b,3} = 6.1 Hz, H-2b), 2.99 (d, 2 H, *J*_{6,7} = 6.8 Hz, PhCH₂), 4.13 (td, 1 H, *J*_{5,6} = 2.7, *J*_{6,7} = 6.8 Hz, H-6), 4.24 (bd, 1 H, *J*_{5,6} = 2.7 Hz, H-5), 4.88 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.7 Hz, H-4), 4.99 (m, 1 H, *J*_{3,4} = 4.7, *J*_{2b,3} = 6.1, *J*_{2a,3} = 1.0 Hz, H-3), 7.19–7.36 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 34.18 (C-7), 35.82 (C-2), 73.82 (C-5), 76.03 (C-3), 81.43 (C-6), 87.77 (C-4), 126.60, 128.54, 128.96 i 137.33 (Ph), 175.99 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 235.0955 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₅O₄: 235.0965; *m/e* 257.0780 (M⁺+Na), izračunato za C₁₃H₁₄NaO₄: 257.0784.

4.55. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-*C*-fenil-7-*C*-(2-metil-fenil)-*L*-glicero-*L*-ido-heptono-1,4-lakton (**ent-51**)

U rastvor jedinjenja **ent-31** (0.039 g, 0.12 mmol) u metanolu (1 mL) dodat je 10% Pd/C (0.019 g, ~0.01 mmol). Reakciona smeša je mešana u atmosferi H₂ u toku 8 dana, a zatim je filtrirana preko celita i uparena. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu je sa kolone prvo eluirano neizreagovalo polazno jedinjenje **ent-31** (0.009 g, 23%). Zatim je sa kolone

eluiran čist proizvod *ent-51* (0.027 g, 69%) u obliku bezbojnog sirupa. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele pločice, *tt* 142–144 °C, $[\alpha]_D^{25} = -129.8$ (*c* 1.0, CHCl₃), *R_f*=0.25 (19:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 3449 (OH), 1785 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.09 (s, 1 H, OH), 2.38 (s, 3 H, Me), 2.61 (dd, 1 H, *J*_{2a,3}=1.6, *J*_{2a,2b}=18.8 Hz, H-2a), 2.72 (dd, 1 H, *J*_{2b,3}=5.6, *J*_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2b), 4.32 (d, 1 H, *J*_{5,6}=2.2 Hz, H-5), 4.46 (d, 1 H, *J*_{6,7}=10.2 Hz, H-7), 4.79 (dd, 1 H, *J*_{6,7}=10.2, *J*_{5,6}=2.2 Hz, H-6), 4.86 (d, 1 H, *J*_{3,4}=4.5 Hz, H-4), 5.03 (m, 1 H, H-3), 7.12–7.40 (m, 8 H, 2×Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 19.89 (Me), 35.94 (C-2), 45.82 (C-7), 74.08 (C-5), 76.65 (C-3), 84.02 (C-6), 87.51 (C-4), 126.42, 126.57, 126.85, 128.37, 128.40, 130.98, 136.15, 139.39, 141.26 (Ph), 175.67 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 649.2778 (2M⁺+H), izračunato za C₄₀H₄₁O₈: 649.2796.

4.56. 3,6-Anhidro-5-*O*-benzil-2,7-dideoksi-7-*C*-fenil-*L*-gluko-heptono-1,4-lakton (*ent-53*)

U rastvor jedinjenja *ent-21* (0.064 g, 0.19 mmol) u anhidrovanom toluenu (2 mL), doda se crveni fosfor (0.003 g, 0.09 mmol) i 57% aq. HI (0.08 mL, 0.61 mmol). Reakciona smeša je mešana na 80 °C u toku 13 h, nakon čega je izlivena u 10%-ni Na₂S₂O₃ (5 mL) i ekstrahovana sa CH₂Cl₂ (3×10 mL). Organske faze se osuše i upare, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 PE/Et₂O). Pri tome je dobijena smeša jodidnih derivata (0.018 g, 21%), koja je korišćena za dalji rad bez dodatnog prečišćavanja. U rastvor sirove smese (0.018 g) u anhidrovanom toluenu (1 mL) sukcesivno se dodaju Bu₃SnH (0.02 mL, 0.07 mmol) i AIBN (0.002 g, 0.01 mmol). Reakciona smeša je prvo mešana na 100 °C u toku 1.5 h, a zatim je uparena i prečišćena na koloni fleš silikagela (49:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Pri tome je dobijen čist proizvod *ent-53* (0.007 g, 54%) u obliku bele kristalne mase. Rekrystalizacijom iz sistema CH₂Cl₂/heksan dobijene su bele iglice, *tt* 97–99 °C; $[\alpha]_D^{25} = -9.2$ (*c* 0.5, CHCl₃); *R_f*=0.24 (49:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 1789 (C=O).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.63 (bd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.9 Hz, H-2a), 2.75 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b}=18.9, *J*_{2b,3}=5.5 Hz, H-2b), 3.03 (d, 2 H, *J*_{6,7}=7.0 Hz, CH₂Ph), 3.98 (d, 1 H, *J*_{5,6}=3.2 Hz, H-5), 4.27 (td, 1 H, *J*_{5,6}=3.2, *J*_{6,7}=6.9 Hz, H-6), 4.57 i 4.69 (2×d, 2 H, *J*_{gem}=11.8 Hz, OCH₂Ph), 4.93 (d, 1 H, *J*_{3,4}=3.7 Hz, H-4), 5.00 (m, 1 H, *J*_{2b,3}=5.5, *J*_{3,4}=3.7 Hz, H-3), 7.13–7.48 (m, 10 H, 2×Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 34.50 (C-7), 35.89 (C-2), 72.54 (CH_2Ph), 76.33 (C-3), 81.21 (C-5), 81.60 (C-6), 84.88 (C-4), 126.48, 127.84, 128.19, 128.50, 128.61, 128.70, 129.02, 137.09 i 137.79 ($2\times\text{Ph}$) i 175.45 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 325.1430 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4$: 325.1434; m/e 342.1694 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_4$: 342.1700; m/e 347.1244 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$: 347.1254.

5. ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji ostvarena je totalna sinteza 16 halogenidnih izostera prirodnih stiril-laktona tipa goniofufurona, polazeći iz D-glukoze. Prvo je sintetizovano osam direktnih izostera (+)-goniofufurona **I** od kojih su četiri sa slobodnom hidroksilnom grupom u položaju C-5 (**29**, **34**, **38** i **43**), dok četiri imaju benziletarsku grupu u istom položaju i predstavljaju lipofilnije derivate (**27**, **33**, **37** i **41**). Pored analoga (+)-goniofufurona, dobijeno je i osam izostera 7-*epi*-(+)-goniofufurona **II**, od kojih četiri takodje imaju slobodnu hidroksilnu grupu u položaju C-5 (**30**, **35**, **39** i **44**), a četiri lipofilnija derivata sadrže benziletarsku grupu u istom položaju (**26**, **32**, **36** i **42**). Za sintezu halogenidnih analoga pomenutih prirodnih proizvoda (**I** i **II**) bilo je neophodno prethodno sintetizovati pogodne intermedijere sa odgovarajućim strukturnim karakteristikama. Višefaznim hemijskim transformacijama D-glukoze dobijeni su ključni benzilni alkoholi **4** i **5** koji su daljim hemijskim transformacijama dali potrebne furanofuranonske skelete kod laktone **19**, **21**, **23** i **25**. Ovi su potom dejstvom titanijum(IV)-hlorida, ili titanijum(IV)-bromida prevedeni u hloridne, odnosno bromidne izostere. Za dobijanje jodidnih izostera, iskorišćena je Garreg-Samuelsson-ova reakcija, dok su fluoridne izostere dobijene dejstvom DAST na 5-*O*-benzil-derivate (+)-goniofufurona, odnosno 7-*epi*-(+)-goniofufurona.

U radu je dalje ostvarena sinteza azidnih izosternih analoga prirodnih proizvoda **I** i **II** (jedinjenja **47** i **48**) koji su dobijeni nukleofilnim otvaranjem oksetanskog prstena ključnih intermedijera **46** i **49** trimetilsilil-azidom u prisustvu bortrifluorid-eterata. Oksetani **46** i **49** su dobijeni dvofaznom sintetičkom sekvencom polazeći iz laktone **19** i **21**, koja je podrazumevala sukcesivno debenzilovanje praćeno intramolekulskom Mitsunobu-ovom ciklizacijom. Pored očekivanih direktnih azidnih izostera **47** i **48** dobijen je i azidni derivat **50** sa neobičnim piranofuranonskim sistemom prstena. Iako ovakav heterociklični skelet do sada nije nadjen u molekulima prirodnih stiril-laktone, molekul **50** predstavlja potencijalnu bioizosteru prirodnih proizvoda **I**, odnosno **II**.

Pored direktnih izostera u doktorskoj disertaciji je ostvarena sinteza više novih bioizostera (+)-goniofufurona (**I**) i 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**). Neobični benzoksepan **31** koji je dobijen kao sporedni proizvod u reakciji sa titanijum(IV)-hloridom, nezavisno je sintetizovan iz laktone **21** direktnom ciklizacijom u prisustvu TFA. Primenom strategije zatvaranja i otvaranja prstena dizajnirani su analozi sa otvorenim oksepanskim prstenom (**51** i **53**). Analog **51** dobijen je direktnim otvaranjem oksepanskog prstena **31** u uslovima hidrogenolize. U cilju dobijanja analoga **53**, bilo je potrebno započeti sintezu iz pogodnog intermedijera koji nema slobodnu hidroksilnu

grupu u položaju C-7. Višefaznim hemijskim transformacijama D-glukoze dobijen je intermedijer **15**, koji je nakon hidrolitičkog uklanjanja izopropilidenske zaštite, i bazno katalizovane kondenzacije rezultujućeg laktola sa Meldrum-ovom kiselinom preveden u željeni lakton **53**.

U cilju dobijanja trećeg analoga sa otvorenim oksepanskim prstenom, prvo su sintetizovani 5-*O*-metil-derivati prirodnih proizvoda **I** i **II**, (molekuli **57** i **59**). Za sintezu ovih izostera polazno jedinjenje je takodje bila D-glukoza, koja je višefaznim hemijskim transformacijama prevedena u ključne benzilne alkohole **8** i **9**. Nakon hidrolitičkog uklanjanja izopropilidenskih zaštitnih grupa i kondenzacije rezultujućih laktola sa Meldrum-ovom kiselinom, dobijeni su željeni 5-*O*-metil-derivati **57** i **59**. Daljom oksidacijom ovih laktona prvo je dobijen keton **60**, a zatim i difenilovani analog **61**, koji se od trećeg željenog analoga razlikuje u prisustvu hidroksilne grupe na C-7, koju ni posle brojnih pokušaja pri različitim reakcionim uslovima nije bilo moguće ukloniti.

Pored analoga iz (+)-serije u radu su sintetizovani i enantiomeri oksepana **31** (molekul *ent-31*) i odgovarajući analozi sa otvorenim oksepanskim prstenom (*ent-51* i *ent-53*). Naime, ove bioizostere neprirodnog (-)-goniofufurona, dobijene su polazeći iz enantiomernih laktona *ent-19* i *ent-21* koji su ranije sintetizovani u našoj laboratoriji. Primenom istih reakcionih uslova kao pri sintezi analoga (+)-enantiomerne serije dobijeni su oksepan *ent-31* i analog *ent-51*. Analog *ent-53* dobijen je primenom drugačijeg sintetičkog postupka. Naime, u reakciji **23** i **25** sa titanijum(IV)-fluoridom pored oksepana **31** i *ent-31* dobijeni su i deoksigenovani derivati **45** i *ent-45*. Zavisno od apsolutne konfiguracije sintetičkih prekursora na C-7 reakciju je moguće voditi u pravcu preferencijalnog dobijanja jednog ili drugog proizvoda, što predstavlja novi primer supstratom kontrolisane hemoselektivnosti.

Pored dizajna i sinteze izostera i bioizostera prirodnih proizvoda (+)-goniofufurona **I** 7-*epi*-(+)-goniofufurona **II**, dodatni važan zadatak ove disertacije bio je *in vitro* ispitivanje antitumorske aktivnosti svih sintetizovanih derivata (ukupno 33). U tom smislu, prvo je ispitan njihov uticaj na proliferaciju devet malignih (K562, HL-60, Jurkat, Raji, HT-29, MCF-7, MDA-MB 231, HeLa i A549) i jedne normalne ćelijske linije (MRC-5).

Prateći uticaj novosintetizovanih jedinjenja na inhibiciju rasta neoplastičnih ćelija možemo zaključiti da su ostvarene hemijske transformacije rezultovale dobijanjem novih izostera i bioizostera od kojih neke predstavljaju veoma efikasne antiproliferativne agense. Kao najpotentniji citotoksični agens pokazao se fluoridni analog **44** koji je prema Raji ćelijama (IC_{50} 0.03 μ M), ispoljio čak 99 puta jaču aktivnost od doksorubicina (IC_{50} 2.98 μ M). Drugo jedinjenje po efikasnosti je hlorid **30**, koje je prema K562 ćelijama (IC_{50} 0.11 μ M) bilo oko 2 puta aktivnije od doksorubicina, dok je prema Jurkat ćelijama (IC_{50} 0.03 μ M) pokazalo istu aktivnost kao doksorubicin. Bromid **34** se pokazao kao najpotentniji antiproliferativni agens prema HL-60

ćelijama (IC_{50} 0.11 μ M), čak 8 puta aktivniji od doksorubicina. Najpotentniji inhibitor rasta ćelija humanog kancera pluća (A549) je keton **60** (IC_{50} 2.58 μ M), koji je skoro dva puta aktivniji od doksorubicina. Veoma jaku aktivnost prema ćelijama HT-29, na koje je mali broj ispitivanih jedinjenja bio aktivan, ispoljio je benzoksepan **31** (IC_{50} 0.24 μ M). Jodid **39** je ispoljio najbolju aktivnost prema ćelijama MCF-7 (IC_{50} 1.28 μ M). HeLa ćelije su se pokazala najosetljivije na azid **48** (IC_{50} 0.12 μ M). Dok je 5-*O*-benzil-7-hloro derivat **26** ispoljilo najjaču aktivnost prema ćelijskoj liniji MDA-MB 231 (IC_{50} 1.11 μ M).

Na osnovu SAR analize može se zaključiti da uvođenje halogenidnih funkcija u molekul prirodnog proizvoda **I** vodi do veoma značajnih promena u antiproliferativnoj aktivnosti, dok su nešto manje razlike u aktivnosti primećene prilikom istih promena kod 5-*O*-benzil-derivata (+)-goniofufurona **19**. Nasuprot tome, iste promene u strukturi 7-*epi*-(+)-goniofufurona (**II**), prouzrokuju daleko manje promene u biološkoj aktivnosti u korist halogenidnih izostera. Medjutim, direktne halogenidne izostere 5-*O*-benzil-7-*epi*-(+)-goniofufurona (**21**), su daleko aktivnije od kontrolnog molekula **21**. Primena strategije otvaranja/zatvaranja benzoksepanskog prstena poboljšava citotoksičnost analoga prirodnog proizvoda **I**, kao i analoga neprirodnog (-)-goniofufurona *ent*-**I**. Kada se upoređuju (+)- i (-)-enantiomeri, jaču antiproliferativnu aktivnost prema većini ispitivanih tumorskih ćelija ispoljavaju analozi (+)-serije. Uvođenje lipofilnije, metil-grupe na O-5 goniofufurona takodje vodi do veoma značajnih promena u antitumorskoj aktivnosti analoga. Konačno, utvrđeno je da je uticaj konfiguracije na C-7 od manjeg značaja za antiproliferativnu aktivnost. Najveća razlika u aktivnosti u korist (7*S*)-izomera detektovana je kod prirodnih proizvoda **I** i **II**, dok je kod ostalih analoga uticaj ove promene značajno manji.

Protočnom citometrijom je utvrđeno da novosintetizovana jedinjenja utiču na distribuciju ćelija po fazama ćelijskog ciklusa, a veoma značajni rezultati su registrovani kod 15 jedinjenja, kod kojih je veoma izražen sub G1 pik koji ukazuje na prisustvo ćelija u apoptozi. Takodje je utvrđeno da većina analoga značajno povećava procenat specifične apoptoze, nekoliko čak i preko 50%, a pojedini derivati i procenat specifične nekroze. Western blot analizom je potvrđeno da izostere i bioizostere ne izazivaju apoptozu preko pro- i anti-apoptičkih proteina Bcl-2 familije, nego deluju kaspazno-zavisnim putem. Kod šest jedinjenja je potvrđeno sa sigurnošću da je apoptoza indukovana preko kaspaza-zavisnog puta dok je kod ostalih jedinjenja ostalo otvoreno pitanje da li je apoptoza stvarno izazvana preko kaspaza-zavisnog puta ili su možda uključeni kaspaza-nezavisni put ili neki drugi mehanizmi delovanja (npr. regulisana nekroza, mitotska smrt ili autofagija).

S obzirom da novosintetisani molekuli efikasno inhibiraju rast većine ispitivanih malignih ćelija, a potpuno su netoksični prema zdravim ćelijama MRC-5, realno je očekivati da mogu poslužiti kao osnov (*lead compound*) za razvoj novih, efikasnijih i selektivnijih antitumorskih agenasa, sa

furanofuranonskim bicikličnim sistemom, karakterističnim za prirodne stiril-laktone tipa (+)-goniofufurona.

6. SUMMARY

Total synthesis of 16 new halogenated isosteres of naturally occurring styryl lactones related to goniofufurone has been achieved starting from D-glucose. Eight direct isosteres of (+)-goniofufurone (**I**) were synthesized along with eight direct isosteres of 7-*epi*-(+)-goniofufurone **II**. From eight isosteres of goniofufurone, four have free hydroxyl group at the position C-5 (molecules **29**, **34**, **38** and **43**) and four of them have benzyl ether group at the same position representing lipophilic analogues of **I** (molecules **27**, **33**, **37** and **41**). We have also performed the synthesis of eight isosteres of 7-*epi*-goniofufurone, four with free hydroxyl group at C-5 (molecules **30**, **35**, **39** and **44**) and four isosteres with lipophilic benzyl ether group at the same position (molecules **26**, **32**, **36** and **42**). For the synthesis of halogenated analogues of natural products **I** and **II** it was necessary first to synthesize intermediates with appropriate structural characteristics. The key benzylic alcohols (**4** and **5**) have been synthesized by multistep chemical transformations of D-glucose. Further chemical transformations of these alcohols gave the required lactones (**19**, **21**, **23** and **25**). Treatment of these lactones with titanium(IV) chloride or titanium(IV) bromide gave the expected chlorine and bromine mimics of goniofufurone and 7-*epi*-goniofufurone. Iodine isosteres were prepared by using the Garreg-Sammuelsson reaction, while fluorine analogues were obtained after treatment of 5-*O*-benzyl derivatives of goniofufurone and 7-*epi*-goniofufurone with DAST.

The synthesis of goniofufurone and 7-*epi*-goniofufurone analogues bearing azido isosteric groups (molecules **47** and **48**) was accomplished by nucleophilic opening of oxetane ring in **46** and **49** using Me₃SiN₃ in the presence of BF₃·Et₂O. Oxetanes **46** and **49** were prepared through a two step sequence starting from lactones **19** and **21**. The sequence involves catalytic hydrogenolysis followed by intramolecular Mitsunobu reaction. Along with expected azido isosteres **47** and **48** an additional azido derivative **50**, with unusual pyrano-furanone ring system was unexpectedly obtained from this reaction. Although a similar heterocyclic ring system was not hitherto found in the naturally occurring styryl lactones, molecule **50** represents a potential bioisostere of both natural products **I** and **II**.

The synthesis of several new bioisosteres of goniofufurone and 7-*epi*-goniofufurone have also been developed. Unusual benzoxepane **31** that was formed as a minor product in the reaction with TiCl₄ was independently synthesized from lactone **21** by direct cyclization in the presence of TFA. The benzoxepane ring opened analogues **51** and **53**, were designed by using a ring opening/ring closing strategy. Analogue **51** was obtained from molecule **31** by direct oxepane ring opening under the

hydrogenolytic conditions. For the preparation of analogue **53** an intermediate lacking the hydroxyl group at the C-7 position is needed. Multistep synthesis of derivate **15** which is a key intermediate in the synthesis of analogue **53**, have been accomplished also starting from D-glucose. After hydrolytic removal of protective group in **15** and condensation with Meldrum's acid the desired derivate **53** was obtained.

For the preparation of the third ring opened analogue we first had to prepare the corresponding 5-*O*-methyl derivatives **57** and **59**. Synthesis of these compounds started from D-glucose. The key step of the synthesis was a stereo-selective addition of phenyl magnesium bromide to a suitable protected dialdose to give alcohols **8** and **9**. After hydrolytic removal of isopropylidene protective group, followed by condensation of the resulting lactol with Meldrum's acid, the desired 5-*O*-methylated analogues **57** and **59** were obtained. Further transformation of these lactones gave ketone **60**, and then finally the diphenyl derivative **61** which differs from the desired analogue only in the presence of a hydroxyl group at C-7. However, in spite to several attempts under variety of reaction conditions, we failed to convert **61** to the corresponding 7-deoxy derivative.

We have also synthesized the opposite enantiomer of oxepane **31** (compound *ent*-**31**) and two novel ring opened analogues (molecules *ent*-**51** and *ent*-**53**). These bioisosteres of unnatural (-)-goniofufurone were prepared starting from lactones *ent*-**19** and *ent*-**21**, which were previously synthesized in our laboratory. Both analogues *ent*-**31** and *ent*-**51** were obtained by using the same reaction conditions as that applied for the synthesis of (+)-enantiomers. Analogue *ent*-**53** has been prepared by using a different method. Namely, it has been shown that treatment of **23** and **25** with titanium(IV)-fluoride gives not only the benzoxepanes **31** and *ent*-**31**, but also the 7-deoxy derivatives **45** and *ent*-**45**. This reaction represents a new example of substrate-controlled chemoselectivity, which depends on stereochemistry of starting compounds at the C-7 position.

In the second part of this work, the newly synthesized isosteres and bioisosteres (in total 33 compounds) were evaluated for their antiproliferative activity against a panel of malignant cell lines (K562, HL-60, Jurkat, Raji, HT-29, MCF-7, MDA-MB 231, HeLa and A549), as well as against a single normal cell line (MRC-5). Based on the results of *in vitro* antitumour activity, one can conclude that majority of synthesized compounds showed potent cytotoxicities. The most potent molecule synthesized in this work is the fluorine analogue **44**, which effectively inhibits the growth of Raji cells (IC₅₀ 0.03 μM), being 99-fold more active than doxorubicin (IC₅₀ 2.98 μM). A strong cytotoxicity of chlorine analogue **30** was demonstrated in K562 (IC₅₀ 0.11 μM), being 2-fold more potent than DOX, while in Jurkat cells (IC₅₀ 0.03 μM) it showed the same activity as the commercial agent doxorubicin. Bromide **34** showed a strong antiproliferative activity toward HL-60 neoplastic cell line (IC₅₀ 0.03 μM), being eight-fold more potent than the commercial anticancer

agent doxorubicin. Ketone **60** demonstrated a significant antitumour activity (IC_{50} 2.58 μ M) against human lung tumour cells (A549) being almost 2-fold more active than DOX. Benzoxepane **31** exhibited sub-micromolar activity (IC_{50} 0.24 μ M) toward HT-29 cells. A small number of synthesized analogues were active against this cell line. Iodine analogue **39** showed the strongest antiproliferative activity against MCF-7 cell line (IC_{50} 1.28 μ M). HeLa cells were the most sensitive to azido isostere **48** (IC_{50} 0.12 μ M). Finally, 5-*O*-benzylated chlorine isostere **26** demonstrated a strong cytotoxic activity (IC_{50} 1.11 μ M) against MDA-MB 231 cells.

The results of SAR analysis confirmed that introduction of a halogen function at the C-7 position of natural product **I** generally increased *in vitro* antitumour potency, while the same changes in the structure of 5-*O*-benzyl-(+)-goniofufurone (**19**) were less pronounced. The biological results further revealed that introduction of a halogen function at the same position of 7-*epi*-(+)-goniofufurone (**II**) caused much less changes in antitumour activity, while the same changes in the molecule 5-*O*-benzyl-7-*epi*-(+)-goniofufurone (**21**) may afford analogues of increased antiproliferative activity. It further appears that usage ring opening/ring closing strategy can provide analogues with greater cytotoxicity. Comparison of (+)- and (-)-enantiomers showed stronger antiproliferative activity of (+)-series. Also, the replacement of OH group at C-5 position with OMe function significantly increases antitumour activity of the resulting goniofufurone analogues. A comparison of antiproliferative activity of analogues with opposite stereochemistry at the C-7 position, confirmed a weaker effect to the cytotoxicity. Most notable difference in antitumour activity of (7*S*)-isomer was detected in the natural products **I** and **II**, while in other analogues this difference was less pronounced.

As the flow-cytometry revealed, the most of newly synthesized compounds have a significant impact on the distribution of cells in each phase of the cell cycle. Very significant results were registered with 15 compounds, in which a very strong sub G1 peak was detected that indicates the presence of cells in apoptosis. It was also found that the most of analogues significantly increased the percentage of specific apoptosis, a few of them even more than 50%, and some of them increased the percentage of specific necrosis. Western blot analysis confirmed that synthesized analogues did not induce apoptosis via pro- and anti-apoptotic proteins of Bcl-2 family, instead they acted via caspase-dependent pathway. In six compounds it was definitely confirmed that apoptosis was induced through caspase-dependent pathway, while in other compounds an open question remained whether the apoptosis was really caused by caspase-dependent or via the caspase-independent pathway, or through another mechanism of action (e.g. regulated necrosis, mitotic death or autophagy).

Since the newly synthesized molecules effectively inhibited the growth of most of the tested cancer cells, and were completely inactive against the normal MRC-5 cells, it is reasonable to expect that they can serve as suitable lead compounds in the search for new and more selective anticancer agents, with furano-furanone bicyclic core of goniofufurone type.

7. SKRAĆENICE

Ac	acetil
AIBN	azobisisobutironitril
anh.	anhidrovani
aq.	vodeni rastvor
bd	široki dublet (<i>engl.</i> broad dublet)
Bn	benzil
bs	široki signal (<i>engl.</i> broad signal)
bt	široki triplet (<i>engl.</i> broad triplet)
Bu	butil
Bz	benzoil
Cbz	karboksibenzil
cc	koncentrovani
d	dublet
DAST	dietilaminosumportrifluorid
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0.]undec-7-en
dd	dvostruki dublet
ddd	trostruki-dublet
DEAD	dietilazodikarboksilat
DMAP	4-dimetilaminopiridin
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
dt	dublet tripleta
Et	etil
m	multiplet
Me	metil
Ms	metansulfonil (mezil)
NMO	<i>N</i> -metil-morfolin- <i>N</i> -oksid
PCC	piridinijum-hlorohromat
PDC	piridinijum-dihromat

PE	petroletar
Ph	fenil
PNB	<i>p</i> -nitrobenzoil
PNBA	<i>p</i> -nitrobenzoeva kiselina
Py	piridin
rt	sobna temperatura
s	singlet
t	triplet
^t Bu	<i>terc</i> -butil
td	triplet dubleta
Tf	trifluorometansulfonil (triflat)
TFA	trifluorosirćetna kiselina
THF	tetrahidrofuran
t.k.	tačka ključanja
TLC	tankoslojna hromatografija
TMSOI	trimetilsulfonijum-jodid
Ts	<i>p</i> -toluensulfonil (tozil)
tt	temperatura topljenja

8. LITERATURA

1. Patrick, G. L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press: Oxford, 2009.
2. Hanessian, S. *Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach*, Pergamon Press, Oxford, 1983.
3. Saunders, R. M. K. *Bot. J. Linn. Soc.* **2003**, *142*, 321.
4. Takhtajan, A. *Diversity and Classification of Flowering Plants*, New York: Columbia University Press, 1997.
5. Koek-Noorman, J.; Westra, L. Y. Th; Maas, P. J. M. *Taxon* **1990**, *39*, 16.
6. Wiart, C. *Evid.-Based Compl. Altern. Med.* **2007**, *4*, 299.
7. Blazquez, M. A.; Bermejo, A.; Zafra-Polo, M. C.; Cortes, D. *Phytochem. Anal.* **1999**, *10*, 161.
8. Talapatra, S. K.; Basu, D.; Deb, T.; Goswami, S.; Talapatra, B. *Indian J. Chem.* **1985**, *24B*, 29.
9. Goh, S. H.; Ee, G. C. L.; Chuah, C. H.; Wei, C. *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 199.
10. Sam, T. W.; Yeu, C. S.; Matsjeh, S.; Gan, E. K.; Razak, D.; Mohamed, A. L. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2541.
11. Burkill, I. H. *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*, Vol 1, London: Crown Agent, 1953, 1097.
12. Kan, W. H. *Pharmaceutical Botany*, National Research Institute of Chinese Medicine Press: Taiwan, 1979, 247.
13. Heyne, K. *De Nuttige Planten van Indonesie 3rd ed.*, Part I, 1950, *1*, 1450.
14. Lui, T. S. *List of Economic Plants in Taiwan*, Taipei, Taiwan, 1952, 92.
15. Wiart, C. *Ethnopharmacology of Medicinal Plants: Asia and the Pacific*, USA: Humana Press, 2007.
16. Choo, C.-Y.; Abdullah, N.; Diederich, M. *Phytochem Rev.* **2014**, *13*, 835.
17. Ebrahim El Zayat, A. A.; Ferrigni, N. R.; McCloud, T. G.; McKenzie, A. T.; Byrn, S. R.; Cassady, J. M.; Chang, C. J.; McLaughlin, J. L. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 955.
18. Loder, J. W.; Nearn, R. H. *Heterocycles* **1977**, *7*, 113.
19. Jewers, K.; Davis, J. B.; Dougan, J.; Manchanda, A. H.; Blunden, G.; Kyi, A.; Wetchapinan, S. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 2025.

20. Fang, X. P.; Anderson, J. E.; Chang, C. J.; Fanwick, P. E.; McLaughlin, J. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 1655.
21. Fang, X.-P.; Anderson, J. E.; Chang, C. J.; McLaughlin, J. L.; Fanwick, P. E. *J. Nat. Prod.* **1991**, 54, 1034.
22. Fang, X.-P.; Anderson, J. E.; Chang, C. J.; McLaughlin, J. L. *Tetrahedron* **1991**, 47, 9751.
23. Cao, S. G.; Wu, X. H.; Sim, K. Y.; Tan, B. K. H.; Pereira, J. T.; Goh, S. H. *Tetrahedron* **1998**, 54, 2143.
24. Fang, X.-P.; Anderson, J. E.; Qiu, X. X.; Kozlowski, J. F.; Chang, C. J.; McLaughlin, J. L. *Tetrahedron* **1993**, 49, 1563.
25. Mukai, C.; Yamashita, H.; Hirai, S.; Hanaoka, M.; McLaughlin, J. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 131.
26. Zhao, G.; Wu, B.; Wu, X. Y.; Zhang, Y. Z. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2005**, 2, 546.
27. Mondon, M.; Gesson, J.-P. *Curr. Org. Synth.* **2006**, 3, 41.
28. Prasad, K. R.; Dhaware, M. G. *Synthesis* **2007**, 23, 3697.
29. Yadav, V.K.; Agrawal, D. *Chem. Commun.* **2007**, 5232.
30. Prasad, K. R.; Gholap S. L. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 2.
31. Francuz, J.; Srećo, B.; Popsavin, M.; Benedeković, G.; Divjaković, V.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Kapor, A.; Popsavin, V. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 1819.
32. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C.; Zhou, Z.-H. *Tetrahedron* **1992**, 48, 8659.
33. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 1269.
34. Sartillo-Melendez, C.; Cruz-Gregorio, S.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *Lett. Org. Chem.* **2006**, 3, 504.
35. Mereyala, H. B.; Gadikota, R. R.; Krishnan, R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1997**, 3567.
36. Cagnolini, C.; Ferri, M.; Jones, P. R.; Murphy, P. J.; Ayres, B.; Cox, B. *Tetrahedron* **1997**, 53, 4815.
37. Mereyala, H. B.; Gadikota, R. R.; Joe, M.; Arora, S. K.; Dastidar, S. G.; Agarwal, S. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 2095.
38. Hernandez-Garcia, L.; Quintero, L.; Höpfl, H.; Sosa, M.; Sartillo-Piscil, F. *Tetrahedron* **2009**, 65, 139.
39. Ohrui, H.; Jones, G. H.; Moffatt, J. G.; Maddox, M. L.; Christensen, A. T.; Byram, S. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4602.
40. Sartillo-Piscil, F.; Cruz, S.; Sanchez, M.; Hopfl, H.; Anaya de Parrodi, C.; Quintero, L. *Tetrahedron* **2003**, 59, 4077.
41. Schmidt, O. T. *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 319.
42. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C.; Zhou, Z.-H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 810.

43. Jones, J. K. N.; Thomson, J. L. *Can. J. Chem.* **1957**, *35*, 955.
44. Murphy, P. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1096.
45. Fleet, G. W. J.; Witty, D. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 119.
46. Krishnudu, K. R.; Krishna, P. R.; Mereyala, H. B. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6007.
47. Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353.
48. Frechou, C.; Dheilly, G.; Beaupere, D.; Uzanet, R.; Demailly, G. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5061.
49. Gracza, T.; Jager, V. *Synlett* **1992**, 191.
50. Mereyala, H. B.; Gadikota, R. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 827.
51. Cruz-Gregorio, S.; Hernandez, L.; Vargas, M.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *J. Mex. Chem. Soc.* **2005**, *49*, 20.
52. Jiang, M.-M.; Feng, Y.-F.; Zhang, X.; Zhao, L. L.; Yao, X.-S. *Biochem. Sys. Ecol.* **2011**, *39*, 846.
53. Jiang, M.-M.; Feng, Y.-F.; Gao, H.; Zhang, X.; Tang, J.-S.; Yao, X.-S. *Fitoterapia* **2011**, *82*, 524.
54. Ranieri, B.; Curti, C.; Battistini, L.; Sartori, A.; Pinna, L.; Casiraghi, G.; Zanardi, F. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 10291.
55. Tuchinda, P.; Munyoo, B.; Pohmakotr, M.; Thinapong, P.; Sophasan, S.; Santisuk, T.; Reutrakul, V. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1728.
56. Popsavin, V.; Benedeković, G.; Srećo, B.; Popsavin, M.; Francuz, J.; Kojić, V.; Bogdanović, G. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4235.
57. de Fátima, A.; Modolo, L. V.; Conegero, L. S.; Pilli, R. A.; Ferreira, C. V.; Kohn, L. K.; de Carvalho, J. E. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 3371.
58. Adams, J. M. *Gene Dev.* **2003**, *17*, 2481.
59. Ferreira, C. G.; Epping, M.; Kruyt, F. A. E.; Giaccone, G. *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 2024.
60. Zapata, J. M.; Pawlowski, K.; Hass, E.; Ware, C. F.; Godzik, A.; Reed, J. C. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 24242.
61. Reed, J. C. *Trends Mol. Med.* **2001**, *7*, 314.
62. Pastorino, J. G.; Chen, S. T.; Tafani, M.; Snyder, J. W.; Farber, J. L. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 7770.
63. Srinivasula, S. M.; Ahmad, M.; Fernandes-Alnemri, T.; Litwack, G.; Alnemri, E. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 14486.
64. Inayat-Hussain, S. H.; Osman, A. B.; Din, L. B.; Ali, A. M.; Snowden, R. T.; MacFarlane, M.; Cain, K. *FEBS Lett.* **1999**, *456*, 379.
65. Lee, A. T. C.; Azimahtol, H. L. P.; Tan, A. N. *Cancer Cell Int.* **2003**, *3*, 16.

66. Inayat-Hussain, S. H.; Osman, A. B.; Din, L. B.; Ali, A. M.; Ross, D. *Toxicol. In Vitro* **2003**, *17*, 433.
67. Zhong, L.; Li, C.-M.; Hao, X.-J.; Lou, L.-G. *Acta Pharmacol. Sin.* **2005**, *26*, 623.
68. Loo, G. *J. Nutr. Biochem.* **2003**, *14*, 64.
69. Fernandez-Checa, J. C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *304*, 471.
70. Chen, W.-Y.; Wu, C.-C.; Lan, Y.-H.; Chang, F.-R.; Teng, C.-M.; Wu, Y.-C. *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, *522*, 20.
71. Staunton, D. E.; Marlin, S. D.; Stratowa, C.; Dustin, M. L.; Springer, T. A. *Cell* **1988**, *52*, 925.
72. Chien, A. L.; Pihie, A. H. *J. Biochem. Mol. Biol.* **2003**, *36*, 269.
73. Wang, G.; Ahmad, K. A.; Ahmed, K. *Mol. Cell Biochem.* **2005**, *274*, 201.
74. Popsavin, V.; Francuz, J.; Srećo Zelenović, B.; Benedeković, G.; Popsavin, M.; Kojić, V.; Bogdanović, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 5507.
75. Кочетков, Н. К. *Методы химии углеводов*, Издательство МИР: Москва, 1967, 165.
76. Lichtenthaler, F. W.; Kläres, U.; Szirmai, Z.; Werner, B. *Carbohydr. Res.* **1998**, *305*, 293.
77. Inch, T. D. *Carbohydr. Res.* **1967**, *5*, 45.
78. Kovar, J.; Baer, H. H. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1801.
79. Inch, T. D.; Ley, R. V.; Rich, P. J. *Chem. Soc. C* **1968**, 1683.
80. Hardacre, C.; Messina, I.; Migaud, M. E.; Ness, K. A.; Norman, S. E. *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 6341.
81. Paulsen, H.; Budzisz, M. *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1998.
82. Cooke, N. G.; Jones, D. A.; Whiting, A. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 9553.
83. Mereyala, H. B.; Joe, M.; Gadikota, R. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4071.
84. Anisuzzaman, A. K. M.; Whistler, R. L. *Carbohydr. Res.* **1978**, *60*, 511.
85. Su, Y.-L.; Yang, C.-S.; Teng, S.-J.; Zhao, G.; Ding, Y. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2147.
86. Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1980**, 2866.
87. Prakash, K. R. C.; Rao, S. P. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1505.
88. Ruiz, P.; Murga, J.; Carda, M.; Marco, J. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 713.
89. Shing, T. K. M.; Tsui, H. C.; Zhou, Z. H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3121.
90. Bruns, R.; Wernicke, A.; Köll, P. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 9793.
91. Murphy, P. J.; Dennison, S. T. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6695.

92. Noji, M.; Ohno, T.; Fuji, K.; Futaba, N.; Tajima, H.; Ishii, K. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9340.
93. Benedeković, G. Enantiodivergentna totalna sinteza odabranih stiril laktona i preliminarno ispitivanje njihove citotoksičnosti. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, **2012**
<http://dx.doi.org/10.2298/NS20121011BENEDEKOVIC>
94. Popsavin, V.; Benedeković, G.; Srećo, B.; Francuz, J.; Popsavin, M.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Divjaković, V. *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 10596.
95. Kerr, J. F.; Wyllie, A. H.; Currie, A. R. *Br. J. Cancer* **1972**, *26*, 239.
96. Kumar, S.; Vogler, M.; Dinsdale, D.; Dyer, M. J. S.; Cohen, G. M. *Cell Death and Differentiation* **2007**, *14*, 32.
97. Adrain, C.; Martin, S. J. *Sci. Signal.* **2009**, *2*, 62.
98. Logue, S. E.; Martin, S. J. *Biochem. Soc. Trans.* **2008**, *36*, 1.
99. Kim, R.; Emi, M.; Tanabe, K.; Uchida, Y.; Arihiro, K. *Eur. J. Surg. Oncol.* **2006**, *32*, 269.
100. Solary, E.; Droin, N.; Bettaieb, A.; Corcos, L.; Dimanche-Boitrel, M.-T.; Garrido, C. *Leukemia* **2000**, *14*, 1833.
101. Guimaraes, C. A.; Linden, R. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 1638.
102. Hasenjager, A.; Gillissen, B.; Muller, A.; Normand, G.; Hemmati, P. G.; Schuler, M.; Dorken, B.; Daniel, P. T. *Oncogene* **2004**, *23*, 4523.
103. Kromer, G.; Martin, S. J. *Nat. Med.* **2005**, *11*, 725.
104. Kromer, G.; Galluzzi, L.; Vandenabeele, P.; Abrams, J.; Alnemri, E. S.; Baehrecke, E. H.; Blagosklonny, M. V.; El-Deiry, W. S.; Golstein, P.; Green, D. R.; Hengartner, M.; Knight, R. A.; Kumar, S.; Lipton, S. A.; Malorni, W.; Nunez, G.; Peter, M. E. Tschopp, J.; Yuan, J.; Piacentini, M.; Zhivotovsky, B.; Melino, G. *Cell Death Differ.* **2009**, *16*, 3.

9. BIOGRAFIJA



Jovana Francuz rodjena je 14. 09. 1982. godine u Novom Sadu. Srednju medicinsku školu završila je u Novom Sadu. Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu (odsek za hemiju, smer diplomirani hemičar-biohemija) je upisala 2001. a diplomirala je 2006. (od oktobra 2002. do oktobra 2003. imala status mirovanja zbog porodijskog bolovanja). Na četvrtoj godini fakulteta bila je stipendista fonda za mlade talente „1000 najboljih“. Nagradjena je od strane Srpskog hemijskog društva za uspeh u toku studiranja. Nakon diplomiranja, upisala je master studije (odsek hemija, smer

master biohemije) na PMF-u u Novom Sadu, a završila ih 2008. i stekla zvanje master biohemičar. U oktobru 2008. godine upisala doktorske studije (odsek hemija, smer doktor hemijskih nauka). Za istraživača-pripravnika za užu naučnu oblast Organska hemija je izabrana 01. 02. 2007., a za istraživača-saradnika za užu naučnu oblast Organska hemija 03. 03. 2009. Za asistenta za užu naučnu oblast Biohemija izabrana je 17. 12. 2013. godine.

Učestvovala u izradi više domaćih projekata.

Koautor je devet naučnih radova, koji su publikovani u međunarodnim časopisima kategorije M21 (5) i M22 (4), kao i 15 saopštenja prezentovanih na domaćim (11) i međunarodnim (6) naučnim skupovima.

Takodje, od izbora u zvanje istraživač-pripravnik svake godine je držala vežbe iz različitih kurseva na Katedri za biohemiju i hemiju prirodnih proizvoda. Učestvovala je i u prezentacijama Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine u srednjim školama širom Vojvodine.

Član je Srpskog hemijskog društva.

Jovana Francuz

**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	Ms Jovana Francuz, asistent PMF-a u Novom Sadu
Mentor: MN	Dr Velimir Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Nove izostere i bioizostere prirodnih stiril-laktona: dizajn, sinteza i antiproliferativna aktivnost
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	Srpski i Engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geog. područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
Fizički opis rada: FO	Broj poglavlja: 11 (uključujući dva priloga). Strana: 249 (64 strane poglavlja Prilog I, 15 strana poglavlja Prilog II). Lit. citata: 104. Tabela: 87 (68 tabela poglavlja Prilog II). Shema: 60. Slika: 233 (126 slike NMR spektara u Prilogu I, 73 slika u Prilogu II).
Naučna oblast: NO	Hemija
Naučna disciplina: ND	Medicinska hemija
Predmetna odrednica/ Ključne reči: PO	Citotoksični stiril-laktoni, goniofufuron, 7- <i>epi</i> -goniofufuron, D-glukoza, sinteza analoga, izostere, bioizostere, antiproliferativna aktivnost, SAR
UDK Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, PMF, Trg D. Obradovića 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	—
Izvod: IZ	U radu su ostvarene višefazne sinteze većeg broja analoga prirodnih stiril-laktona (+)-goniofufurona i 7- <i>epi</i> (+)-goniofufurona polazeći iz D-glukoze. Ispitana je <i>in vitro</i> citotoksičnost sintetizovanih analoga prema devet malignih i jednoj zdravoj ćelijskoj liniji. Uspostavljeni su korelacioni odnosi između strukture i antiproliferativne aktivnosti sintetizovanih proizvoda,

	pored toga uradjeni su i dodatni biološki testovi koji se odnose na dokazivanje mehanizma citotoksičnog dejstva pomenutih stiril-laktona i analoga.
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	28. 03. 2013.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (Naučni stepen/ime i prezime/zvanje/fakultet) KO Predsednik: Član: Član: Član: Član:	Dr Mirjana Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Velimir Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Evgenija Đurendić, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Marija Sakač, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Bogdan Šolaja, red. prof. Hemijskog fakulteta u Beogradu, redovni član Srpske akademije nauka i umetnosti.

**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	MSc Jovana M. Francuz, teaching assistant, Faculty of Sciences, Novi Sad
Mentor: MN	Professor Velimir Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad
Title: TI	Novel isosteres and bioisosteres of natural styryl lactones: design, synthesis and antiproliferative activity
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	2015.
Publisher: PU	Author's reprint
Publishing place: PP	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
Physical description: PD	Chapters: 11 (including the chapters Appendix I and Appendix II). Pages: 249 (64 pages in the chapter Appendix I, 15 pages in the chapter Appendix II). References: 104. Tables: 87 (68 tables in the chapter Appendix II). Schemes: 60. Figures: 233 (126 figures of NMR spectra in the chapter Appendix I, 73 figures in the chapter Appendix II).
Scientific field: SF	Chemistry
Scientific discipline: SD	Medicinal Chemistry
Subject/key words: SKW	Cytotoxic styryl lactones, goniofufurone, 7- <i>epi</i> -goniofufurone, D-glucose, synthesis of analogues, isosteres, bioisosteres, antiproliferative activity, SAR
Holding data: HD	Department of Chemistry (Library), Trg D. Obradovića 3, 21000 Novi Sad
Note: NO	—
Abstract: AB	Multistep synthesis of a number of natural styryl lactones goniofufurone and 7- <i>epi</i> -goniofufurone analogues was achieved starting from D-glucose. <i>In vitro</i> cytotoxicity of newly synthesized

	analogues against nine human tumour cell lines and against a single normal cell line was evaluated. Structure-activity relationships were established for both natural products and analogues. Some additional biological tests related to the cell mechanisms underlying the cytotoxicity of the mentioned styryl lactones and analogues, were also carried out.
Accepted by the Scientific Board on: DP	28 March 2013
Defended: DE	
Thesis defend board: (Degree/name/surname/title/faculty) DB President: Member: Member: Member: Member:	Professor Mirjana Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad Professor Velimir Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad Professor Evgenija Djurendić, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad Professor Marija Sakač, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad Professor Bogdan Šolaja, PhD, Faculty of Chemistry, Belgrade, a full member of Serbian Academy of Sciences and Arts.