



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



Ivana Kovačević

**PRIRODNI STIRIL-LAKTONI, NJIHOVI DERIVATI I
ANALOZI KAO POTENCIJALNI ANTITUMORSKI
AGENSI: DIZAJN, SINTEZA I SAR ISPITIVANJA**

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, u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (ON 172006), pod rukovodstvom profesora dr Velimira Popsavina.

Privilegija i zadovoljstvo je napraviti prve korake u nauci pod rukovodstvom prof. dr Velimira Popsavina, kome se ovom prilikom zahvaljujem na primeru i uzoru koji predstavlja u istraživanju, nauci, nastavi i čovečnosti. Zahvaljujem se svom mentoru na svemu što sam naučila, na strpljenju, ohrabrivanju i stalnoj prisutnosti, i naravno što mi je omogućio da radim ono što volim.

Profesorka dr Mirjana Popsavin je snimala i tumačila NMR spektre, često i noću i javljala rezultate čime me je pošteditela mnogih nerviranja i neizvesnosti. Beskrajno joj se zahvaljujem na podršci, brizi i poverenju.

Zahvaljujem se profesorki dr Mariji Sakač na pregledanju rada, kao i na svim pozajmljenim hemikalijama i posudju, što je omogućilo normalno odvijanje rada.

Veliko hvala i akademiku profesoru dr Bogdanu Šolaju što se prihvatio učešća u komisiji za ocenu i odbranu teze, kao i na pruženoj pomoći i korisnim savetima.

Dr Gordani Bogdanović, dr Vesni Kojić, Dimitru Jakimovu iz Instituta za onkologiju Vojvodine, i Tatjani Srdić-Rajić iz Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, srdačno se zahvaljujem na pomoći pri odredjivanju biološke aktivnosti, i što su uprkos problemima koje su imali omogućili da ova teza bude kompletna. Dr Gordani Bogdanović se posebno zahvaljujem na pregledanju biološkog dela rada i na korisnim sugestijama.

Iskreno se zahvaljujem profesoru dr Vladimiru Divjakoviću i Marku Rodiću, na uvek ekspeditivno uradjenim rendgenostrukturnim analizama.

Dr Branislavu Joviću i Branku Kordiću se zahvaljujem na snimanju IR spektara, a profesoru dr Vukadinu Leovcu i njegovim saradnicama na ustupanju aparata za odredjivanje tačke topljenja.

Zahvaljujem se i dr Milki Jadranin (IHTM-Centar za hemiju, Beograd) na snimanju masenih spektara visoke rezolucije i pomoći pri odredjivanju ugla optičke rotacije, kao i dr Vlatki Vajs, direktoru Centra za hemiju što mi je omogućila korišćenje pomenute opreme.

Posebnu zahvalnost dugujem kolegama iz laboratorije dr Bojani Srećo Zelenović, dr Jovani Francuz i dr Goranu Benedekoviću. Imala sam sreću da mi njihovo veselo društvo, ljudski kvaliteti, nesebičnost i tolerancija koje su imali na pretek, učine da svaki dan proveden u laboratoriji bude izvor zadovoljstva.

Dr Goranu Benedekoviću se zahvaljujem i na svesrdnoj stručnoj pomoći i brojnim korisnim savetima.

Kada mi je mr Miloš Svirčev prvi put pomogao u obeležavanju zona na preparativnim pločama u šali sam rekla da će za svaku pogledanu ploču dobiti po rečenicu u zahvalnici. Obećanje nisam u mogućnosti da ispunim jer je tokom godina zajedničkog rada postao prva osoba kojoj se obraćam za pomoć i savet, te bi zahvalnica prevazišla obim ovog rada. Ovom prilikom mu se iskreno zahvaljujem.

Želim da se zahvalim i dr Emiliji Svirčev na pomoći, podršci i prijateljstvu.

Takodje se zahvaljujem Ružici i Ivani Marušić na destilaciji rastvarača, napravljenim preparativnim pločama i svemu što mi je olakšalo eksperimentalni rad, kao i na pomoći oko organizacije i izvođenja eksperimentalnih vežbi.

Zahvaljujem se svim članovima Katedre za biohemiju i hemiju prirodnih proizvoda, kao i članovima Katedre za organsku hemiju na kolegijalnosti.

Želim da se zahvalim bratu i roditeljima koji su me naučili da samo rad, upornost i strpljenje daju rezultate.

Posebno se zahvaljujem Marini Kovačević na podršci, beskrajnom slušanju eksperimentalnih i laboratorijskih priča, i što je kad je bilo potrebno ona bila starija sestra.

U korak samnom kroz čudesan svet hemije, najveća podrška, oslonac, sreća, protivteža i razum. Hvala Srdjane!

Ivana Kovačević

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	3
2.1 Sinteze (+)-goniobutenolida A i (–)-goniobutenolida B	3
2.1. Karakterizacija, određivanje strukture i sinteze (+)-krasalaktona D	15
2.2. Sinteza (+)-kardiobutanolida i stereoisomera	20
3. NAŠI RADOVI	26
3.1. Dizajn analoga i derivata krasalaktona D i kardiobutanolida	26
3.2. Strategija sinteze i izbor polaznog materijala	30
3.3. Sinteza goniobutenolida A i B i krasalaktona D	33
3.4. Sinteza cinamatnih derivata krasalaktona D i analoga.....	39
3.5. Sinteza halogenovanih derivata krasalaktona D	43
3.6. Sinteza kardiobutanolida i analoga	48
3.7. Sinteza 3-deoksi-kardiobutanolida.....	55
3.8. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti	57
3.9. Uspostavljanje koralacionih odnosa između strukture sintetizovanih jedinjenja i antiproliferativne aktivnosti (SAR)	65
3.10. Ispitivanje mehanizama antitumorskog dejstva	73
4. EKSPERIMENTALNI DEO	90
4.1. 5- <i>C</i> -Fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden- α -D- <i>gluko</i> -(3) i β -L- <i>ido</i> -pentofuranoza (4).....	90
4.2. 5- <i>C</i> -Fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden-3,5- <i>O</i> -karbonil- α -D- <i>gluko</i> -pentofuranoza (5)	92
4.3. 5- <i>C</i> -Fenil-1,2- <i>O</i> -izopropiliden-3,6- <i>O</i> -karbonil- β -L- <i>ido</i> -pentofuranoza (6).....	92
4.4. 5- <i>C</i> -Fenil-3,5-karbonat- α -D- <i>gluko</i> -pentofuranoza (7).....	93
4.5. 5- <i>C</i> -Fenil-3,5-karbonat- β -L- <i>ido</i> -pentofuranoza (8)	94
4.6. (+)-Goniobutenolid A (I) i (–)-goniobutenolid B (II)	94
4.7. (7 <i>S</i>)-Goniobutenolid A (VIII) i (7 <i>S</i>)-goniobutenolid B (IX)	96
4.8. Krasalakton D (III) i (4 <i>R</i>)-krasalakton D (IV)	97
4.9. (7 <i>S</i>)-Krasalakton D (VI) i (4 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-krasalakton D (VII).....	99
4.10. 6- <i>O</i> -Cinamoil-krasalakton D (IIIa) i (4 <i>R</i>)-6- <i>O</i> -cinamoil-krasalakton D (IVa)	100
4.11. 6- <i>O</i> -(4-Nitrocinaoil)-krasalakton D (IIIb) i (4 <i>R</i>)-6- <i>O</i> -(4-nitrocinaoil)-krasalakton D (IVb).....	101

4.12.	6- <i>O</i> -(4-Metoksicinamoil)-krasalakton D (IIIc) i (4 <i>R</i>)-6- <i>O</i> -(4-metoksicinamoil)-krasalakton D (IVc)	102
4.13.	6- <i>O</i> -(4-Fluorocinamoil)-krasalakton D (III d) i (4 <i>R</i>)-6- <i>O</i> -(4-fluorocinamoil)-krasalakton D (IV d).....	104
4.14.	(7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -Cinamoil-krasalakton D (VIa)	105
4.15.	(7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -(4-Nitrocinaomil)-krasalakton D (VIb).....	106
4.16.	(7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -(4-Metoksicinamoil)-krasalakton D (VIc)	106
4.17.	(7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -(4-Fluorocinamoil)-krasalakton D (VI d)	107
4.18.	(4 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -Cinamoil-krasalakton D (VIIa)	108
4.19.	(4 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -(4-Nitrocinaomil)-krasalakton D (VIIb).....	108
4.20.	(4 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -(4-Metoksicinamoil)-krasalakton D (VIIc)	109
4.21.	(4 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-6- <i>O</i> -(4-Fluorocinamoil)-krasalakton D (VII d)	110
4.22.	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-5-Jodo-krasalakton D (IIIe), (4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i>)-5-jodo-krasalakton D (IVe) i (4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-5-jodo-krasalakton D (IVf)	110
4.23.	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-5-Jodo-krasalakton D (VI f) i (4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-5-jodo-krasalakton D (VIIe).....	112
4.24.	(4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-5-Jodo-krasalakton D (VIe)	114
4.25.	(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-5-Hloro-krasalakton D (IVg).....	114
4.26.	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-5-Hloro-krasalakton D (III f) i (4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i>)-5-hloro-krasalakton D (IVh)	115
4.27.	(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-5-Hloro-krasalakton D (VII f)	116
4.28.	(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-5-Bromo-krasalakton D (VIIg).....	117
4.29.	3,6-Anhidro-2-deoksi-D- <i>ido</i> -hepteno-1,4-lakton (9)	118
4.30.	3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-jodo-D- <i>ido</i> -hepteno-1,4-lakton (10)	118
4.31.	2,6,7-Trideoksi-D- <i>ido</i> -6-hepteno-1,4-lakton (11)	119
4.32.	(<i>E</i>)-2-Deoksi-7- <i>C</i> -fenil-D- <i>ido</i> -6-hepteno-1,4-lakton (12).....	119
4.33.	(<i>E</i>)-2-Deoksi-7- <i>C</i> -fenil-3,5- <i>O</i> -izopropiliden-D- <i>ido</i> -6-hepteno-1,4-lakton (13).....	120
4.34.	2,6,7-Trideoksi-3,5- <i>O</i> -izopropiliden-D- <i>ido</i> -6-hepteno-1,4-lakton (14)	121
4.35.	(4 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((<i>S</i>)-1,2-dihidroksietil)-2,2-dimetiltetrahidro-6H-furo[3,2- <i>d</i>][1,3]dioksin-6-on (15)	121
4.36.	(<i>Z</i>)-7- <i>C</i> -Fenil-3,5- <i>O</i> -izopropiliden-2,6,7-trideoksi-D- <i>ido</i> -6-hepteno-1,4-lakton (17).....	123
4.37.	(<i>Z</i>)-2-Deoksi-7- <i>C</i> -fenil-D- <i>ido</i> -6-hepteno-1,4-lakton (18).....	123
4.38.	Kardiobutanolid (V) i (6 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-kardiobutanolid (Vc)	124
4.39.	(7 <i>S</i>)-kardiobutanolid (Va) i (6 <i>S</i>)-kardiobutanolid (Vb).....	125
4.40.	3,5- <i>O</i> -Izopropiliden-(6 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-kardiobutanolid (19)	126
4.41.	3,5- <i>O</i> -Izopropiliden-(7 <i>S</i>)-kardiobutanolid (20)	127

4.42.	3,5- <i>O</i> -Izopropiliden-(6 <i>S</i>)-kardiobutanolid (21)	128
4.43.	(6 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-3,5- <i>O</i> -Izopropiliden-6,7-karbonat-kardiobutanolid (22).....	129
4.44.	2-Deoksi-L- <i>glicero</i> -D- <i>ido</i> -heptono-1,4-lakton (Vd)	130
4.45.	Metil 7- <i>C</i> -fenil-5,7-karbonil-D- <i>gluko</i> -hept-2-enoat (23)	130
4.46.	3-Deoksi-kardiobutanolid (Ve)	131
5.	ZAKLJUČAK	133
6.	SUMMARY	136
7.	SKRAĆENICE	139
8.	LITERATURA	142
9.	BIOGRAFIJA	149

1. UVOD

Hemoterapeutski potencijal azijskih biljaka roda *Goniothalamus* (Annonaceae) je prepoznat od davnina. Ekstrakt semena biljke *Goniothalamus amuyon* koja raste u priobalnim regionima Tajvana, koristio se za tretman edema i reumatizma.¹ Osušene i sprasene listove *Goniothalamus sesquipedalis* koristile su žene Manipura za umanjenje porodjajnih bolova, dok se dim zapaljenog lišća koristio za rasterivanje komaraca.² U ruralnim delovima Malezije lišće *Goniothalamus macrophyllus* se koristilo za izazivanje abortusa.³

McLaughlin i saradnici⁴ su proučavali bioaktivne konstituente ovih biljaka što je dovelo do otkrića, izolacije i karakterizacije brojnih novih stiril-laktona, medju kojima su goniobutenolidi A i B, koji su izolovani iz biljke *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae), za koje je ustanovljeno da inhibiraju rast nekoliko humanih tumora.⁵⁻⁹

Iz kore biljaka *Goniothalamus cardiopetalus* (Annonaceae) Hisham i saradnici su 2003. godine izolovali novi stiril-lakton, (+)-kardiobutanolid zajedno sa još četiri od ranije poznata stiril-laktona.¹⁰

Nedavna otkrića da pojedini sekundarni metaboliti biljaka roda *Polyalthia* (Annonaceae) pokazuju citotoksičnu,¹¹ antimikrobnu,¹² antimalarijsku¹³ i anti-HIV aktivnost,¹⁴ stimulisala su detaljnija hemijska i biološka ispitivanja biljnih vrsta ove familije. U okviru ispitivanja tajlandske biljke *Polyalthia crassa*, izolovana su i okarakterisana četiri nova stiril-laktona, krasalaktoni A, B, C i D koji pokazuju umerenu ili jaku citotoksičnost prema izvesnim humanim tumorskim ćelijama.¹⁵

Osnovni cilj ovog rada je sinteza prirodnih stiril-laktona (+)-goniobutenolida A (**I**), (-)-goniobutenolida B (**II**), (+)-kardiobutanolida (**V**), spiro-laktona (+)-krasalaktona D (**III**), kao i dizajn i sinteza nekih njihovih epimera i analoga.

Imajući u vidu da su većina biološki aktivnih jedinjenja 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 izmedju molekula koji je predmet sinteze (*ciljni molekul*) i nekog pristupačnog hiralnog molekula – potencijalnog polaznog jedinjenja (*hiralni prekursor*). Za uspostavljanje pomenutih stereohemijskih korelacija najčešće se primenjuje *retrosintetička analiza*, koja podrazumeva postepeno pojednostavljivanje strukture

ciljnog molekula, pri čemu se iz njega planski uklanjaju fragmenti koji ne sadrže stereogene centre. Na taj način se prvo generišu potencijalni hiralni intermedijeri („hironi“), a na kraju se dolazi do pogodnog polaznog jedinjenja. Kao hiralni prekursori najčešće se primenjuju prirodno raspoloživi monosaharidi,¹⁶ pre svega zbog definisane i raznovrsne stereochemije, kao i zbog jedinstvenih topoloških osobina, koje omogućuju selektivne promene funkcionalnih grupa u različitim acikličnim, odnosno petočlanim ili šestočlanim cikličnim derivatima.

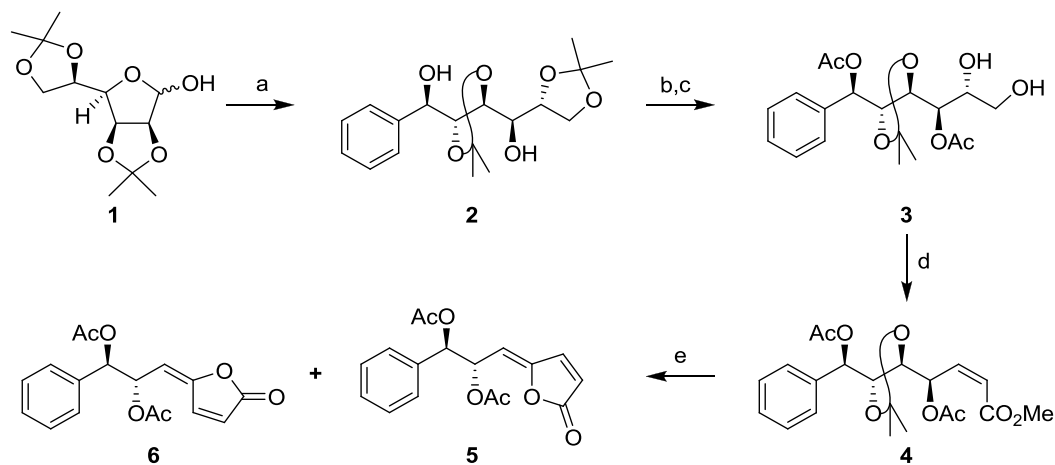
Primenom koncepta hiralnih templata, stereochemija prirodnih molekula **I–III** je korelisana sa istom kod D-glukoze, a **V** sa stereochemijom D-ksiloze.

Pored sinteze, dodatni važan zadatak ovog rada predstavlja i ispitivanje *in vitro* antitumorske aktivnosti novosintetizovanih jedinjenja, kao i pokušaj uspostavljanja korelacionih odnosa strukture i biološke aktivnosti (SAR) i ispitivanje mehanizama antitumorskog dejstva.

2. OPŠTI DEO

2.1 Sinteze (+)-goniobutenolida A i (-)-goniobutenolida B

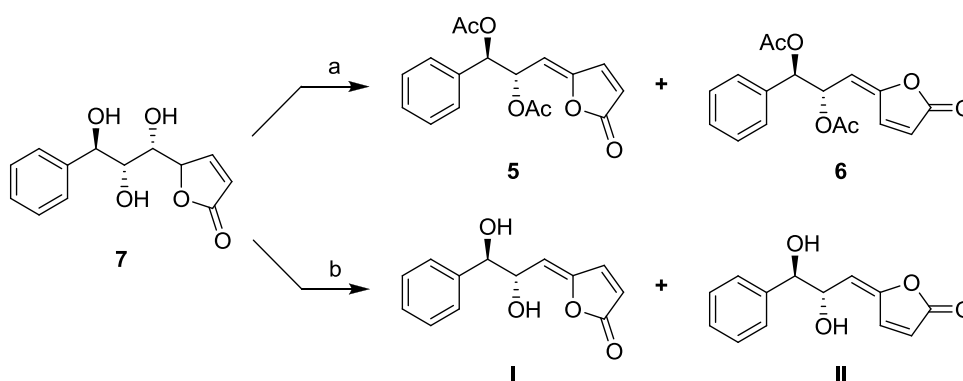
Prvu sintezu (+)-goniobutenolida A (**I**) i (-)-goniobutenolida B (**II**) objavili su 1994. godine Shing i saradnici.¹⁷ Reakcijom diacetonida-D-manoze (**1**) sa fenilmagnezijum-bromidom u THF dobijen je benzilni alkohol **2** i njegov epimer u odnosu 4:3 (*Shema 2.1.*). Acetilovanje **2**, praćeno selektivnom hidrolizom terminalnog acetonida dalo je diol **3**. Oksidativnim raskidanjem vicinalnog diola **3**, a potom Wittig-ovom olefinacijom dobijen je 2-enoat **4** (*Z/E* odnos *ca.* 1:1, utvrđeno ¹H NMR analizom). Hidroliza izopropilidenske zaštitne funkcije **4** sa vodenom sirćetnom kiselinom praćena acetilovanjem (Ac₂O/Et₃N/CH₂Cl₂) dala je smesu diacetata **5** i **6**. Pretpostavljeno je da uklanjanje acetonidne grupe **4** u kiselim uslovima prati migracija acetil-grupe i laktonizacija, gde nakon acetilovanja dolazi do eliminacije na C-4,5 i nastaju **5** i **6**. Ova pretpostavka je dokazana transformacijom poznatog trihidroksi-butenolida **7**¹⁸ u **5** i **6** pod istim uslovima u prinosu od 99% (*Shema 2.2.*).



Shema 2.1. (a) PhMgBr, THF, refluks, 52%; (b) Ac₂O, piridin, CH₂Cl₂, rt, 96%; (c) 50% AcOH, rt, 91%; (d) NaIO₄, MeOH, rt, zatim Ph₃P=CHCO₂Me, rt, 47%; (e) 80% AcOH, refluks, zatim Ac₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 53% (**5/6** = 2:1).

Finalizacija sinteze goniobutenolida A (**I**) i B (**II**) podrazumevala je deacetilovanje intermedijera **5** i **6**. Međutim, pokušaji uklanjanja estarskih zaštita baznom ili kiselom hidrolizom nisu dali željeni rezultat. Sintaza je konačno realizovana iz jedinjenja **7** gde je nakon trifluoroacetilovanja praćenog

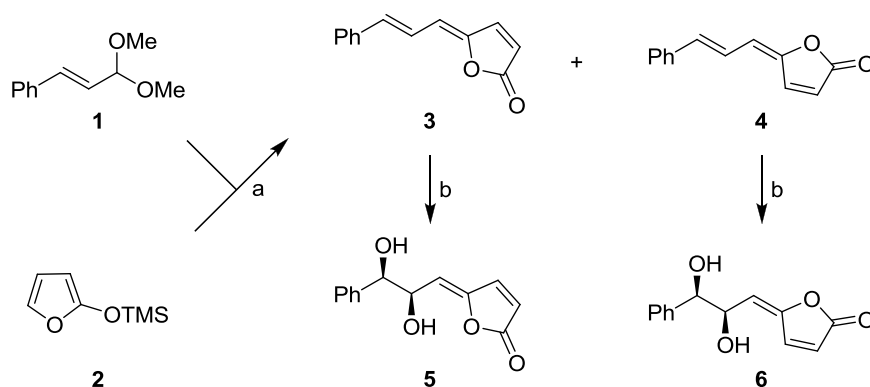
metanolizom *in situ* došlo do uklanjanja estara, pri čemu su željeni proizvodi **I** i **II** dobijeni u ukupnom prinosu od 79%.



Shema 2.2. (a) Ac_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 99%, **5/6** = 2:1; (b) TFAA, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, zatim MeOH, **I/II** = 1:3.

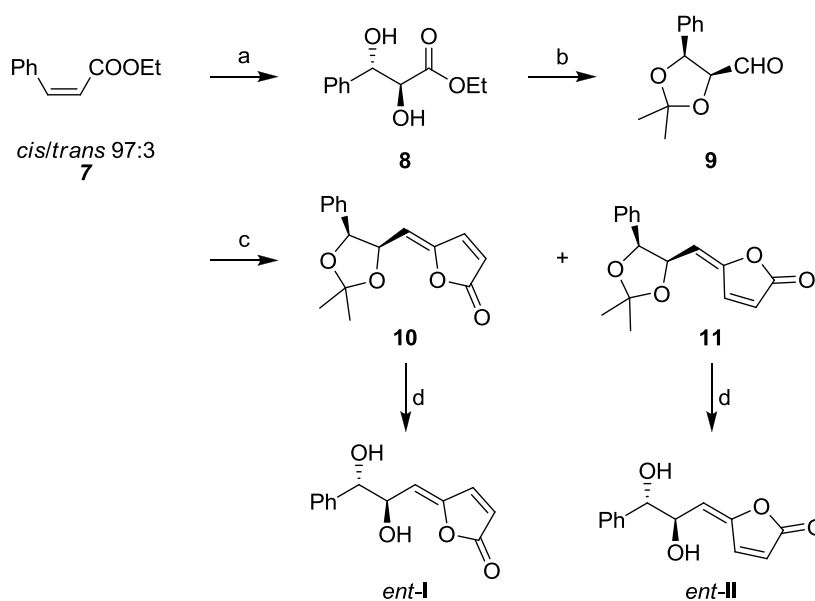
Xu i Sharpless¹⁹ su sintetizovali enantiomere laktona **I** i **II** radi demonstracije selektivne asimetrične dihidroksilacije konjugovanih diena i poliena,²⁰ i utvrđivanja njihove apsolutne konfiguracije. Kao što je prikazano na *Shemi* 2.3. formiranje dihidroksilovanih laktona je realizovano u tri faze u ukupnom prinosu većem od 60%. Mukaiyama kuplovanjem dimetil acetala cinamoil-aldehida (**1**) sa trimetilsiloksifuranom (**2**), praćenim zagrevanjem aldolnog adukta u ključaloj glacijalnoj AcOH u prisustvu KOAc, dobijeni su *E*- i *Z*- trieni (**3/4** ~ 1:1) u ukupnom prinosu od 85%.²¹ Stereohemija izomera **3** i **4** je utvrđena NOE eksperimentima. Dihidroksilacijom **3** i **4** pod standardnim AD uslovima^{20,22} regioselektivno su formirani odgovarajući dioli **5** i **6** u ukupnom prinosu od 80% i sa 99% *ee*. Međutim, spektroskopski podaci (¹H NMR i ¹³C NMR) **5** i **6** nisu odgovarali podacima prirodnih goniobutenolida A (**I**) i B (**II**). Kako su spektroskopski podaci za **5** i **6** potpuno odgovarali pripisanim strukturama, autori¹⁹ su zaključili da se hidroksilne grupe na C-6 i C-7 nalaze u *eritro* umesto u *treo* odnosu.

Da bi potvrdili ovu pretpostvaku, Xu i Sharpless¹⁹ su sintetizovali *eritro* goniobutenolide, *ent*-**I** i *ent*-**II**. Asimetričnom dihidroksilacijom (AD) *cis*-etil-cinamata (**7**) uz upotrebu DHQ-IND liganda dobijen je *eritro* diol (2*S*,3*S*)-**8** u prinosu od 82% i enantiomernom višku od 63% (*Shema* 2.4.).²³ Hidroksilne grupe molekula **8** su zaštićene u obliku acetonida, nakon čega je estar redukovano do aldehida **9** sa Dibal-H u metilen-hloridu na -78 °C. Nakon formiranja aldola i eliminacije,²¹ dobijeni su butenolidi **10** i **11**. Dieni **10** i **11** su razdvojeni fleš hromatografijom i tretirani razblaženom HCl u THF, pri čemu su dobijeni ciljni molekuli, *ent*-**I** (žuto ulje, $[\alpha]_D^{22} = -49.2$, *c* 0.25, CHCl_3) *ent*-**II** (beli kristali, $[\alpha]_D^{22} = +15.5$, *c* 0.2, CHCl_3).



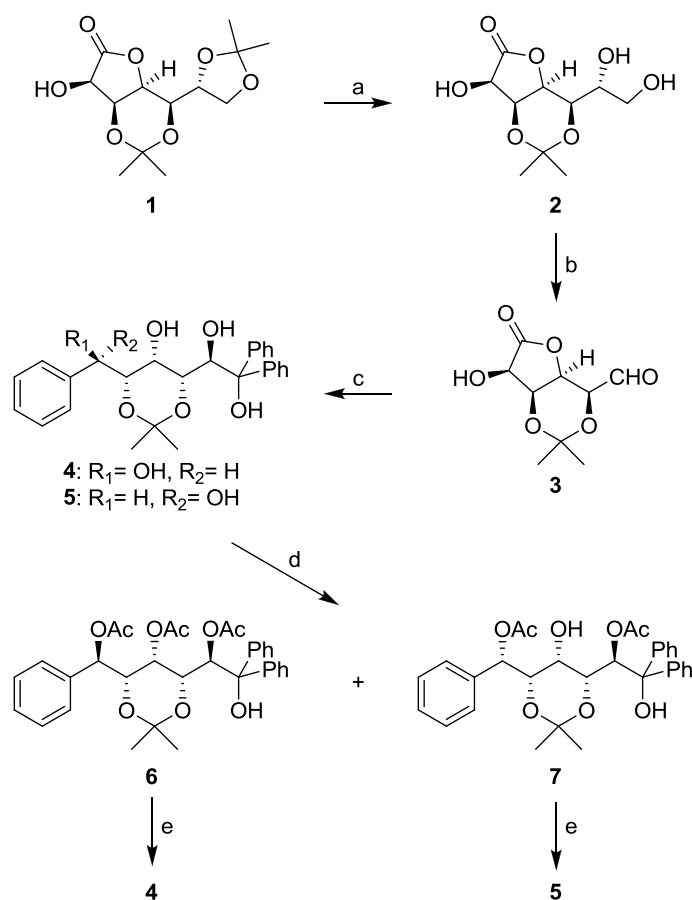
Shema 2.3. (a) (i) **2**, TiCl₄, (ii) KOAc, AcOH, 80%; (b) AD-β, 0 °C, 81% (**5**); 85% (**6**).

Optički prinosi za *ent*-**I** i *ent*-**II** od 64% su utvrđeni HPLC analizom na koloni *Chiralcel OF*, što ukazuje da nije došlo do racemizacije prilikom pomenutih transformacija. Spektoskopski podaci sintetizovanih *ent*-**I** i *ent*-**II** odgovaraju objavljenima osim znaka optičke rotacije, koji su, prema očekivanju, suprotni {[α]_D²² = +82.0 (*c* 0.25, CHCl₃) i [α]_D²² = -36.5 (*c* 0.2, CHCl₃) respektivno}.



Shema 2.4. (a) AD/DHQ-IND, 0 °C, 82%, 63% *ee*; (b) (i) Me₂C(OMe)₂, PPTS; (ii) Dibal-H, CH₂Cl₂, -78 °C, 89%; (c) **2**, BF₃·Et₂O, 85%; (d) Et₃N, Ac₂O, 84%; (e) 1N HCl, 1:1 H₂O/THF, 85–91%.

Shing i saradnici su 1995. godine objavili još jednu sintezu (+)-goniobutenolida A (**I**) i (-)-goniobutenolida B (**II**) polazeći od *D*-glicero-*D*-gulo-heptono-γ-laktona (Shema 2.5).²⁴

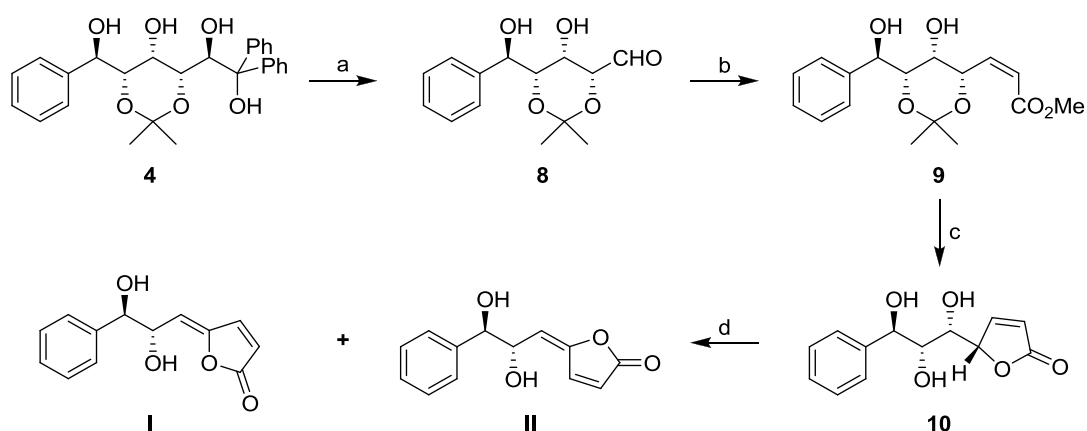


Shema 2.5. (a) AcOH-H₂O, rt, 70%; (b) NaIO₄; (c) PhMgBr, THF, 0 °C, 56%, **4/5** = 1:2, računato na **2**; (d) Ac₂O, Py, DMAP, CH₂Cl₂, 36% (**6**) i 49% (**7**); (e) aq NaOH, rt, 99% za **4** i 98% za **5**.

Termodinamički kontrolisanim uvodjenjem izopropilidenske zaštite, iz *D-glicero-D-gulo*-heptono- γ -laktona lako se dobija 3,5:6,7-diacetonid **1** (reakcija nije prikazana na shemi).^{25,26} Selektivnom hidrolizom terminalnog acetonida dobijen je triol **2** u dobrom prinosu. Oksidativnim raskidanjem vicinalnog diola **2** dobijen je aldehyd **3**, koji je bez prečišćavanja tretiran sa viškom fenilmagnezijum-bromida na 0 °C, pri čemu je dobijena smesa diastereoizomernih alkohola **4** i **5** u odnosu 1:2. Zbog teškoća pri hromatografskom razdvajanju, alkoholi **4** i **5** su transformisani u triacetat **6** i diacetat **7**, koji su prvo razdvojeni hromatografijom, a zatim su baznom hidrolizom prevedeni u **4** i **5**, respektivno.

Oksidativno raskidanje vicinalnog diola **4** sa natrijum-metaperjodatom dalo je aldehyd **8** (Shema 2.6.) koji je zatim tretiran sa Ph₃P=CHCO₂Me u suvom MeOH, dajući *Z*-olefin **9** kao dominantni stereoizomer²⁷⁻²⁹ (79%; *Z/E* = 10:1). Hidrolitičko uklanjanje preostale izopropilidenske zaštite jedinjenja **9** bilo je praćeno laktonizacijom pri čemu je dobijen trihidroksibutenolid **10**.

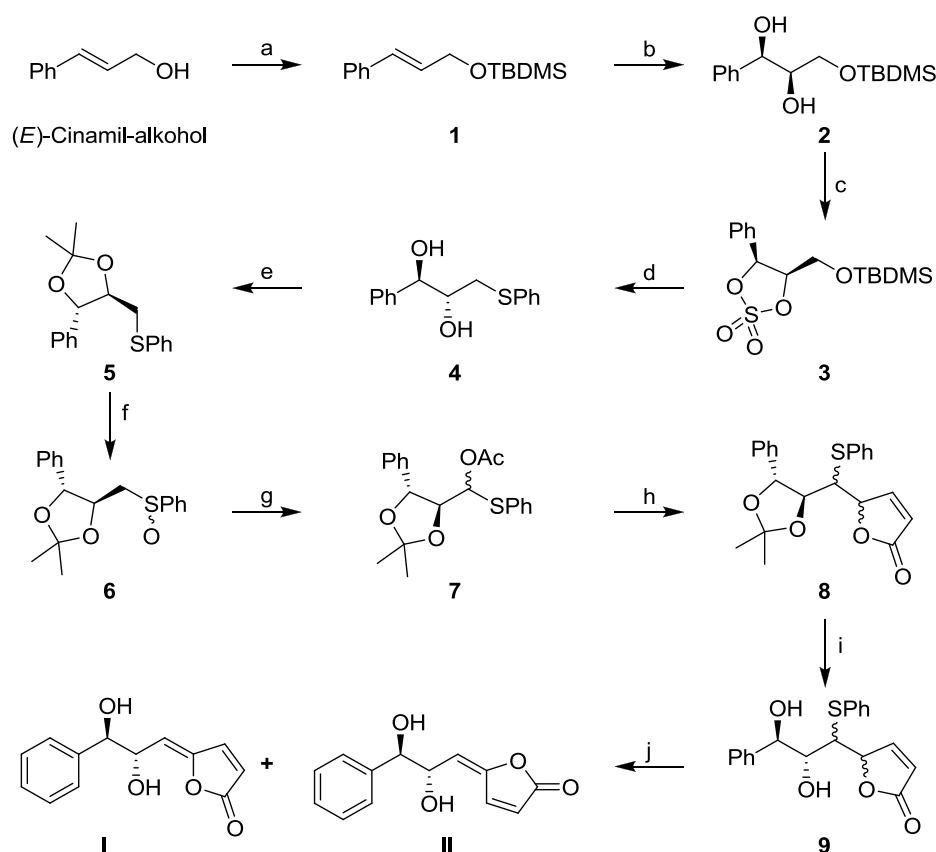
Dehidracijom **10** sa anhidridom TFA u prisustvu Et₃N, praćenom metanolizom *in situ* dobijeni su goniobutenolidi A (**I**) i B (**II**).



Shema 2.6. (a) NaIO₄; (b) Ph₃P=CHCO₂Me, aps. MeOH, rt, 79% računato na **4**, Z/E = 10:1; (c) AcOH/H₂O, rt, 89%; (d) TFAA, Et₃N, onda MeOH, 79%, **I/II** = 1:3.

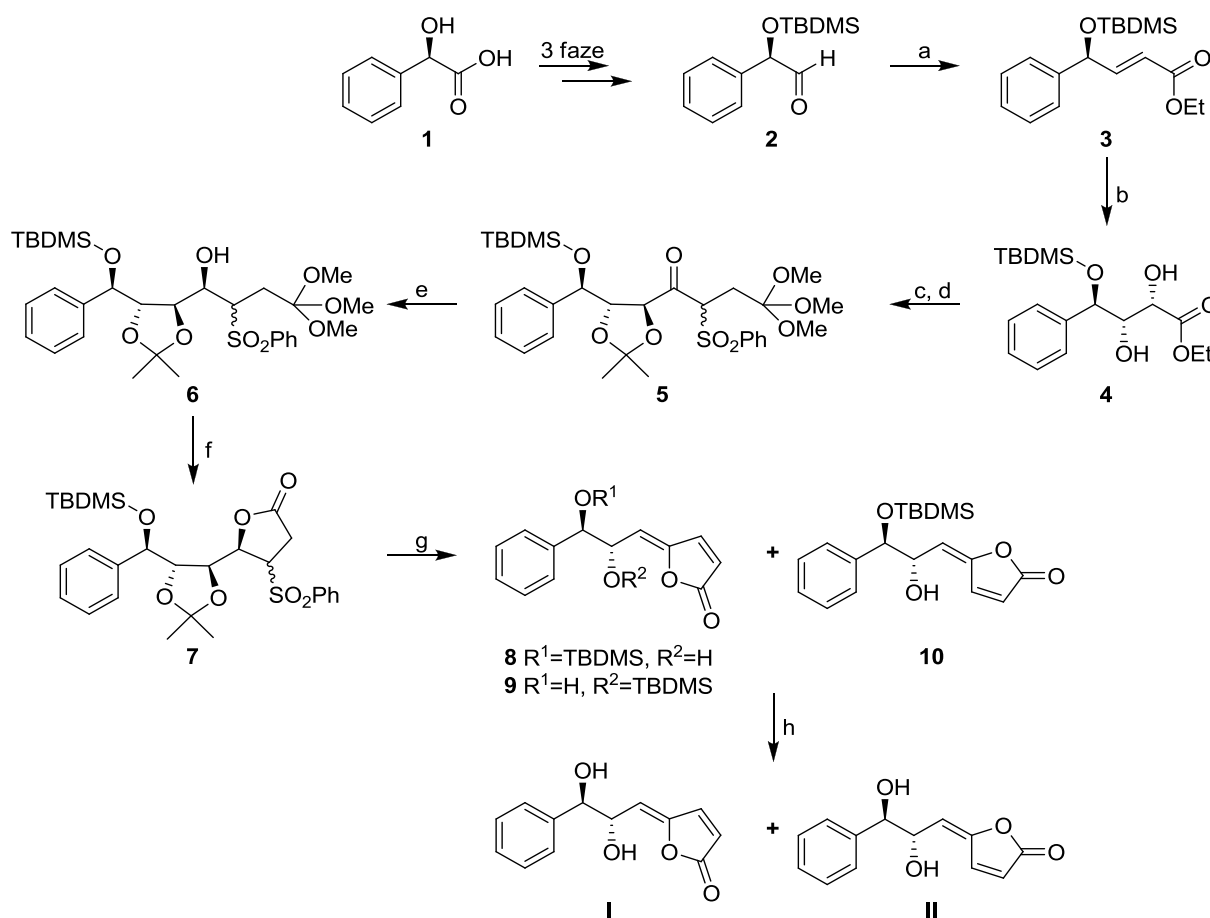
Grupa naučnika iz Velike Britanije izvela je enantioselektivnu sintezu goniobutenolida A (**I**) i B (**II**),³⁰ polazeći iz (*E*)-cinamil-alkohola (Shema 2.7.). Polazno jedinjenje je prvo zaštićeno u obliku silil-etra **1**, koji je zatim dihidroksilovan Sharpless-ovim reagensom AD-mix-β (94%, >95% *ee*). Rezultujući *treo*-diol **2** je preveden u ciklični sulfat **3** (88%).^{31,32} Nakon reakcije **3** sa TBAF, praćene tretmanom sa PhSNa, i konačno kiselom hidrolizom, željeni feniltio *eritro*-diol **4** je izolovan u prinosu od 79%. Hidroksilne grupe su zaštićene (100%) i sulfid **5** oksidovan do sulfoksida **6** (88%, smesa diastereoizomera). Pummerer-ovim premeštanjem dobijen je intermedijer **7** (99%, smesa diastereoizomera).

Iz literature je poznato Mukaiyama kuplovanje 2-trimetilsiloksifurana i sa acetalima i sa acilalima.^{21,33} Pummerer-ov proizvod **7** bi trebao direktno da podleže reakciji kuplovanja sa 2-trimetilsiloksifuranom u prisustvu Lewis-ove kiseline. Prema tome, jedinjenje **7** je tretirano sa 2-trimetilsiloksifuranom u prisustvu SnCl₄ pri čemu je dobijena kompleksna smesa proizvoda. Hromatografijom na koloni su izolovani sledeći proizvodi: **8** (39–52%, smesa diastereoizomera), **9** (7–15%, smesa diastereoizomera), i mala količina (oko 4%) goniobutenolida A (**I**) i B (**II**). Sva ova jedinjenja su željeni proizvodi, i dobijeni su u ukupnom prinosu od 50–67%. Nakon što je acetonidna zaštitna grupa intermedijera **8** uklonjena (84%), eliminacija benzentiola je postignuta sa AgF/Py.^{34,35} Hromatografskim prečišćavanjem dobijena je smesa **I** i **II** u odnosu 1.6:1 (68%), koji su zatim razdvojeni fleš hromatografijom koristeći ^tBuOMe/cikloheksan (7:1).



Shema 2.7. (a) TMDMSCl, 100%; (b) AD-mix- β , 94%, >95% *ee*; (c) (i) SOCl_2 , Et_3N ; (ii) RuCl_3 , NaIO_4 , 88% za dve faze; (d) (i) TBAF; (ii) PhSNa ; (iii) H_2SO_4 , 79% za tri faze; (e) 2-metoksipropen, H^+ , 100%; (f) *m*CPBA, 100%; (g) NaOAc , Ac_2O , 99%; (h) 2-trimetilsiloksifuran, SnCl_4 , CH_2Cl_2 , -70°C , 50–67%; (i) 90% THA (84%); (j) AgF , Py , 68%.

Surivet i Vatele,³⁶ su publikovali sintezu goniobutenolida A (**I**) i B (**II**), polazeći iz (*R*)-bademove kiseline (**1**). Enantiomerno čist *t*-butildimetilsiloksi aldehid **2**³⁷ je dobijen iz **1** u ukupnom prinosu od 76% sekvencijalnom kiselo-katalizovanom esterifikacijom, *O*-sililovanjem i redukcijom estarske funkcije sa Dibal-H (Shema 2.8.). Visoko selektivna Wittig-ova olefinacija jedinjenja **2** sa etoksikarbonilmetilen-trifenilfosforanom u ključalom toluenu dala je (*E*)- α,β -nezasićeni ester **3** u prinosu od 88%, zajedno sa (*Z*)-izomerom kao sporednim proizvodom (6%). Dihidroksilacija (*E*)-alkena **3** u prisustvu katalitičkih količina OsO_4 i viška *N*-metilmorfolin-*N*-oksida u sistemu voda/acetone³⁸ dala je diastereoselektivno željeni diol **4** u prinosu od 84% nakon hromatografskog razdvajanja smese diastereoizomera (89:11).

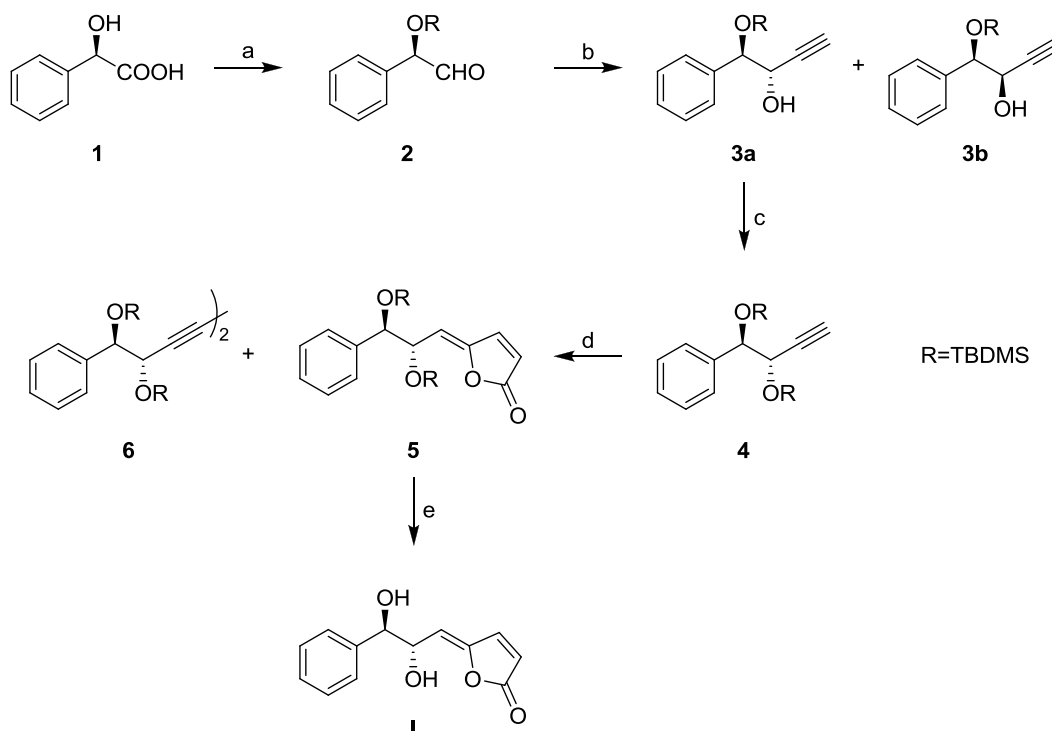


Shema 2.8. (a) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Et}$, PhCH_3 , 0.5 h, 110 °C, 94%, $Z/E = 14:1$; (b) kat. OsO_4 , NMO, aceton/ H_2O (4:1), 5 h, rt, 95%, smesa 8:1; (c) 2-metoksipropen, 10-kamforsulfonska kiselina, CH_2Cl_2 , 10 min, rt; (d) metil-3-fenilsulfonil-ortopropionat, $n\text{BuLi}$, THF, 30 min, $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{rt}$, 83% za dve faze; (e) LiAlH_4 , Et_2O , 2 h, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 96%; (f) kat. 10-kamforsulfonska kiselina, PhCH_3 , 1.5 h, refluks, 95%; (g) DBU, CH_2Cl_2 , 1 h, 0 °C, 85%; (h) $\text{AcOH}/\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1:1), 14 h, 60 °C, 75%.

Acetonid jedinjenja **4** (nije prikazan na shemi) tretiran je viškom litijumove soli metil-3-fenilsulfonil-ortopropionata, pri čemu je dobijena smesa diastereoizomernih β -keto-sulfona **5** (ukupni prinos 83%), koju nije bilo moguće hromatografski razdvojiti. Diastereoselektivnom redukcijom **5** sa LiAlH_4 na $-78\text{ }^\circ\text{C}$ dobijeni su epimerni sulfoni **6**, pri čemu je uveden C-4 stereocentar. Tretman sulfona **6** katalitičkim količinama anhidrovane 10-kamforsulfonske kiseline u ključalom toluenu, daje smesu (1:2) stereoizomernih γ -butirolaktona **7** u prinosu od 94%. Eliminacija sulfenske kiseline dejstvom DBU, praćena spontanom β -eliminacijom acetona, dala je smesu tri supstance **8–10** (u odnosu 11:3:5). Tretiranjem smese izomera **8–10** sa sirćetnom

kiselinom u THF i vodi, uklonjena je TBDMS zaštitna grupa, pri čemu je dobijena smesa goniobutenolida A (**I**) i B (**II**) u odnosu 3:1 (75%), koja je uspešno hromatografski razdvojena.

Primenom veoma efikasnog paladijumom katalizovanog *en-in* ukrštenog kuplovanja-laktonizacije za *Z*-selektivno dobijanje (*Z*)- γ -alilikidenbutenolida,³⁹⁻⁴¹ Kotora i Negishi⁴² su ostvarili sintezu goniobutenolida A (**I**).



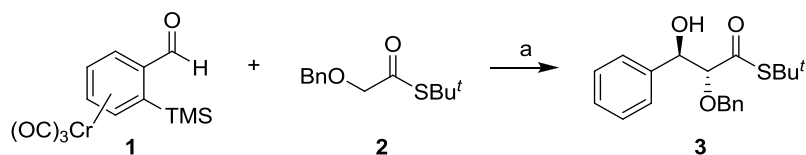
Shema 2.9. (a) (i) MeOH, *p*TsOH, 3 h, refluks; (ii) ^tBuMe₂SiCl, Im, DMF, 12 h, 22 °C; (iii) ^tBu₂AlH, Et₂O, 0.5 h, -78 °C, 80%; (b) HC≡CMgCl, THF, 1 h, -78 °C→22 °C, 55% (**3a**), 11% (**3b**); (c) ^tBuMe₂SiCl, Im, DMF, 12 h, 22 °C, 96%; (d) (*Z*)-3-bromopropenska kiselina, PdCl₂(PPh₃)₂, PPh₃, CuI, Et₃N, MeCN, 48 h, 22 °C, 55% (**5**), 27% (**6**); (e) THF/3*M* HCl, 6 h, 22 °C, 92%.

Nakon esterifikacije sa MeOH i TsOH, zaštite hidroksilne grupe u obliku TBDMS-etra i redukcije sa ^tBu₂AlH, (*R*)-bademova kiselina (**1**) je prema literaturnom postupku³⁷ prevedena u aldehid **2** u ukupnom prinosu od 80% (Shema 2.9.). Reakcija **2** sa HC≡CMgCl daje željeno jedinjenje **3a** i njegov epimer **3b** u prinosima od 55 i 11%, respektivno. Predominatno formiranje željenog *erythro* izomera ukazuje da reakcija teče pod sternom, a ne helatacionom kontrolom.^{43,44} Zaštitom novoformirane hidroksilne grupe sa TBDMSCl i imidazolom dobijen je potpuno zaštićen intermedijer **4**, koji reaguje sa (*Z*)-3-bromopropenskom kiselinom u prisustvu Cl₂Pd(PPh₃)₂, PPh₃,

CuI, i Et₃N u acetonitrilu u toku 48 h, nakon čega je dobijen željeni proizvod **5** u prinosu od 55% i diin **6** (27%). Deprotekcija silil grupa je izvedena dejstvom HCl u THF, u toku 6 h, što vodi do formiranja (+)-goniobutenolida A (**I**) u prinosu od 92%.

Shing *et al.*^{17,24} su sintetizovali goniobutenolide A (**I**) i B (**II**) sa umerenom selektivnošću (**I/II** = 2:1 ili **I/II** = 1:3, respektivno). Druge dve grupe autora^{19,30} su takodje ostvarile neselektivnu sintezu pomenutih laktona. Mukai i saradnici⁴⁵ su planirali selektivnu sintezu **I** i **II** preko zajedničkog intermedijera **9** prethodnom aktivacijom C-1 hidroksilne grupe, uz naknadnu eliminaciju.

U visoko stereoselektivnoj reakciji **1** sa *S*-*tert*-butil-benziloksietantionatom formiran je *anti*-aldolni proizvod **3** (Shema 2.10.).

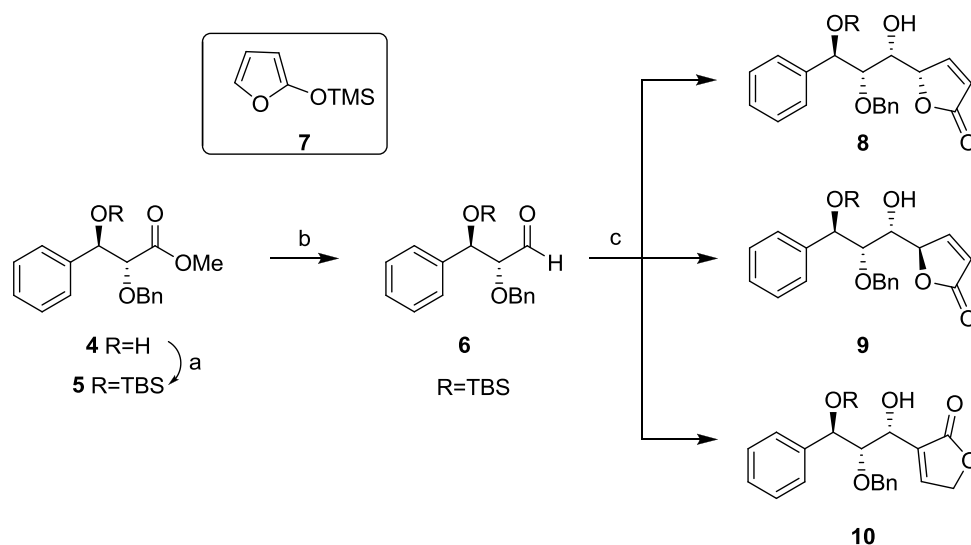


Shema 2.10. (a) (i) Aldolna kondenzacija; (ii) Desililovanje; (iii) Demetilovanje.

Metil ester **4**,^{46,47} dobijen iz tioestra **3**, je zaštićen u obliku TBS-etra, pri čemu je formiran **5** u prinosu od 77% (Shema 2.11.). Redukcijom **5** sa Dibal-H u benzenu, praćenom Swern-ovom oksidacijom dobijen je aldehyd **6**. Zbog labilnosti, aldehyd **6** je odmah izložen aldolnoj kondenzaciji u metilen-hloridu na -78 °C, pri čemu je molekul **7** predstavljao ugljenični nukleofil u prisustvu SnCl₄. Kao što je i očekivano formiran je **8** i njegov 4-epimer **9**. Međutim, glavni proizvod reakcije je γ -lakton **10**, nastao kao rezultat formiranja ugljenik-ugljenik veze na C-3 molekula **7** i izomerizacije. Promenom Lewis-ove kiseline (TiCl₄, ZrCl₄, Ti(O^{*i*}Pr)₂Cl₂) dobijeni su interesantni rezultati (Tabela 2.1.). U svim ispitanim slučajevima osim sa SnCl₄, dominantno je nastao γ -lakton **9** sa *anti* stereochemijom izmedju vodonika na C-4 i C-5 i *sin* izmedju vodonika na C-5 i C-6. Upotreba Ti(O^{*i*}Pr)₂Cl₂ kao Lewis-ove kiseline vodi do ekskluzivnog formiranja **9**.

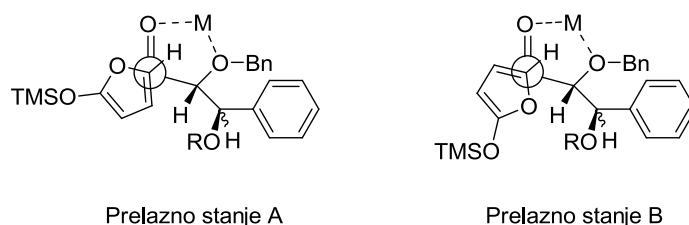
Tabela 2.1.

Lewis-ova kiselina	Prinos (%) iz 5	8:9:10
SnCl ₄	28	17:15:68
TiCl ₄	53	-:78:22
ZrCl ₄	48	28:72:-
Ti(O ^{<i>i</i>} Pr) ₂ Cl ₂	59	-:100:-



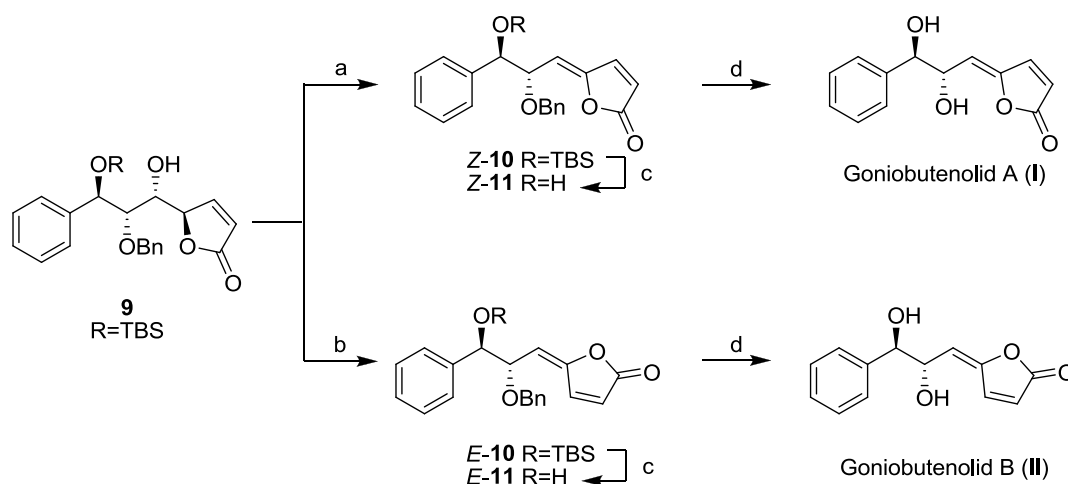
Shema 2.11. (a) TBSOTf, DMAP, anh. CH₂Cl₂, 0 °C, 77%, *anti/sin* = 19:1; (b) (i) Dibal-H, benzen; (ii) Swern-ova oksidacija; (c) **7**, Tabela 2.1.

Preferencijalno formiranje **9** umesto **8** je verovatno posledica prelaznog stanja B umesto očekivanog A (Shema 2.12.). Pretpostavljeno je da kada molekul **7** koordinovan Lewis-ovom kiselinom, pridje aldehidu **6**, preko prelaznih stanja A i B formiraju se **8** i **9**. U oba prelazna stanja (A i B), sterno manje zaštićen vodonikov atom furanskog prstena molekula **7** može doći na sterno najzahtevniji položaj. Trebalo bi da dodje do dipol-dipol interakcije između kiseonikovog atoma furanskog prstena i aldehida u prelaznom stanju A. Ta nefavorizovana interakcija se ne može predvideti u prelaznom stanju B. Prema tome, **9** će biti glavni proizvod reakcije. Stereohemija **8** i **9** je određena pažljivim razmatranjem konstanti kuplovanja, kao i poredjenjem sa srodnim supstancama u literaturi.^{17,24,48,49}



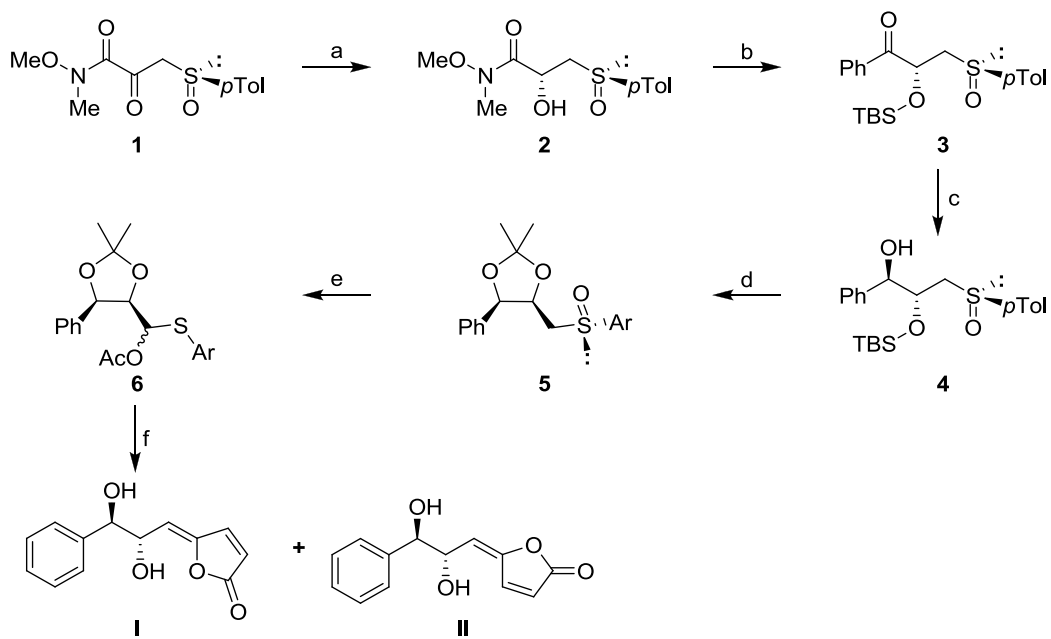
Shema 2.12.

Hidroksilna grupa na C-5 molekula **9** je prvo aktivirana (mezilat, acetat, trifluoroacetat), a potom je izložena eliminacionim uslovima. Nakon ispitivanja različitih reakcionih uslova variranjem baze, rastvarača i reakcione temperature, autori⁴⁵ su našli pogodne reakcione uslove. Mezilovanjem (–)-**9**, praćenim tretmanom sa diizopropilaminom u metilen-hloridu na sobnoj temperaturi u toku 40 minuta, dobijena je smesa *Z*- i *E*-**10** u odnosu 47:3 i prinosu od 93% (Shema 2.13.). Desililovanjem sirovog jedinjenja **10** pri standardnim uslovima (TBAF/HF) formiran je čist *Z*-**11** u ukupnom prinosu od 73%, računatom na **9**, koji je konvertovan u (+)-goniobutenolid A (**I**) debenzilovanjem sa TiCl₄ u prinosu od 95%. Slično, (–)-**9** je nakon mezilovanja izložen dejstvu vodenog K₂CO₃ u THF na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijena smesa *Z*- i *E*-**10** (3:17) u prinosu od 75%. Primenom postupka dvofazne transformacije *Z*-**10** u **I**, (–)-goniobutenolid B (**II**) je dobijen iz *E*-**10** preko čistog *E*-**11** (62% računato na **9**).



Shema 2.13. (a) (i) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0.5 h, –60 °C; (ii) diizopropilamin, CH₂Cl₂, 40 min, rt, 93% (računato na **9**); (b) (i) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0.5 h, –60 °C; (ii) 10% K₂CO₃, THF, 2 h, rt, 75%, *Z/E*=3:17 (računato na **9**); (c) TBAF/HF, THF, 19 h, 73% (*Z*-**11**, računato na **9**), 62% (*E*-**11**, računato na **9**); (d) TiCl₄, CH₂Cl₂, 0.5 h, 95% (**I**), 98% (**II**).

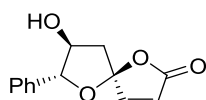
Poslednja publikovana sinteza goniobutenolida A (**I**) i B (**II**) je rad francuskih autora.⁵⁰ Ključni korak sinteze je diastereoselektivna redukcija β-keto sulfoksida **1** (koji se lako može dobiti iz di-*N*-metil-*N*-metoksiamida oksalne kiseline)⁵⁰ sa Dibal-H^{51–53} (Shema 2.14.). Nakon zaštite hidroksilne grupe β-hidroksisulfoksida **2**, praćene Grignard-ovom reakcijom dobijen je intermedijer **3**. Redukcijom keto grupe sa Dibal-H dobijen je *anti*-diol **4**. Odgovarajući acetonid **5** je podvrgnut Pummerer-ovom premeštanju pri čemu je dobijen acetonid **6**, koji je konačno transformisan u smesu **I** i **II** (3:2) primenom postupka koji su razvili Ko i Lerpiniere.^{7,17,30}



Shema 2.14. (a) Dibal-H, THF, 15 min, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$; (b) (i) TBDMSCl, DMF; (ii) PhMgBr, THF, $0\text{ }^{\circ}\text{C}$; (c) Dibal-H, THF; (d) (i) KF; (ii) DMP, PPTS; (e) Ac_2O , AcONa; (f) (i) 2-trimetilsiloksifuran, SnCl_4 ; (ii) TFA; (iii) AgF, Py.

2.1. Karakterizacija, određivanje strukture i sinteze (+)-krasalaktona D

Tuchinda i sar.¹⁵ su, 2006. godine, iz tajlandske biljke *Polyalthia crassa* izolovali četiri nova stiril-laktona, krasalaktone A–D, kao i neka druga od ranije poznata jedinjenja.

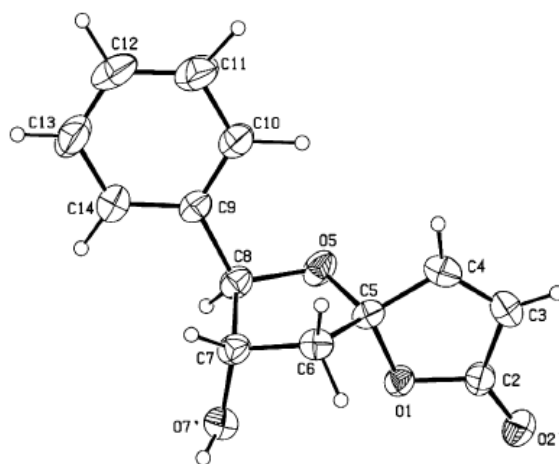


(+)-Krasalakton D (III)

Shema 2.15. Struktura (+)-krasalaktona D.

Pomenuti autori¹⁵ su, koristeći spektroskopske metode, rendgenostrukturnu analizu i elementarnu mikroanalizu ustanovili strukturu (+)-krasalaktona D (III, Shema 2.15.). Dijagnostički signal u njegovom EIMS-u, lociran na m/e 214 ($M^+ - H_2O$), ukazivao je da je molekul III monohidroksilni alkohol. Široka intenzivna traka na 3469 cm^{-1} u IR spektru potvrdila je alkoholnu prirodu molekula III. Na prisustvo α,β -nezasićenog γ -laktona u strukturi III ukazuju karbonilne apsorpcije koje se u IR spektru javljaju na 1758 i 1750 cm^{-1} , dok karakteristični signal koji je u ^{13}C NMR spektru lociran na δ_{C} 169.0 (C-1) definitivno dokazuje prisustvo jedne karbonilne grupe iz α,β -nezasićenog laktonskog prstena. ^1H NMR spektar jedinjenja III pokazuje signale protona jedne fenil-grupe, koji se sastoje od dva seta multiplata: δ_{H} 7.37–7.41 (2 H) i 7.29–7.34 (3 H), što odgovara monosupstytuisanom benzenovom prstenu. Olefinskim protonima (H-2 i H-3) nezasićenog γ -laktonskog prstena odgovara par dubleta na δ 6.28 (1 H, $J=5.6$ Hz, H-2) i 7.29 (1 H, $J=5.6$ Hz, H-3). Asignacija ostalih protona ostvarena je na osnovu $^1\text{H}-^1\text{H}$ 2D COSY spektra. Signal na δ 4.42 (ddd, $J=6.4, 1.9$ i 1.9 Hz, H-6) pokazao je intenzivne unakrsne pikove sa signalima na δ 2.57 (dd, $J=14.3$ i 6.4 Hz, H-5a) i δ 5.39 (d, $J=1.9$ Hz H-7), kao i unakrsne pikove veoma slabog intenziteta sa signalom na δ 2.31 (dd, $J=14.3$ i 1.9 Hz, H-5b). Prošireni signal na δ 4.42 (ddd, $J=6.4, 1.9$ i 1.9 Hz, H-6) ukazivao je da se hidroksilna grupa u molekulu III nalazi na C-6. ^{13}C NMR i DEPT spektroskopski podaci za molekul III pokazali su jedanaest signala za trinaest C-atoma, koji odgovaraju rezonanci jednog karbonilnog, dva kvaternerna, devet metinskih i jednog metilenskog C-atoma. Karakteristični signal kvaternernog C-atoma koji je lociran u regionu niske vrednosti magnetnog polja (δ_{C} 114.3 ppm), odgovara rezonanci spiroketalnog C-atoma (C-4) jer pokazuje

HMBC heterokorelaciju sa H-2, H-3, H-5a, H-5b, H-6 i H-7. Potpuna struktura i relativna konfiguracija molekula **III**, definitivno je potvrđena rendgenostrukturnom analizom (Slika 2.1.), dok je njegova apsolutna stereochemija utvrđena pomoću Mosher-ove estarske metode.^{54,55} Reakcijom izolovanog krasalaktona D (**III**) sa (*S*)-(+)- i (*R*)-(-)- α -metoksi- α -(trifluorometil)fenilacetil-hloridom, dobijeni su odgovarajući (*R*)- i (*S*)- α -metoksi- α -(trifluorometil)fenilacetatni kiseli estri. Jasne razlike u hemijskom pomeranju ($\Delta\delta_{S-R}$), nesumnjivo su potvrdile (*S*)-apsolutnu konfiguraciju stereocentra C-6, iz čega dalje proizilazi da je apsolutna konfiguracija (+)-krasalaktona D (**III**): 4*S*,6*S*,7*R*.¹⁵



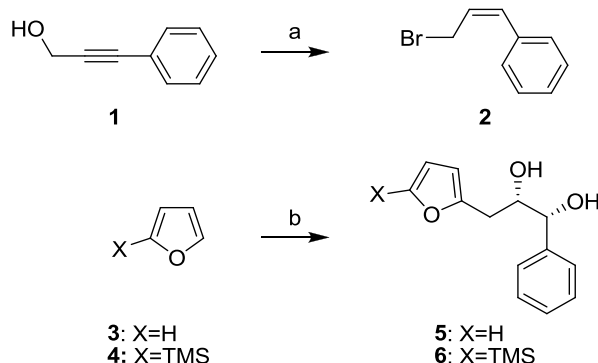
Slika 2.1. ORTEP prikaz strukture (+)-krasalaktona D (**III**) koja je određena rendgenostrukturnom analizom.

Pavlakos i sar.⁵⁶ su tandemskim i kaskadnim reakcijama posredovanim singletnim kiseonikom (1O_2) sintetizovali neke prirodne proizvode i njihove važne segmente.^{57,58} Ovi autori su nedavno razvili postupak dobijanja γ -spiroketalnih γ -laktona foto-oksigenacijom 2-(γ -hidroksialkil)furana,⁵⁹ koji je primenjen i za sintezu (+)-krasalaktona D (**III**).

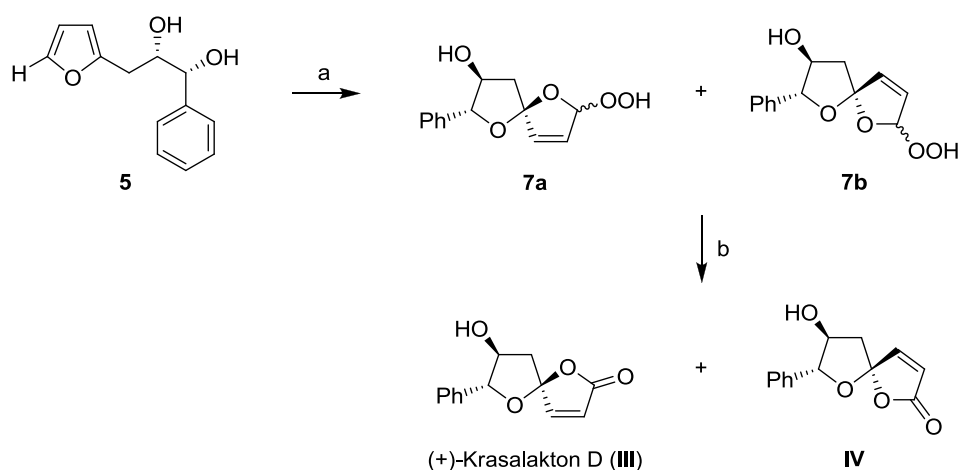
Dva različita foto-oksigenovana prekursora **5** i **6** sintetizovana su u visokom prinosu četvorofaznom reakcionom sekvencom prikazanom na Shemi 2.16.

Foto-oksigenacijom jedinjenja **5** pod standardnim uslovima (metilen-plavo kao fotosenzitajzer, propuštanje gasovitog kiseonika kroz reakcionu smesu, ozračivanje svetlošću vidljivog spektra) u toku 3 minuta dobijena je smesa diastereomernih spiro-hidroperoksida **7a** i **7b** (Shema 2.17.). Tretiranjem ove smese sa Ac_2O u piridinu dobijena je smesa prirodnog krasalaktona D (**III**) i

njegovog 4-epimera **IV** (u odnosu 3:2), u ukupnom prinosu od 45%. Pažljivim hromatografskim razdvajanjem dobijena su čista jedinjenja **III** i **IV**.



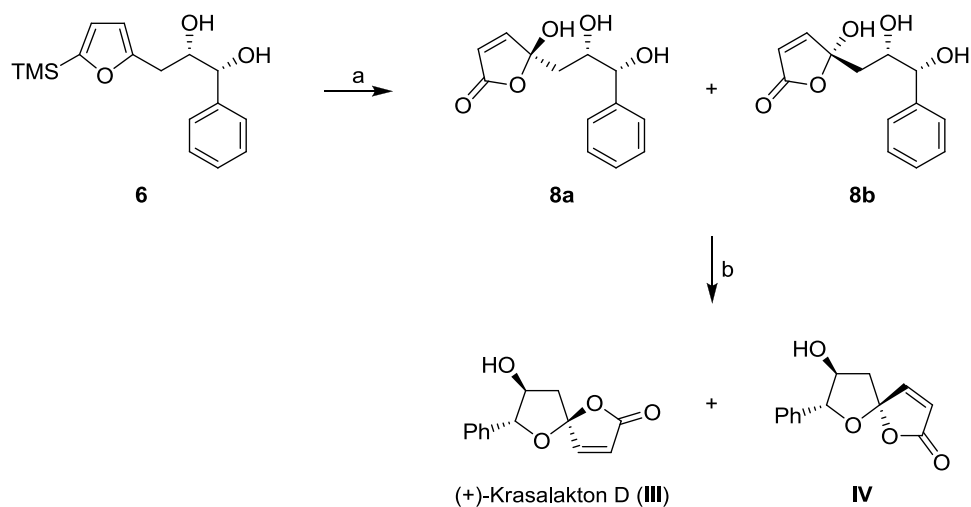
Shema 2.16. (a) (i) H₂, Lindlar kat., 97%; (ii) PBr₃, 88%; (b) (i) nBuLi, **3** (ii) AD-mix-β, MSA,



Shema 2.17. (a) O₂, MB, hv, 3min, CH₂Cl₂; (b) Ac₂O, Py, 45% (za dve faze).

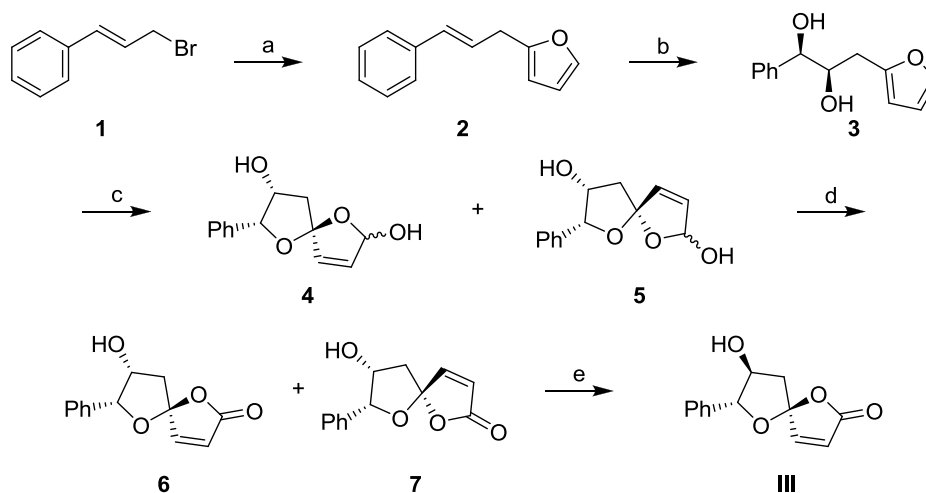
Usled niskog ukupnog prinosa poslednja dva koraka (45%), Pavlakos i sar.⁵⁶ su foto-oksigenovali jedinjenje **6** (Shema 2.18.) jer je od ranije poznato da 2-sililfurani, pri ovim uslovima daju 4-hidroksi-butenolide.⁶⁰⁻⁶³ Foto-oksigenacija 2-sililfurana **6** pod ranije primenjenim uslovima, dala je smesu dva stereoisomerna hidroksibutenolida **8a** i **8b**, koji su ketalizovani *in situ* nakon tretmana sa *p*TsOH pri čemu je dobijena smesa epimera **III** i **IV** u veoma visokom ukupnom prinosu (92%).

Delovanjem *p*TsOH hidroksibutenolidi **8a** i **8b** su ketalizovali za 30 minuta pri čemu je približni odnos epimera bio **III/IV**=1:2. Produženi tretman sa *p*TsOH (18 h) doveo je do već ranije utvrđenog ravnotežnog odnosa **III/IV**=3:2.



Shema 2.18. (a) O₂, MB, hv, 1.5 min, CH₂Cl₂; (b) pTsOH, 92% (za dve faze).

Poznato je da je Sharpless-ova asimetrična dihidroksilacija *trans*-olefina²² enantioselektivnija od dihidroksilacije *cis*-olefina.²³ Imajući to u vidu, Yang i sar.⁶⁴ su reakcijom bromida **1** i 2-furil-litijuma (Shema 2.19.) sintetizovali poznati *trans*-olefin **2**,⁶⁵ koji su potom podvrgli asimetričnoj Sharpless-ovoj dihidroksilaciji, pri čemu je dobijen diol **3**, u prinosu od 89%.



Shema 2.19. (a) 2-Furil-litijum, THF, 2 h, -50 °C → -5 °C, 73%; (b) AD-mix-β, ^tBuOH, H₂O, 24 h, 0 °C, 89%; (c) mCPBA, CH₂Cl₂, 3 h, 0 °C, 67%; (d) PDC, DMF, 3 h, 0 °C, 74% (**6**) i 7% (**7**); (e) TFA, DEAD, PPh₃, PhCO₂Na, THF, 20 h, 50 °C, 35%.

Oksidativnom spiroketalizacijom sa *m*CPBA dobijena je nerazdvojiva smesa laktola **4** i **5** u odnosu 2:1, što je utvrđeno ¹H NMR analizom sirove reakcione smese. Uočeno je da se u rastvoru metilenhlorida ili deuterisanog hloroforma manje stabilan izomer **5** prevodi u stabilniji izomer **4** (¹H NMR analizom nakon 24 h utvrđjen odnos 3:1). Rekrystalizacijom reakcione smese iz dihlrometana, uz sporo isparavanje rastvarača tokom tri dana, međusobni odnos stereoizomera se pomerio na 10:1, u korist jedinjenja **4**.

Naknadna selektivna oksidacija smeše laktola **4** i **5** piridinium-dihromatom daje (6*R*)-krasalakton D (**6**) i (4*R*,6*R*)-krasalakton D (**7**) u respektivnim prinosima od 74% i 7%.

Inverzija konfiguracije na C-6 prvo je pokušana u uslovima Mitsunobu-ove reakcije jedinjenja **6** sa TFA u prisustvu natrijum-benzoata.^{66,67} Reakcija je tekla veoma sporo na sobnoj temperaturi, ali je na 50 °C tekla brže, pri čemu je (+)-krasalakton D (**III**) dobijen u prinosu od 35%, dok je polazni lakton **6** regenerisan u prinosu od 40%.

2.2. Sinteza (+)-kardiobutanolida i stereoizomera

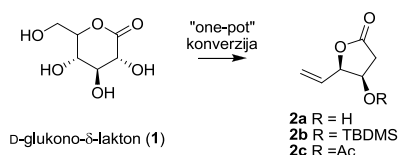
Hisham i saradnici¹⁰ su iz biljke *Goniothalamus cardiopetalus* 2003. godine izolovali (+)-kardiobutanolid (**V**). Iako je tokom prethodne decenije objavljeno devet sinteza kardiobutanolida i/ili njegovih diastereoizomera,^{68–76} u literaturi za sada nema podataka o njegovoj antitumorskoj aktivnosti. Prvu sintezu prirodnog proizvoda **V** ostvarili su Murga i saradnici koristeći selektivnu *anti*-boronatnu aldolnu reakciju na derivatu L-eritruoze.⁶⁸ Kardiobutanolid (**V**) su sintetizovali i Yoda i saradnici⁶⁹ nešto dužim sintetičkim putem polazeći od D-glukuronolaktone. Sintezu iz derivata D-glukoze koju su publikovali Krishna i Reddy,⁷⁰ pratila je formalna sinteza Singh-a et al.⁷¹ iz istog prekursora. Prasad i Gholap su razvili duži sintetski put iz D-(–)-vinske kiseline.⁷² Krishna i Kumar su potom objavili sintezu **V** koja uključuje Sharpless-ovu kinetičku rezoluciju, ukrštenu olefinsku metatezu i Sharpless-ovu asimetričnu dihidroksilaciju.⁷³ Kardiobutanolid (**V**) su sintetizovali Yadav i sar. polazeći iz D-glukuronolaktone u ukupnom prinosu od 13%.⁷⁴ Sekvencijalnom dvostrukom asimetričnom dihidroksilacijom diena Chadraseskhar i Kiranmao su ostvarili sintezu **V**.⁷⁵ Pal i Shaw su koristeći strategiju hiralnih „templata“, polazeći iz 3,4,6-tri-*O*-benzil-D-glukala sintetizovali **V**, pri čemu su ključne reakcije bile ukrštena olefinska metateza i asimetrično dihidroksilovanje.⁷⁶

Obzirom da su sve ove sinteze detaljno prikazane i diskutovane u doktorskoj tezi koja je ranije uradjena u našoj laboratoriji,⁷⁷ nećemo ih dalje komentarisati u ovom prikazu.

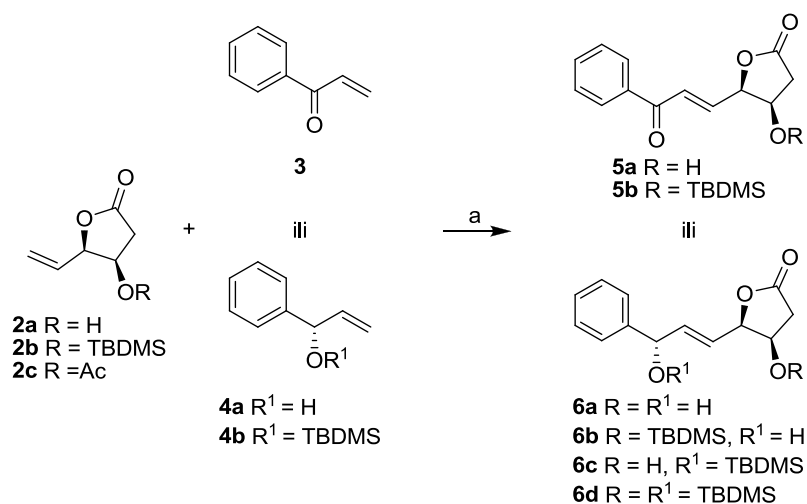
Najnovija sinteza koju su izveli Fernandes i Kattanguru⁷⁸ počinje konverzijom D-glukono- δ -laktone (**1**) u ključne intermedijere **2a** ili **2b** (Tabela 2.2.). Već je poznata desetofazna sinteza **2a** iz D-manitola.⁷³ Song i Hollingsworth⁷⁹ su publikovali „one-pot“ konverziju **1** u **2a** u prinosu od 58% (na skali od 25 g). Brimble i saradnici⁸⁰ su nakon brojnih ponavljanja ove reakcije dobili prinos od samo 7%. Fernandes i Kattanguru⁷⁸ su pokušali da optimizuju navedenu reakciju, a rezultati su sumirani u Tabeli 2.2. Kada je Zn prah dodat na 0 °C, a reakciona smesa potom zagrevana na temperaturi ključanja, prinos **2a** je povećan na 24%. Skraćanjem vremena tretmana sa HBr na 1 h na 50 °C, umesto u toku noći,⁷⁹ prinos je porastao na 45%. Kombinovanje tretmana sa HBr na 50 °C u toku 1 h i dodavanja Zn praha na –10 °C rezultovalo je povećanjem prinosa na 51%. Nakon zaštite β -hidroksilne grupe sirovog proizvoda reakcije dobijen je **2b** u ukupnom prinosu od 44% iz tri faze. U slučaju kada je reakciona smesa isprana vodom bez tretiranja bazom, γ -lakton sa acetatnom grupom je izolovan u prinosu od 45%.

Dalji pokušaji da se poboljša prinos nisu bili uspešni. Laktoni **2a** i **2b** su potom podvrgnuti reakciji ukrštene olefinske metateze (*Shema 2.20.*) sa odgovarajućim intermedijerima **3**, **4a** ili **4b**, a rezultati su sumirani u *Tabeli 2.3.*

Tabela 2.2. Dobijanje intermedijera **2a–c**.



Reakcioni uslovi	Proizvod	Prinos
i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 60 °C, u toku noći rt; ii) Zn prah, AcOH/H ₂ O (1:1), 2 h, rt, 1 h, refluks, KOH. ⁷⁸	2a	12%
i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 60 °C, u toku noći rt; ii) Zn prah, AcOH/H ₂ O (1:1), 1 h, 0 °C, 2 h, rt, 1 h, refluks, KOH.	2a	24%
i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 50 °C; ii) Zn prah, AcOH/H ₂ O (1:1), 1 h, 0 °C, 2 h, rt, 1 h, 60 °C, KOH.	2a	45%
i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 50 °C; ii) Zn prah, AcOH/H ₂ O (1:1), 1 h, -10 °C, 2 h, rt, 1 h, 60 °C, KOH.	2a	51%
i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 50 °C; ii) Zn prah, AcOH/H ₂ O (1:1), 1 h, -10 °C, 2 h, rt, 1 h, 60 °C, KOH; iii) imidazol, TBDMSCl, CH ₂ Cl ₂ , 12 h, 0 °C→rt.	2b	44%
i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 50 °C; ii) Zn prah, AcOH/H ₂ O (1:1), 1 h, -10 °C, 2 h, rt, 1 h, 60 °C.	2c	45%



Shema 2.20. (a) Reakcioni uslovi i prinosi prikazani u *Tabeli 2.3.*

Tabela 2.3. Optimizacija ukrštene olefinske metateze prikazane na Shemi 2.20.

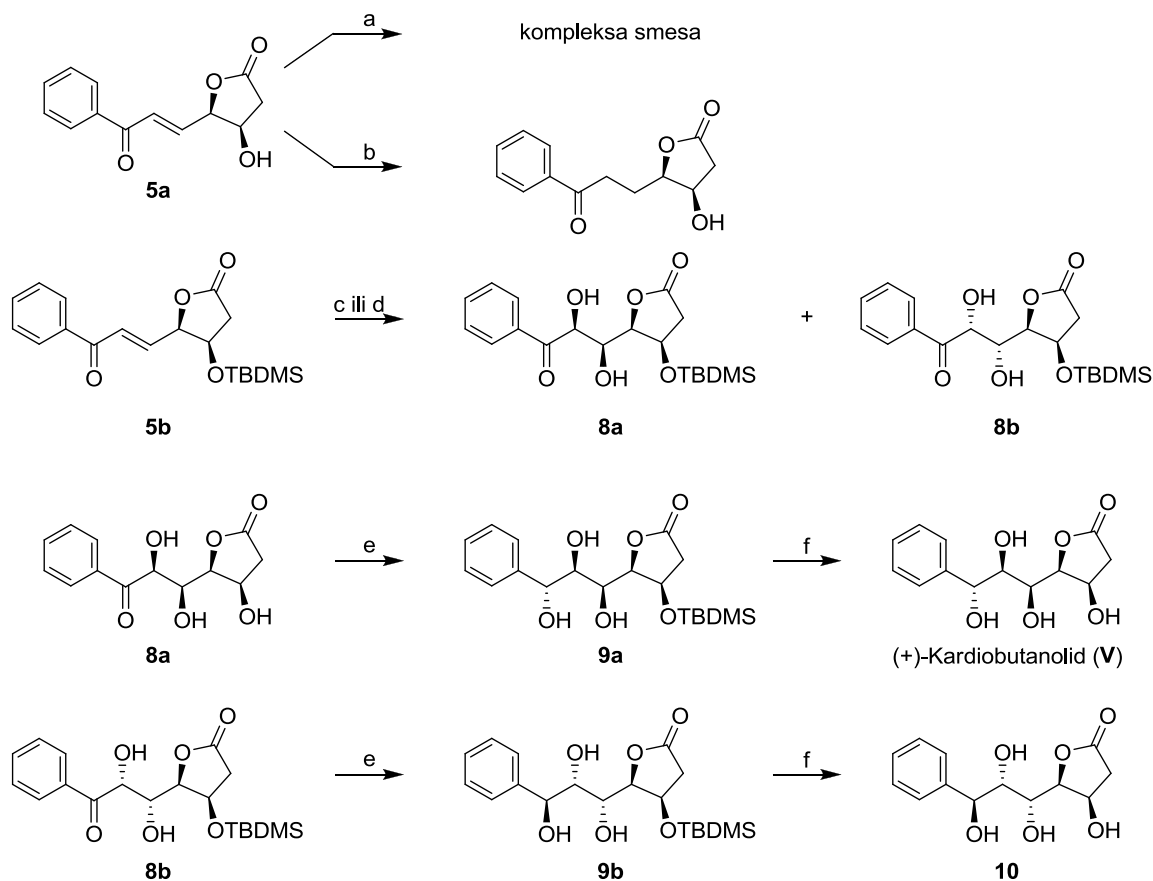
Reaktanti	G-II katalizator, prinos, vreme	G-H-II katalizator, prinos, vreme	Proizvod
3+2a	NR, 72 h ^b	-	5a
3+2a	-	48%, 72 h	5a
3+2b	NR, 72 h ^b	-	5b
3+2b	-	41%, 72 h	5b
4a+2a	NR, 72 h, ^c	-	6a
4a+2a	-	72%, 48 h ^d	6a
4a+2b	72%, 72 h	-	6b
4a+2b	-	63%, 96 h	6b
4b+2a	12%, 120 h	-	6c
4b+2a	-	18%, 120 h	6c
4b+2b	NR, 72 h ^e	-	6d
4b+2b	-	28%, 72 h	6d

^a Grubbs-ov katalizator I generacije je u svim slučajevima bio neefektivan. Osim ukoliko nije naznačeno drugačije, sve reakcije su radjene sa katalizatorom (5 mol%) u anh. CH₂Cl₂, uz refluks. ^b Ukoliko je došlo do degradacije **3**, **2a** i **2b** su regenerisani. ^c Gde je **2a** regenerisan, **4a** je dimerizovan. ^d Korišćeno je 10 mol% G-H-II katalizatora. ^e Regenerisan polazni materijal. NR = nije došlo do reakcije.

Reakcija ukrštene olefinske metateze^{81–83} između komercijalno dostupnog fenilvinilketona (**3**) sa **2a**, nije se odvijala u prisustvu Grubbs-ovog katalizatora druge generacije (G-II). Jedinjenje **3** se degradiralo, dok je regenerisano neizreagovalo **3a**. Reakcija je tekla u prisustvu Grubbs-Hoveyda katalizatora (G-H-II)^{81,84,85} pri čemu je formiran **5a** u prinosu od 48%. Slično, reakcija **3** sa **2b** je takodje tekla u prisustvu G-H-II, pri čemu je dobijen proizvod **5** u prinosu od 41%. Reakcija komercijalno dostupnog **4a** i nezaštićenog **2a** tekla je samo u prisustvu G-H-II. Formiran je proizvod **6a** u dobrom prinosu (72%). U prisustvu Grubbs-ovog katalizatora druge generacije dolazi do dimerizacije **4a**, pri čemu se **2a** može regenerisati. Intermedijer **6b** iz **4a** i **2b** formira se u prisutvu G-II i G-H-II, u prinosima od 72% i 63%, respektivno. Kada je **4b** tretiran sa **2a** i u prisustvu G-II i G-H-II dobijen je **6c** u niskim prinosima (12% i 18%, respektivno). Nije došlo do reakcije između **4b** i **2b** u prisustvu Grubbs-ovog katalizatora druge generacije; polazni materijal je regenerisan. Medjutim, reakcija je tekla u prisustvu G-H-II katalizatora, ali u niskom prinosu (**6d**, 28%). Nizak prinos je verovatno posledica bliskosti voluminozne silil grupe dvostrukoj vezi u molekulima **2b** i **4b**. Grubbs-ov katalizator prve generacije bio je neefikasan u svim pomenutim reakcijama.

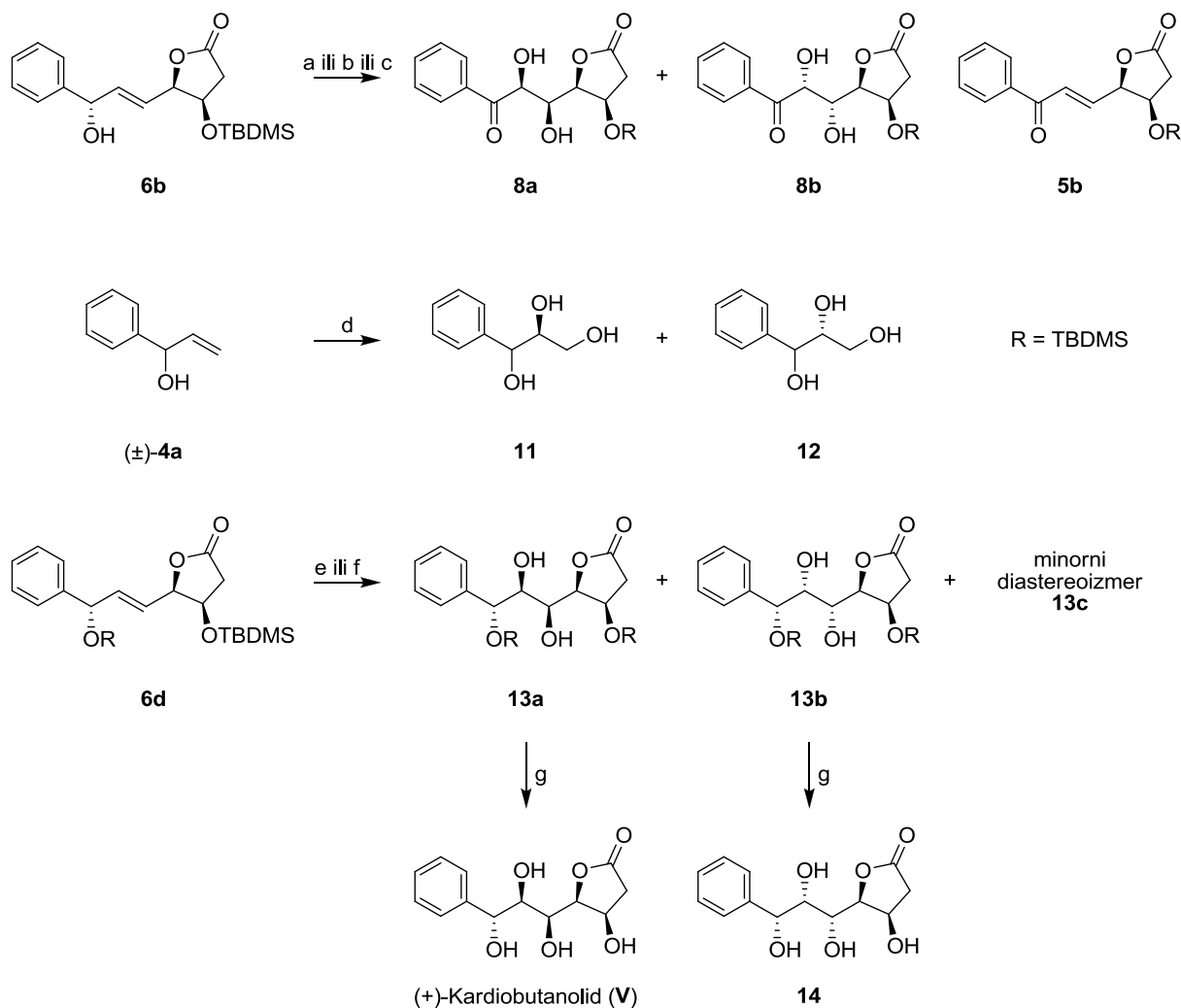
Nakon formiranja skeletnih struktura **5a–b** i **6a–d**, sledeća faza je uvođenje preostalih hidroksilnih grupa. Sharpless-ovom asimetričnom dihidroksilacijom^{86,87} olefina **5a** nastaje kompleksna smesa proizvoda koju nije bilo moguće razdvojiti (Shema 2.21.). Na osnovu pretpostavke da parcijalno formiranje hemiacetala vodi do smese proizvoda, planirana je prvo redukcija karbonilne grupe, a potom reakcija dihidroksilacije. U uslovima (*R*)-(Me)-Corey-Bakshi-Shibata (CBS) asimetrične

redukcije^{88,89} došlo je do konjugovane adicije umesto redukcije ketona **5a**, pri čemu je dobijen zasićeni derivat **8** u prinosu od 92%. Helatacija boranskog reagensa sa tri hidroksilne grupe je verovatan razlog formiranja hidrida za konjugovanu adiciju. Sharpless-ovom asimetričnom dihidroksilacijom **5b** formiraju se **8a** i **8b**, u prinosima od 16% i 47%. Dihidroksilacijom **5b** u odsustvu liganda [(DHQD)₂PHAL] i prisustvu NMO (Upjohn postupak)^{38,90} dobijeni su dioli **8a** i **8b** u odnosu 1:10 (ukupni prinos 57%). Keton **8a** je podvrgnut redukciji sa NaBH₄ u prisustvu CeCl₃·7H₂O pri čemu je formiran triol **9a** u prinosu od 90%. Pri istim reakcionim uslovima keton **8b** je transformisan u triol **9b** u prinosu od 91%. Uklanjanjem TBDMS-zaštitne grupe sa **9a** u kvantitativnom prinosu dobijen je prirodni proizvod **V**. Pri istim reakcionim uslovima iz **9b** je dobijen **10**.



Shema 2.21. (a) (DHQD)₂PHAL, K₂CO₃, K₃Fe(CN)₆, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·2H₂O, ^tBuOH, H₂O, 24 h, 0 °C; (b) (*R*)-(Me)-CBS, BH₃·SMe₂, THF, 1.5 h, -20 °C→0 °C, 92%; (c) (DHQD)₂PHAL, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·2H₂O, ^tBuOH, H₂O, 24 h, 0 °C, 16% (**8a**), 47% (**8b**); (d) K₂OsO₄·2H₂O, NMO, Me₂CO/H₂O, 24 h, rt, (57%) **8a+8b**; (e) NaBH₄, CeCl₃·7H₂O, MeOH, 0.5 h, -78 °C, 90% (**9a**) tj. 91% (**9b**); Amberlist 15, CH₃CN, 12 h, rt, kvantitativno.

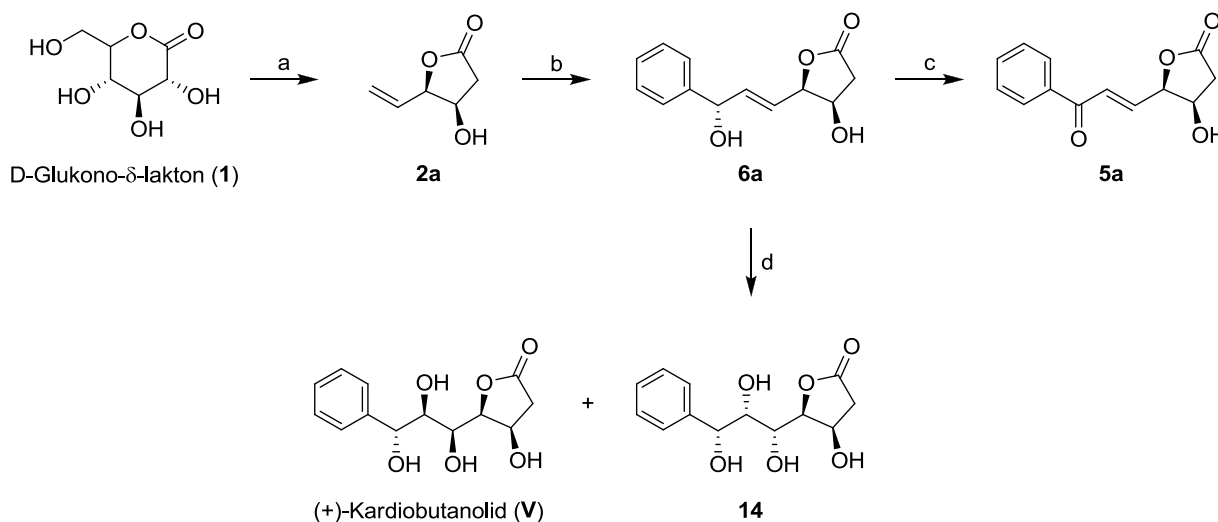
Sharpless-ovom asimetričnom dihidroksilacijom **6b** dobijena je smesa **8a** i **8b** u odnosu 1:3, kada je reakcija tekla 12 h (Shema 2.22.). Keton **5b** je dobijen u prinosu od 65% pri istim reakcionim uslovima ali kraćim reakcionim vremenom (2 h). Prema tome, oksidacija benzilne hidroksilne grupe se odigrava pre dihidroksilacije dvostruke veze.



Shema 2.22. (a) (DHQD)₂PHAL, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·H₂O, ^tBuOH, H₂O, 12 h, 0 °C, 21% (**8a**), 65% (**8b**); (b) (DHQD)₂PHAL, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·H₂O, ^tBuOH, H₂O, 2 h, 0 °C, 65% (**2b**); (c) K₂OsO₄·H₂O, NMO, Me₂CO/H₂O, 24 h, rt, 51% (**8a+8b**); (d) (DHQD)₂PHAL, K₂CO₃, K₃Fe(CN)₆, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·H₂O, ^tBuOH, H₂O, 12 h, 0 °C, 37% (**11**), 36% (**12**); (e) (DHQD)₂PHAL, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·H₂O, ^tBuOH, H₂O, 48 h, 0 °C, 31% (**13a**), 37% (**13b**), 7% (**13c**); (f) K₂OsO₄·H₂O, NMO, Me₂CO/H₂O, 24 h, rt, 15% (**13a**), 47% (**13b**); (g) Amberlist 15, CH₃CN, 12 h, rt, kvantitativno.

Dihidroksilacija olefina **6b** po Upjohn postupku,^{38,90} bez upotrebe hiralnog liganda daje **8a** i **8b** (51%) u odnosu 1:7. Sharpless-ovom dihidroksilacijom (\pm)-**4a** izolovana je smesa ($-$)-**11**⁹⁰ i **12** (smesa diastereoizomera)⁹² u prinosima od 37% i 36%, respektivno. Dihidroksilacija molekula **6c** nije ni pokušana zbog niskog prinosa njegovog formiranja u reakciji ukrštene olefinske metateze. Nakon reakcije asimetrične dihidroksilacije **6d** sa ligandom (DHQD)₂PHAL izolovani su diastereoizomeri **13a** (31%), **13b** (37%) i minorni neidentifikovani izomer **13c** (7%). Dihidroksilacijom **6d** sa NMO ali bez hiralnog liganda formirani su **13a** (15%) i **13b** (47%) u odnosu 1:3.

Konačno, izvedena je efikasna sinteza (+)-kardiobutanolida (**V**) bez upotrebe zaštitnih grupa (*Shema 2.23.*). Dihidroksilacija **6a** pod standardnim Sharpless-ovim uslovima sa ligandom (DHQD)₂PHAL u toku 12 h na 0 °C daje smesu proizvoda koju nije moguće hromatografski razdvojiti. Kada se reakciono vreme skрати na 2 h, dolazi do oksidacije benzilne hidroksilne grupe, pri čemu se formira **5a** u prinosu od 92%. Dihidroksilacijom **6a** sa K₂OsO₄·H₂O i NMO formira se **14** u prinosu od 15% i (+)-kardiobutanolid (**V**) u prinosu od 61%.



Shema 2.23. (a) (i) 33% HBr u AcOH, 1 h, 50 °C; (ii) Zn prah, AcOH/H₂O (1:1), 1 h, -10 °C, 2 h, rt, 1 h, 60 °C, KOH, 51%; (*Tabela 2.2.*); (b) **4a**, G-H-II, 48 h, 72%; (*Tabela 2.3.*); (c) (DHQD)₂PHAL, K₂CO₃, K₃Fe(CN)₆, MeSO₂NH₂, K₂OsO₄·H₂O, ^tBuOH, H₂O, 12 h, 0 °C, 92%; (d) K₂OsO₄·H₂O, NMO, Me₂CO/H₂O, 14 h, rt, 15% (**14**), 61% (**V**).

3. NAŠI RADOVI

3.1. Dizajn analoga i derivata krasalaktona D i kardiobutanolida

Osnovni molekul (eng. *lead compound*) je prirodni proizvod ili sintetički molekul koji pokazuje biološku aktivnost, ali i neke neželjene sporedne efekte. Sistematskim promenama strukture osnovnog molekula (izmena veličine i oblika ugljeničnog skeleta, promena prirode i stepena supstitucije, uvođenje novih funkcionalnih grupa, promena konfiguracije na stereocentrima, uklanjanje ili dodavanje prstena) dizajniraju se potencijalno biološki aktivni analozi. Primenom nekih od ovih promena na prirodni krasalakton D (**III**, *Shema 3.1.*) dizajnirani su njegovi epimeri **IV**, **VI** i **VII**, 6-*O*-cinamoil- derivati ovih laktona i 5-*C*-halogenidni analozi.

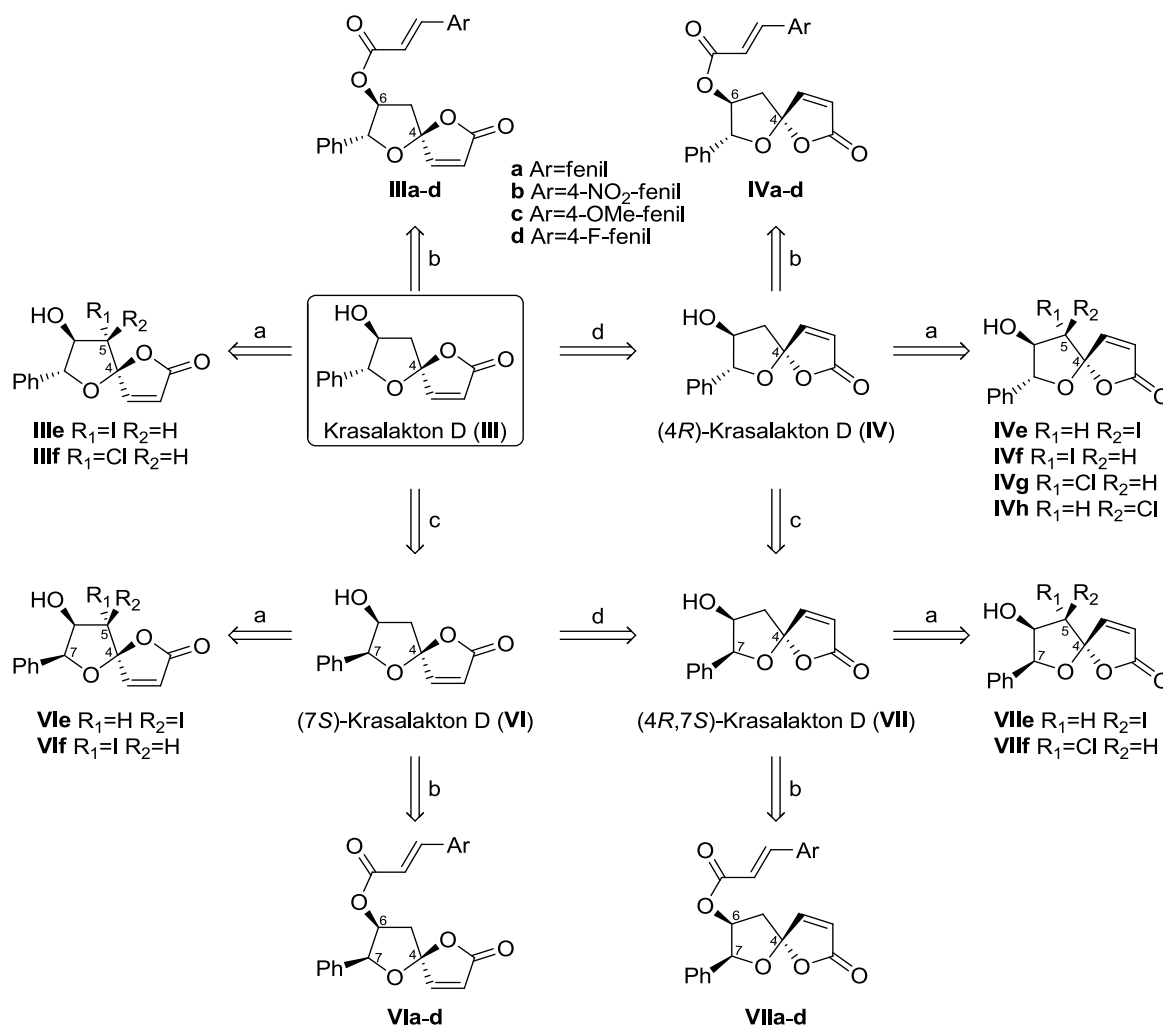
Promenom konfiguracije na C-7 struktura prirodnog krasalaktona D (**III**) je korelisana sa laktonom **VI**, a izmenom konfiguracije na C-4 strukture **III** i **VI** su dovedene u vezu sa laktonima **IV** i **VII**, respektivno.

Esterifikacija slobodne hidroksilne grupe krasalaktona D (**III**) i njegovih diastereoizomera **IV**, **VI** i **VII** cimetnom kiselinom i derivatima može iz više razloga doprineti poboljšanju biološke aktivnosti. Cimetna kiselina i njeni derivati pokazuju antitumorsku⁹³ i antimikrobnu⁹⁴ aktivnost. Takođe, iz prirodnih izvora su nedavno izolovani cinamatni estri stiril-laktona. Iz biljke *Polyalthia crassa* su osim krasalaktona D (**III**) izolovani krasalaktoni A–C, pri čemu krasalakton A predstavlja 4-*O*-cinamoil-derivat prirodnog stiril-laktona (+)-goniopirona (*Shema 3.2.*), koji je ranije izolovan iz biljaka familije *Goniothalamus*.⁹⁵ S druge strane, (+)-krasalakton C je 7-*O*-cinamoil-, a (+)-krasalakton B je 5-*O*-cinamoil-derivat prirodnog stiril-laktona (+)-goniofufurona, koji je 1990. godine izolovan iz tajlandske biljke *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae).⁵

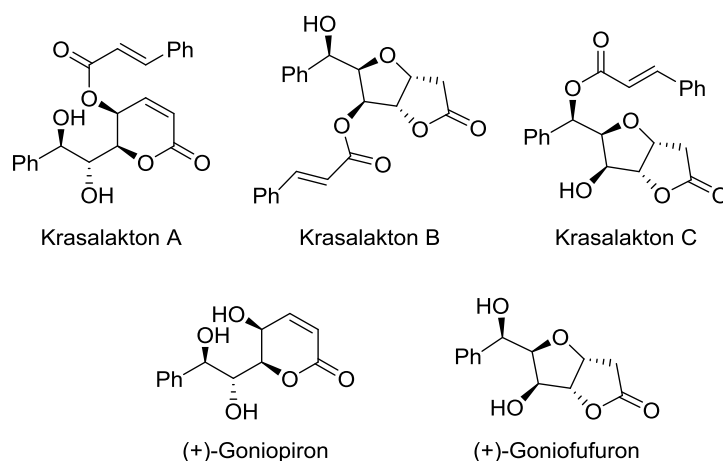
Supstitucijom vodonika fluorom u *para* položaju cinamoil- grupe, što je uobičajena jednovalentna izosterna zamena, u stvari se uvodi elektron-akceptorska grupa. U cilju uspostavljanja SAR korelacije između donorskih/akceptorskih karakteristika supstituenata i aktivnosti, dizajnirani su i analozi koji imaju metoksi- (elektron-donorsku) i nitro- (elektron-akceptorsku) grupu na C-4 benzenovog prstena.

Iz prirodnih izvora, najčešće iz morskih organizama, izolovani su mnogi organohalogeni derivati, pri čemu se brom i hlor, javljaju znatno češće od joda i fluora koji su u prirodnim proizvodima veoma retko zastupljeni.^{96,97} Ipak, izolovani su jodoterpeni iz *Laurencia nana*⁹⁸ i poliandrokarpanid

A i B iz filipinskog morskog tunikata *Polyandrocarpa sp.*⁹⁹ Indolski alkaloidi koji sadrže jod, plakohipaforini A–C, izolovani su iz karipskog sundjera *Plakortis simplex*,^{100,101} i poslužili su kao osnov za dizajniranje i razvoj novih lekova.^{102,103} Kaliheamicin koji proizvodi *Micromonospora Echinospora* je poslužio kao osnovni molekul za razvoj imunokonjugata *N*-acetil-dimetil-hidrazid kaliheamicina kao antitumorskog agensa.^{104,105} Prirodni proizvodi koji sadrže hlor često pokazuju biološku aktivnost. Na primer, violacen je polihalogeni monoterpen izolovan iz crvene morske alge *Plocamium sp.*¹⁰⁶ koji učestvuje u hemijskoj odbrani alge.^{107,108} Sirova frakcija crvene alge *Laurencia Intricata* koja sadrži kao većinski komponentu (+)-intricatetraol, halogenidni triterpensi alkohol, pokazuje slabu citotoksičnu aktivnost prema ćelijama leukemije P388.¹⁰⁹ Napiradomicini su organohalogene supstance izolovane iz *Streptomyces* bakterija i ponašaju se kao nesteroidni agonisti estrogena.^{110,111}



Shema 3.1. Dizajniranje analoga prirodnog krasalaktone D (**III**): (a) izosterna zamena; (b) esterifikacija cimetnom kiselinom i derivatima; (c) epimerizacija na C-7; (d) epimerizacija na C-4.



Shema 3.2. Strukture prirodnih stilir-laktona.

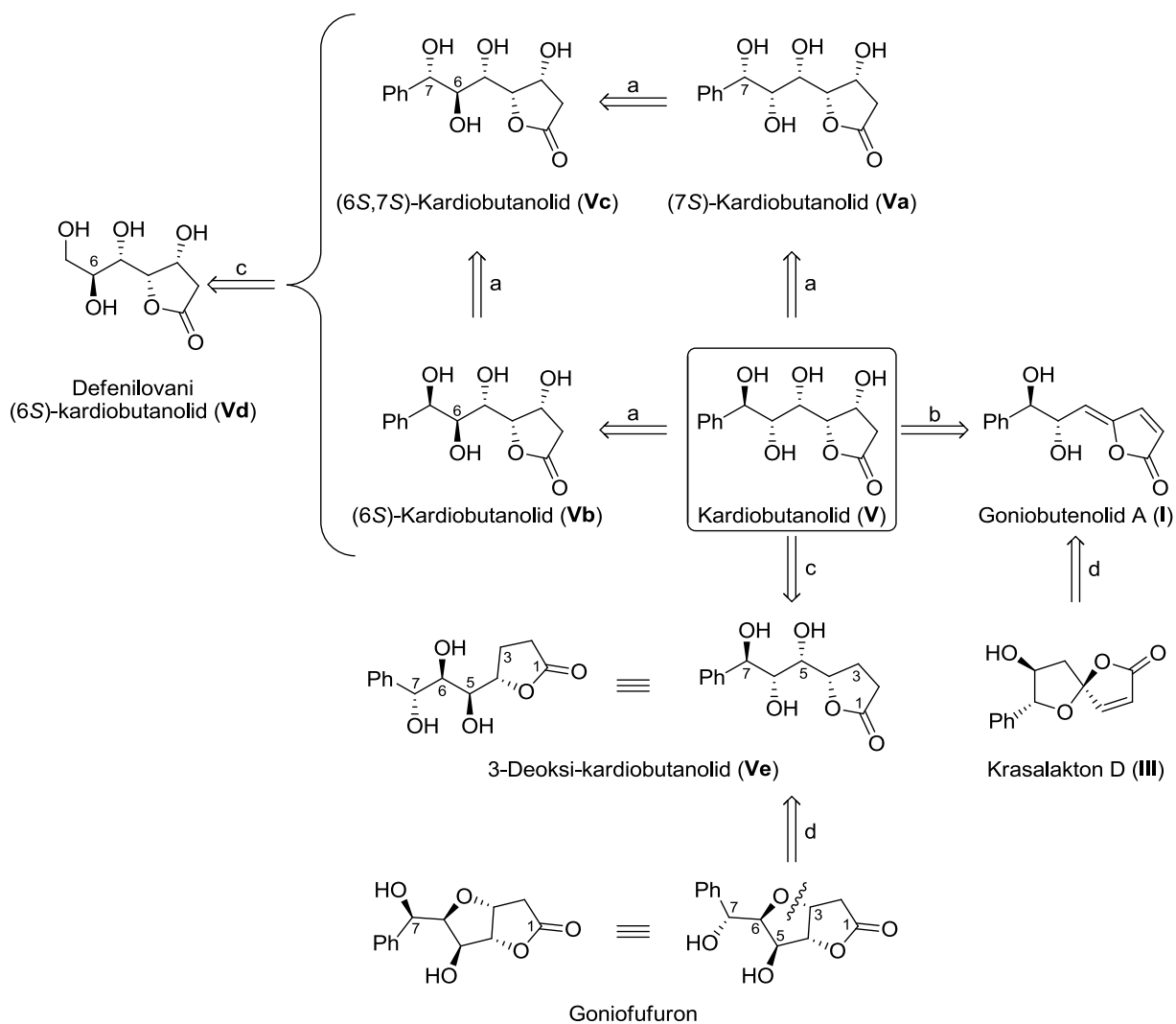
Uvodjenjem hlora i joda, na C-5 molekula **III** i njegovih epimera, formiraju se novi stereocentri, što bi moglo uticati na njihovo specifičnije vezivanje za receptor.

Takodje je realno očekivati da se uvođenje halogena povoljno odrazi na biološku aktivnost analoga, pre svega zbog promene lipofilnosti, što bi moglo biti od bitnog uticaja na transport molekula kroz biološke membrane.

Primenom principa racionalnog dizajna na kardiobutanolid (**V**) kao osnovni molekul, dizajnirani su analozi **Va–d**, a njenoj strukturi je dalje korelisana sa istom od prirodnih laktona, 3-deoksikardiobutanolida (**Ve**), goniobutenolida A (**I**), krasalaktona D (**III**) i goniofufurona (Shema 3.3.).

Goniobutenolid A (**I**) se može smatrati monocikličnim analogom krasalaktona D (**III**). Otvaranjem THF prstena se dobija konformaciono pokretljiviji molekul. Takodje, **I** se može posmatrati i kao dvostruko dehidratirani kardiobutanolid (**V**). Veći broj hidroksilnih grupa u molekulu **V** ga čini polarnijim i rastvorljivijim u vodi. Bolja rastvorljivost u vodi rezultuje boljom distribucijom analoga u vodenom medijumu i sprečava zadržavanje u biološkim membranama. Prirodni 3-deoksikardiobutanolid (**Ve**) je direktni izosterni analog laktone **V** (OH→H). Odsustvo jedne hidroksilne grupe bi moglo omogućiti lakši transport **Ve** kroz biološke membrane. Raskidanjem C₃-O veze, struktura **Ve** se može korelisati sa strukturom goniofufurona.

Izmenom konfiguracije na pojedinačnim stereocentrima (C-6 i C-7, ili oba) dizajnirani su analozi **Va–c**. Stereohemija na pojedinačnim stereocentrima može biti od izuzetne važnosti za biološku aktivnost, a takodje može poslužiti i za uspostavljanje korelacije između stereohemije i biološke aktivnosti.

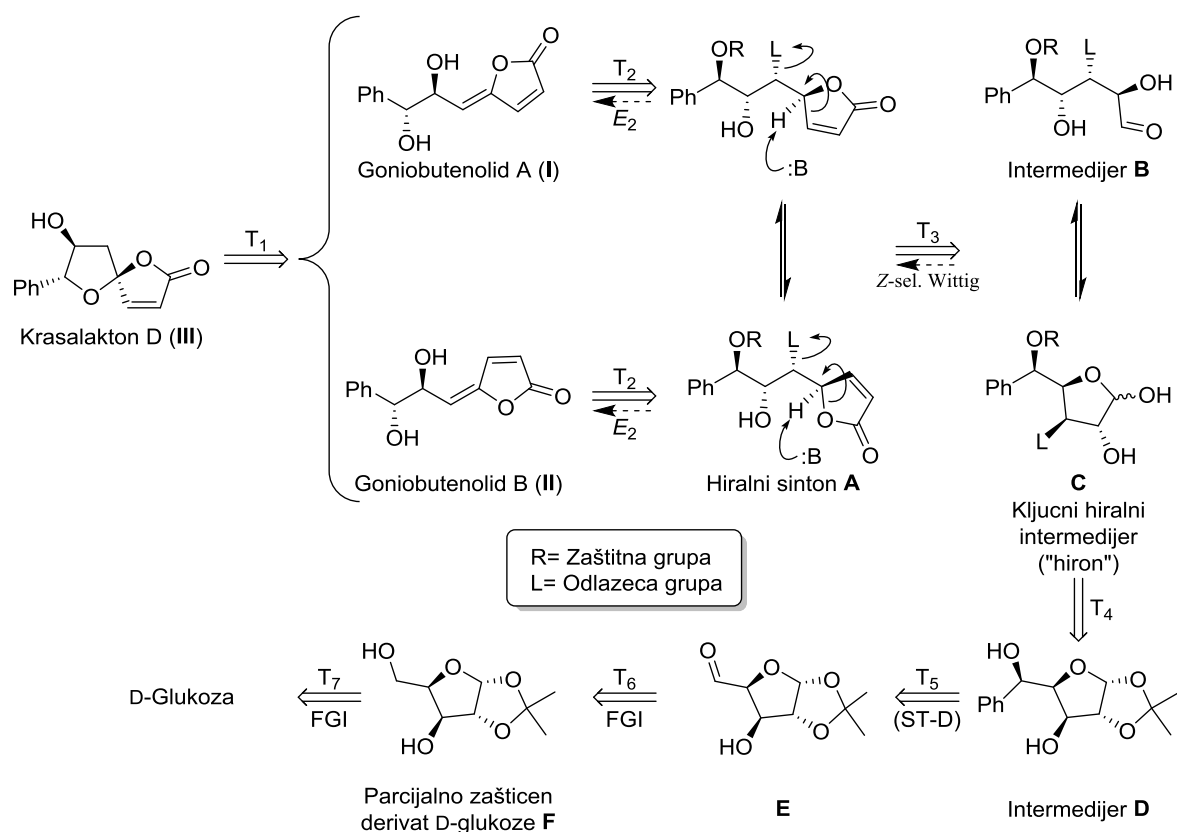


Shema 3.3. Korelacija strukture 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) sa prirodnom goniofufuronom, **Va–e** sa prirodnim kardiobutanolidom (**V**) i **V** sa goniobutanolidom A (**I**) i krasalaktonom D (**III**): (a) epimerizacija; (b) dehidracija; (c) izosterna zamena; (d) otvaranje THF prstena.

Uklanjanjem fenil-grupe i stereocentra C-7 iz **Vb** ili **Vc** dizajniran je defenilovani analog **Vd**. Uspostavljanjem korelacije izmedju strukture **Vb**, **Vc** i **Vd** i biološke aktivnosti mogao bi se utvrditi uticaj fenil-grupe na aktivnost ovog tipa molekula.

3.2. Strategija sinteze i izbor polaznog materijala

Strategija sinteze ciljnih molekula, goniobutenolida A (**I**), B (**II**), krasalaktona D (**III**) i analoga, je zasnovana na konceptu hiralnih templatata.¹⁶ Retrosintetička analiza molekula **I–III**, pomoću koje je njihova struktura korelisana sa istom od D-glukoze, prikazana je na *Shemi 3.4*.



Shema 3.4. Retrosintetička analiza goniobutenolida A (**I**) i B (**II**) i krasalaktona D (**III**).

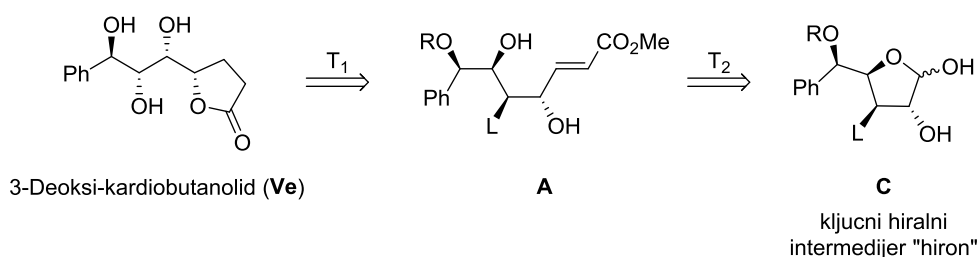
Saglasno uobičajenoj metodologiji retrosinteze, iz strukture navedenih ciljnih molekula su postepeno uklanjani pojedini strukturni fragmenti uz minimalne promene njihove inherentne stereohemije.¹⁶

Prva faza predstavlja transform za spiroketalizaciju (T_1) kojim je krasalakton D (**III**) doveden u vezu sa goniobutenolidima A (**I**) i B (**II**). Eliminacionim transformom (T_2) strukture **I** i **II** su korelisane sa hiralnim sintonom **A**. Intermedijer **B** (odnosno njegova hemiacetalna forma **C**) je doveden u vezu sa **A** primenom *Z*-selektivnog Wittig-ovog transformata (T_3). Primenom sledećeg

transforma za interkonverziju funkcionalnih grupa (T_4) na ključni hiralni intermedijer (hiron) **C**, pri čemu je pretpostavljeno da 3,5-ciklični karbonat može poslužiti ujedno kao zaštita na O-5 i odlazeća grupa sa C-3, generisan je intermedijer **D**. Pojednostavljujući transform T_5 za diskonekciju stereocentara (ST-D) vodi do strukture **E**, čija je struktura konačno korelisana sa istom kod D-glukoze pomoću dva sukcesivna transform za interkonverziju funkcionalnih grupa (T_6 i T_7).

Primenom slične metodologije retrosinteze na C-7 i C-4 epimere molekula **III**, strukture ciljnih molekula **IV** i **VI–IX** su povezane sa D-glukozom.

Četiri godine nakon što je publikovana prva sinteza 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) izvedena u našoj laboratoriji,¹¹² ovaj molekul je izolovan 2014. godine iz vijetnamske biljke *Goniothalamus macrocalyx*.¹¹³ U okviru ove doktorske disertacije osmišljena je nova sinteza 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**), čija je retrosintetska analiza prikazana na *Shemi 3.5*.



Shema 3.5. Retrosintetska analiza 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**).

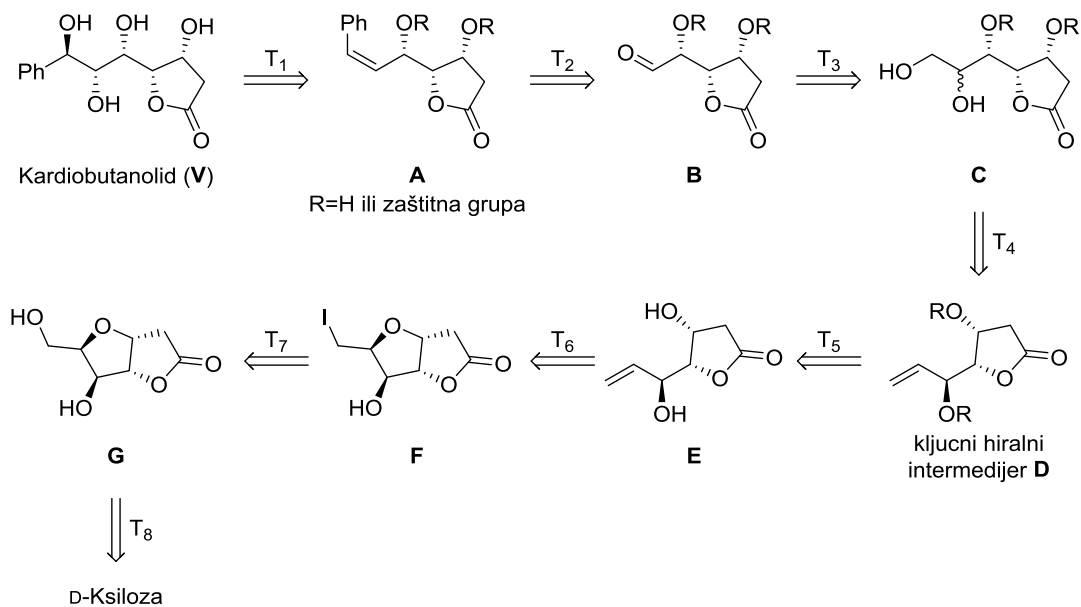
Prva faza retrosinteze (T_1) predstavlja složeni transform za hidrogenovanje, laktonizaciju i deprotekciju, pomoću koga se generiše intermedijer **A**. Primena *E*-selektivnog Horner-Wadsworth-Emmons-ovog transform (T_2) na intermedijer **A** vodi do hiralnog sintona **C**, koji je ključni hiralni intermedijer u sintezi prirodnih stiril-latkona **I–III** (*Shema 3.4*).

Retrosintetskom analizom struktura prirodnog kardiobutanolida (**V**) je korelisana sa istom od D-ksiloze (*Shema 3.6*).

Primenom transform za asimetričnu dihidroksilaciju (T_1) struktura kardiobutanolida (**V**) je korelisana sa *Z*-olefinom **A**. *Z*-Selektivnim Wittig-ovim transformom (T_2) intermedijer **A** je korelisan sa aldehidom **B**. Pomoću transform za diskonekciju stereocentara T_3 generisan je intermedijer **C**, koji je korelisan sa laktonom **D** pomoću transform za Sharpless-ovu asimetričnu dihidroksilaciju (T_4). Primenom transform za interkonverziju funkcionalnih grupa (T_5) intermedijer **D** je korelisan sa diolom **E**, koji je zatim doveden u vezu sa derivatom **F** pomoću transform za

reduktivno otvaranje prstena (T_6). Garegg-Samuelsson-ovim transformom (T_7) generisan je poznati lakton **G** koji se može dobiti iz D-ksiloze ciklokondenzacijom sa Meldrum-ovom kiselinom (T_8).¹¹⁴

Strukture stereoizomera **Va–c** i defenilovanog analoga **Vd** su dovedene u vezu sa strukturom D-ksiloze primenom slične retrosintetske metodologije.

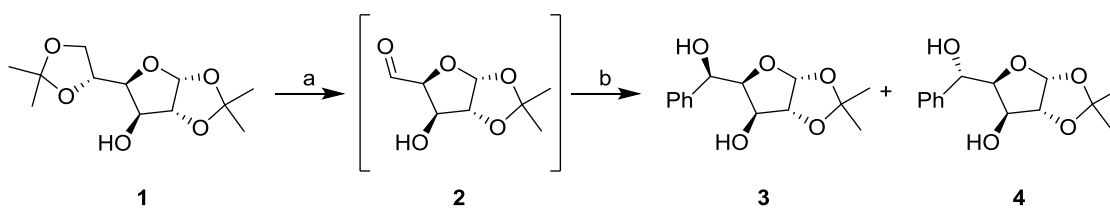


Shema 3.6. Retrosintetička analiza kardiobutanolida **V**.

Primenom koncepta hiralnih templata¹⁶ strukture prirodnih proizvoda **I–III**, **V** i **Ve** čija sinteza je planirana u okviru ovog rada je korelisana sa dva monosaharida, D-glukozom i D-ksilozom.

3.3. Sinteza goniobutenolida A i B i krasalaktona D

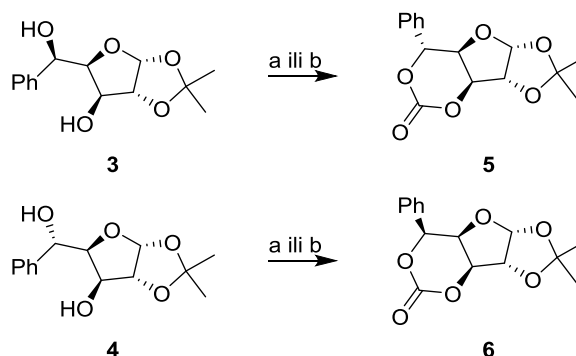
Sinteza je započeta hemijskim transformacijama komercijalno pristupačne 1,2:5,6-di-*O*-izopropiliden- α -D-glukofuranoze (**1**) u benzilne alkohole **3** i **4** (Shema 3.7.). Dejstvom perjodne kiseline u anhidrovanom EtOAc na jedinjenje **1**, dolazi do sukcesivnog uklanjanja terminalne izopropilidenske zaštite i oksidativnog raskidanja vicinalne diolne funkcije. Dobijeni sirovi aldehyd **2** je bez prečišćavanja podvrgnut Grignard-ovoj reakciji u anhidrovanom toluenu koja je trajala 5 h na 0 °C u atmosferi azota. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom dobijeni su stereoizomerni alkoholi **3** (41%) i **4** (32%). Na ovaj način je uspešno uvedena fenil-grupa i formiran novi stereocentar na C-5.



Shema 3.7. (a) H_5IO_6 , anh. EtOAc, 4.5 h, rt; (b) 2M PhMgBr u anh. THF, anh. MePh, 5 h, 0 °C, atm. N_2 , 41% (**3**), 32% (**4**), računato na **1**.

U ^1H NMR spektru prisutni su signali vodonika iz novo-uvadenih fenil-grupa (δ_{H} 7.28–7.51, odnosno 7.30–7.55 ppm) benzilnih alkohola **3** i **4**, respektivno.

Shodno retrosintetskoj analizi (Shema 3.4.) naredni korak u sintezi je uvođenje cikličnog karbonata koji će poslužiti kao zaštitna grupa, a u kasnijim fazama sinteze i kao odlazeća grupa koja aktivira O-3.



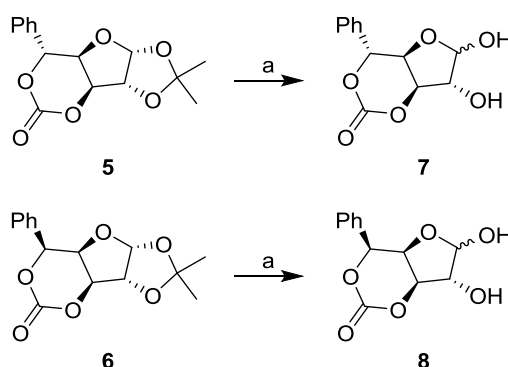
Shema 3.8. (a) Im_2CO , anh. MePh, 1.5 h, refluks za **3**, 95%; 80–85 °C za **4**, 76%; (b) trifosgen, anh. Py, anh. CH_2Cl_2 , 1 h na 0 °C, 1 h na rt za **3**, 81%; 2 h na rt za **4**, 83%.

Ciklični karbonat je uveden reakcijom **3** sa *N,N'*-karbonil-diimidazolom u ključalom anhidrovanom toluenu (*Shema 3.8.*). Nakon hromatografskog prečišćavanja, dobijen je potpuno zaštićeni derivat **5** (95%) u obliku belih kristala. Pri sličnim reakcionim uslovima, diol **4** je transformisan u **6** u prinosu od 76%.

Slobodne hidroksilne grupe jedinjenja **3** i **4** mogu se zaštititi u obliku cikličnog karbonata i reakcijom sa trifozgenom u suvom metilen-hloridu u prisustvu anhidrovanog piridina. Formirani su derivati **5** i **6** u prinosima od 81% i 83%, respektivno.

U IR spektru jedinjenja **5** i **6** ne postoje trake karakteristične za hidroksilne grupe. ^{13}C NMR Spektri proizvoda **5** i **6** pokazuju signale na δ_{C} 146.03 ppm tj. 146.81 ppm koji potiču od rezonance karbonilnog ugljenika cikličnog karbonata.

Hidrolitičkim uklanjanjem izopropilidenskih zaštitnih grupa molekula **5** i **6** dobijeni su odgovarajući laktoli **7** i **8** u skoro kvantitativnim prinosima (*Shema 3.9.*). Oba proizvoda su veoma higroskopna, posebno stereoizomer **7**, tako da su odmah nakon izolacije korišćeni u narednoj fazi sinteze.

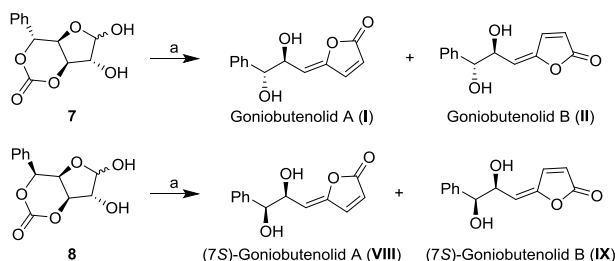


Shema 3.9. (a) 9:1 TFA/H₂O, 0 °C→rt, 1.5 h za **5**, 100%; 2 h za **6**, 96%.

„One-pot“ procesom, koji počinje *Z*-selektivnom Wittig-ovom olefinacijom^{24,115} laktola **7** (*Tabela 3.1.*) sa stabilizovanim ilidom (reagens **A**) u prisustvu anh. Et₃N, u suvom MeOH, na 0 °C sintetizovani su goniobutenolid **A** (**I**) i **B** (**II**) u ukupnom prinosu od 30% (odnos *Z/E* stereoizomera, ~ 2:1). Reakcija olefinacije je ispitana i u prisustvu Still-ovog reagensa (reagens **B**),¹¹⁶ u uslovima *Z*-selektivne Horner-Wadsworth-Emmons-ove reakcije (HWE).^{117,118} Izolovani su prirodni

proizvodi **I** i **II** u istom odnosu kao u prethodnom slučaju ($Z/E \sim 2:1$) ali u nešto višem ukupnom prinosu (44%).

Tabela 3.1. „One-pot“ konverzija laktola **7** i **9** u nezasićene laktone **I** i **II**, odnosno **VIII** i **IX**.



Polazno jedinjenje	Reagensi i uslovi	Glavni proizvod	Sporedni proizvod	Prinos ^a	ir ^b (Z/E) ^a
	$\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$ A Et_3N , MeOH, atm. N_2 , 130 min, 0°C			30%	2:1
	 B NaH , THF, atm. Ar, 22 h, -10°C			44%	2:1
	$\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$ A Et_3N , MeOH, atm. N_2 , 140 min, 0°C	(7S)-Goniobutenolid A (VIII)	(7S)-Goniobutenolid B (IX)	61%	1:1
	 B NaH , THF, atm. Ar, 25 h, -10°C	(7S)-Goniobutenolid A (VIII)	(7S)-Goniobutenolid B (IX)	50%	5:4

^aizolovan ukupan prinos. ^bir - Z/E odnos izomera

Vrednosti optičke rotacije za **I** i **II** su se razlikovale od vrednosti objavljenih za prethodno sintetizovane molekule,^{24,30,45,50,119} ali su se odlično slagale sa vrednostima izmerenim za izolovane prirodne proizvode **I** i **II**.⁷ Pored toga, spektroskopski NMR podaci za **I** i **II** su bili u potpunoj saglasnosti sa vrednostima publikovanim u literaturi.^{7,24,30,45,50,119}

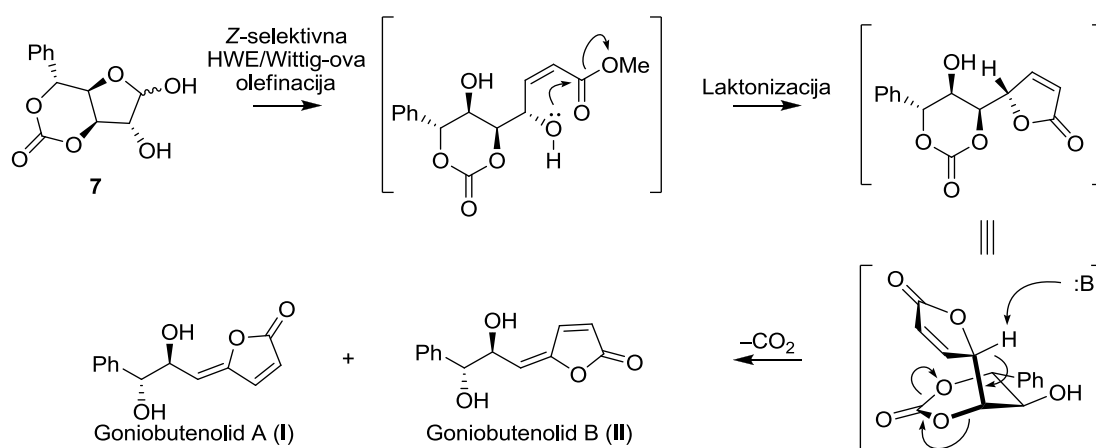
Laktol **8**, sa suprotnom stereohemijom na položaju C-5, podvrgnut je identičnim uslovima Wittig-ove olefinacije (reagens **A**). Nakon 140 minuta, TLC je pokazao potpunu konverziju polaznog materijala u proizvode **VIII** i **IX**, koji su izolovani u ukupnom prinosu od 61%. Reakcija je slabo selektivna, tako da su molekuli **VIII** i **IX** izolovani u skoro ekvimolarnom odnosu. Tretman laktola

8 Still-ovim reagensom (reagens **B**) u prisustvu NaH, dao je niži prinos **VIII** i **IX** (50%) sa skoro istom selektivnošću.

Spektroskopski podaci molekula **VIII** i **IX** su u saglasnosti sa podacima publikovanim u literaturi.¹⁷

Mogući mehanizam ovog interesantnog „one-pot“ procesa je prikazan na primeru formiranja goniobutenolida A (**I**) i B (**II**) na *Shemi 3.10.* i obuhvata najmanje tri reakciona koraka.

Prva faza ove kaskadne sekvence počinje *Z*-selektivnom Wittig-ovom ili HWE-ovom olefinacijom, nakon čega intermedijerno nagradjeni olefin podleže spontanoj laktonizaciji. Bazna sredina reakcione smese omogućava deprotonaciju vodonika sa C-4, što dalje vodi do spontane dekarboksilacije i nastajanja goniobutenolida A (**I**) i B (**II**).

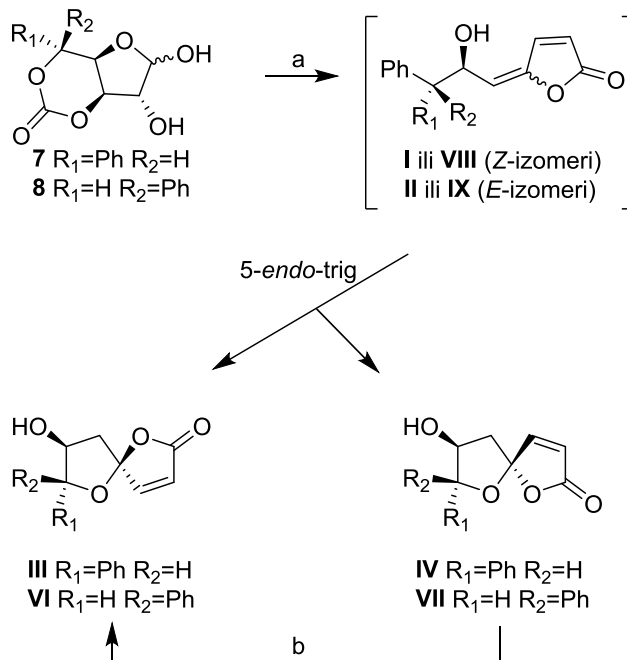


Shema 3.10.

Osim glavnih proizvoda **I** i **II**, iz obe reakcije olefinacije, izolovane su minorne količine (+)-krasalaktona **D** (**III**) i njegovog 4-epimera **IV**. Sporedni proizvodi su verovatno formirani 5-*endo*-trig spirociklizacijom nezasićenih laktona **I** i **II** nakon nukleofilnog napada hidroksilne grupe sa C-7 na C-4 položaj. Prema tome, pretpostavljeno je da će nakon produženja reakcionog vremena Wittig-ove reakcije spiro-laktone biti glavni proizvodi. Nakon što je laktol **7** tretiran reagensom **A** (aps. MeOH, 0 °C → rt, 22 h), izolovana je 1:2 smesa spiro-laktone **III** i **IV** u ukupnom prinosu od 51% (*Shema 3.11.*). Pri istim reakcionim uslovima stereoizomer **8** je transformisan u spiro-laktone **VI** i **VII** u ukupnom prinosu od 67% i njihove sintetičke prekursore **VIII** i **IX** u ukupnom prinosu od 19%.

Manje stabilan izomer **IV** se može prevesti u stabilniji krasalakton **D** (**III**), nakon tretmana sa TFA u hloroformu. Formira se 2:1 smesa **III/IV** (na osnovu ¹H NMR analize) u ukupnom prinosu od

97%. Izlaganje **VII** sličnim reakcionim uslovima rezultuje 1:1 odnosom **VI** i **VII**, što ukazuje na sličnu stabilnost oba izomera.



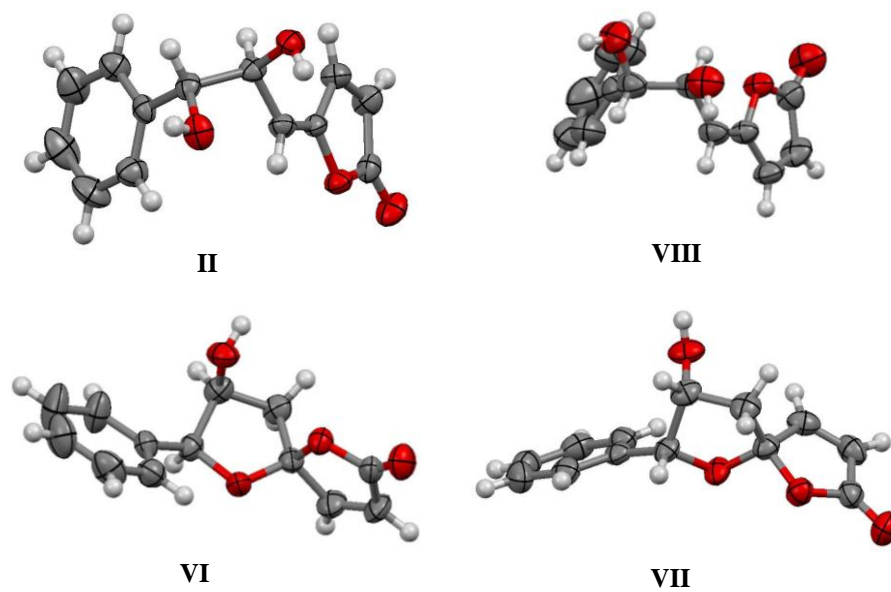
Shema 3.11. (a) MCMP, anh. MeOH, 0.5 h 0 °C, 21.5 h rt, 51% (**III/IV** ~ 1:2) iz **7**; 67 % (**VI/VII** ~ 1:1), 19% (**VIII/IX** ~ 1:1) iz **8**; (b) TFA, CHCl₃, 136 h za 97% (**III/IV** ~ 2:1), 22.5 h za 93% (**VI/VII** ~ 1:1).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za prirodni krasalakton D (**III**) i njegov 4-epimer **IV** su u potpunoj saglasnosti sa podacima ranije objavljenim u literaturi.⁵⁶

U ¹³C NMR spektru jedinjenja **VI** i **VII** se vide signali na δ_C 114.13 i 113.67 ppm koji odgovaraju rezonanci kvaternernih spiroketalnih ugljenika C-4, kao i signali na 169.22 i 170.09 ppm karakteristični za laktonsku karbonilnu grupu. Kod (7*S*)-krasalaktone D (**VI**) i (4*R*,7*S*)-krasalaktone D (**VII**) signal C-6 se javlja pri manjim ppm vrednostima zbog sterne kompresije OH i Ph grupa u odnosu na isti signal kod krasalaktona D (**III**) i (4*R*)-krasalaktone D (**IV**) gde je odnos ovih grupa *trans*.

NOE diferencijalnim ¹H NMR spektrom jedinjenja **VII** utvrđena je sterna blizina, odnosno NOE kontakt između H-6 i H-3. Nakon ozračivanja H-6 povećava se intenzitet signala H-3.

Struktura i stereochemija finalnih proizvoda, goniobutenolida B (**II**), (7*S*)-goniobutenolida (**VIII**), (7*S*)-krasalaktone D (**VI**) i (4*R*,7*S*)-krasalaktone D (**VII**) definitivno je potvrđena rendgenostrukturalnom analizom (Slika 3.1.).



Slika 3.1. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture proizvoda **II**, **VI**, **VII** i **VIII**.

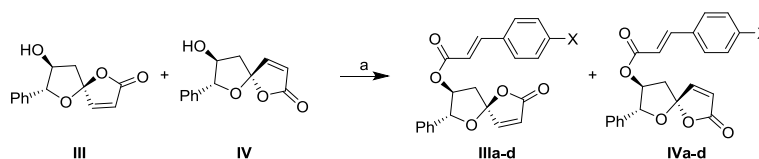
3.4. Sinteza cinamatnih derivata krasalaktona D i analoga

Naredna etapa ovog dela rada se odnosi na sintezu 6-*O*-cinamoil estara krasalaktona D (**III**) i analoga **IV**, **VI** i **VII**.

Tretiranjem smese krasalaktona D (**III**) i njegovog 4-epimera **IV** (u približnom međusobnom odnosu 1:2) cinamoil-hloridom u prisustvu DMAP formirani su 6-*O*-cinamoil-estri **IIIa** i **IVa** u prinosima od 34% i 38% (Tabela 3.2.), a tretiranjem 4-nitro-cinamoil hloridom pod sličnim uslovima formirani su 6-*O*-4-nitro-cinamoil-estri **IIIb** (29%) i **IVb** (56%).

Steglich-ovom esterifikacijom¹²⁰ smese **III** i **IV** (Tabela 3.2.) sa 4-metoksicimetnom kiselinom tj. 4-fluorocimetnom kiselinom u prisustvu DCC i DMAP, sintetizovani su estri **IIIc** (32%) i **IVc** (60%), tj. **IIIId** (36%) i **IVd** (50%).

Tabela 3.2. Sinteza 6-*O*-cinamoil derivata **IIIa-d** i **IVa-d**.

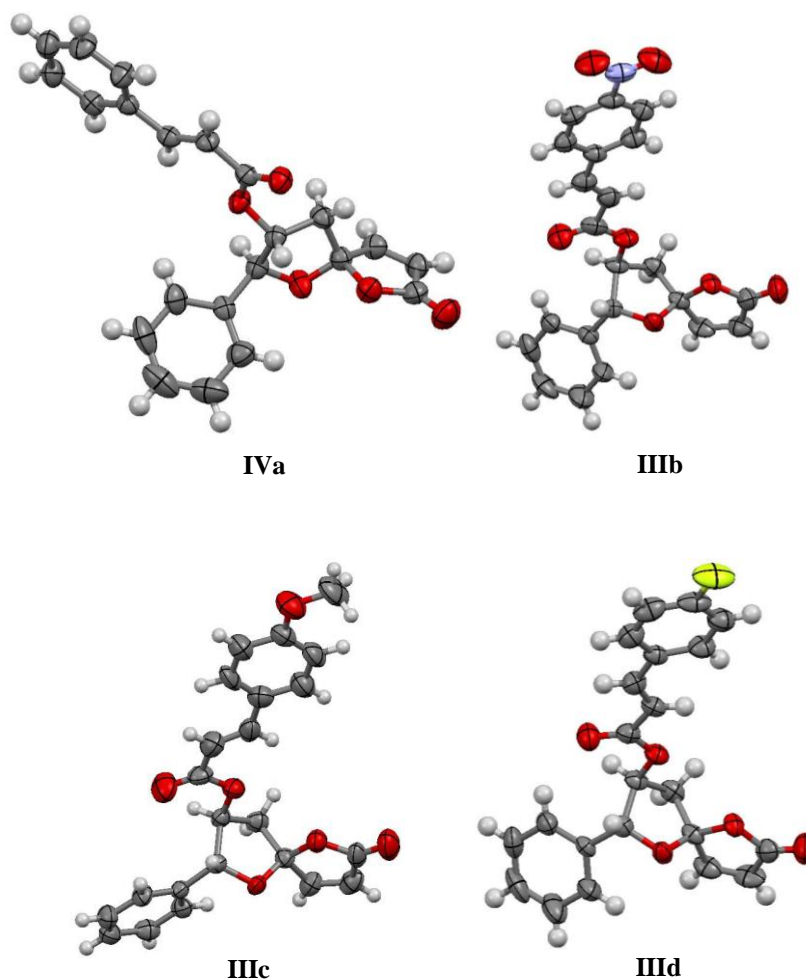


Polazno jedinjenje	Derivat cimetne kiseline	Reagensi i uslovi	Proizvodi (prinos)
III + IV (\approx 1:2)	cinamoil-hlorid	DMAP, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3 h, 0 °C, 20 h, rt	IIIa (34%) i IVb (38%) X=H
III + IV (\approx 1:2)	4-nitrocinamoil-hlorid	DMAP, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3 h, 0 °C	IIIb (29%) i IVb (56%) X=NO ₂
III + IV (\approx 1:2)	4-metoksicimetna kiselina	DMAP, DCC, anh. CH ₂ Cl ₂ , 5 h, rt	IIIc (32%) i IVc (60%) X=OMe
III + IV (\approx 1:2)	4-fluorocimetna kiselina	DMAP, DCC, anh. CH ₂ Cl ₂ , 5 h, rt	IIIId (36%) i IVd (50%) X=F

Prostorna blizina H-3 i *orto* aromatičnih vodonika fenil-grupe na C-7 jedinjenja **IIIa** je dokazana NOE eksperimentom. Ozračivanjem H-3 protona raste intenzitet signala *orto* vodonika aromatičnog prstena. U IR spektru jedinjenja **IVb** se ne vidi široka traka karakteristična za hidroksilnu grupu, a vide se dve trake na 1717 i 1774 cm⁻¹ koje potiču od dve karbonilne grupe. U ¹H NMR spektru jedinjenja **IVc** se vidi singlet lociran na δ_H 3.87 ppm koji potiče od tri protona 4-metoksi grupe, dok se signal odgovarajućeg C-atoma javlja u ¹³C NMR spektru na 55.39 ppm. Čistoću 6-*O*-4-

fluorocinamoil estra **IVd** potvrđuje karakterističan fragment koji je u njegovom masenom spektru lociran na m/e 403.0945 (M^+Na).

Struktura i stereochemija estara **IVa** i **IIIb–d** definitivno je potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (*Slika 3.2.*).



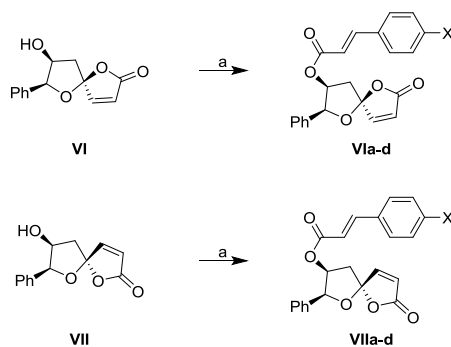
Slika 3.2. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture proizvoda **IVa**, **IIIb–d**.

Uvodjenje cinamatne funkcije na *O*-6 jedinjenja **VI** postignuto je dejstvom cinamoil-hlorida u prisustvu DMAP (3 h i 45 min, 0 °C→rt). Dobijen je 6-*O*-cinamoil derivat **VIa** u prinosi od 68% (*Tabela 3.3.*). Na isti način je iz **VII** formiran **VIIa** u sličnom prinosu (62%) ali nakon dužeg reakcionog vremena (25.5 h).

U ^{13}C NMR spektru jedinjenja **IVa** se vidi osam signala u intervalu od 127.39–134.80 ppm koji potiču od rezonance C-atoma iz dva aromatična prstena.

Struktura i stereochemija **VIIa** definitivno je potvrđena rendgeno-strukturnom analizom čiji je rezultat prikazan na *Slici 3.3*.

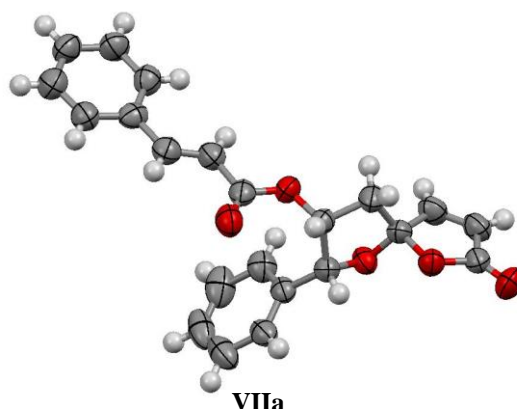
Tabela 3.3. Sinteza 6-*O*-cinamoil derivata **VIa-d** i **VIIa-d**.



Polazno jedinjenje	Derivat cimetne kiseline	Reagensi i uslovi	Proizvod (prinos)
VI	cinamoil-hlorid	DMAP, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3 h, 0 °C, 45 min, rt	VIa (68%) X=H
VII	cinamoil-hlorid	DMAP, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3 h, 0 °C, 22.5 h, rt	VIIa (62%) X=H
VI	4-nitrocinamoil-hlorid	DMAP, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3.5 h, 0 °C	VIb (74%) X=NO ₂
VII	4-nitrocinamoil-hlorid	DMAP, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3.5 h, 0 °C	VIIb (89%) X=NO ₂
VI	4-metoksicimetna kiselina	DMAP, DCC, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3.5 h, rt	VIc (86%) X=OMe
VII	4-metoksicimetna kiselina	DMAP, DCC, anh. CH ₂ Cl ₂ , 3 h, rt	VIIc (77%) X=OMe
VI	4-fluorocimetna kiselina	DMAP, DCC, anh. CH ₂ Cl ₂ , 5.5 h, rt	VIId (73%) X=F
VII	4-fluorocimetna kiselina	DMAP, DCC, anh. CH ₂ Cl ₂ , 4 h, rt	VIIId (88%) X=F

Esterifikacijom **VI** i **VII** sa 4-nitrocinamoil-hloridom u anh. CH₂Cl₂ u prisustvu DMAP kao proton-akceptora sintetizovani su 6-*O*-4-nitrocinamoil derivati **VIb** i **VIIb** u prinosima od 74% i 89%, respektivno.

U ¹H i ¹³C NMR spektru jedinjenja **VIb** i **VIIb** se jasno vide signali koji potvrđuju prisustvo *p*-nitrocinamoil estarske grupe. Na δ_C 164.48 i 169.43, tj. 164.64 i 169.89 ppm nalaze se signali kvaternernih karbonilnih ugljenika iz 4-nitrocinamoil-estarske i laktonske funkcije proizvoda **VIb** i **VIIb**, respektivno.



Slika 3.3. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture (4*R*,7*S*)-6-*O*-cinamoil-krasalaktona D (**VIIa**).

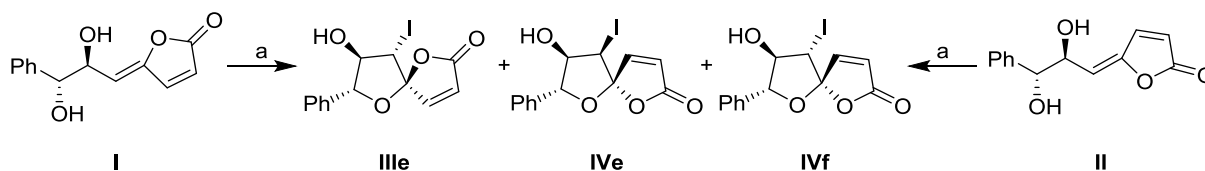
Steglich-evom esterifikacijom¹²⁰ **VI** i **VII** sa 4-metoksicimtom kiselinom (DCC, DMAP, anh. CH₂Cl₂) dobijeni su molekuli **VIc** (86%) tj. **VIIc** (77%). U ¹H NMR spektru jedinjenja **VIc** vidi se singlet lociran na δ_H 3.84 ppm koji potiče od tri protona 4-metoksi grupe, dok se signal ugljenika te grupe javlja u ¹³C NMR na δ_C 55.34 ppm. Odgovarajući singlet jedinjenja **VIIc** se javlja na δ_H 3.83, a hemijsko pomeranje ugljenika je takodje δ_C 55.34.

4-Fluorocinamoil-estri **VIId** i **VIIId** su formirani izlaganjem molekula **VI**, odnosno **VII** dejstvu 4-fluorocimtetne kiseline u prisustvu DCC i DMAP. Oba proizvoda su sintetizovana u veoma dobrim prinosima (73% za **VIId** i 88% za **VIIId**). U ¹³C NMR spektru jedinjenja **IVd** i **Vd** se vidi cepanje signala ugljenika u dublet usled ¹³C-¹⁹F kuplovanja. Prema tome, u spektrima se vide signali na δ_C 116.49, 117.24 (C-2') i 165.29, 165.99 ppm (C=O iz 4-fluorocinamata), tj. δ 116.80, 116.83 (C-2') i 165.49, 165.94 ppm (C=O iz 4-fluorocinamata) za **VIId** i **VIIId**, respektivno.

3.5. Sinteza halogenovanih derivata krasalaktona D

Sinteza lipofilnih halogenovanih derivata krasalaktona D (**III**) je ostvarena primenom reakcija haloeterifikacije na goniobutenolide A (**I**) i B (**II**), odnosno na njihove 7-epimere **VIII** i **IX**.

Jodoeterifikacijom **II** sa I_2 , u anhidrovanom acetonitrilu u prisustvu $NaHCO_3$ (Shema 3.12.) dobijeni su jodidni derivati **IIIe** (14%), **IVe** (27%) i **IVf** (10%). Ovi molekuli su sintetizovani na isti način polazeći i od goniobutenolida A (**I**), ali u nešto višem ukupnom prinosu (**IIIe** 28%, **IVe** 21%, **IVf** 8%).



Shema 3.12. (a) I_2 , $NaHCO_3$, anh. CH_3CN , $rt \rightarrow 35\text{ }^\circ C$, 6 dana, **IIIe** (28%), **IVe** (21%), **IVf** (8%) iz **I**; 7 dana, **IIIe** (14%), **IVe** (27%), **IVf** (10%) iz **II**.

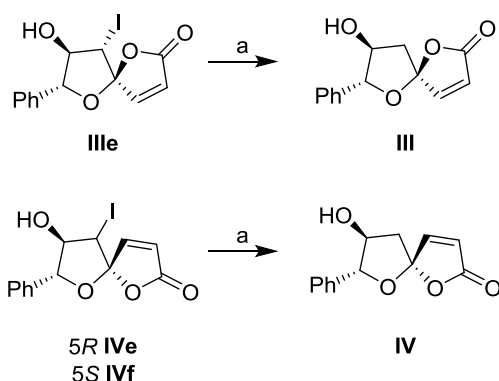
U IR spektru jedinjenja **IIIe** se javlja intenzivna traka na 1779 cm^{-1} što dokazuje prisustvo konjugovane laktonske karbonilne funkcije, i široka traka na 3435 cm^{-1} koja je karakteristična za valenciono istezanje hidroksilne grupe. Strukturu i čistoću jedinjenja **IIIe** dodatno potvrđuje i karakteristični fragment koji je u njegovom masenom spektru lociran na $m/e\ 376.0040$ ($M^+ + NH_4$).

U 1H NMR spektru jedinjenja **IVe** prisutan je dublet na $\delta_H\ 7.53$ ppm koji odgovara rezonanci H-3 protona, i multiplet u inetrvalu $\delta_H\ 7.30\text{--}7.56$ ppm koji potiče od protona fenil-grupe. NOE diferencijalnim 1H NMR-spektrom utvrđena je prostorna blizina, odnosno NOE kontakt izmedju H-5 i Ph-H.

U 1H NMR spektru jodidnog derivata **IVf** vidi se dublet na $\delta_H\ 4.49$ koji odgovara rezonanci H-5 protona. NOE diferencijalnim 1H NMR-spektrom utvrđena je prostorna blizina, odnosno NOE kontakt izmedju H-5 i H-7, kao i Ph-H. Nakon ozračivanja H-3, povećava se intezitet signala vodonika H-5.

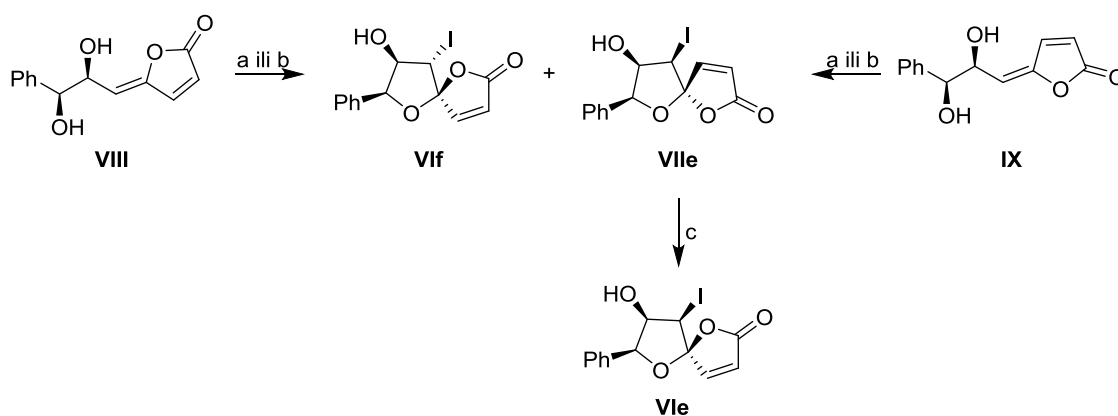
Radikalnim dehalogenovanjem **IIIe** sa Bu_3SnH i AIBN u anhidrovanom toluenu u atmosferi argona, dobijen je krasalakton D (**III**) u prinosu od 81% (Shema 3.13.). Dehalogenovanjem **IVe** pri istim uslovima dobijen je (4R)-krasalakton D (**IV**) u prinosu od 94%. Molekul **IV** se dobija i

dehalogenovanjem **IVf** u prinosu od 95%. Na ovaj način je i hemijskim putem potvrđena apsolutna konfiguracija na C-4 sintetizovanih jodidnih derivata **IIIe**, **IVe** i **IVf**.



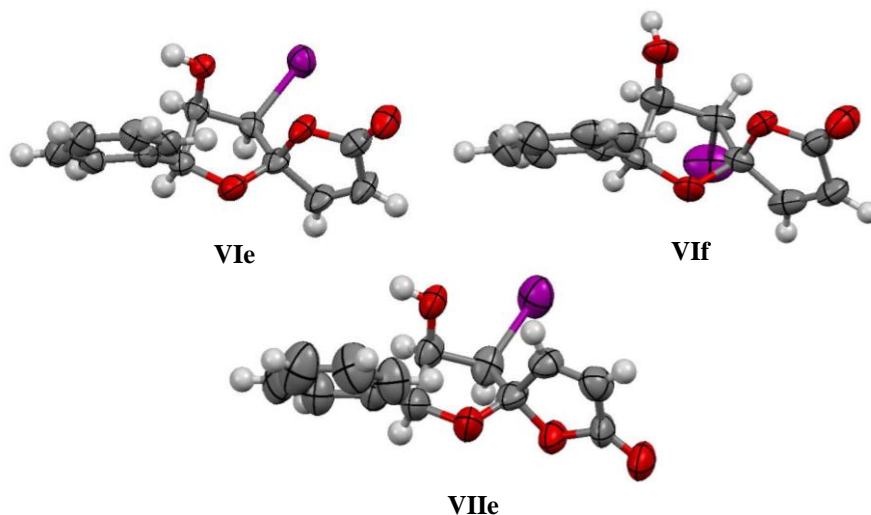
Shema 3.13. (a) Bu_3SnH , AIBN, anh. MePh, atm. Ar, 1 h, 100 °C, 81% **III** iz **IIIe**, 94% **IV** iz **IVe**, 95% **IV** iz **IVf**.

Primenom reakcije jodoeterifikacije na (7*S*)-goniobutenolid A (**VIII**) dobijeni su jodidni derivati **VI**f i **VII**e u respektivnim prinosima od 9% i 40% (Shema 3.14.). Ovi molekuli su formirani pri istim reakcionim uslovima i iz (7*S*)-goniobutenolida B (**IX**), ali u nešto višem ukupnom prinosu (3% **VI**f i 51% **VII**e). Ispitane su i reakcije jodoeterifikacije **VIII** i **IX** sa *N*-jodosukcinimidom. Sintetizovani su proizvodi **VI**f i **VII**e, ali u znatno nižim prinosima (4% **VI**f i 15% **VII**e iz **VIII**; 12% **VI**f i 19% **VII**e iz **IX**). Dejstvom TFA u $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ na **VII**e dobijena je ekvimolarna smesa **VI**e (42%) i **VII**e (42%).



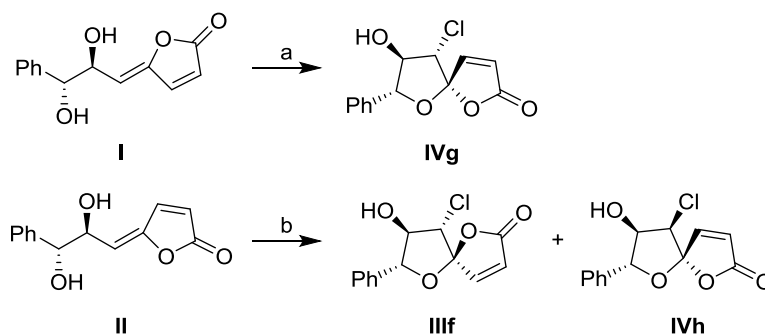
Shema 3.14. (a) I_2 , NaHCO_3 , anh. CH_3CN , rt→35 °C, 10 dana, 9% (**VI**f), 40% (**VII**e) iz **VIII**; 9 dana, 3% (**VI**f), 51% (**VII**e) iz **IX**; (b) NIS, anh. CH_3CN , 48 h, rt, 4% (**VI**f), 15% (**VII**e) iz **VIII**; anh. DMF, 70.5 h, rt→50 °C, 12% (**VI**f), 19% (**VII**e) iz **IX**; (c) TFA, $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$, 22 °C, 5 dana, 42% (**VI**e), 42% (**VII**e).

Struktura i stereochemija jodidnih derivata **VIe**, **VI f** i **VIIe** definitivno je potvrđena rendgenostrukturalnom analizom (Slika 3.4.).



Slika 3.4. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture (4*R*,5*R*,7*S*)-5-jodo-krasalaktona D (**VIe**), (4*R*,5*S*,7*S*)-5-jodo-krasalaktona D (**VI f**) i (4*S*,5*R*,7*S*)-5-jodo-krasalaktona D (**VIIe**).

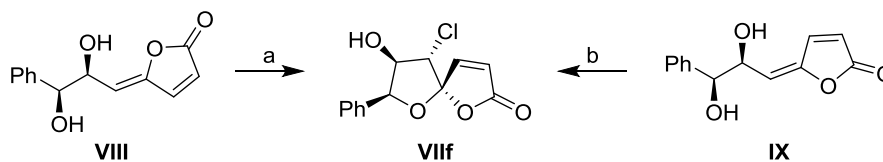
Hloroeterifikacijom goniobutenolida A (**I**) sa NCS u anhidrovanom DMF sintetizovan je (4*S*,5*S*,7*R*)-5-hloro-krasalakton D (**IVg**) u prinosu od 40% (Shema 3.15.). Pri sličnim reakcionim uslovima iz goniobutenolida B (**II**) dobijeni su hlorni derivati **III f** i **IVh** u prinosima od 26% i 17%.



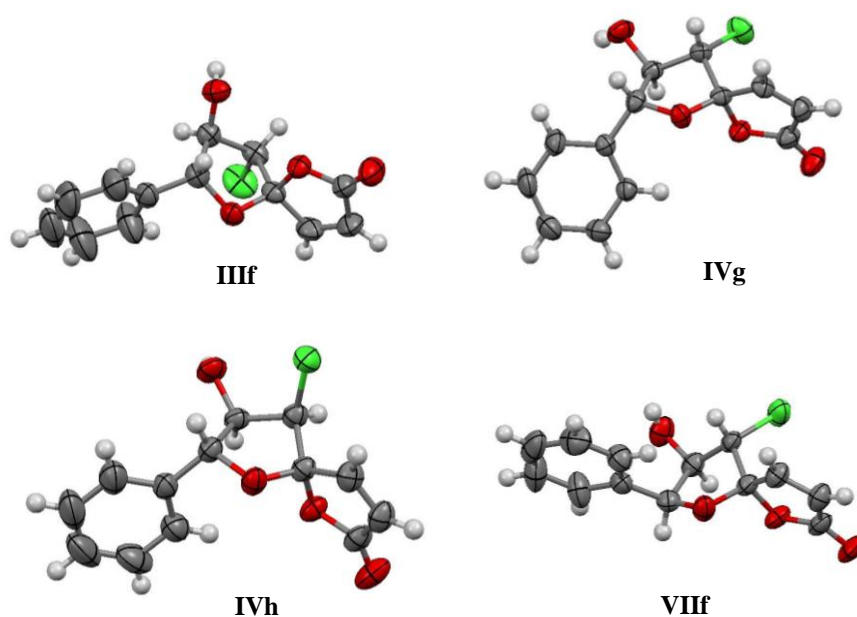
Shema 3.15. (a) NCS, anh. DMF, 53 h, 35 °C, 40%; (b) NCS, anh. DMF, 70 h, 36 °C, 26% (**III f**), 17% (**IVh**).

Primenom reakcija hloroeterifikacije na (7*S*)-goniobutenolid A (**VIII**) tj. B (**IX**) sintetizovan je (4*S*,5*S*,7*S*)-krasalakton D (**VIII f**) u niskom prinosu od 13% tj. 19% (Shema 3.16.).

Struktura i stereochemija hloridnih derivata **III**f, **IV**g, **IV**h i **VII**f je potvrđena rendgenostrukturalnom analizom (Slika 3.5.).

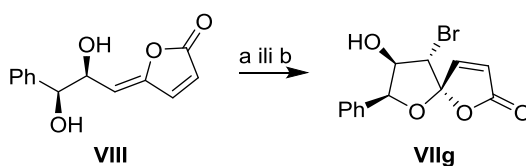


Shema 3.16. (a) NCS, anh. DMF, 69.5 h, 40 °C, 13%; (b) NCS, anh. DMF, 69 h, 37 °C, 19%.



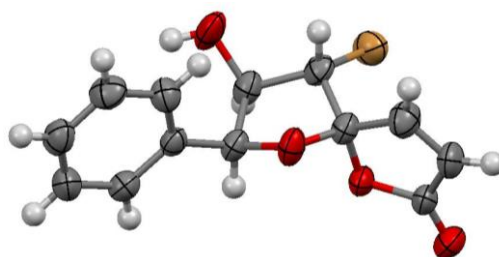
Slika 3.5. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture hloridnih derivata **III**f, **IV**g, **IV**h i **VII**f.

Pokušana je i bromoeterifikacija (7*S*)-goniobutenolida A (**VIII**) sa Br₂ u anh. CH₂Cl₂ u prisustvu NaHCO₃ pri čemu je dobijeno jedinjenje **VII**g u skromnom prinosu od 12%. Malo bolji prinos **VII**g (29%) je postignut nakon tretmana **VIII** sa NBS u anh. DMF (Shema 3.17.).



Shema 3.17. (a) Br₂, NaHCO₃, anh. CH₂Cl₂, 2.5 h, rt, 12%; (b) NBS, anh. DMF, atm. N₂, 20 dana, rt → 45 °C, 29%.

Struktura i stereochemija (4*S*,5*S*,7*S*)-5-bromo-krasalaktona D (**VIIg**) nedvosmisleno je potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (*Slika 3.6.*).

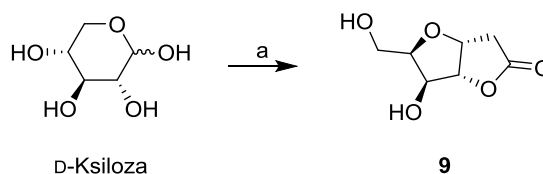


VIIg

Slika 3.6. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture (4*S*,5*S*,7*S*)-5-bromo-krasalaktona D (**VIIg**).

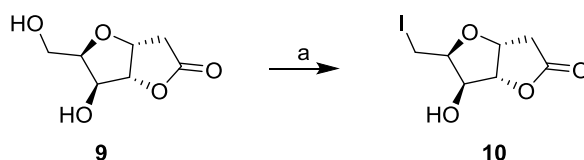
3.6. Sinteza kardiobutanolida i analoga

Prva faza sinteze je ciklokondenzacija D-kсилоze sa Meldrum-ovom kiselinom u anh. DMF, u prisustvu anh. Et₃N (*Shema 3.18.*), a uradjena je prema literaturnom postupku.¹¹⁴ Sintetizovano je čisto jedinjenje **9** u prinosu od 65%. Spektroskopski podaci (IR, NMR, HRMS) i fizičke konstante (tt, optička rotacija) jedinjenja **9** su u dobroj saglasnosti sa podacima objavljenim u literaturi.¹²¹



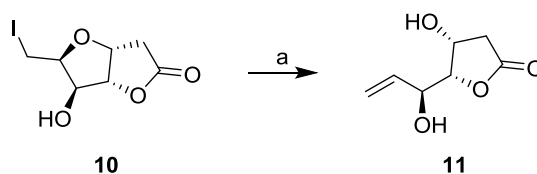
Shema 3.18. (a) Meldrum-ova kiselina, anh. Et₃N, anh. DMF, 7 dana, 46 °C, 65%.

Garegg-Samuelsson-ovom reakcijom jedinjenja **9** sa I₂ i imidazolom u anh. THF dobijen je poznati 5-deoksi-5-jodo derivat **10** (*Shema 3.19.*) u prinosu od 63%. Njegove fizičke konstante (tt, optička rotacija) i spektroskopski podaci (IR, NMR, HRMS) su u dobroj saglasnosti sa podacima koji su ranije publikovani.¹²²



Shema 3.19. (a) I₂, Im, anh. THF, refluks, 3 h, 63%.

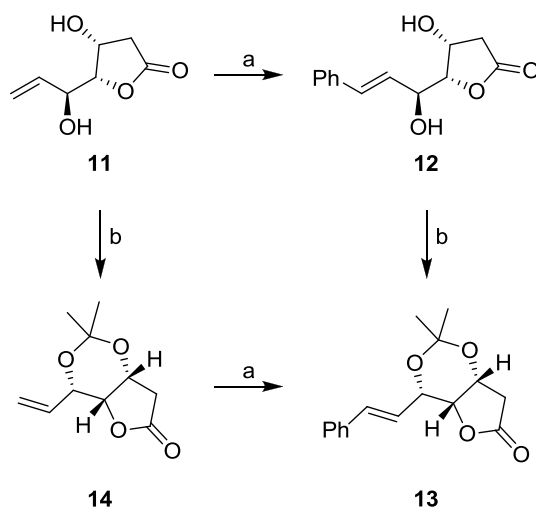
Reduktivnim otvaranjem furanskog prstena molekula **10** sa aktiviranim cinkom u smesi THF/H₂O (4:1), na temperaturi ključanja, sintetizovan je olefin **11** u prinosu od 94% (*Shema 3.20.*).



Shema 3.20. (a) aktivirani Zn, THF/H₂O (4:1), 1 h, refluks, 94%.

Jedinjenje **11** nije do sada opisano u literaturi, a njegova struktura je potvrđena spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektru se vide signali na δ_{H} 5.27 (dt, 1 H, $J_{5,7a}=1.6$, $J_{6,7a}=10.6$, $J_{7a,7b}=1.7$ Hz, H-7a), 5.49 (dt, 1 H, $J_{5,7b}=1.7$, $J_{6,7a}=10.6$, $J_{6,7b}=17.3$, $J_{7a,7b}=1.7$ Hz, H-7b) i 6.02 (ddd, 1 H, $J_{5,6}=5.2$, $J_{6,7b}=17.3$ Hz, H-6) koji potiču od H-atoma vinilne funkcije.

Ukrštenom olefinskom metatezom između **11** i stirena, u prisustvu Grubbs-ovog katalizatora druge generacije, formiran je *E*-olefin **12** u prinosu od 50% (Shema 3.21.). Hidroksilne grupe **12** su zaštićene reakcijom sa 2,2-DMP u anh. acetonu, u prisustvu katalitičkih količina *p*-TsOH, pri čemu je dobijen odgovarajući izopropilidenski derivat **13** u prinosu od 62% (31% iz poslednje dve faze). Znatno bolji ukupni prinos intermedijera **13** dobijen je kada je prvo uvedena izopropilidenska zaštita u **11**, a rezultujući intermedijer **14** (80%) zatim je, ukrštenom olefinskom metatezom sa stirenom, preveden u *E*-olefin **13** u prinosu od 71% (57% iz dve faze).

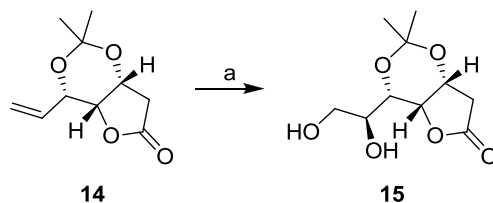


Shema 3.21. (a) stiren, Grubbs^{II}, atm. Ar, rt, anh. $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF}$ (2:1), 18 h, 50% iz **11**; anh. CH_2Cl_2 , 49 h, 71% iz **14**; (b) 2,2-DMP, *p*-TsOH· H_2O , anh. Me_2CO , rt, 3 h, 62% iz **12**; 1 h, 80% iz **11**.

U ^1H NMR spektru **12** na δ_{H} 6.39 (dd, 1 H, $J_{5,6}=5.8$, $J_{6,7}=16.0$ Hz, H-6) i 6.82 (d, 1 H, $J_{6,7}=16.0$ Hz, H-7) javljaju se signali koji potiču od olefinskih H-atoma. U IR spektru jedinjenja **14** nisu prisutne trake karakteristične za alkoholne hidroksilne grupe. U ^{13}C NMR spektru su uočljivi signali metil grupa na δ_{C} 19.09 i 29.05 ppm i signal kvaternernog ugljenika izopropilidenske funkcije na δ_{C} 97.98 ppm.

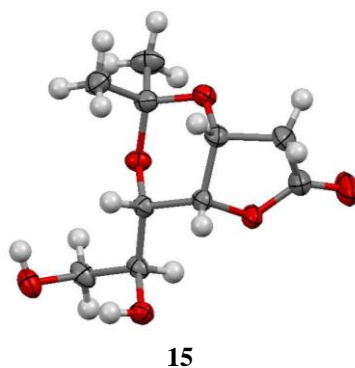
U ^1H NMR spektru **13** se vidi multiplet na δ_{H} 7.23–7.48 ppm (m, 5 H, Ph) koji potiče od vodonika fenil-grupe, i dva singleta na δ_{H} 1.45 i 1.56 ppm ($2\times\text{s}$, po 3 H svaki, CMe_2) koji odgovaraju rezonanci protona iz metil-grupa izopropilidenske funkcije.

U cilju sinteze zaštićenog *Z*-olefina, prvo je olefin **14** transformisan u diol **15**. Asimetričnim dihidroksilacijama **14** sa AD-mix-om α (33%) ili β (41%) dobijaju se niži prinosi nego dihidroksilacijom sa 2.5 wt% OsO₄ u ^tBuOH, u prisustvu NMO, pri čemu je diol **15** dobijen u kvantitativnom prinosu (*Shema 3.22.*).



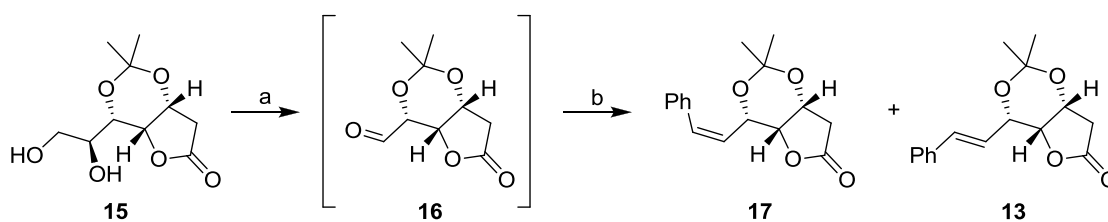
Shema 3.22. (a) AD-mix- α , ^tBuOH/H₂O (1:1), rt, 117 h, 33% (na izreagovalo **14**) ili AD-mix- β , ^tBuOH/H₂O (1:1), rt, 117 h, 41% (na izreagovalo **14**) ili 2.5 wt% OsO₄ u ^tBuOH, NMO, H₂O/Me₂CO (10:1), 23.5 h, rt, 99.7%.

Struktura i stereochemija diola **15** je potvrđena rendgeno-strukturalnom analizom (*Slika 3.7.*).



Slika 3.7. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture molekula **15**.

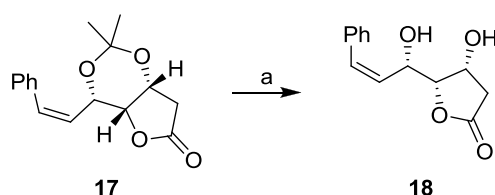
Oksidativnim raskidanjem vicinalne diolne funkcije **15** sa NaIO₄ u MeOH/H₂O dobijen je aldehid **16**, koji je bez prečišćavanja podvrgnut olefinaciji sa benzil-trifenilfosfonijum-bromidom u anh. THF u prisustvu LiHMDS (*Shema 3.23.*). Na taj način su dobijeni *Z*-olefin **17** (32%) i *E*-olefin **13** (8%; prinosi računati na **15**).



Shema 3.23. (a) NaIO₄, MeOH/H₂O (2:1), 3 h, rt; (b) Ph₃PCH₂PhBr, LiHMDS, anh. THF, 1.5 h, -15 °C, 32% (**17**) i 8% (**13**) (računato na **15**).

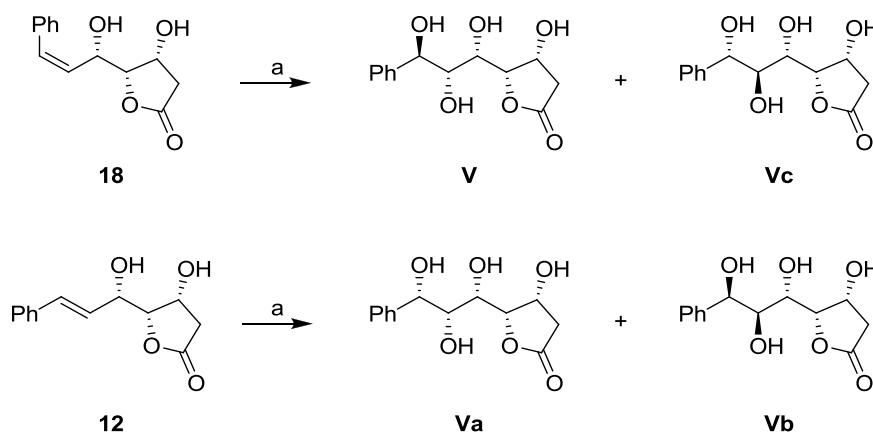
U ^1H NMR spektru molekula **17** prisutni su signali vodonika iz novo-vedene fenil-grupe na δ_{H} 7.19–7.44 ppm. Takođe se mogu uočiti signali na δ_{H} 6.03 i 6.83 ppm koji odgovaraju vinilnim vodoncima H-6 i H-7.

Kiselom hidrolizom (50% TFA) izopropilidenske funkcije sa **17** formiran je diol **18** (Shema 3.24.). U ^1H NMR spektru jedinjenja **18** se ne vide singleti karakteristični za metil grupe izopropilidenske funkcije.



Shema 3.24. (a) TFA/H₂O (1:1), 1.5 h, 0 °C, 88%.

Prvo je ispitana dihidroksilacija nezaštićenih olefina **12** i **18** sa 2.5 wt% OsO₄ u ^tBuOH u smesi 10:1 aceton/voda (Shema 3.25.) u prisustvu NMO. Iz *E*-olefina **12** su formirani (7*S*)-kardiobutanolid (**Va**) i (6*S*)-kardiobutanolid (**Vb**) u prinosima od 16% i 28%. Dihidroksilacijom *Z*-olefina **18** pri istim uslovima, dobijen je prirodni kardiobutanolid (**V**) u prinosu od 51% i njegov 6*S*,7*S*-stereoizomer **Vc** u prinosu od 35%. Spektroskopski podaci i fizičke konstante prirodnog proizvoda **V** su u potpunoj saglasnosti sa podacima objavljenim za izolovani kardiobutanolid (**V**).^{10,68}

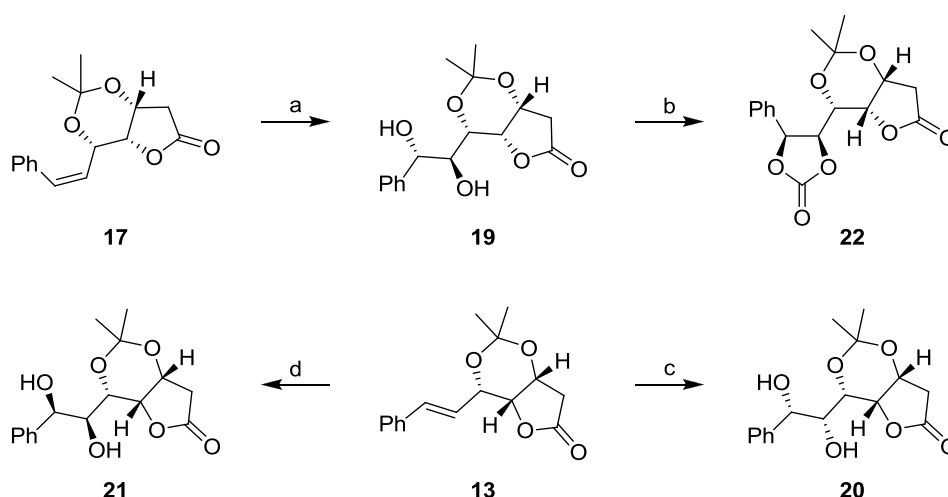


Shema 3.25. (a) 2.5 wt% OsO₄ u ^tBuOH, Me₂CO/H₂O (10:1), rt, 3 h, 51% (**V**), 35% (**Vc**) iz **18**; 1 h, 16% (**Va**) i 28% (**Vb**) iz **13**.

Zatim su ispitane asimetrične dihidroksilacije zaštićenih olefina **17** i **13** (*Shema 3.26.*). Olefin **17** je podvrgnut Sharpless-ovoj asimetričnoj dihidroksilaciji sa AD-mix- α , u smesi ^tBuOH/H₂O (1:1), pri čemu je nakon 6 dana dobijeno jedinjenje **19**, kao jedini stereoizomer, u prinosu od 54% (računato na izreagovalo polazno jedinjenje). Dihidroksilacijom Z-olefina **17**, u prisustvu AD-mix- β , dobijen je isti proizvod **19** (49%, računato na izreagovalo polazno jedinjenje). Dihidroksilacijom olefina **17** sa 2.5% OsO₄ u ^tBuOH u smesi 10:1 aceton/voda uz prisustvo NMO kao reoksidansa osmijuma formiran je diol **19** kao jedini proizvod u prinosu od 63%.

Na osnovu sličnih primera i ishoda AD u literaturi,^{86,123,122} pretpostavljeno je da olefin **17** pripada grupi supstrata na čiju diastereofacijalnu sklonost hiralni katalizatori nemaju uticaja.⁸⁷

Olefin **13** je podvrgnut Sharpless-ovoj asimetričnoj dihidroksilaciji sa AD-mix- α (*Shema 3.26.*) u smesi ^tBuOH/H₂O (1:1), pri čemu je nakon 48 h na sobnoj temperaturi dobijeno jedinjenje **20** u prinosu od 49% (računato na izreagovalo polazno jedinjenje). Reakcijom **13** sa AD-mix- β pri sličnim uslovima formiran je stereoizomer **21** u prinosu od 46%.

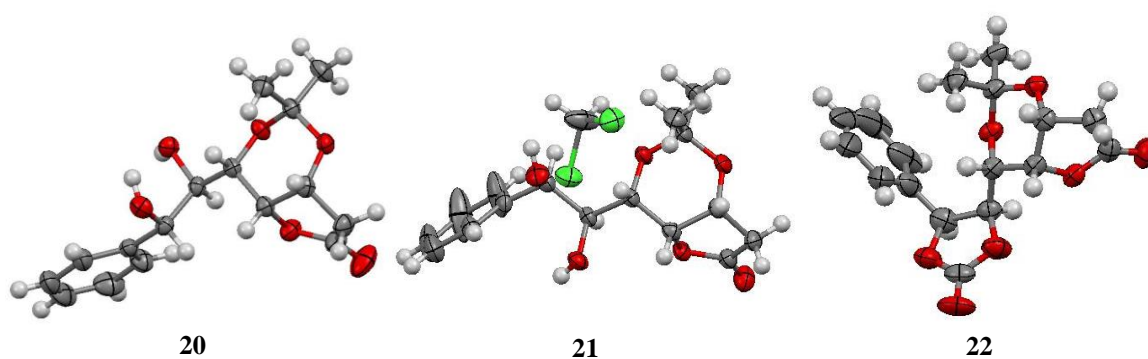


Shema 3.26. (a) AD-mix- α , 1:1 ^tBuOH/H₂O, 6 dana, rt, 54% (na izreagovalo **17**) ili AD-mix- β , 1:1 ^tBuOH/H₂O, 6 dana, rt, 49% (na izreagovalo **17**) ili 2.5 wt% OsO₄ u ^tBuOH, NMO, 10:1 Me₂CO/H₂O, 4 h, rt, 63%; (b) Im₂CO, anh. PhCH₃, 165 min, 80 °C, 82%; (c) AD-mix- α , ^tBuOH/H₂O (1:1), 48 h, rt, 49% (na izreagovalo **13**); (d) AD-mix- β , ^tBuOH/H₂O (1:1), 26 h, rt, 46%.

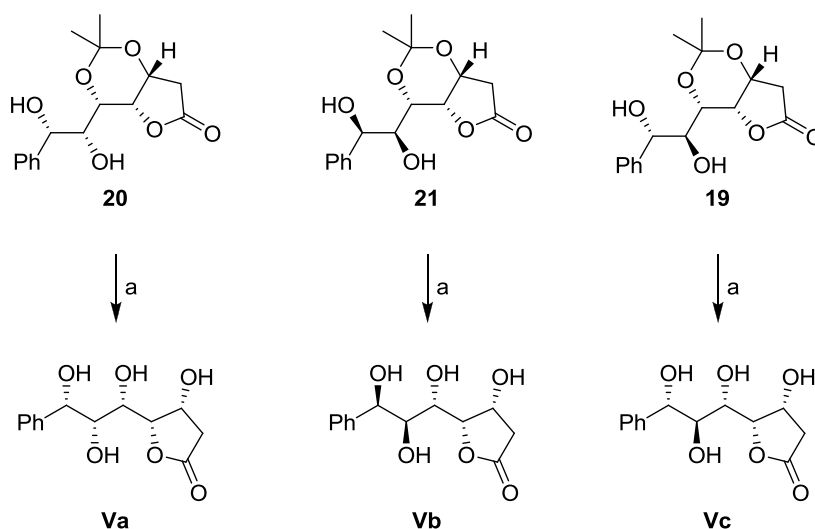
Nakon kristalizacije, molekuli **20** i **21** su formirali igličaste kristale X-ray kvaliteta, što nije bio slučaj sa jedinjenjem **19**. U cilju definitivnog potvrđivanja strukture i stereochemije, jedinjenje **19** je tretirano sa *N,N'*-karbonil-diimidazolom u anhidrovanom toluenu na 80 °C (*Shema 3.26.*), pri čemu

je dobijeno kristalno jedinjenje **22** u visokom prinosu (82%). Konačno, strukture proizvoda **20**, **21** i **22** su definitivno potvrđene rendgeno-strukturnom analizom (Slika 3.8.).

Uklanjanje izopropilidenske zaštite iz molekula **19**, **20** i **21** postignuto je sa 80% vodenom TFA (Shema 3.27.) pri čemu su dobijeni finalni proizvodi **Vc** (68%), **Va** (86%) i **Vb** (84%).



Slika 3.8. ORTEP prikaz trodimenzionalne strukture proizvoda **20**, **21** i **22**.



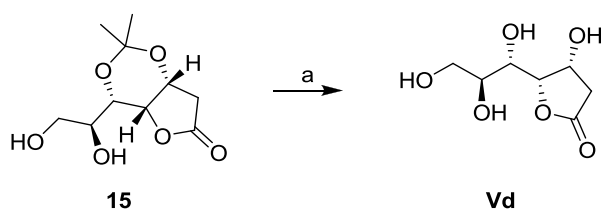
Shema 3.27. (a) TFA/H₂O (4:1), 90 min, 0 °C, 86% za **20**, 150 min, 0 °C, 105 min, rt, 84% za **21**; 105 min, 0 °C, 75 min, rt, 68% za **19**.

U IR spektru vide se široke trake na 3364 cm⁻¹ (**Va**) i 3324, 3431, 3494 (**Vb**) koje su karakteristične za valenciono istežanje alkoholnih hidroksilnih grupa. U ¹H NMR spektru jedinjenja **Vc** se ne vide singleti metil grupa izopropilidenske zaštitne funkcije, a prisutni su signali na δ_H 4.97 (d, 1 H,

$J_{6,\text{OH}}=5.6$ Hz, C₆-OH), 5.04 (d, 1 H, $J_{5,\text{OH}}=4.9$ Hz, C₅-OH), 5.35 (d, 1 H, $J_{7,\text{OH}}=4.3$, C₇-OH), 5.43 (d, 1 H, $J_{3,\text{OH}}=4.0$ Hz, C₃-OH) ppm.

Konačno, uklanjanjem acetonidne zaštite iz intermedijera **15** (80% aq TFA) sintetizovan je defenilovani analog (6*S*)-kardiobutanolida **Vd** (Shema 3.28.).

Struktura i čistoća proizvoda **Vd** potvrđena je IR, NMR i HRMSI koji pokazuje karakteristični fragment lociran na m/e 231.0254 ($M^+ + K$), izračunato za C₇H₁₂KO₆: 231.0266.

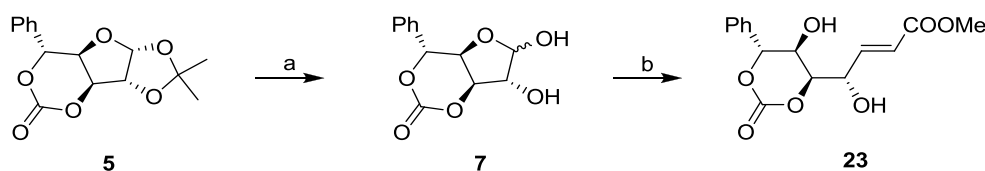


Shema 3.28. (a) TFA/H₂O (4:1), 1 h, 0 °C, 82%.

3.7. Sinteza 3-deoksi-kardiobutanolida

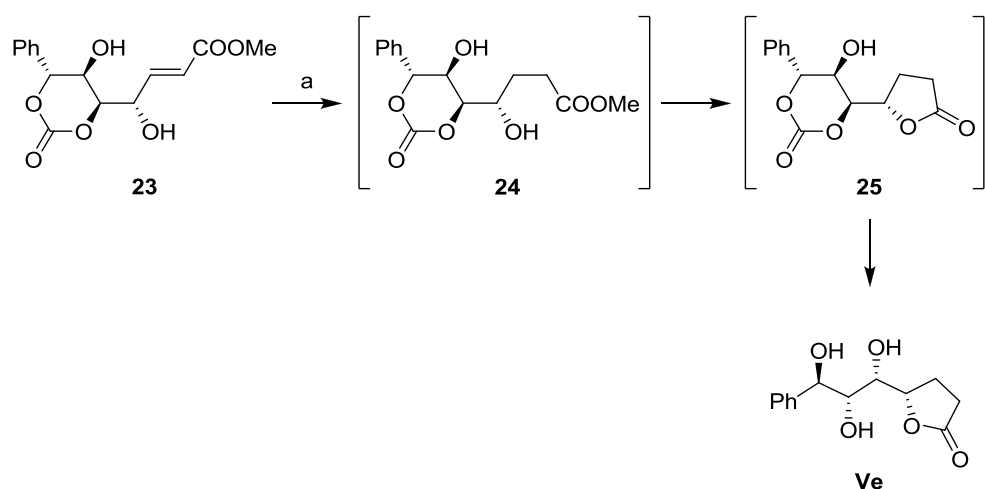
Shodno retrosintetskoj analizi, sinteza 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) se može ostvariti iz laktola **7** koji je već poslužio kao intermedijer u sintezi goniobutanolida A (**I**) i B (**II**), odnosno krasalaktona D (**III**).

Kako je laktol **7** izuzetno higroskopian, odmah nakon izolacije je izložen Horner-Wadsworth-Emmons-ovoj reakciji (trimetil-fosfonoacetat, NaH, THF) pri čemu je dobijen *E*-enoat **23** (Shema 3.29.) u prinosu od 74% (računato na **5**).



Shema 3.29. (a) 9:1 TFA/H₂O, 2.5 h, 0 °C → rt; (b) (MeO)₂POCH₂CO₂Me, NaH, anh. THF, 65 min, 0 °C → rt, 74% (za dve faze).

¹H NMR spektar jedinjenja **23** pokazuje singlet na δ_H 3.67 ppm koji potiče od tri vodonika estarske metil grupe. Dva dvostruka dubleta na δ_H 5.96 i 6.65 ppm odgovaraju vinilnim protonima (H-2 i H-3).



Shema 3.30. (a) (i) H₂, PtO₂, MeOH, 12 h, rt; (ii) 0.1 M NaOMe/MeOH, 5 h, rt; (iii) 2:1 TFA/H₂O, 0.5 h, rt, 74%.

“One-pot“ hidrogenovanje **23**, u prisustvu PtO₂, uz naknadno uklanjanje karbonatne zaštite natrijum-metoksidom, bilo je praćeno laktonizacijom (*Shema 3.30.*), pri čemu je dobijen željeni proizvod **Ve**.

¹³C NMR Spektar pokazuje signal karakterističan za laktonsku funkciju na δ_C 178.98 ppm (C=O). Prisustvo γ-laktonskog prstena u molekulu **Ve** dodatno potvrđuje i njegov IR spektar, koji na 1760 cm⁻¹ sadrži karakterističnu traku koja odgovara valencionom istežanju laktonske karbonilne grupe. Visok stepen čistoće jedinjenja **Ve** potvrđen je odgovarajućim masenim spektrom visoke rezolucije koji pokazuje dva pseudomolska jona: *m/e* 275.0890 (M⁺+Na), izračunato za C₁₃H₁₆NaO₅: 275.0890; *m/e* 291.0639 (M⁺+K), izračunato za C₁₃H₁₆KO₅: 291.0629.

3.8. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti

Pri dizajniranju novih antitumorskih agenasa osnovni cilj je pronalaženje molekula koji u niskim koncentracijama snažno inhibiraju rast neoplastičnih ćelija. Efikasnost inhibicije proliferacije tumorskih ćelija kvantitativno se izražava kao IC_{50} vrednost, odnosno kao koncentracija ispitivane supstance pri kojoj se broj tretiranih ćelija smanjuje za 50% u odnosu na netretiranu kontrolu. Prema opšte prihvaćenim kriterijumima, neko jedinjenje pokazuje zadovoljavajuću citotoksičnost ukoliko je njegova IC_{50} vrednost niža od 20 μ M. Ako je IC_{50} u intervalu 20–100 μ M supstanca pokazuje umerenu ili slabu citotoksičnost, dok se jedinjenja čija vrednost IC_{50} prelazi 100 μ M smatraju netoksičnim.

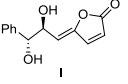
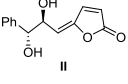
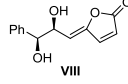
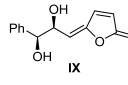
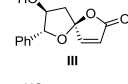
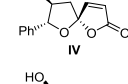
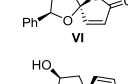
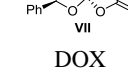
Imajući u vidu postavljeni cilj ovog rada, u finalnoj etapi naših istraživanja ispitivan je uticaj sintetizovanih prirodnih stiril-laktona, analoga i derivata na rast sledećih humanih malignih ćelija: hronična mijeloidna leukemija (K562), promijelocitna leukemija (HL-60), leukemija T-limfocita (Jurkat), Burkitt-ov limfom (Raji), karcinom prostate (PC3), karcinom debelog creva (HT-29), adenokarcinom dojke (MCF-7) pozitivan na estrogenske i progesteronske receptore (ER^+), adenokarcinom dojke (MDA-MB 231) negativan na estrogenske i progesteronske receptore (ER^-), karcinom grlića materice (HeLa) i adenokarcinom pluća (A549). Pored toga, ispitana je antiproliferativna aktivnost sintetizovanih jedinjenja i prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5), da bi se utvrdilo da li pokazuju selektivnu citotoksičnost prema tumorskim ćelijskim linijama. *In vitro* citotoksičnost je određena kolorimetrijskim MTT testom.¹²⁵

Princip metode se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum bromid] u plavo obojeni proizvod (formazan), u prisustvu mitohondrijalnog enzima sukcinat dehidrogenaze. 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. Eksperimenti su izvedeni tako što su kulture ćelija izlagane dejstvu rastućih koncentracija ispitivanih jedinjenja u toku 72 h. Kao referentno jedinjenje upotrebljen je komercijalni antitumorski agens doksorubicin (DOX).

Radi lakšeg uporedjivanja antiproliferativne aktivnosti, sva ispitivana jedinjenja su podeljena u grupe: (a) prirodni goniobutenolidi A (**I**) i B (**II**), njihovi 7*S*-epimeri **VIII** i **IX**, krasalaktone D (**III**) i njegovi epimeri (**IV**, **VI** i **VII**); (b) cinamoil-derivati krasalaktone D (**III**) i njegovog 4-epimera **IV**; (c) 6-*O*-cinamoil-estri molekula **VI** i **VII**; (d) halogenovani derivati krasalaktone D (**III**); (e)

kardiobutanolid (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolid (**Ve**) i derivati **Va–d**. Rezultati antiproliferativne aktivnosti stiril-laktona iz grupe (a), su sumirani u *Tabeli 3.4*.

Tabela 3.4. In vitro citotoksičnost stiril-laktona I–IV i VI–IX.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h										
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	PC3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
 I	0.35	0.25	1.06	3.55	>100	>100	1.08	>100	1.99	18.14	>100
 II	28.94	45.78	21.01	32.74	40.59	10.11	4.74	8.11	5.34	>100	>100
 VIII	0.15	33.54	32.32	12.22	10.33	63.59	13.53	2.89	0.21	74.23	>100
 IX	21.21	18.26	2.78	9.88	40.12	46.85	3.55	29.91	6.91	68.98	>100
 III	0.12	1.06	0.21	2.34	>100	24.12	11.64	1.89	0.34	28.99	>100
 IV	0.54	1.02	0.34	5.97	>100	>100	3.57	>100	2.12	21.33	>100
 VI	1.21	6.11	1.01	8.84	>100	84.23	11.02	45.13	35.41	35.25	>100
 VII	0.54	0.19	0.96	2.69	>100	>100	1.97	>100	4.61	31.37	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Kao što se iz *Tabele 3.4*. vidi goniobutanolid A (**I**) pokazuje submikromolarnu aktivnost prema ćelijama promijelocitne leukemije (HL-60) prema kojima je više od 3.5 puta aktivniji od standardnog antitumorskog agensa doksorubicina (DOX). Osim toga, molekul **I** je veoma potentan inhibitor proliferacije K562, MCF-7 i HeLa, Jurkat i Raji tumorskih ćelija, mada je njegova aktivnost prema ovim ćelijama niža od DOX. Prirodni proizvod **II** je pokazao mikromolarnu aktivnost prema tri ćelijske linije: MCF-7, MDA-MB 231 i HeLa, dok je prema ostalim ispitivanim ćelijskim linijama bio umereno aktivan, sa izuzetkom A549 ćelija, prema kojima je bio neaktivan. (7S)-Izomer goniobutanolida A (**VIII**) je najsnažniju aktivnost ispoljio prema ćelijama hronične mijeloidne leukemije (K562), prema kojima je 1.7 puta aktivniji od DOX, a 2.3 puta od prirodnog proizvoda **I**. Submikromolarna aktivnost jedinjenja **VIII** je registrovana u kulturi HeLa ćelija, prema kojima je više od 8 puta aktivniji od osnovnog molekula **I**. Sintetički stiril-lakton **IX**

pokazuje dobru do umerenu aktivnost prema ispitivanim tumorskim ćelijama, a prema većini je aktivniji od odgovarajućeg prirodnog 7-epimera **II**.

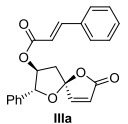
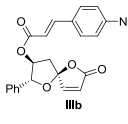
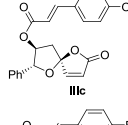
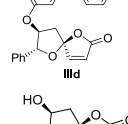
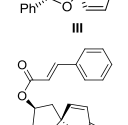
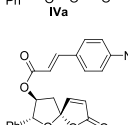
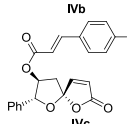
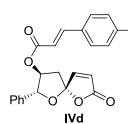
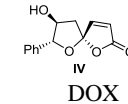
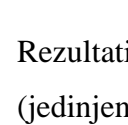
Krasalakton D (**III**) i njegovi derivati **IV** i **VII** pokazuju submikromolarnu aktivnost prema ćelijskoj liniji K562, pri čemu prirodni proizvod **III** pokazuje dva puta jaču antitumorsku aktivnost u odnosu na DOX, dok je skoro pet puta aktivniji od **IV** i **VII**, a deset puta od derivata **VI**. Molekul **III** pokazuje submikromolarnu aktivnost i prema HeLa ćelijskoj liniji prema kojoj je više od šest puta aktivniji od epimera **IV**, 13 puta od stereoizomera **VII**, a čak 104 puta od epimera **VI**. Molekuli **III**, **IV**, **VI** i **VII** su veoma jaki inhibitori antiproliferativne aktivnosti Jurkat tumorskih ćelija, ali su slabiji od DOX. Krasalakton D (**III**) pokazuje jaču citotoksičnost prema Raji ćelijskoj liniji od derivata **IV**, **VI** i **VII** a sličnu doksorubicinu. Prema ćelijama ER⁺ adenokarcinoma dojke (MCF-7) najaktivniji je analog **VII**, a prema ER⁻ ćelijama MDA-MB 231 najaktivniji je prirodni proizvod **III** dok je analog **VI** umereno aktivan, a izomeri **IV** i **VII** su potpuno neaktivni.

U *Tabeli 3.5.* su prikazani rezultati ispitivanja antiproliferativne aktivnosti cinamoil derivata krasalaktona D (analozi **IIIa-d**) i njegovog 4-epimera **IV** (molekuli **IVa-d**). Cinamoil derivat **IIIa** kao i osnovni molekul **III** pokazuje submikromolarnu aktivnost prema Jurkat ćelijskoj liniji (IC₅₀ 0.21 μM). Jaku citotoksičnost **IIIa** pokazuje prema ćelijama tumora dojke (MCF-7) i tumora cerviksa (HeLa), pri čemu je prema MCF-7 ćelijama sedam puta aktivniji od **III**. 4-Nitrocinaoil derivat **IIIb** je pokazao jaku do umerenu aktivnost prema HeLa, HL-60, K562, MCF-7, Jurkat i A549 ćelijama, dok prema ostalim ispitivanim tumorskim ćelijama nije bio aktivan. 4-Metoksi cinamat **IIIc** je jači inhibitor proliferacije ćelija mijelogene leukemije (K562) od analoga **IIIa**, **IIIb** i **IIIc**. Svi estarski derivati krasalaktona **IIIa-d** su aktivniji od osnovnog molekula **III** prema tumorskim ćelijama MCF-7. 6-O-(4-Fluorocinaoil)-krasalakton D (**IIIId**) je umereno aktivan prema šest od deset ispitivanih malignih ćelijskih linija (K562, HL-60, Jurkat, Raji, MCF-7 i HeLa).

Cinamoat **IVa** je pokazao jaku citotoksičnost prema MCF-7 i HeLa ćelijama, prema kojima je šest, odnosno 3.7 puta aktivniji od osnovnog molekula **IV**, ali je slabije aktivan od DOX. Estar **IVa** je mikromolarnu aktivnost pokazao prema ER⁻ ćelijama adenokarcinoma dojke MDA-MB 231, prema kojima estri sa elektron-akcetporskim (**IVc** i **IVd**) i elektron-donorskom grupom (**IVb**) u *para*-položaju cinamoil ostatka, kao ni sam osnovni molekul **IV**, nisu bili aktivni. Jedinjenje **IVb** je najaktivnije prema HL-60 ćelijskoj liniji, prema kojoj je aktivniji od **IVb** i **IVc**, a slične aktivnosti kao DOX i osnovni molekul **IV**. Zapaženu aktivnost **IVb** ispoljava i prema K562, MCF-7 i HeLa ćelijama. Mikromolarnu vrednost IC₅₀ 6-O-(4-metoksicinaoil) derivat **IVc** pokazuje prema MCF-7 ćelijama, prema kojima je aktivniji od **IV**, a takodje i prema K562 i HeLa, prema kojima je manje

aktivan od osnovnog molekula **IV** i DOX. Estar **IVd** je veoma efikasan inhibitor proliferacije K562, HeLa i HL-60 ćelija.

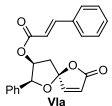
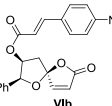
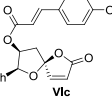
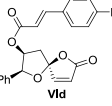
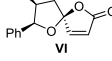
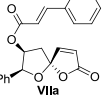
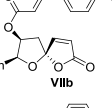
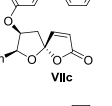
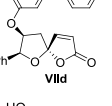
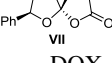
Tabela 3.5. *In vitro* citotoksičnost 6-*O*-cinamoil derivata **IIIa–d** i **IVa–d**.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h										
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	PC3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
 IIIa	20.67	10.02	0.21	6.68	>100	32.34	1.65	5.45	1.15	14.58	>100
 IIIb	5.64	2.24	31.25	>100	>100	>100	8.58	>100	2.22	45.36	>100
 IIIc	2.12	8.67	58.14	89.68	>100	>100	3.14	>100	3.34	33.56	>100
 III d	8.45	24.13	15.64	34.12	>100	>100	9.65	>100	6.12	>100	>100
 III	0.12	1.06	0.21	2.34	>100	24.12	11.64	1.89	0.34	28.99	>100
 IVa	20.53	5.61	87.63	2.38	>100	85.36	0.58	3.45	0.58	28.07	>100
 IVb	7.45	1.32	86.54	>100	>100	98.45	12.46	>100	9.45	56.21	>100
 IVc	1.11	6.37	21.14	99.78	>100	>100	2.22	>100	3.64	23.14	>100
 IVd	1.05	4.48	22.17	55.36	>100	>100	21.48	>100	2.21	25.47	>100
 IV	0.54	1.02	0.34	5.97	>100	>100	3.57	>100	2.12	21.33	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Rezultati ispitivanja antiproliferativne aktivnosti cinamoil derivata (4*S*,7*S*)-krasalaktona D (jedinjenja **VIa–d**) i (4*R*,7*S*)-krasalaktona D (jedinjenja **VIIa–d**) su prikazani u Tabeli 3.6. Ispitivana jedinjenja **VIa–d** i **VIIa–d** su veoma efikasni inhibitori proliferacije ćelija adenokarcinoma alveolarnih epitelnih ćelija (A549), i oko 30 puta su aktivniji od osnovnih jedinjenja **VI** i **VII**, i od 2 do 20 puta od doksorubicina, pri čemu su cinamatni estri sa (4*R*,7*S*)-

konfiguracijom (**VIIa–d**) pokazali submikromolarnu aktivnost, dok su estri (4*S*,7*S*)-konfiguracijom (**VIa–d**) ispoljili mikromolarnu aktivnost. Prema ćelijskim linijama K562, Jurkat i MCF-7 derivati **VIIa–d** su pokazali mikromolarnu aktivnost, dok su molekuli **VIa–d** umereno aktivni.

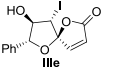
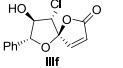
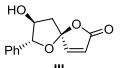
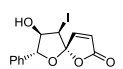
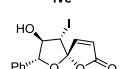
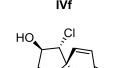
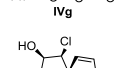
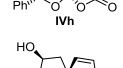
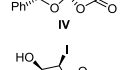
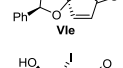
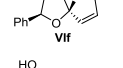
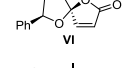
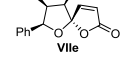
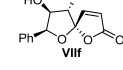
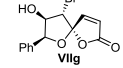
Tabela 3.6. *In vitro* citotoksičnost 6-*O*-cinamoil derivata **VIa–d** i **VIIa–d**.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h										
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	PC3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
 VIa	4.62	3.41	5.63	9.68	25.69	20.57	5.34	5.23	14.46	1.02	>100
 VIb	14.32	4.32	10.22	11.84	37.25	10.64	7.55	4.48	11.48	3.12	>100
 VIc	12.78	8.67	14.22	8.69	58.44	11.87	11.25	2.64	12.78	1.58	>100
 VI d	9.05	12.02	15.36	17.33	69.12	17.05	15.63	1.02	11.98	1.21	>100
 VI	1.21	6.11	1.01	8.84	>100	84.23	11.02	45.13	35.41	35.21	>100
 VIIa	4.65	9.65	1.02	2.28	>100	11.38	11.44	3.64	58.45	0.25	>100
 VIIb	2.22	4.36	4.03	1.64	>100	16.32	4.31	1.25	24.77	0.85	>100
 VIIc	1.02	2.25	2.54	3.05	>100	14.89	3.25	2.69	9.94	0.45	>100
 VII d	5.36	1.02	4.63	5.37	33.45	8.64	2.31	7.54	8.45	1.17	>100
 VII	0.54	0.19	0.96	2.69	>100	>100	1.97	>100	4.61	31.37	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Najjaču citotoksičnost prema ćelijama Burkitt-ovog limfoma (Raji) ispoljili su cinamati **VIIa** i **VIIb** koji su aktivniji i od osnovnog jedinjenja **VII** i od DOX, dok su estri (4*S*,7*S*)-serije **VIa–d** takodje aktivniji od osnovog molekula **VI**, ali ne i od doksorubicina. Svi ispitivani cinamati su umereno aktivni prema ćelijama adenokarcinoma kolona (HT-29) i karcinoma cerviksa (HeLa)

osim (4*R*,7*S*)-6-*O*-*p*-fluorocinamoil-krasalaktona D (**VII**d) koji je ispoljio nešto jaču antitumorsku aktivnost. Molekul **VII**d pokazuje i izuzetno jaku aktivnost i prema HL-60 ćelijama. Sva ispitivana jedinjenja **VI**a–**d** i **VII**a–**d** su ispoljila mikromolarnu aktivnost prema ćelijama karcinoma dojke (ER⁻, MDA-MB 231), prema kojima je osnovno jedinjenje **VI** umereno aktivno, dok je drugi kontrolni molekul **VII** neaktivan.

Tabela 3.7. *In vitro* citotoksičnost halogenovanih derivata **III**e,f, **IV**e–h, **VI**e,f i **VII**e–g.

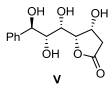
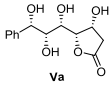
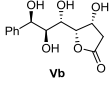
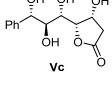
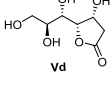
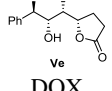
Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h										
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	PC3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
	5.48	14.23	12.88	8.76	>100	45.23	14.67	47.63	14.36	23.15	>100
	4.69	15.66	14.23	21.66	>100	65.22	7.01	29.64	29.08	22.63	>100
	0.12	1.06	0.21	2.34	>100	24.12	11.64	1.89	0.34	28.99	>100
	9.78	13.74	24.36	3.54	>100	>100	3.48	18.97	8.06	18.08	>100
	11.68	8.69	15.46	11.78	>100	>100	5.69	23.36	10.98	15.54	>100
	5.69	10.24	17.65	0.95	>100	78.36	7.55	48.36	25.66	14.56	>100
	0.18	37.79	39.21	18.64	>100	>100	25.32	39.62	21.04	19.85	>100
	0.54	1.02	0.34	5.97	>100	>100	3.57	>100	2.12	21.33	>100
	1.21	5.63	0.45	0.07	>100	>100	0.18	0.12	16.48	26.54	89.63
	6.78	24.79	0.01	1.01	>100	>100	0.01	1.32	6.69	21.85	91.21
	1.21	6.11	1.01	8.84	>100	84.23	11.02	45.13	35.41	35.21	>100
	8.58	21.54	21.36	11.32	70.21	51.36	18.64	5.69	4.36	16.78	>100
	2.79	41.02	24.11	21.35	>100	>100	28.26	42.15	15.33	14.24	>100
	5.51	4.22	0.03	2.37	>100	>100	0.05	0.09	28.31	13.24	88.78
	0.54	0.19	0.96	2.69	>100	>100	1.97	>100	4.61	31.37	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Antiproliferativna aktivnost halogenovanih derivata krasalaktona D (**III**) i epimera **IV**, **VI** i **VII** je prikazana u *Tabeli 3.7.* iz koje se vidi da jodidni analog krasalaktona D (jedinjenje **IIIe**) pokazuje mikromolarnu aktivnost prema K562 i Raji ćelijama, a hloridni analog **III f** prema K562 i MCF-7 ćelijskim linijama. Prema većini ispitivanih ćelijskih linija analozi **IIIe** i **III f** su manje aktivni od prirodnog proizvoda **III**, osim prema ćelijskim linijama HT-29 i A549, dok je analog **III f** nešto aktivniji prema MCF-7. Prema ćelijskim linijama HL-60 i Jurkat od molekula **IVe–h** najaktivniji je jodidni derivat **IV f**. Submikromolarnu aktivnost prema Raji ćelijama pokazuje **IV g**, pri čemu je on više od šest puta aktivniji od osnovnog jedinjenja **IV** i tri puta od doksorubicina, dok je molekul **IVe** aktivniji 1.7 puta od **IV**. Jodidni analog **IVe** pokazuje sličnu aktivnost kao **IV** prema ER⁺ ćelijama adenokarcinoma dojke (MCF-7), dok je umereno aktivan prema ER⁻ ćelijama adenokarcinoma dojke (MDA-MB 231), prema kojima je **IV** neaktivan. Prema ćelijama A549 molekuli **IVe–h** su ispoljili bolju aktivnost od osnovnog jedinjenja **IV**. Jedinjenja **VIe** i **VI f** pokazuju submikromolarnu aktivnost prema Jurkat ćelijama pri čemu su oni 2.2, odnosno 101 put aktivniji od **VI**, a molekul **VI f** je i tri puta aktivniji od doksorubicina. Submikromolarnu aktivnost **VIe** i **VI f** pokazuju i prema ćelijama Burkitt-ovog limfoma (Raji ćelije) pri čemu je **VIe** 126 puta aktivniji od **VI** i 42.5 puta od DOX, dok je **VI f** skoro devet puta aktivniji od **VI** i tri puta od DOX. Molekuli **VIe** i **VI f** su bolji inhibitori proliferacije MCF-7 i MDA-MB 231 kada se porede sa osnovnim molekulom **VI** ili sa DOX (u slučaju MCF-7). Molekul **VII g** ispoljava submikromolarnu aktivnost prema Jurkat, MCF-7 i MDA-MB 231 ćelijama, prema kojima je aktivniji od osnovnog jedinjenja **VII** 32, 39 i 1360 puta respektivno. Bromidni derivat **VII g** je pokazao istu aktivnost kao doksorubicin prema Jurkat i MDA-MB 231 ćelijama, malo je aktivniji od DOX prema Raji ćelijama, i 4 puta je snažniji inhibitor proliferacija MCF-7 ćelija.

In vitro citotoksičnost kardiobutanolida (**V**) i analoga **Va–d** i 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) je prikazana u *Tabeli 3.8.* Prirodni proizvod **V** pokazuje submikromolarnu aktivnost prema tri ispitivane ćelijske linije od kojih je prema dve aktivniji od doksorubicina i to prema K562 ćelijama pet puta, a prema HL-60 ćelijama skoro četiri puta. Nisku IC₅₀ vrednost ovaj molekul je pokazao i prema Raji ćelijama, prema kojima je više od duplo aktivniji od DOX. Analog kardiobutanolida **Va** je jaku citotoksičnost ispoljio prema Raji ćelijama prema kojima je 1.5 puta aktivniji od DOX, kao i prema MCF-7 ćelijama gde je 17 puta aktivniji od osnovnog molekula **V**. (6*S*)-Kardiobutanolid (**Vb**) i (6*S*,7*S*)-kardiobutanolid (**Vc**) su jači inhibitori proliferacije MCF-7 i HeLa ćelija od prirodnog laktone **V**. Defenilovani derivat **Vd** je veoma aktivan prema skoro svim ispitanim tumorskim ćelijama osim PC-3 i HT-29, a najjaču aktivnost je ispoljio prema HL-60 ćelijama, prema kojim je pokazao sličnu aktivnost kao DOX. Prirodni 3-deoksi-kardiobutanolid (**Ve**) je

takodje najaktivniji prema ćelijama promijelocitne leukemije (HL-60) prema kojim je deset puta aktivniji od komercijalnog antitumorskog agensa doksorubicina. Veoma je jak inhibitor proliferacije i K562, Jurkat, Raji i HeLa ćelija.

Tabela 3.8. *In vitro* citotoksičnost kardiobutanolida (V), analoga Va–d i 3-deoksi-kardiobutanolida (Ve).

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h										
	K562	HL-60	Jurkat	Raji	PC3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	A549	MRC-5
 V	0.05	0.24	0.98	1.21	11.08	87.23	42.13	4.25	8.79	8.52	>100
 Va	21.54	5.22	8.88	1.95	>100	>100	2.45	35.64	32.58	9.67	>100
 Vb	30.54	15.61	27.58	14.60	>100	>100	8.05	29.47	2.96	11.85	>100
 Vc	29.54	11.69	41.25	18.96	>100	>100	4.36	>100	1.58	8.69	>100
 Vd	2.36	0.74	3.25	2.64	>100	>100	0.63	5.32	0.89	8.64	>100
 Ve	0.54	0.09	2.23	2.21	>100	>100	>100	>100	2.34	33.85	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.91	0.10

Veoma je važno napomenuti da su sva ispitana jedinjenja (I, II, III, IIIa–f, IV, IVa–h, V, Va–e, VI, VIa–f, VII, VIIa–g, VIII i IX) bila potpuno neaktivna prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5) za razliku od DOX koji pokazuje submikromolarnu aktivnost.

3.9. Uspostavljanje koralacionih odnosa izmedju strukture sintetizovanih jedinjenja i antiproliferativne aktivnosti (SAR)

Naredna etapa naših radova odnosila se na uspostavljanje korelacionih odnosa (SAR) izmedju strukture i antiproliferativne aktivnosti sintetizovanih analoga i osnovnih molekula. Citotoksičnost je kvantitativno izražena kao $\Delta \log (IC_{50})$, a predstavlja razliku dekadnih logaritama od IC_{50} vrednosti analoga i kontrolnog molekula [$\log (IC_{50})_{\text{analog}} - \log (IC_{50})_{\text{kontrola}}$]. Negativne vrednosti $\Delta \log (IC_{50})$ pokazuju da analog ima snažniju antiproliferativnu aktivnost od kontrolnog molekula, dok pozitivne vrednosti odgovaraju većoj aktivnosti kontrolnog molekula u odnosu na analog.

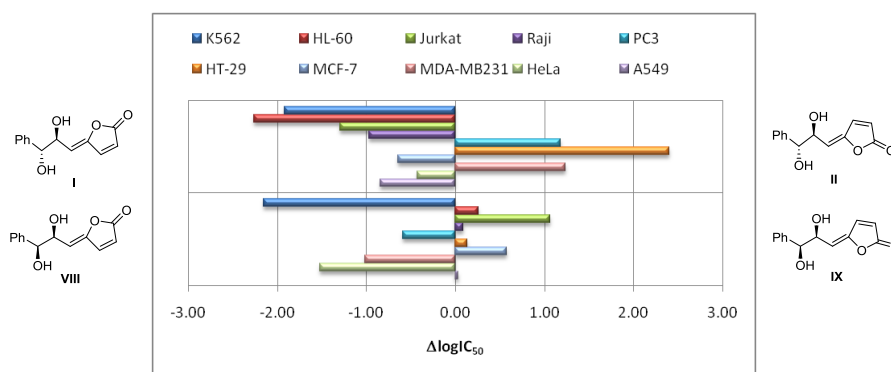
Prilikom uspostavljanja korelacije izmedju biološke aktivnosti i konfiguracije oko 4,5-dvostruke veze, molekuli **I** i **VIII** sa *Z*-konfiguracijom su posmatrani kao analozi, a **II** i **IX** (*E*-izomer) kao kontrolni molekuli (Slika 3.9.). Sa histograma se vidi da su molekuli sa *Z*-konfiguracijom (**I** i **VIII**) uglavnom aktivniji od odgovarajućih *E*-izomera (**II** i **IX**).

U cilju uspostavljanja korelacije izmedju konfiguracije na C-4 i antiproliferativne aktivnosti, molekuli **III** i **VI** su posmatrani kao kontrolni molekuli, a **IV** i **VII** kao analozi. Sa histograma (Slika 3.10.) se vidi da u slučaju molekula sa (*7R*)-konfiguracijom (**III** i **IV**) promena konfiguracije iz (*4S*) u (*4R*) vodi do smanjenja biološke aktivnosti, dok u slučaju molekula sa (*7S*) apsolutnom konfiguracijom (**VI** i **VII**) ista promena uzrokuje pojačavanje citotoksičnosti.

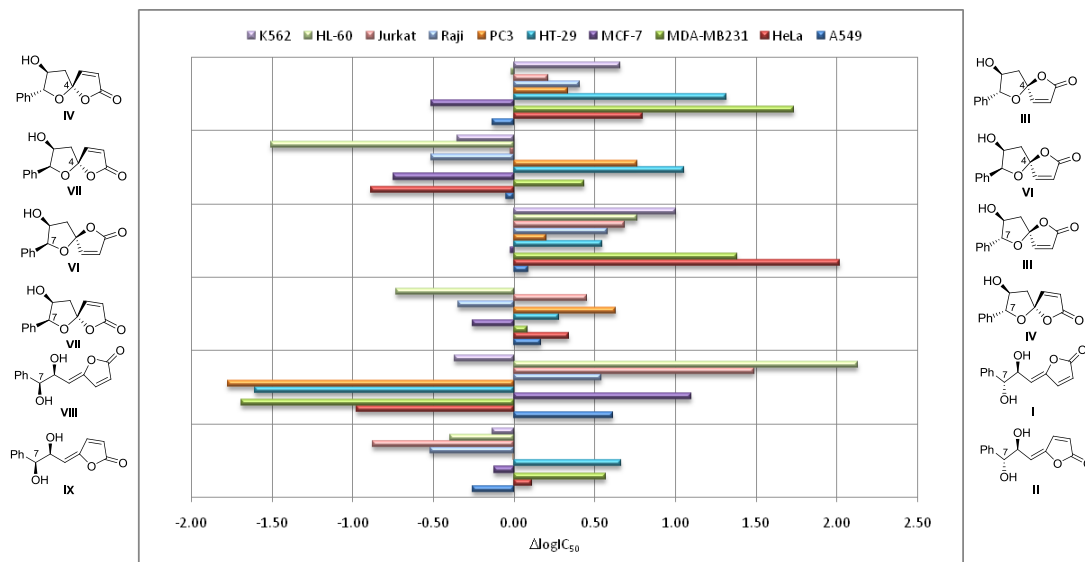
Upoređivanjem derivata sa (*7S*)-**VI-IX** i (*7R*)-konfiguracijom (**III**, **IV**, **I**, **II**) ustanovljeno je da ciklični molekuli (*7R*)-konfiguracije pokazuju jaču antiproliferativnu aktivnost, dok su kod acikličnih molekula (*7S*)-stereoizomeri aktivniji.

Radi ispitivanja uticaja novo-uvadenih 6-*O*-cinamoil-funkcija na antiproliferativnu aktivnost derivati **IIIa-d**, **IVa-d**, **VIa-d**, **VIIa-d** su posmatrani kao analozi, a **III**, **IV**, **VI** i **VII** su predstavljali kontrolne molekule (Slika 3.11.). Sa histograma se vidi da prisustvo cinamatnih estarskih grupa na C-6 krasalaktone D (**III**) povećava citotoksičnost samo prema ćelijama adenokarcinoma dojke (MCF-7) dok prisustvo pomenutih estara na C-6 (*4R*)-krasalaktone D (**IV**) povećava aktivnost i prema ćelijama karcinoma debelog creva (HT-29). Cinamati **VIa-d** i **VIIa-d** su aktivniji od kontrolnih molekula **VI** i **VII** prema ćelijskim linijama PC3, HT-29, MDA-MB 231 i A549. Prema HeLa ćelijama aktivniji su samo analozi **VIa-d**.

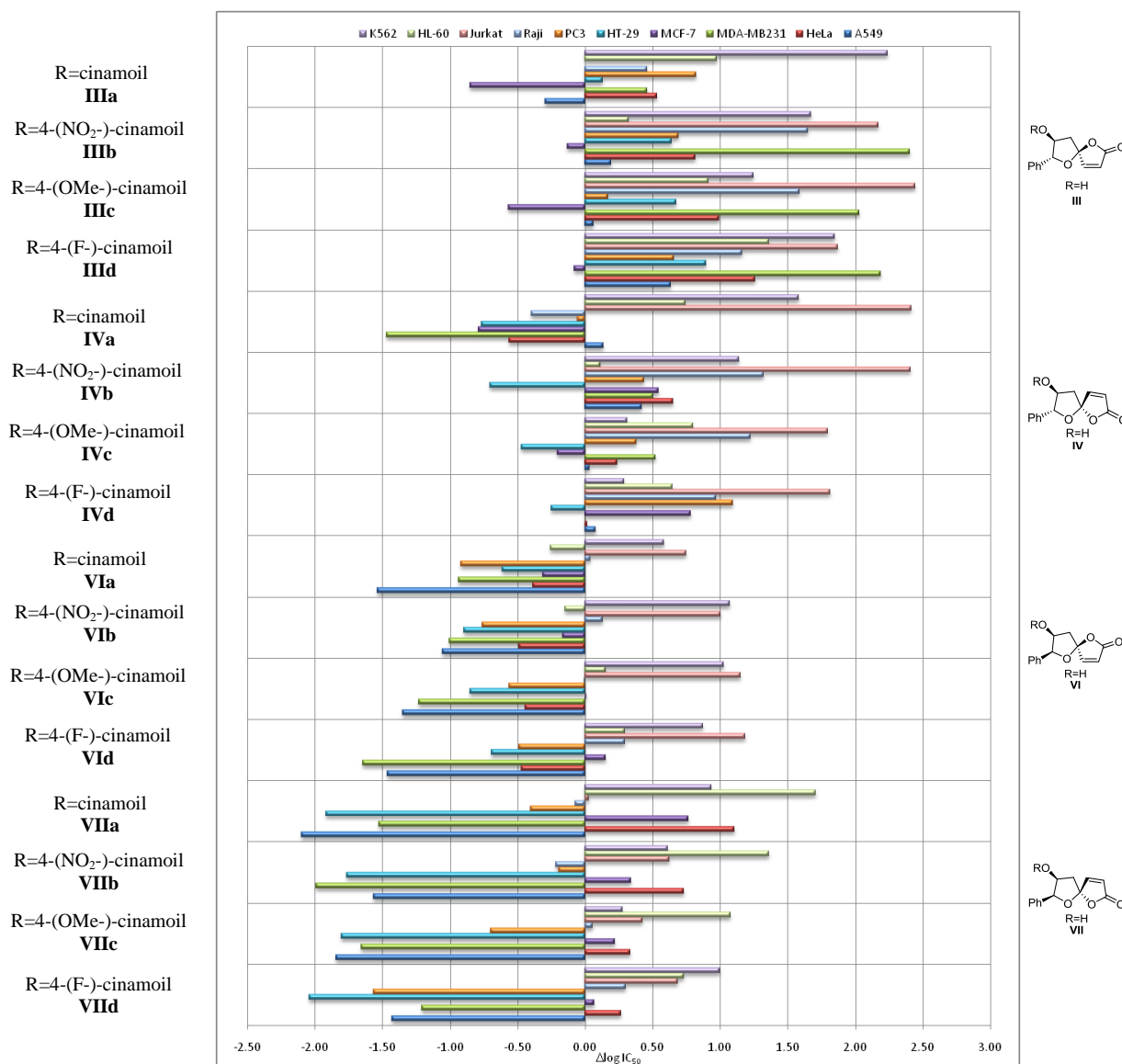
Kako se na *Slici 3.12.* vidi molekuli koji u *para* položaju benzenovog prstena cinamoil-ostatka imaju elektron-donorsku OMe grupu (**IIIc**, **IVc**, **VIc**, **VIIc**) pokazuju jaču aktivnost od molekula sa elektron-akceptorskim F i NO₂ grupama (**IIIb,d**, **IVb,d**, **VIb,d**, **VIIb,d**).



Slika 3.9. Korelacija izmedju konfiguracije oko 4,5-dvostruke veze i antiproliferativne aktivnost.

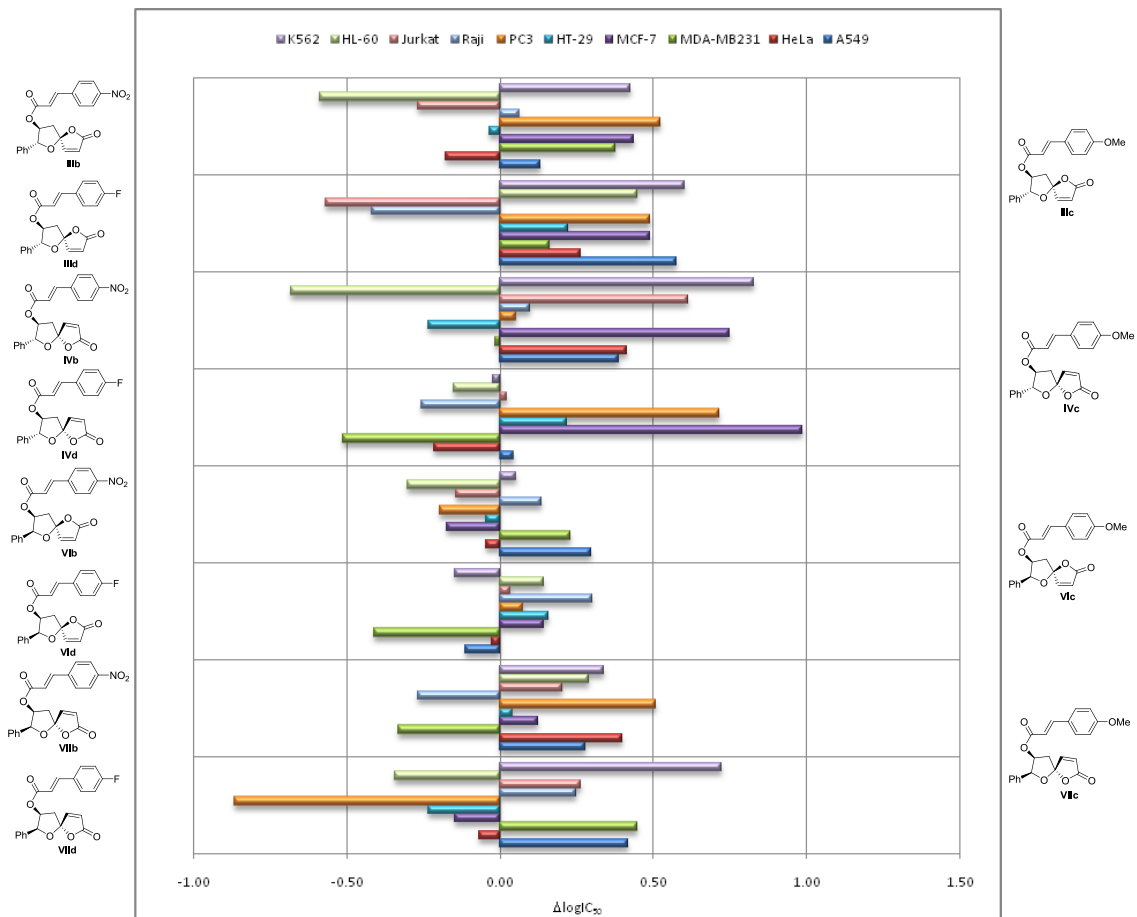


Slika 3.10. Korelacija izmedju apsolutne konfiguracije na C-4 i C-7 i antiproliferativne aktivnost.

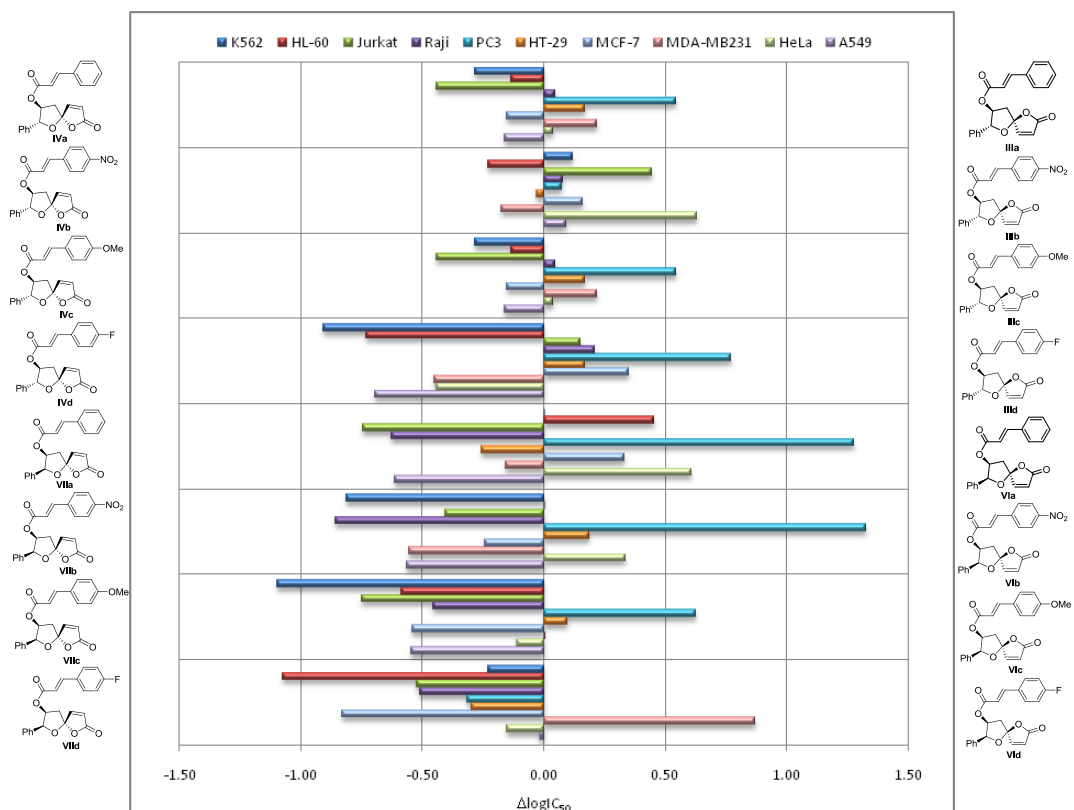


Slika 3.11. Uticaj (supstituisanih) cinamatnih estara na položaju O-6 na antiproliferativnu aktivnost.

Radi utvrđivanja uticaja apsolutne konfiguracije na C-4 na aktivnosti cinamatnih estara, molekuli **IIIa–d** i **VIa–d** su posmatrani kao kontrolni molekuli, dok su derivati **IVa–d** i **VIIa–d** predstavljali analoge. Na *Slici 3.13*. se vidi da promena konfiguracije iz (4*S*)- (koja odgovara konfiguraciji prirodnog krasalaktona D (**III**)) na (4*R*) povećava biološku aktivnost analoga.

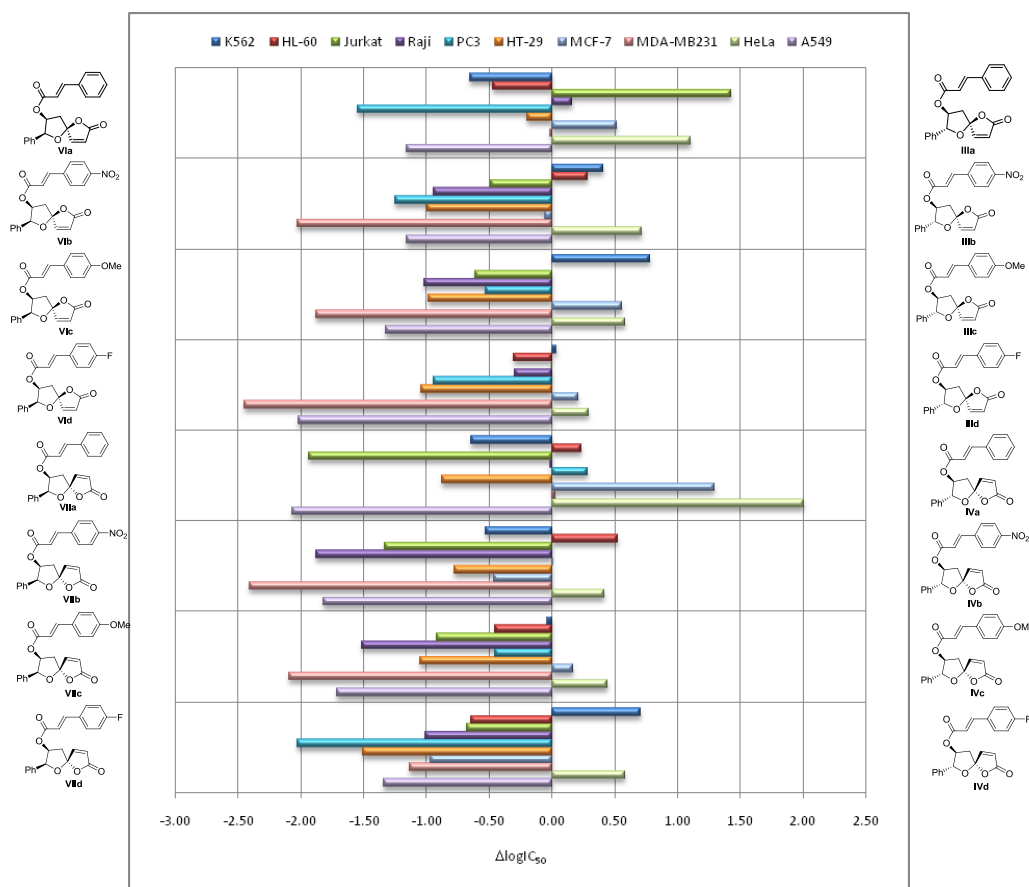


Slika 3.12. Odnos aktivnosti molekula koji u *para* položaju aromatičnog prstena cinamoil-ostataka imaju elektron-donorsku (OMe) i elektron-akceptorske grupe (F, NO₂).



Slika 3.13. Uticaj apsolutne konfiguracije na C-4 na aktivnost cinamatnih estara.

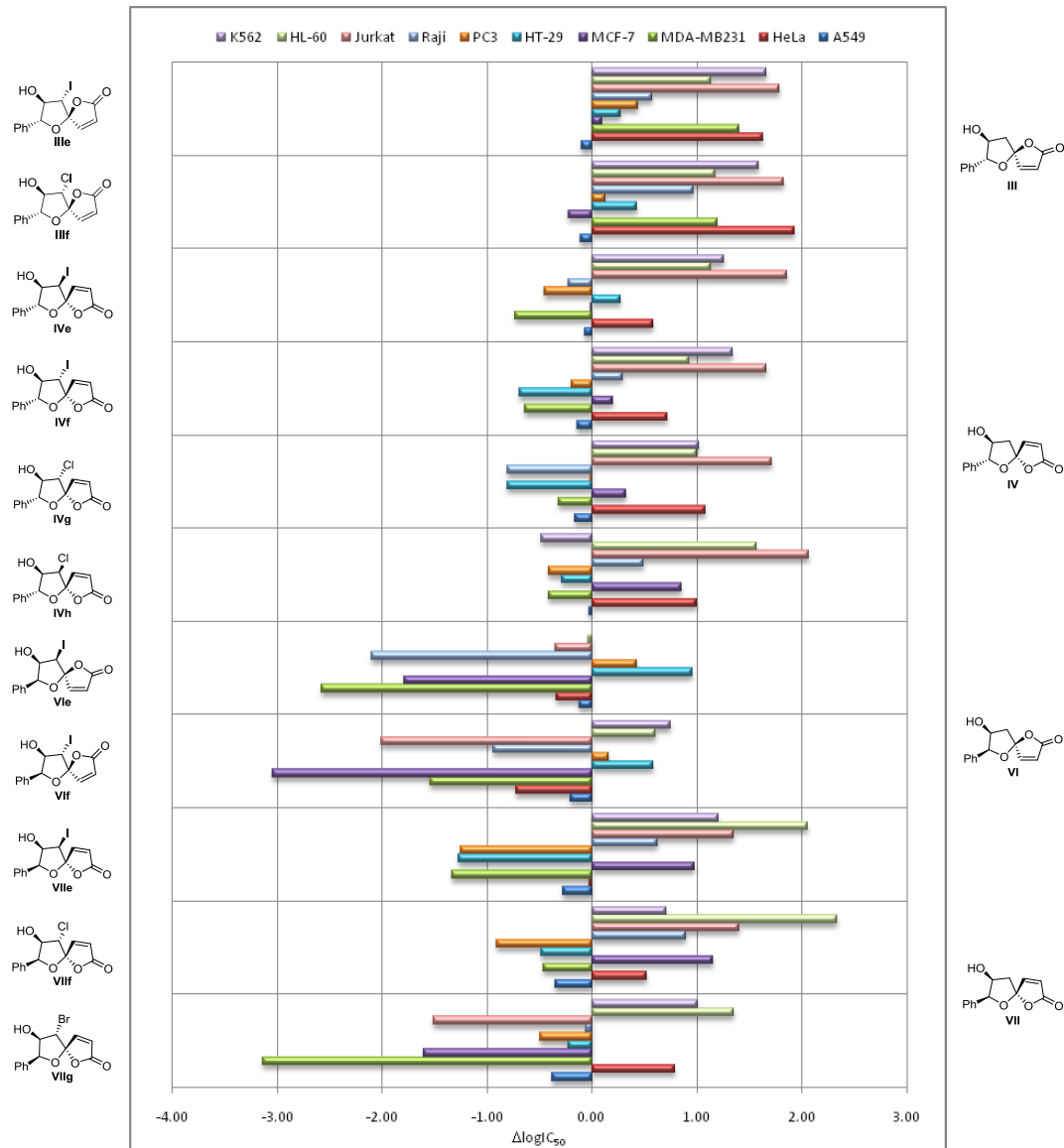
Upoređivanjem cinamatnih estara sa (7*R*)- (**IIIa–d**, **IVa–d**) odnosno sa (7*S*)- konfiguracijom (**VIa–d**, **VIIa–d**) ustanovljeno je da estri sa (7*S*)- apsolutnom konfiguracijom pokazuju jaču antiproliferativnu aktivnost (Slika 3.14.).



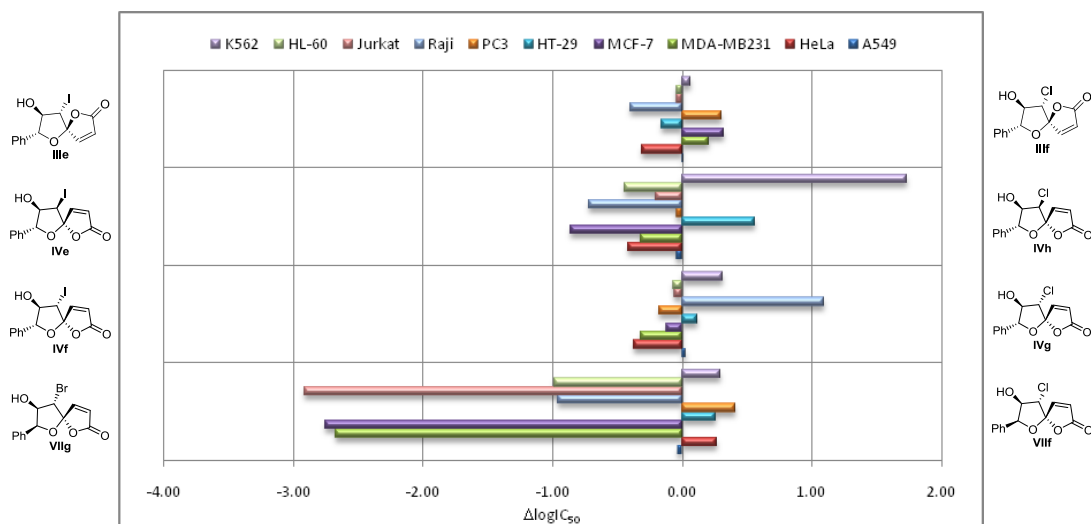
Slika 3.14. Uticaj apsolutne konfiguracije na C-7 na aktivnost (supstituisanih) cinamoil-estara.

U cilju ispitivanja uticaja novo-uvadenih C-5 halogenidnih funkcija na antiproliferativnu aktivnost, nesupstituisani laktone **III**, **IV**, **VI** i **VII** su posmatrani kao kontrolni molekuli a 5-supstituisani derivati **IIIe,f**, **IVe–h**, **VIe,f** i **VIIe–g** su predstavljali analoge (Slika 3.15.). Može se primetiti da prisustvo halogenidnih funkcija na C-5 generalno povećava antiproliferativnu aktivnost kod osnovnih molekula **IV**, **VI** i **VII**, dok na laktone tipa **III** ima suprotan uticaj.

Iz histograma prikazanog na Slici 3.16. se vidi da su derivati koji na C-5 imaju atom broma ili joda aktivniji od odgovarajućih hlornih analoga, što ukazuje da veći van der Waals-ov radijus atoma halogena povoljnije utiče na biološku aktivnost analoga.

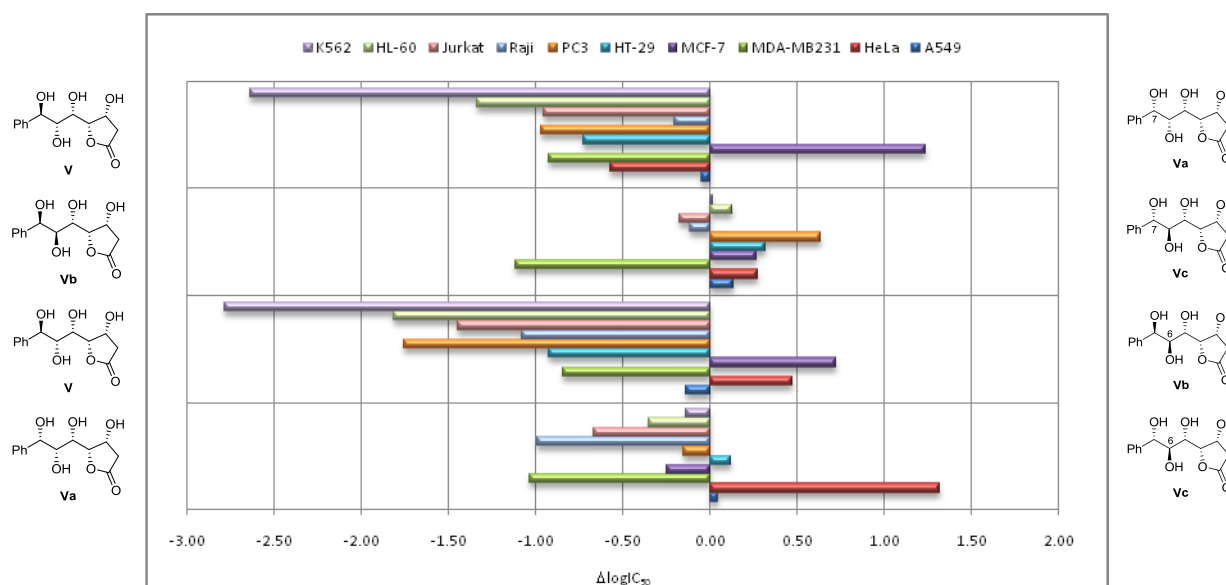


Slika 3.15. Uticaj prisustva atoma halogena na antiproliferativnu aktivnost.



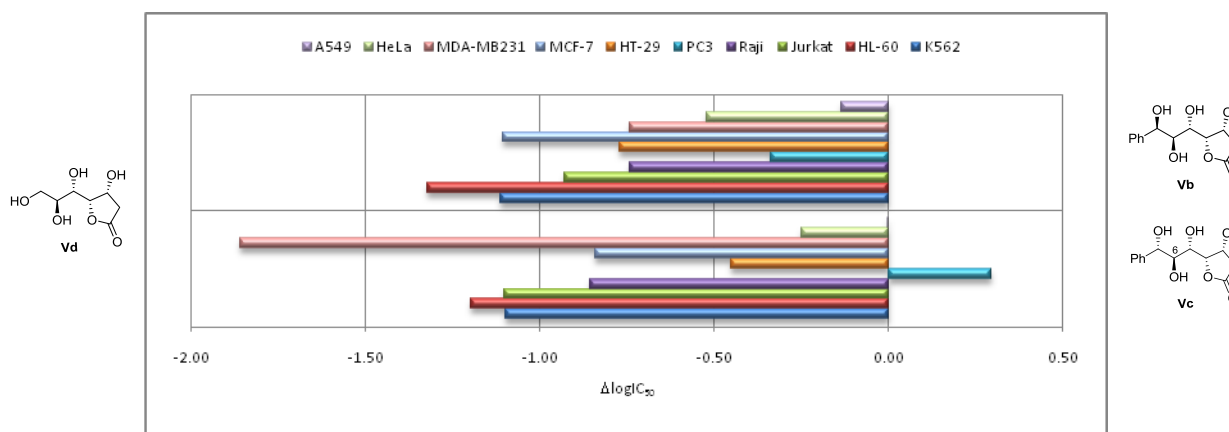
Slika 3.16. Uticaj vrste halogena na antiproliferativnu aktivnost.

Uspostavljanjem SAR odnosa izmedju strukture nekoliko stereoisomernih laktona tipa kardiobutanolida (**V**) i antiproliferativne aktivnosti ustanovljeno je da promena konfiguracije na pojedinim stereocentrima prirodnog kardiobutanolida ($7R \rightarrow 7S$) i ($6R \rightarrow 6S$), smanjuje antitumorsku aktivnost analoga u odnosu na prirodni proizvod **V** (Slika 3.17.).



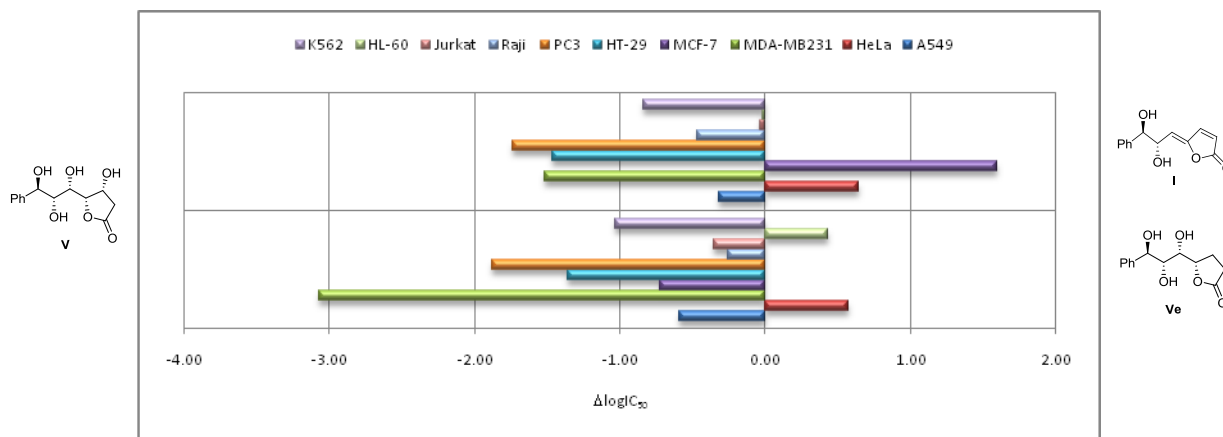
Slika 3.17. Uticaj apsolutne konfiguracije na C-6 i C-7 na antiproliferativnu aktivnost stereoisomera kardiobutanolida.

U cilju ispitivanja uticaja fenil-grupe na C-7 na antiproliferativnu aktivnost laktona tipa kardiobutanolida, molekuli **Vb** i **Vc** su posmatrani kao kontrolni molekuli, a derivat **Vd** je predstavljao njihov analog (Slika 3.18.). Kako je defenilovani analog **Vd** aktivniji prema skoro svim ispitivanim ćelijskim linijama od **Vb** i **Vc**, može se zaključiti da uklanjanje fenil-grupe iz stereoisomera **Vb** i **Vc** povećava antiproliferativnu aktivnost rezultujućeg analoga.



Slika 3.18. Uticaj fenil-grupe na citotoksičnost laktona tipa kardiobutanolida.

Sa histograma na *Slici 3.19.* se vidi da su i dehidratirani analog, kardiobutanolid (**I**) i 3-deoksikardiobutanolid (**Ve**) slabije aktivni od **V**, što ukazuje na to da je prisustvo hidroksilnih grupa na C-3 i C-5 važno za citotoksičnu aktivnost ovog tipa laktona.



Slika 3.19. Uticaj C-3 i C-5 hidroksilnih grupa na antiproliferativnu aktivnost laktona tipa kardiobutanolida.

3.10. Ispitivanje mehanizama antitumorskog dejstva

Ispitivanjem uticaja prirodnih laktona, njihovih derivata i analoga na proliferaciju deset malignih ćelijskih linija, ustanovljeno je da svi ispitani molekuli (**I**, **II**, **III**, **IIIa-f**, **IV**, **IVa-h**, **V**, **Va-e**, **VI**, **VIa-f**, **VII**, **VIIa-g**, **VIII** i **IX**) inhibiraju rast malignih ćelija u većoj ili manjoj meri. Sledeći korak u našim istraživanjima je ispitivanje mehanizma antitumorskog dejstva sintetizovanih jedinjenja. Kao model sistem odabrana je K562 ćelijska linija.

Ćelijski ciklus predstavlja seriju događaja koji se dešavaju u ćeliji a vode do njene deobe i duplikacije (replikacije) pri čemu nastaju dve »ćerke ćelije«. Anomalije u ćelijskom ciklusu mogu biti pokazatelji različitih ćelijskih oštećenja, na primer, oštećenja DNA tokom apoptoze. Kaspaze imaju veoma važnu ulogu u apoptozi. Kaspaze cepaju ključne celularne supstrate koji su neophodni za normalno funkcionisanje ćelije, između ostalog mogu aktivirati degradirajuće enzime kao što su DNaze, koji cepaju DNA na vezujućim regionima između oligonukleozoma.¹²⁷ Kao posledica ovih biohemijskih događaja dolazi do morfoloških promena i cepanja DNA. Proizvodi degradacije DNA su nukleozomalni i oligonukleozomalni DNA fragmenti. Kako je DNA u apoptotskim ćelijama delimično degradirana, frakcija DNA niske molekularna mase se može ekstrahovati, dok nedegradirana DNA ostaje u nukleusu.¹²⁸ Nakon bojenja nukleinskih kiselina specifičnim fluorohromima može se kvantitativno odrediti apoptotska nuklearna DNA korišćenjem protočnog citometra.¹²⁹ Fluorohrom koji je korišćen je propidijum-jodid (PI).¹³⁰ PI je fluorogena supstanca koja se stehiometrijski vezuje za nukleinske kiseline,¹³¹⁻¹³³ tako da je fluorescentna emisija proporcionalna količini DNA (i RNA, koja se prethodno uklanja RNazom) u ćeliji. Nakon što se apoptotske ćelije oboje sa PI i analiziraju protočnim citometrom, pojavljuje se široki hipodiploidni (sub-G₁) pik, koji se lako može razlikovati od pika normalnih (diploidnih) ćelija. Potrebno je naglasiti da postoje mnogi tipovi apoptoze i da fragmentacija i gubitak DNA fragmenata nisu univerzalni za apoptotske ćelije. Nekrotične ćelije mogu ponekad ispoljiti u odredjenom stepenu degradaciju DNA koja može rezultovati hipoploidnim nukleusom. Sub-G₁ pik može poticati, osim od apoptotskih ćelija, i od nuklearnih fragmenata, nagomilanih hromozoma, nukleusa sa normalnim sadržajem DNA ali različitom strukturom hromatina.¹³⁴ Prema tome, prisustvo hipodiploidnih DNA pikova nije potpun dokaz apoptotske smrti ćelije, te je u daljem radu, ćelijska smrt indukovana sintetizovanim jedinjenjima praćena uz korišćenje dvostrukog bojenja Annexin V-FITC/propidijum-jodida.

Česta i rana karakteristika apoptoze je transfer fosfatidil-serina (PS) i fosfatidil-etanolamina sa unutrašnje na spoljašnju stranu membrane.^{128,135–137} PS na spoljašnjoj strani membrane doprinosi ne samo prepoznavanju i uklanjanju apoptotskih ćelija fagocitima,^{135,138} nego se time stvara i vezujuće mesto za protein Annexin V,¹³⁹ koji se koristi za detekciju apoptotskih ćelija.¹⁴⁰

Biohemijska osnova za apoptotsko premeštanje PS nije potpuno jasna. Široko prihvaćen model podrazumeva da tokom apoptoze dolazi do aktivacije enzima skramblaze, odgovornog za nasumično premeštanje PS kroz membranu.¹⁴¹ Alternativni model sugerise da apoptotska eksternalizacija PS reflektuje Ca^{2+} -zavisian transport lizozoma na površinu ćelije.¹⁴² Po najnovijem modelu, apoptotsko premeštanje PS je povezano sa dvosmernim kretanjem citoplazmatskih vezikula nastalih od plazma membrane izmedju ćelijske površine i citoplazme. Apoptotsko izlaganje PS se dešava kada se ove vezikule kreću nazad na ćelijsku površinu u kalcijum-zavisnom procesu.¹⁴³ PS se takodje može pojaviti na površini ćelija koje podležu ranoj primarnoj nekrozi, što je posledica prestanka aktivnosti aminofosfolipid-translokaze zbog smanjenja nivoa ATP-a.^{144,145}

S obzirom da PS izlazi na spoljašnju stranu membrane i kod apoptotskih i nekrotičnih ćelija, istovremeno bojenje ćelija Annexinom V konjugovanim sa fluorescein isotiocijanatom (FITC) i propidijum-jodidom omogućava razlikovanje apoptotskih od nekrotičnih ćelija, jer PI boji samo nekrotične ćelije.

Naredni korak u radu je ispitivanje mehanizama apoptoze, odnosno ekspresije markera apoptoze [Bcl-2, Bax, kaspaze-3 i poli-ADP-riboza polimeraze (PARP)] indukovane sintetizovanim jedinjenjima semi-kvantitativnom Western blot metodom.

Različiti citotoksični stimulansi, uključujući hemioterapeutske agense mogu aktivirati mitohondrijalni put apoptoze, koji je regulisan proteinima Bcl-2 familije.¹⁴⁶ Inicijaciju apoptoze određuje set interakcija na spoljnoj mitohondrijalnoj membrani izmedju tri funkcionalno i strukturno različite podgrupe proteina Bcl-2 familije: BH3-only (Bcl-2 homolozi 3) proteina (prenose signal za iniciranje apoptoze), anti-apoptotskih proteina (čuvara ćelije kao što je sam Bcl-2) i pro-apoptotskih proteina efektora Bax (Bcl-2 *associated protein X*) i Bak (Bcl-2 *antagonist/killer*).¹⁴⁶ Kao odgovor na citotoksične stimulse dolazi do aktivacije BH3 proteina (inicijatori) koji inhibiraju anti-apoptotske Bcl-2 proteine (čuvare). Time je omogućena aktivacija pro-apoptotskih efektora Bax i Bak koji formiraju oligomere koji permeabilizuju spoljašnju membranu mitohondrija. Mitohondrije otpuštaju apoptogene faktore u citosol, naročito citohorom C (Cyt C) koji promovise aktivaciju kaspaze 9 na APAF1 (*apoptotic protease-activating factor 1*), dok otpušteni protein SMAC (*second mitochondria-derived activator of caspases*)^{147,148} blokira

inhibitor apoptoze XIAP (*X-linked inhibitor of apoptosis protein*).¹⁴⁶ Aktivirana kaspaza 9 aktivira druge kaspaze, između ostalih i kaspazu 3. Kaspaza 3 može biti aktivirana u apoptotskoj ćeliji i spoljnim i unutrašnjim putem.¹⁴⁹ Proteoliza prokaspaze 3 rezultuje formiranjem aktivne „izvršne“ kaspaze koja potom katalizuje hidrolizu mnogih proteinskih supstrata.¹⁵⁰

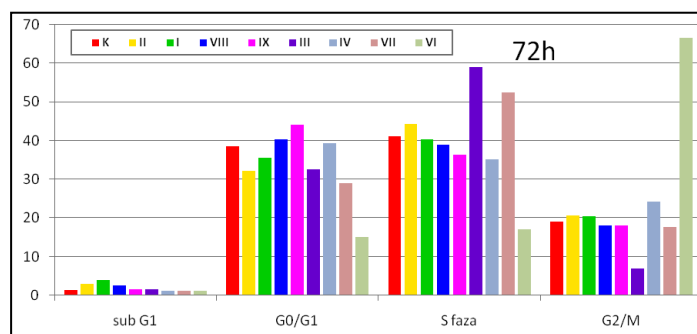
Polimerizacija ADP-riboze je važan mehanizam za održavanje integriteta genoma nakon oštećenja DNA. Enzim odgovoran za sintezu poli-ADP-riboze je poli-ADP-riboza polimeraza-1 (PARP-1), koja učestvuje u dva oblika ćelijske smrti indukovane oštećenjem DNK, apoptozi i nekrozi.¹⁵¹ Tokom apoptoze, PARP-1 specifično proteolizuje kaspaze na 24 kDa DNK-vezujućem domenu (24 kDa, *DBD-DNA binding domen*) i katalitičkom fragmentu (89 kDa).^{152,153}

Radi preglednijeg prikazivanja rezultata ispitivanja mehanizama antitumorskog dejstva sintetizovana jedinjenja su podeljena u grupe: (a) prirodni laktone goniobutenolid A (**I**), B (**II**), krasalakton D (**III**) i analozi **IV**, **VI–IX**; (b) halogenidi i cinamatni estri krasalaktona D (jedinjenja **IIIa–f**); (c) halogenidi i cinamatni estri (4*R*)-krasalaktona D (**IV**; jedinjenja **IVa–h**); (d) halogenidi cinamatni estri (7*S*)-krasalaktona D (**VI**; jedinjenja **VIa–f**); (e) halogenidi i cinamatni estri (4*R*,7*S*)-krasalaktona D (**VII**; jedinjenja **VIIa–g**); (f) prirodni laktone goniofufuron, kardiobutanolid (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolid (**Ve**) i derivati **Va–d**.

Eksperimenti u kojima je ispitivan uticaj sintetizovanih jedinjenja na faze ćelijskog ciklusa izvedeni su tako što su K562 ćelije kontinualno tretirane ispitivanim jedinjenjima tokom 72 h, pri koncentraciji koja odgovara IC₅₀ vrednosti ispitivanih jedinjenja za 72 h.

(a) Prirodni laktone goniobutenolid A (**I**), B (**II**), krasalakton D (**III**) i analozi **IV**, **VI–IX**

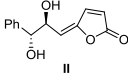
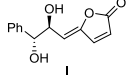
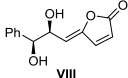
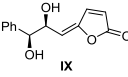
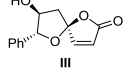
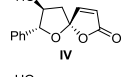
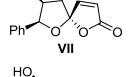
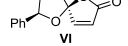
Kao što se iz *Tabele 3.9.* i sa *Slike 3.20.* vidi prirodni stiril-laktone **I** i **II** povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi 2, odnosno 2.5 puta, dok krasalakton D (**III**) nema takav uticaj. Od stereoizomera jedino **VIII** utiče na povećanje broja K562 ćelija u fazi sub G1, i to 1.7 puta, dok je za ostala ispitivana jedinjenja broj ćelija u toj fazi niži.



Slika 3.20. Uticaj prirodnih laktone **I–III** i analoga **IV**, **VI–IX** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Procenat ćelija u G0/G1, S i G2/M fazi ćelijskog ciklusa za sva ispitivana jedinjenja, sličan je vrednostima dobijenim u kontrolnom uzorku, osim za jedinjenje **VI** koje smanjuje 2.5 puta procenat ćelija u G0/G1 i S, a 3.5 puta povećava u G2/M fazi.

Tabela 3.9. Uticaj prirodnih laktona **I–III** i analoga **IV, VI–IX** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Jedinjenje	Sub G1 (%)	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Kontrola ^a	1.48	38.48	41.03	19.01
 II	3.01	32.11	44.23	20.65
 I	3.87	35.54	40.22	20.37
 VIII	2.57	40.34	39.02	18.07
 IX	1.57	44.03	36.25	18.15
 III	1.60	32.52	59.02	6.86
 IV	1.26	39.26	35.20	24.28
 VII	1.10	28.98	52.34	17.58
 VI	1.09	15.18	17.17	66.56

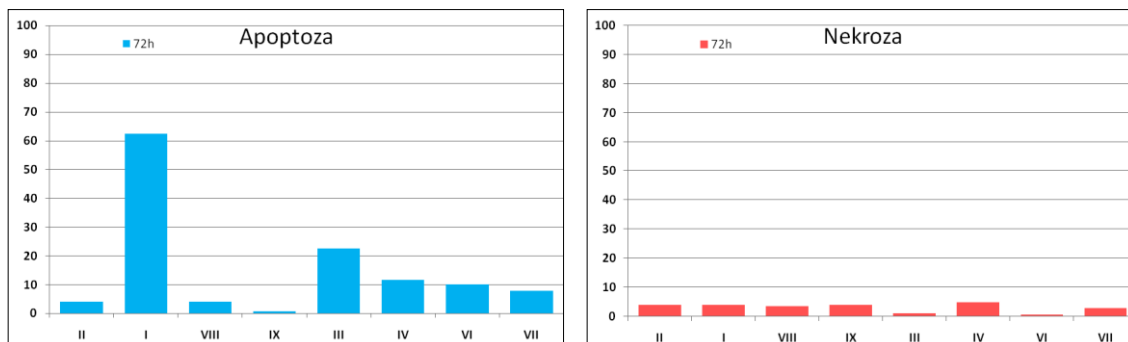
^a Kontrola sadrži netretirane ćelije.

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

Tabela 3.10. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane prirodnim laktovima **I–III** i analogima **IV, VI–IX**.

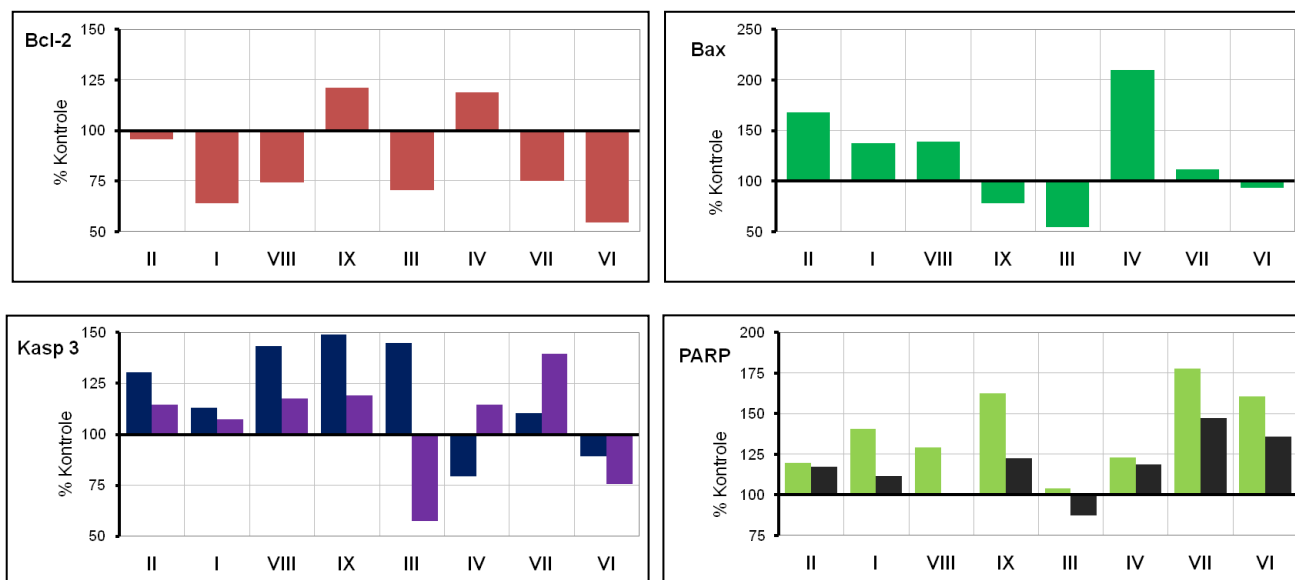
Jedinjenje	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
II	3.99	3.87
I	62.42	3.93
VIII	4.10	3.46
IX	0.75	3.87
III	22.60	1.08
IV	11.74	4.80
VI	10.05	0.67
VII	7.78	2.84

Apoptotski odgovor, predstavljen kao procenat specifične apoptoze prirodnih laktona **I–III** i njihovih analoga **IV, VI–IX** prikazan je u *Tabeli 3.10.* i na *Slici 3.21.*



Slika 3.21. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane prirodnim laktonima **I–III** i analogima **IV, VI–IX.**

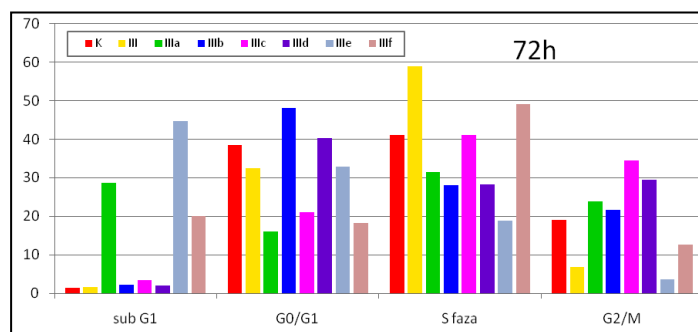
Prirodni goniobutenolid A (**I**) indukuje najveći procenat specifične apoptoze (62%), i to tri puta veći od krasalaktona D (**III**) i skoro 16 puta veći od svog *E*-izomera **II**. Svi molekuli ove grupe izazivaju nizak procenta specifične nekroze, a najniži je detektovan kod jedinjenja **VI** (0.67%).



Slika 3.22. Rezultati Western blot analize dobijene nakon tretmana sa prirodnim laktonima **I–III** i analogima **IV, VI–IX.**

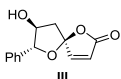
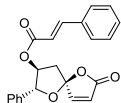
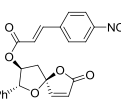
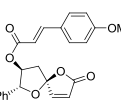
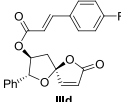
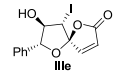
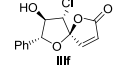
Rezultat Western blot analize dobijeni nakon tretmana prirodnim laktonima **I–III** i analogima **IV, VI–IX** (*Slika 3.22.*) pokazuju da monociklični laktoni **I, II** i **VIII** i spiro-lakton **VII** smanjuju

ekspresiju anti-apoptotskog proteina Bcl-2, povećavaju ekspresiju pro-apoptotskog proteina Bax, a povećavaju i ekspresiju kaspaze 3 i PARP-a, što ukazuje da pomenuti molekuli verovatno indukuju apoptozu kaspazno-zavisnim putem regulisanim proteinima Bcl-2 familije. Prirodni krasalaktone D (**III**) smanjuje ekspresiju svih ispitivanih proteina, a njegov epimer **IV** povećava.



Slika 3.23. Uticaj osnovnog molekula **III** i analoga **IIIa-f** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Tabela 3.11. Uticaj osnovnog molekula **III** i analoga **IIIa-f** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

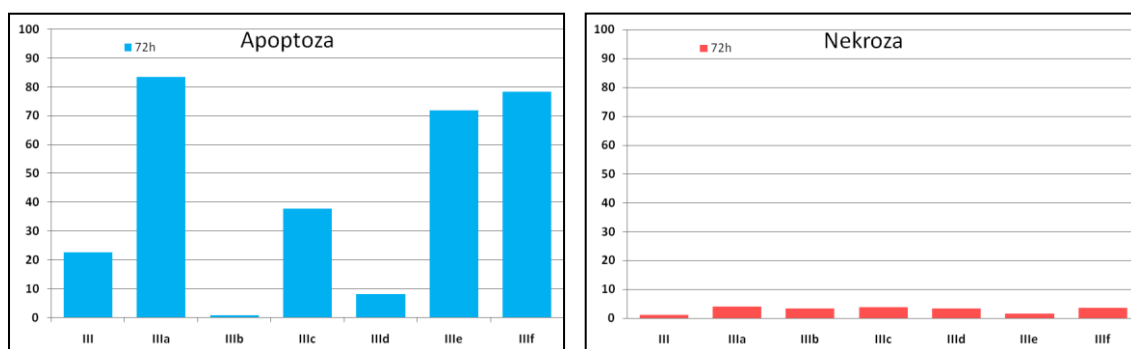
Jedinjenje	Sub G1 (%)	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Kontrola	1.48	38.48	41.03	19.01
 III	1.60	32.52	59.02	6.86
 IIIa	28.63	16.04	31.55	23.78
 IIIb	2.13	48.17	28.04	21.66
 IIIc	3.39	21.08	41.08	34.45
 IIId	2.02	40.27	28.31	29.40
 IIIe	44.61	32.97	18.83	3.59
 IIIf	20.05	18.21	49.20	12.54

(b) Halogenidi i cinamatni estri krasalaktone D (jedinjenja **IIIa-f**)

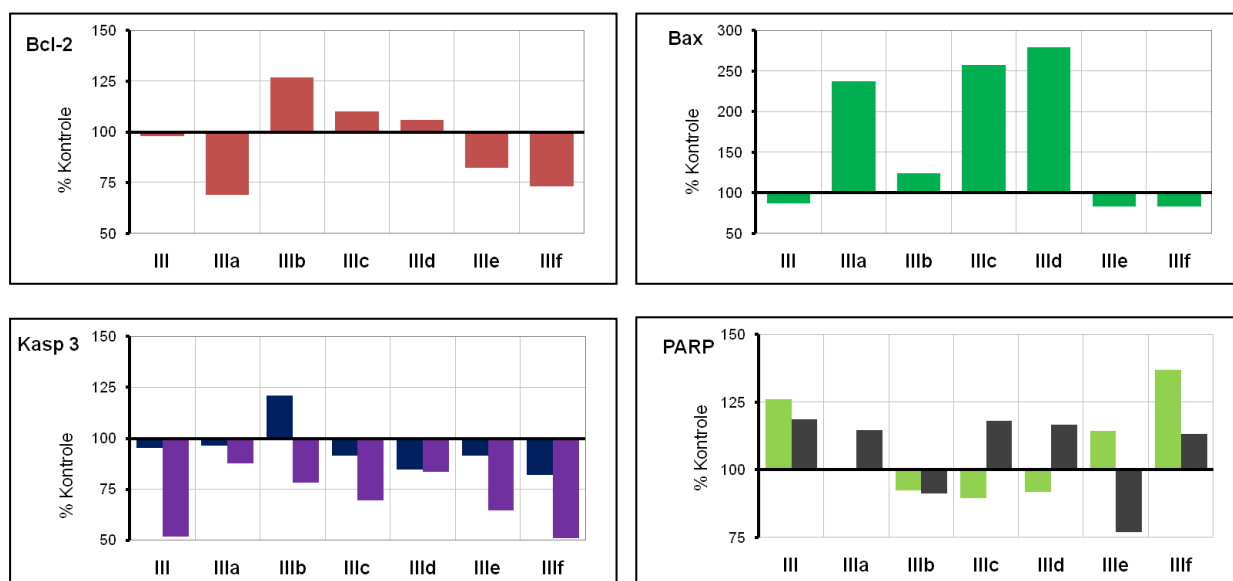
Prisustvo cinamatnog estra na O-6 krasalaktona D (**IIIa**) 19 puta povećava procenat ćelija u sub G1 fazi, prisustvo hlora na C-5 (**IIIb**) 15 puta, a joda (**IIIc**) čak 30 puta i u odnosu na osnovni molekul **III** i u odnosu na kontrolu (*Tabela 3.11. i Slika 3.23.*). Pomenuta jedinjenja smanjuju procenat ćelija u G0/G1 fazi. U skladu sa navedenim, što se tiče specifične apoptoze takodje su najpotentniji pomenuti molekuli, tako da 6-cinamat **IIIa** uvodi u apoptozu 83% K562 ćelija, jodid **IIIe** 72%, a hlorid **IIIb** 78% (*Tabela 3.12. i Slika 3.24.*). Molekuli **IIIa-f** indukuju nekrozu u malom procentu tretiranih ćelija.

Tabela 3.12. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **III** i derivatima **IIIa-f**.

Jedinjenje	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
III	22.60	1.08
IIIa	83.35	4.06
IIIb	0.75	3.40
IIIc	37.78	3.86
IIIb	8.05	3.28
IIIe	71.87	1.56
IIIb	78.38	3.66



Slika 3.24. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **III** i derivatima **IIIa-f**.

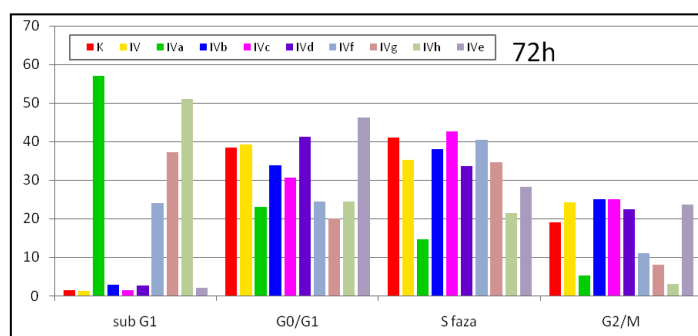


Slika 3.25. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa osnovnim molekulom **III** i derivatima **IIIa-f**.

Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa krasalaktonom D (**III**) i derivatima **IIIa–f** (Slika 3.25.) pokazuju da 6-cinamat **IIIa**, jodid **IIIe** i hlorid **IIIb** smanjuju ekspresiju anti-apoptotskog proteina Bcl-2, a **IIIe** i **IIIb** smanjuju ekspresiju i Bax-a u odnosu na kontrolu i na osnovni molekul **III**. Analiza prokaspaze 3 (prikazano plavom bojom) i aktivne kaspaze 3 (prikazano ljubičastom bojom) u K562 ćelijama pokazala je da ni osnovni molekul **III** ni derivati **IIIa–f** ne indukuju ekspresiju. Ekspresija katalitičkog fragmenta PARP-a (85 kDa) veća u odnosu na kontrolu je detektovana kod **III** i derivata **IIIa,c,d,f**, a manja je detektovana kod **IIIb** i **IIIe**. Na osnovu dobijenih rezultata se ne može pouzdano tvrditi mehanizam antitumorskog dejstva jedinjenja ove grupe, ali se može pretpostaviti da je kod **IIIa** i **IIIc** apoptoza posredovana kaspaza-nezavisnim putem.

(c) Halogenidi i cinamatni estri (4R)-krasalaktona D (**IV**; jedinjenja **IVa–h**)

Slično kao i u prethodnoj grupi prisustvo cinamata na C-6 (**IVa**) vodi do povećanja procenta ćelija u sub G1 fazi i to 45 puta u poredjenju sa **IV**. Takođe, prisustvo atoma halogena u strukturi laktone utiče na porast broja ćelija u toj fazi i u odnosu na kontrolu i u odnosu na osnovno jedinjenje **IV**, pri čemu značajnije utiče prisustvo hlora (Tabela 3.13. i Slika 3.26.). Molekuli **IVa,g,h** utiču na smanjenje broja ćelija u fazama G0/G1, S i G2/M. Slični rezultati su dobijeni i ispitivanjem procenta K562 ćelija kod kojih je indukovana specifična apoptoza sintetizovanim jedinjenjima. 6-Cinamat **IVa** indukuje najveću apoptozu među analogima **IVa–h** (86%, 7.3 puta više od osnovnog molekula **IV**). Veoma visok procenat apoptoze (69–85%) indukovali su i halogenovani derivati **IVf–h** (Tabela 3.14. i Slika 3.27.).



Slika 3.26. Uticaj osnovnog molekula **IV** i analoga **IVa–h** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Tabela 3.13. Uticaj osnovnog molekula **IV** i analoga **IVa–h** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

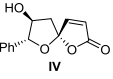
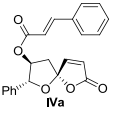
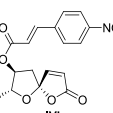
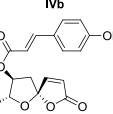
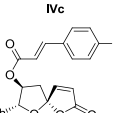
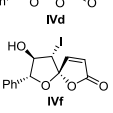
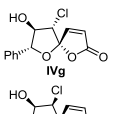
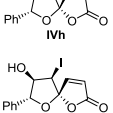
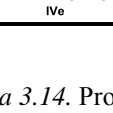
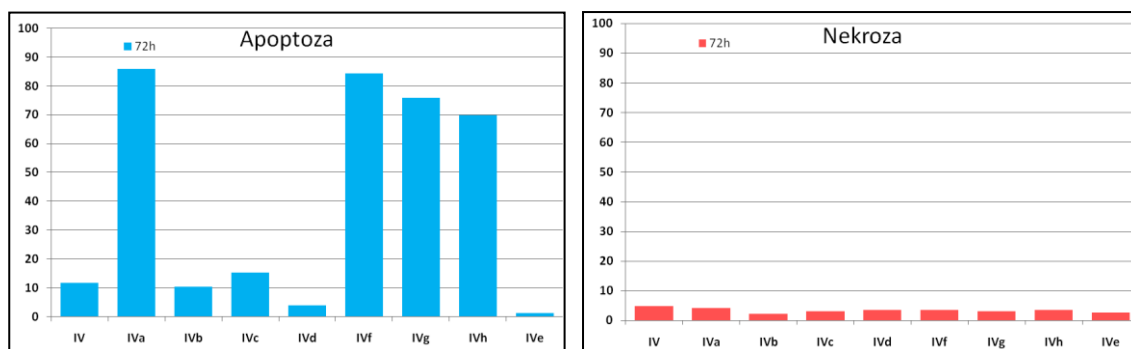
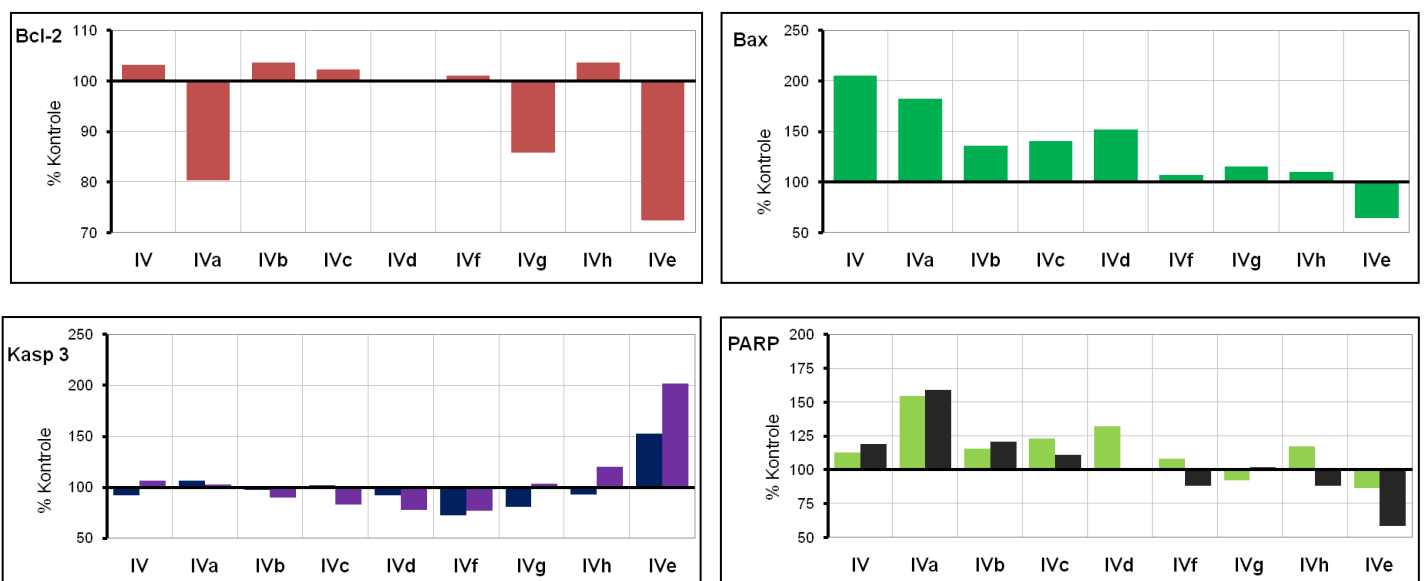
Jedinjenje	Sub G1 (%)	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Kontrola	1.48	38.48	41.03	19.01
 IV	1.26	39.26	35.20	24.28
 IVa	56.93	23.10	14.63	5.34
 IVb	2.93	33.85	38.08	25.14
 IVc	1.57	30.72	42.64	25.07
 IVd	2.61	41.18	33.71	22.50
 IVf	24.02	24.51	40.37	11.10
 IVg	37.14	20.01	34.72	8.13
 IVh	51.01	24.49	21.45	3.06
 IVe	2.11	46.16	28.16	23.57

Tabela 3.14. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **IV** i derivatima **IVa–h**.

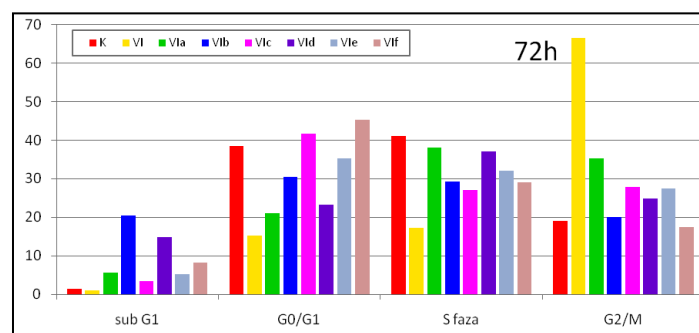
Jedinjenje	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
IV	11.74	4.80
IVa	86.01	4.12
IVb	10.54	2.18
IVc	15.35	3.15
IVd	4.02	3.58
IVf	84.50	3.49
IVg	75.96	3.04
IVh	69.61	3.50
IVe	1.43	2.75

Slika 3.27. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **IV** i derivatima **IVa–h**.

Rezultati Western blot analize nakon tretmana sa (4R)-krasalaktonom D (**IV**) i derivatima **IVa–h** (Slika 3.28.) pokazuju da osnovni molekul **IV**, derivati **IVb,c,f,h** povećavaju ekspresiju Bcl-2, dok ostala testirana jedinjenja ove grupe smanjuju. Sve supstance ove grupe osim **IVe** povećavaju ekspresiju Bax-a u odnosu na kontrolu ali ne i u odnosu na osnovni **IV**. Jedinjenja **IV, IVa,h,e** povećavaju ekspresiju kaspaze 3, a **IV** i **IVa,g** i PARP-a. Ovi rezultati sugerišu da **IVe** indukuje apoptozu kaspaza-zavisnim putem, **IVa,g,h** kaspaza-zavisnim putem regulisanim Bcl-2 proteinima i **IVb,c,d,f** kaspaza-nezavisnim putem regulisanim Bcl-2 familijom proteina.



Slika 3.28. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana sa osnovnim molekulom **IV** i derivatima **IVa–h**.



Slika 3.29. Uticaj osnovnog molekula **VI** i analoga **VIa–f** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

(d) Halogenidi i cinamatni estri (7S)-krasalaktona D (VI; jedinjenja VIa–f)

Jedinjenje **VIa** koje je estar cimetine kiseline (Tabele 3.15. i Slike 3.29.) i **VIc** koji u *para* položaju cinamoil-ostatka ima elektron-donorski grupu (OMe) povećavaju procenat ćelija u sub G1 fazi 4 puta u odnosu na kontrolu i 5 puta u odnosu na osnovni molekul **VI**, dok jedinjenja **VIb** i **VIId** koja u *para* položaju cinamoil-ostatka imaju elektron-akceptorske grupe (NO₂, F) dovode do još veće razlike (14 odnosno 10 puta u poredjenju sa kontrolom i 19 odnosno 14 puta u poredjenju sa **VI**). Jodidni derivati **VIe** i **VIIf** povećavaju procenat ćelija u ovoj fazi, pri čemu je **5S** efikasniji.

Tabela 3.15. Uticaj osnovnog molekula **VI** i analoga **VIa–f** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

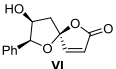
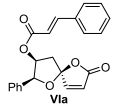
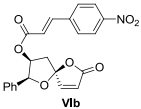
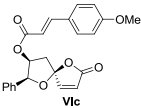
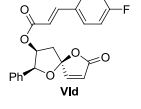
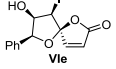
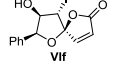
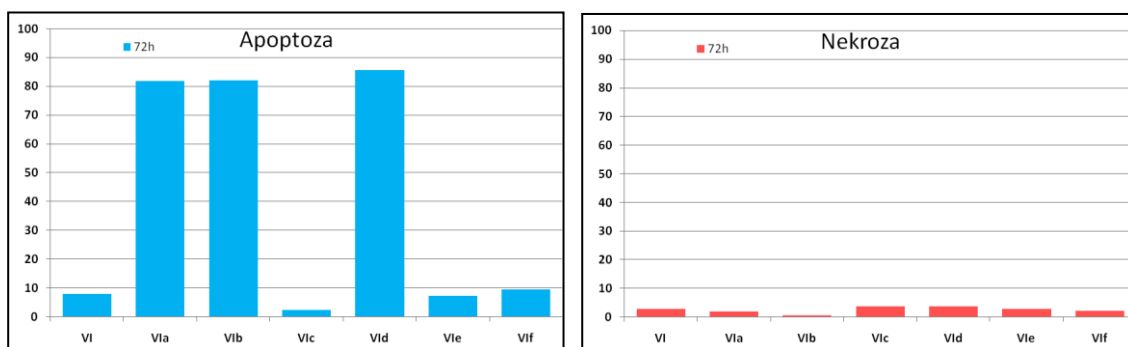
Jedinjenje	Sub G1 (%)	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Kontrola	1.48	38.48	41.03	19.01
 VI	1.09	15.18	17.17	66.56
 VIa	5.69	21.01	38.09	35.21
 VIb	20.43	30.42	29.17	19.98
 VIc	3.41	41.60	27.14	27.85
 VIId	14.87	23.20	37.11	24.82
 VIe	5.15	35.28	32.16	27.41
 VIIf	8.25	45.27	29.13	17.35

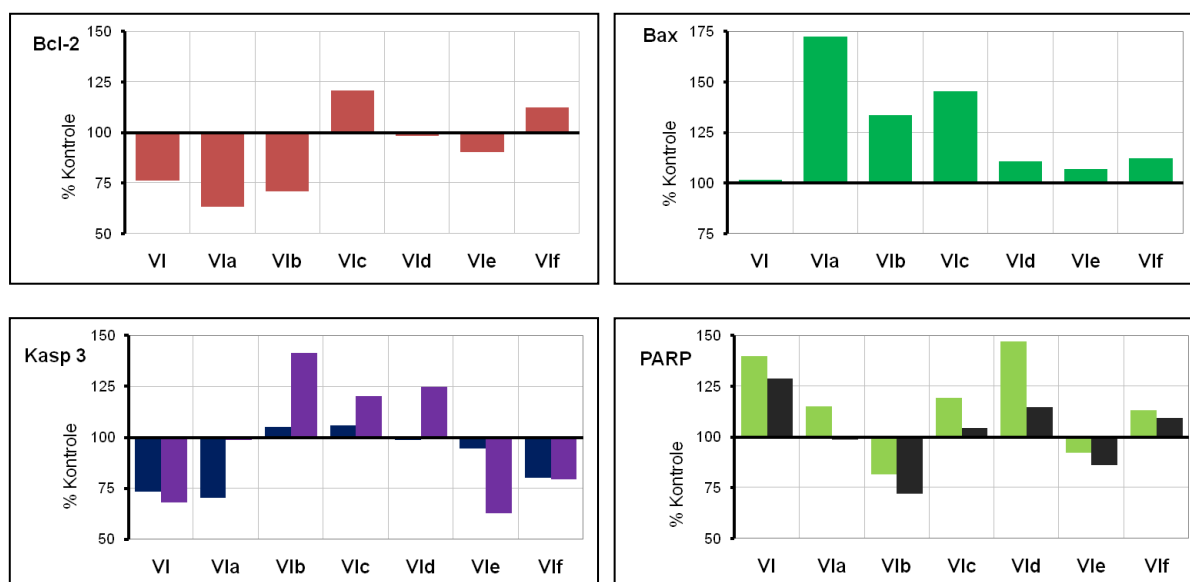
Tabela 3.16. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **VI** i derivatima **VIa–f**.

Jedinjenje	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
VI	7.78	2.84
VIa	81.79	1.97
VIb	81.97	0.64
VIc	2.28	3.76
VIId	85.69	3.78
VIe	7.30	2.82
VIIf	9.45	2.16



Slika 3.30. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **VI** i derivatima **VIa-f**.

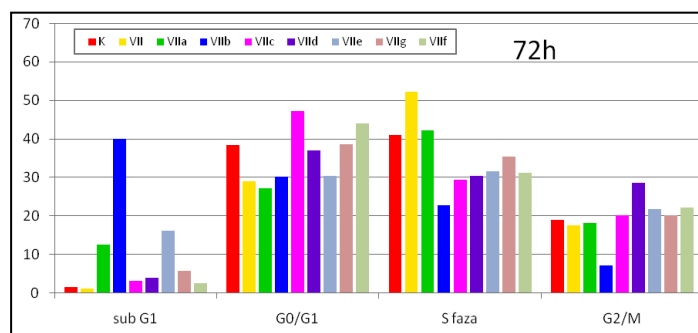
Kao što se vidi iz *Tabele 3.16.* i *Slike 3.30.* četiri molekula uvode u apoptozu veći procenat K562 ćelija od osnovnog molekula **VI**, pri čemu su najpotentniji **VIb** i **VIe** sa elektron-akceptorskim grupama (NO_2 i F) u *para*-položaju cinamoil-ostatka i 6-cinamat **VIa**. Halogenidi **VIe** i **Vf** uvode u apoptozu sličan broj ćelija kao **VI**. Svi ispitivani analozi ove grupe indukuju nizak procenat ćelija u nekrozi. I u ovoj grupi jedinjenja koja su uticala na povećanje procenta ćelija u sub G1 fazi ćelijskog ciklusa indukuju apoptozu kod velikog broja ćelija.



Slika 3.31. Rezultati Western blot analize dobijenim nakon tretmana osnovnim molekulom **VI** i derivatima **VIa-f**.

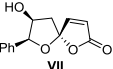
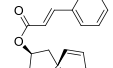
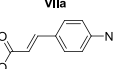
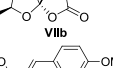
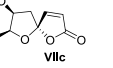
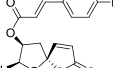
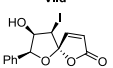
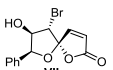
Osnovni molekul **VI** smanjuje a jodid **Vf** povećava ekspresiju Bcl-2. Oba molekula povećavaju Bax i PARP, a kaspaza 3 nije aktivna (*Slika 3.31.*). Slična situacija je i u slučaju cinamata **VIa** i

jodida **VIe**, osim što je smanjena i ekspresija PARP-a, što ukazuje na pretpostavku da ova jedinjenja indukuju apoptozu kaspaza-nezavisnim putem regulisanim Bcl-2 familijom proteina. 4-Supstituisani cinamatni estri smanjuju ekspresiju Bcl-2 (osim **VIc**), povećavaju ekspresiju Bax-a, kaspaze 3 i PARP-a (osim **VIb**), na osnovu čega se može zaključiti da uvode u apoptozu K562 ćelije kaspaza-zavisnim putem regulisanim Bcl-2 proteinima.



Slika 3.32. Uticaj osnovnog molekula **VII** i analoga **VIIa-g** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Tabela 3.17. Uticaj osnovnog molekula **VII** i analoga **VIIa-g** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

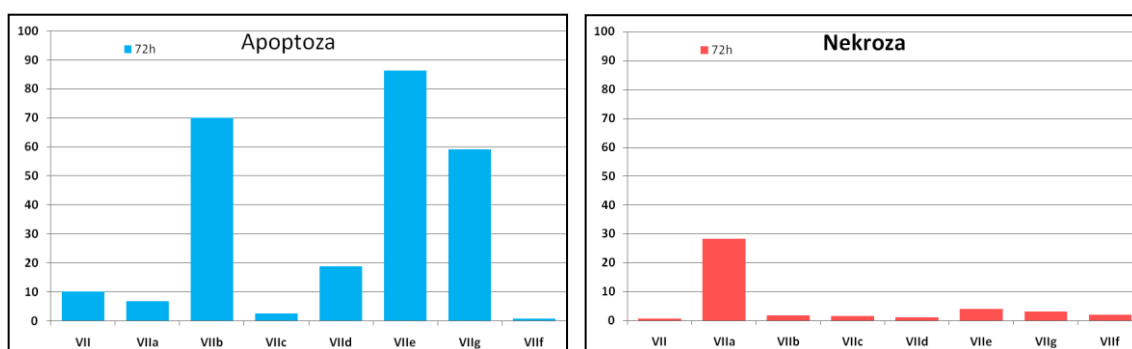
Jedinjenje	Sub G1 (%)	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Kontrola	1.48	38.48	41.03	19.01
 VII	1.10	28.98	52.34	17.58
 VIIa	12.49	27.11	42.16	18.24
 VIIb	40.08	30.15	22.70	7.07
 VIIc	3.23	47.26	29.4	20.11
 VIId	3.99	37.01	30.34	28.66
 VIIe	16.14	30.49	31.64	21.73
 VIIg	5.80	38.64	35.44	20.12
 VIIf	2.58	44.01	31.20	22.21

(e) Halogenidi i cinamatni estri (4*R*,7*S*)-krsalaktona D (VII; jedinjenja VIIa–g)

Derivati osnovnog molekula **VII** takodje utiču na povećanje procenta K562 ćelija u sub G1 fazi (Tabela 3.17. i Slika 3.32.). Najsnažniji uticaj ima jedinjenje **VIIb**, koje povećava broj ćelija 27 puta u odnosu na kontrolu i 36 puta u odnosu na **VII**. Veći van der Waals-ov radijus atoma halogena značajnije utiče na povećanje procenta ćelija u ovoj fazi, pa tako jodid **VIIe** povećava 15 puta, bromid **VIIg** 5 a hlorid **VIIc** samo dva puta odnosu na **VII**.

Tabela 3.18. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **VII** i derivatima **VIIa–g**.

Jedinjenje	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
VII	10.05	0.67
VIIa	6.76	28.29
VIIb	70.03	1.76
VIIc	2.36	1.60
VIIId	18.71	1.22
VIIe	86.29	4.05
VIIg	59.19	3.19
VIIIf	0.76	2.02

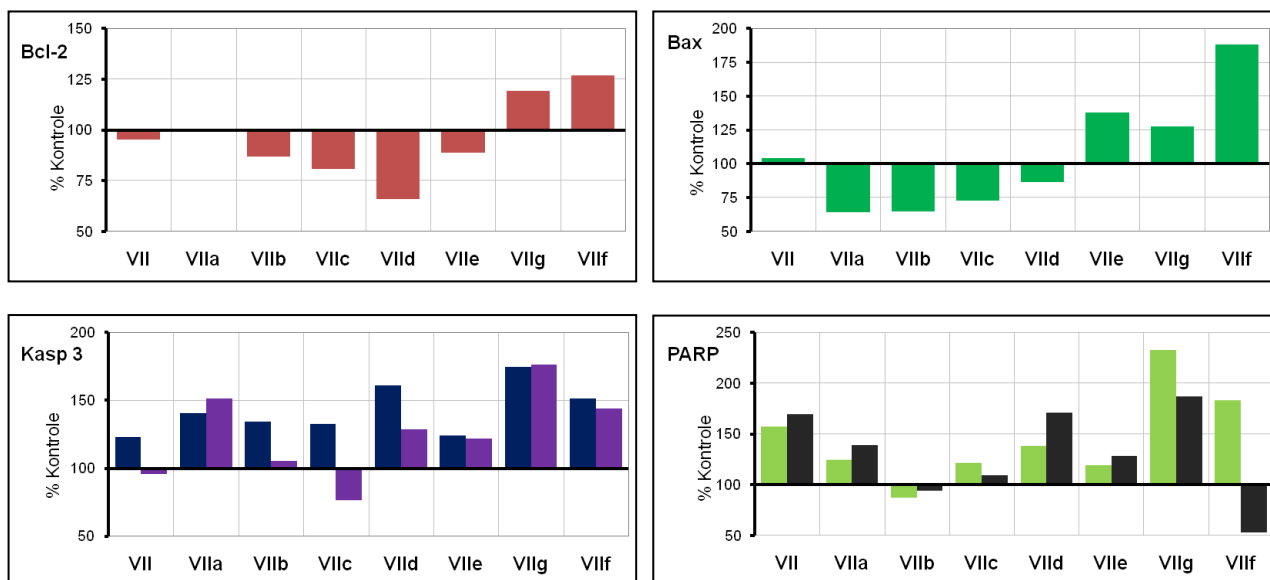


Slika 3.33. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane osnovnim molekulom **VII** i derivatima **VIIa–g**.

Slično kao u prethodnoj grupi, derivati **VIIb** i **VIIId** sa elektron-akceptorskim grupama (NO_2 i F) indukuju apoptozu kod većeg broja ćelija od osnovnog molekula **VII** (7 i 2 puta). Jodni derivat **VIIe** je skoro 9 puta aktivniji, a bromni **VIIg** 6 puta od **VII** (Tabela 3.18. i Slika 3.33.). I u ovom slučaju su navedeni rezultati u saglasnosti sa rezultatima dobijenim analizom ćelijskog ciklusa.

Western blot analiza uzoraka K562 ćelija dobijena nakon tretmana osnovnim molekulom **VII** i derivatima **VIIa–g** (Slika 3.34.) pokazuje da **VII** i 4-fluorocinamoil derivat **VIIc** povećavaju proteolizu PARP-a i smanjuju ekspresiju aktivne kaspaze 3 i Bcl-2 pa se može pretpostaviti da uvode u apoptozu K562 ćelije kaspaza-nezavisnim putem. Derivati **VIIa,b,d** smanjuju ekspresiju Bcl-2 i Bax, a povećavaju ekspresiju kaspaze 3 i PARP-a (osim **VIIb**) što ukazuje da indukuju apoptozu kaspaza-zavisnim putem. Halogenidi **VIIe–g** povećavaju ekspresiju svih ispitivanih

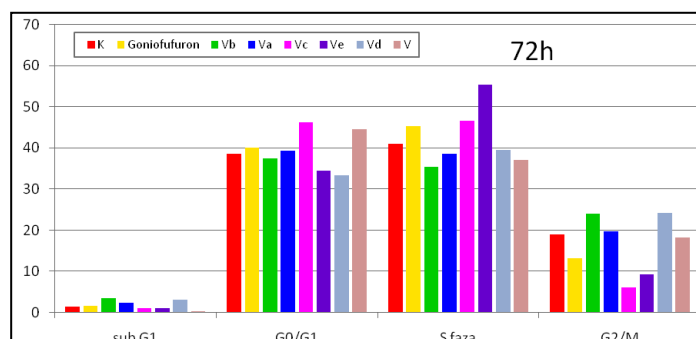
proteina (osim **VIIe** koji smanjuje Bcl-2) što navodi na zaključak da aktiviraju apoptozu u ispitivanim ćelijama kaspaza-zavisnim putem regulisanim proteinima Bcl-2 familije.



Slika 3.34. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana osnovnim molekulom **VII** i derivatima **VIIa–g**.

(f) Prirodni laktoni goniofufuron, kardiobutanolid (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolid (**Ve**) i derivati **Va–d**

Prirodni laktoni kardiobutanolid (**V**) i 3-deoksi-kardiobutanolid (**Ve**), kao i stereoisomer **Vc** smanjuju procenat ćelija u fazi sub G1 u odnosu na kontrolu i u odnosu na goniofufuron, dok povećanje uzrokuju **Va**, **Vb** i defenilovani derivat **Vd** (Tabela 3.19. i Slika 3.35.). Prirodni **Ve** značajno smanjenje broja ćelija u G2/M a povećava u S fazi.



Slika 3.35. Uticaj goniofufurona, kardiobutanolida (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) i derivata **Va–d** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

Tabela 3.19. Uticaj goniofufurona, kardiobutanolida (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) i derivata **Va–d** na ćelijski ciklus K562 ćelija.

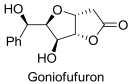
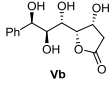
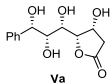
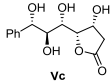
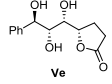
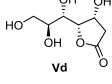
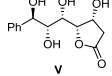
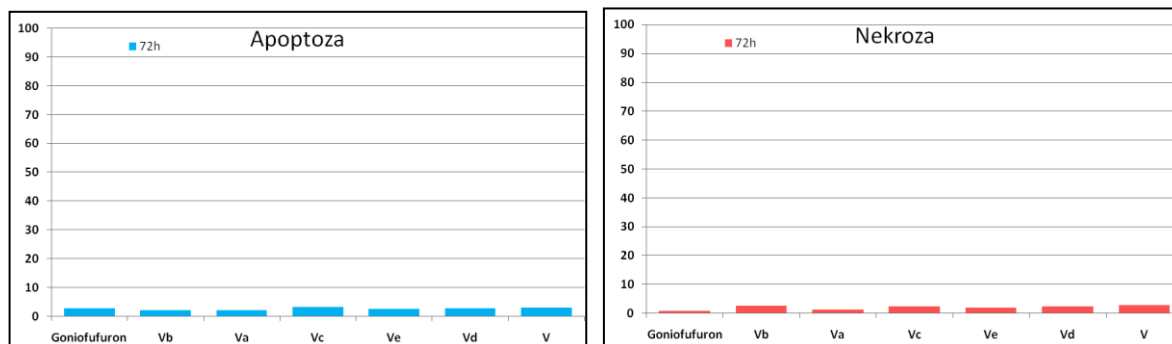
Jedinjenje	Sub G1 (%)	G0/G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Kontrola	1.48	38.48	41.03	19.01
 Goniofufuron	1.62	40.03	45.32	13.15
 Vb	3.38	37.39	35.33	23.90
 Va	2.37	39.31	38.56	19.76
 Vc	1.05	46.22	46.62	6.11
 Ve	1.08	34.35	55.35	9.22
 Vd	3.06	33.32	39.51	24.11
 V	0.21	44.58	37.00	18.21

Tabela 3.20. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane goniofufuronom, kardiobutanolidom (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolidom (**Ve**) i derivatima **Va–d**.

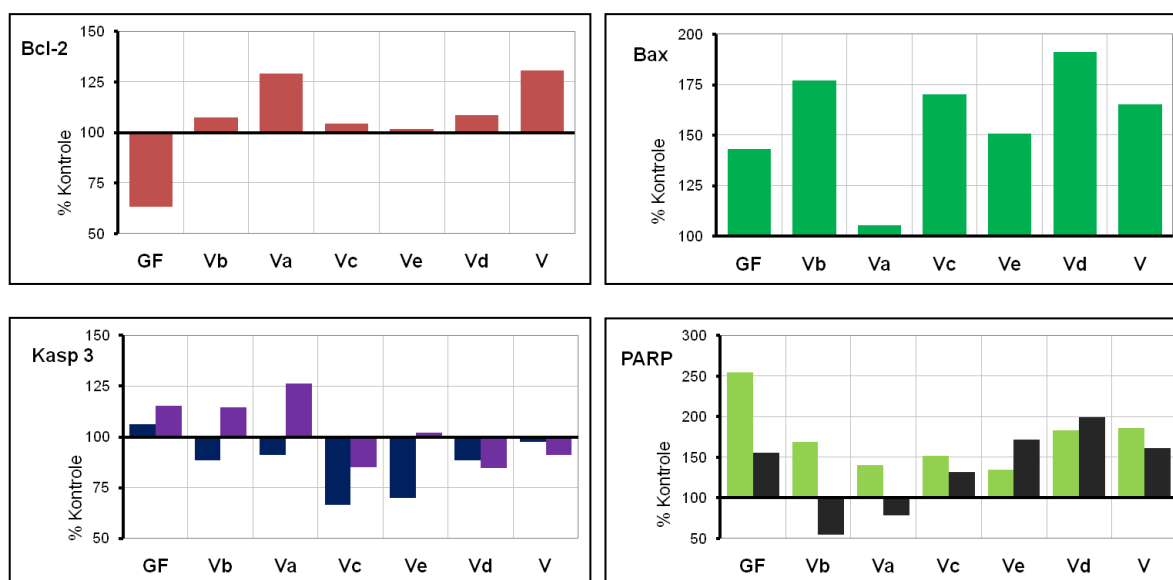
Jedinjenje	Specifična apoptoza (%)	Specifična nekroza (%)
Goniofufuron	2.85	0.86
Vb	2.18	2.74
Va	2.19	1.43
Vc	3.18	2.41
Ve	2.58	1.89
Vd	2.77	2.54
V	2.95	2.85



Slika 3.36. Procenat specifične apoptoze i nekroze indukovane goniofufuronom, kardiobutanolidom (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolidom (**Ve**) i derivatima **Va–d**.

Apoptotski odgovor, predstavljen kao procenat specifične apoptoze goniofufurona, kardiobutanolida (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) i analoga **Va–d** je prikazan u *Tabeli 3.20.* i na *Slici 3.36.* Kao što se vidi prirodni laktoni **V**, **Ve** i goniofufuron uvode u apoptozu veoma nizak procenat ćelija (manje od 3%), što je karakteristično i za njihove derivate **Va–d**.

Rezultati Western blot analize uzoraka K562 ćelija dobijeni nakon tretmana osnovnim molekulom, goniofufuronom, prirodnim laktonima kardiobutanolidom (**V**), 3-deoksi-kardiobutanolidom (**Ve**) i derivatima **Va–d** su prikazani na *Slici 3.37.* Prirodni **Ve** i stereoizomeri **Va,b** povećavaju ekspresiju anti-apoptotskog proteina Bcl-2 u odnosu na kontrolu i goniofufuron (koji smanjuje), pro-apoptotskog Bax-a i kaspaze 3, dok PARP povećava samo **Ve** što ukazuje da ovi molekuli indukuju apoptozu verovatno kaspaza-zavisnim putem regulisanim Bcl-2 proteinima. Kardiobutanolid (**V**), defenilovani analog **Vd** i stereoizomer **Vc** povećavaju ekspresiju Bcl-2, Bax i PARP, ali smanjuju ekspresiju kaspaze 3 u odnosu na kontrolu, na osnovu čega se može pretpostaviti da ove supstance uvode u apoptozu K562 ćelije kaspaza-nezavisnim putem regulisanim Bcl-2 familijom proteina.



Slika 3.37. Rezultati Western blot analize dobijeni nakon tretmana osnovnim molekulom goniofufuronom (**GF**), prirodnim laktonima **V** i **Ve** i derivatima **Va–d**.

4. EKSPERIMENTALNI DEO

Opšte metode — Temperature topljenja su određene na Kofler-ovom bloku Boetius (VEB Kombinat Nagema) i nisu korigovane. Vrednosti optičke rotacije su izmerene na automatskom polarimetru Rudolph research analytical AUTOPOL IV na sobnoj temperaturi. IR Spektre su snimljeni na FT spektrofotometru Nexus 670 (ThermoNicolet, detektor DTGS), a položaj traka je dat u cm^{-1} . NMR spektri su snimljeni na instrumentima Bruker AC 250 E i Bruker Avance III 400 MHz NMR spektrometrima, a hemijska pomeranja (δ -skala) su izražena u *ppm* vrednostima u odnosu na tetrametilsilan kao interni standard. Protonski NMR spektri su asignirani metodom *homo*-dekuplovanja, ili 2D COSY tehnikom. ^{13}C NMR Spektre su asignirani metodom selektivnog dekuplovanja. 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%-nom H₂SO₄ uz naknadno zagrevanje na 120 °C. Fleš hromatografija je uradjena na kolonama Kieselgel 60 (0.040–0.063, E. Merck). Preparativna TLC je radjena na pločama ručne izrade, dimenzija 20×20 cm i približne debljine sloja 1 mm. Kao stacionarna faza korišćen je silikagel Kieselgel 60 G (E. Merck) koji sadrži fluorescentni indikator F₂₅₄ kao dodatak. Razdvojene zone su zgrebane i eluirane pogodnim rastvaračima. Ekstrakti su sušeni sa anhidrovanim Na₂SO₄. Organski rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču pri temperaturama vodenog kupatila do 30 °C.

4.1. 5-C-Fenil-1,2-O-izopropiliden- α -D-gluko-(3) i β -L-ido-pentofuranoza (4)

Rastvoru jedinjenja **1** (3.0 g, 11.53 mmol) u anh. EtOAc (300 mL) doda se H₅IO₆ (2.364 g, 10.37 mmol) i meša na sobnoj temperaturi 4.5 h. Reakciona smesa se filtruje i upari, a zaostali sirovi proizvod **2** se rastvori u anh. toluenu (15 mL). U rastvor se polako doda rastvor PhMgBr (2 M rastvor u THF)* ohladjen na 0 °C. Nakon mešanja u atmosferi N₂ na 0 °C u toku 5 h, reakciona smesa se izlije u hladnu (5 °C) 5% HCl (300 mL), ekstrahuje sa EtOAc (3×100 mL) i neutrališe sa 1% NaOH (200 mL). Organske faze se isperu sa 10% NaCl (2×100 mL), osuše i upare. Ostatak se

* Reagens je pripremljen neposredno pre upotrebe reakcijom elementarnog Mg (1.961 g; 80.68 mmol) i PhBr (8.53 mL; 81.26 mmol) u anhidrovanom THF (40 mL).

prečisti na koloni fleš silikagela (2:1 Et₂O/PE), pri čemu se dobijaju čista jedinjenja **3** i **4**, ostatak nečistih frakcija je dodatno prečišćen na drugoj koloni fleš silikagela (2:1 Et₂O/PE). Na taj način su dobijeni potpuno čisti proizvodi **3** (1.252 g, 41%) i **4** (0.970 g, 32%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **3**:

tt 106–107 °C (Me₂CO/PE), $[\alpha]_D = -12.2$ (*c* 1, MeOH), $[\alpha]_D = -28.6$ (*c* 0.5, CHCl₃), $R_f = 0.32$ (1:1 MePh/EtOAc), lit.¹²⁶ tt 104–106 °C (EtOH), $[\alpha]_D = -43.4$ (*c* 1.3, MeOH).

IR (film): ν_{\max} 3407 (OH), 1496 (Ph).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.29 i 1.45 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 3.78 (bs, 2 H, 2×OH), 4.14–4.22 (m, 2 H, H-3 i H-4), 4.48 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-2), 5.25 (d, 1 H, $J_{4,5} = 3.9$ Hz, H-5), 6.01 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 7.28–7.51 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.01 i 26.64 (CMe₂), 73.48 (C-5), 75.28 (C-3), 82.03 (C-4), 85.03 (C-2), 104.91 (C-1), 111.67 (CMe₂), 125.94, 128.17, 128.70 i 139.12 (Ph).

HRMS (ESI): *m/e* 284.1488 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₂₂NO₅: 284.1492; *m/e* 289.1042 (M⁺+Na), izračunato za C₁₆H₁₈NaO₅: 289.1046; *m/e* 305.0784 (M⁺+K), izračunato za C₁₆H₁₈KO₅: 305.0786.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **4**:

tt 166–168 °C (EtOH), $[\alpha]_D = +22.9$ (*c* 1, MeOH), $R_f = 0.25$ (1:1 MePh/EtOAc), lit.¹²⁶ tt 162–165 °C (EtOH), $[\alpha]_D = +32.1$ (*c* 1.3, MeOH).

IR (KBr): ν_{\max} 3343 (OH) i 1496 (Ph).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.31 i 1.47 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 3.12 (bs, 2 H, 2×OH), 4.09 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.6$ Hz, H-3), 4.33 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.7$, $J_{4,5} = 4.8$ Hz, H-4), 4.50 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-2), 5.05 (d, 1 H, $J_{4,5} = 4.9$ Hz, H-5), 6.02 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 7.30–7.55 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.19 i 26.77 (CMe₂), 72.56 (C-5), 75.98 (C-3), 82.65 (C-4), 85.38 (C-2), 104.94 (C-1), 111.97 (CMe₂), 126.75, 128.28, 128.71 i 139.97 (Ph).

HRMS (ESI): *m/e* 284.1488 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₄H₂₂NO₅: 284.1492; *m/e* 289.1042 (M⁺+Na), izračunato za C₁₆H₁₈NaO₅: 289.1046; *m/e* 305.0785 (M⁺+K), izračunato za C₁₆H₁₈KO₅: 305.0786.

4.2. 5-C-Fenil-1,2-O-izopropiliden-3,5-O-karbonil- α -D-gluko-pentofuranoza (5)

Postupak A: Rastvor jedinjenja **3** (0.962 g, 3.61 mmol) i *N,N'*-karbonil-diimidazola (1.464 g, 9.03 mmol) u anhidrovanom toluenu (40 mL) meša se na temperaturi ključanja u toku 1.5 h. Reakciona smesa se upari i dobijeni sirovi proizvod prečisti fleš hromatografijom (4:1 PE/EtOAc). Dobija se čisto jedinjenje **5** (0.998 g, 95%).

Postupak B: Ohladjenom (0 °C) rastvoru **3** (0.323 g, 1.21 mmol) u anh. Py (0.71 mL, 8.83 mmol) i anh. CH₂Cl₂ (9.2 mL) dodat je kap po kap rastvor trifozgena (0.215 g, 0.73 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1 mL) i ostavljen da se meša 1 h na 0 °C i potom još 1 h na sobnoj temperaturi. Reakcija je prekinuta dodatkom zasićenog rastvora NH₄Cl, a rezultujuća emulzija je ekstrahovana prvo sa CH₂Cl₂ (2×15 mL), a zatim sa Et₂O (3×15 mL). Organske faze su isprane zasićenim rastvorom NaCl, osušene i uparene, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (9:1 Et₂O/PE), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **5** (0.285 g, 81%).

Beli kristali, *t*_m 138 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +33.2$ (*c* 1, CHCl₃), *R*_f = 0.25 (4:1 PE/EtOAc)

IR (film): ν_{max} 1764 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.29 i 1.45 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.50 (t, 1 H, *J*_{3,4} = 2.4, *J*_{4,5} = 2.2 Hz, H-4), 4.68 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 2.7 Hz, H-3), 4.72 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.6 Hz, H-2), 5.73 (bs, 1 H, H-5), 6.02 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.6 Hz, H-1), 7.23–7.5 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 25.85 i 26.30 (CMe₂), 73.85 (C-4), 79.37 (C-5), 79.85 (C-3), 83.09 (C-2), 104.84 (C-1), 112.78 (CMe₂), 124.77, 129.01, 129.13, 134.90 (Ph), 146.03 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 293.1009 (M⁺+H), izračunato za C₁₅H₁₇O₆: 293.1020; *m/e* 331.0566 (M⁺+K), izračunato za C₁₅H₁₆KO₆: 331.0578.

4.3. 5-C-Fenil-1,2-O-izopropiliden-3,6-O-karbonil- β -L-ido-pentofuranoza (6)

Postupak A: Suspenzija jedinjenja **4** (0.210 g, 0.79 mmol) i *N,N'*-karbonil-diimidazola (0.192 g, 1.18 mmol) u anhidrovanom toluenu (4 mL) se zagreva 1.5 h na 80–85 °C. Reakcioni rastvor se upari, ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (24:1 CH₂Cl₂/Me₂CO) pri čemu se dobija čisto jedinjenje **6** (0.174 g, 76%).

Postupak B: Ohladjenom (0 °C) rastvoru diola **4** (0.394 g, 1.47 mmol) u anh. Py (0.12 mL) i anh. CH₂Cl₂ (7 mL) dokapavan je rastvor trifozgena (0.144 g, 0.48 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (0.3 mL). Reakciona smesa se meša 1 h na 0 °C i 1 h na sobnoj temperaturi. Zatim je dodata još jedna porcija anh. Py (0.05 mL) i rastvora trifozgena (0.087 g, 0.16 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (0.2 mL) i mešanje nastavljeno na sobnoj temperaturi u toku 1 h. Reakcija je prekinuta dodatkom zasićenog rastvora NH₄Cl, rezultujuća suspenzija je ekstrahovana prvo sa CH₂Cl₂ (2×7 mL), a zatim sa Et₂O (2×7 mL). Organske faze su spojene, isprane zasićenim rastvorom NaCl, osušene i uparene. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (24:1 CH₂Cl₂/Me₂CO) pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **6** (0.432 g, 83%).

Kratke bele iglice, *t*_m 187 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +23.8$ (*c* 0.5, CHCl₃), *R*_f = 0.45 (49:1 CH₂Cl₂/Me₂CO).

IR (film): ν_{max} 1761 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.32 i 1.46 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 4.65 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0, *J*_{4,5} = 1.2 Hz, H-4), 4.78 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.7 Hz, H-2), 5.01 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.1 Hz, H-3), 5.55 (bs, 1 H, H-5), 6.01 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.7 Hz, H-1), 7.35–7.51 (m, 5 H, Ph). NOE kontakt H-1 i Ph-H, H-2 i Ph-H.

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 26.08 i 26.54 (CMe₂), 72.60 (C-4), 77.70 (C-5), 82.76 (C-3), 83.10 (C-2), 105.06 (C-1), 112.92 (CMe₂), 126.86, 128.53, 129.11, 133.96 (Ph), 146.81 (C=O).

HRMS (ESI): *m/e* 293.1005 (M⁺+H), izračunato za C₁₅H₁₇O₆: 293.1020; *m/e* 331.0564 (M⁺+K), izračunato za C₁₅H₁₆KO₆: 331.0578.

4.4. 5-C-Fenil-3,5-karbonat- α -D-gluko-pentofuranoza (7)

Ohladjen (0 °C) rastvor jedinjenja **5** (0.364 g, 1.24 mmol) u 90% TFA (5 mL) mešan je na 0 °C u toku 0.5 h, a zatim na sobnoj temperaturi još 1 h. Reakciona smesa je kodestilovana sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (24:1 CH₂Cl₂/MeOH) pri čemu je izolovano čisto higroskopno jedinjenje **7** (0.347 g, 100%).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -73.8$ (*c* 1.0, EtOH), *R*_f = 0.26 (24:1 CH₂Cl₂/MeOH).

IR (KBr): ν_{max} 3411 (OH), 1786 (C=O).

HRMS (ESI): *m/e* 297.0602 (M+HCOO⁻), izračunato za C₁₃H₁₃O₈: 297.0616.

4.5. 5-C-Fenil-3,5-karbonat-β-L-ido-pentofuranoza (8)

Ohladjen (0 °C) rastvor jedinjenja **6** (0.367 g, 1.26 mmol) u 90% TFA (10.5 mL) intenzivno se meša 0.5 h na 0 °C, a zatim na sobnoj temperaturi u toku dodatnih 1.5 h. Reakcioni rastvor se uparava kodestilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (47:3 → 23:2 CH₂Cl₂/MeOH). Pri tome se dobija čist proizvod **8** (0.302 g, 96%), u vidu bezbojnog sirupa.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +29$ (*c* 1.0, EtOH), $R_{\text{f}} = 0.53$ (23:2 CH₂Cl₂/MeOH).

IR (CH₂Cl₂): ν_{max} 3434 (OH), 1786–1746 (C=O).

HRMS (ESI): *m/e* 253.0715 (M⁺+H), izračunato za C₁₂H₁₃O₆: 253.0707; *m/e* 270.0984 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₂H₁₆NO₆: 270.0972; *m/e* 291.0280 (M⁺+K), izračunato za C₁₂H₁₂KO₆: 291.0266.

4.6. (+)-Goniobutenolid A (I) i (–)-goniobutenolid B (II)

Postupak A: Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **7** (0.196 g, 0.78 mmol) u aps. MeOH (8 mL) na svakih 40 minuta se doda po jedna porcija (od tri) anh. Et₃N (0.065 mL, 0.47 mmol) i MCMP (0.156 g, 0.47 mmol). Reakciona smesa se meša u atm. N₂ u toku ukupno 130 minuta a zatim se upari. Višestrukim prečišćavanjem na koloni fleš silikagela (9:1 Et₂O/PE) i preparativnom TLC (hromatogrami su razvijani dva puta u sistemu 3:2 EtOAc/heksan za razdvajanje **III** i **IV**; hromatogrami su razvijani dva puta 19:1 DIPE/MeOH za razdvajanje **I** i **II**) dobijeni su čisti proizvodi **I** (0.038 g, 21%), **II** (0.016 g, 9%), **III** (0.007 g, 4%) i **IV** (0.021 g, 11%).

Postupak B: Rastvor jedinjenja **5** (0.221 g, 0.75 mmol) u TFA/H₂O (9:1; 3.2 mL) mešan je na 0 °C tokom 30 minuta i zatim još 1.5 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smesa je uparena kodestilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (24:1 CH₂Cl₂/MeOH) pri čemu je izolovano čisto (higroskopno) jedinjenje **7** (0.19 g). U ohladjenu (–10 °C) suspenziju 95% NaH (0.036 g, 1.51 mmol) u anh. THF (4 mL) dokapavan je metil *P,P'*-bis(2,2,2-trifluoroetil)-fosfonoacetat (0.3 mL, 1.45 mmol). Nakon mešanja u atmosferi argona u toku 30 minuta, u reakcionu smesu je dodat rastvor jedinjenja **7** (0.190 g, 0.75 mmol) u anh. THF (4 mL) i mešanje je nastavljeno na –10 °C u toku 22 h. Reakciona smesa je izlivena u 5% HCl (20 mL), ekstrahovana prvo sa Et₂O (3×10 mL), a zatim sa EtOAc (3×10 mL). Organske faze su spojene, isprane zasićenim rastvorom NaCl, osušene i uparene. Prečišćavanjem na koloni fleš

silikagela (4:1 Et₂O/PE) i preparativnom TLC (hromatogrami razvijani tri puta u sistemu 19:1 DIPE/MeOH) dobijen je čist proizvod **I** (0.052 g, 29%) u obliku žućkastog sirupa, proizvod **II** (0.026 g, 15%) u obliku belih kristala. Pored toga dobijeno je i 7 mg nečiste smese krasalaktona D (**III**) i njegovog 4-epimera **IV**. (Prinosi su računati u odnosu na **5**).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za (+)-goniobutenolid A (**I**):

Bezbojni sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +86.8$ (*c* 0.4, CHCl₃), $R_{\text{f}} = 0.28$ (19:1 DIPE/MeOH), lit.⁷ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +82$ (*c* 0.25, CHCl₃).

IR (film): ν_{max} 3372 (OH), 1776–1749 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 3.05 (bs, 2 H, 2×OH), 4.93 (d, 1 H, $J_{6,7} = 4.0$ Hz, H-7), 4.98 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.1$, $J_{6,7} = 4.0$ Hz, H-6), 5.31 (d, 1 H, $J_{5,6} = 8.3$ Hz, H-5), 6.14 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.4$ Hz, H-2), 7.27 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.4$ Hz, H-3), 7.28–7.38 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 70.57 (C-6), 75.92 (C-7), 113.02 (C-5), 120.39 (C-2), 126.41, 128.01, 128.30, 139.00 (Ph), 143.65 (C-3), 150.40 (C-4), 169.32 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 233.0805 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₃O₄: 233.0808; *m/e* 250.1062 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₆NO₄: 250.1074; *m/e* 255.0624 (M⁺+Na), izračunato za C₁₃H₁₂NaO₄: 255.0628; *m/e* 271.0361 (M⁺+K), izračunato za C₁₃H₁₂KO₄: 271.0367.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za (–)-goniobutenolid B (**II**):

Beli igličasti kristali, *tt* 142–145 °C (CH₂Cl₂), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -39.0$ (*c* 0.1, CHCl₃), $R_{\text{f}} = 0.33$ (19:1 DIPE/MeOH), lit.⁷ *tt* 148–149 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -36.5$ (*c* 0.2, CHCl₃).

IR (KBr): ν_{max} 3399 (OH), 1747 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (metanol-*d*₄): δ 4.59 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.6$, $J_{6,7} = 5.1$ Hz, H-6), 4.76 (d, 1 H, $J_{6,7} = 5.0$ Hz, H-7), 5.83 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.5$, $J_{2,5} = 1.5$ Hz, H-5), 6.17 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$, $J_{2,5} = 1.5$ Hz, H-2), 7.19–7.44 (m, 5 H, Ph), 7.71 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.7$ Hz, H-3).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (metanol-*d*₄): δ 73.00 (C-6), 78.10 (C-7), 115.56 (C-5), 121.25 (C-2), 127.43, 128.56, 129.10, 142.48 (Ph), 142.70 (C-3), 152.90 (C-4), 171.56 (C-1)

HRMS (ESI): *m/e* 271.0356 (M⁺+K), izračunato za C₁₃H₁₂KO₄: 271.0367.

4.7. (7S)-Goniobutenolid A (VIII) i (7S)-goniobutenolid B (IX)

Postupak A: Rastvoru jedinjenja **8** (0.1 g, 0.40 mmol) u aps. MeOH (4 mL) koji se hladi na 0 °C na svakih 40 minuta se doda po jedna od tri porcije anh. Et₃N (0.035 mL, 0.24 mmol) i MCMP (0.0780 g, 0.24 mmol). Reakciona smesa se meša ukupno 140 minuta u atm. N₂, a zatim je reakciona smesa uparena. Nakon prečišćavanja na koloni fleš silikagela (9:1 Et₂O/PE) dobijeno je čisto jedinjenje **VII** (0.012 g, 13%) i smesa **VIII** i **IX** koja je razdvojena preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani u sistemu 24:1 DIPE/MeOH, nakon čega su izolovana čista jedinjenja **VIII** (0.027 g, 30%) i **IX** (0.029 g, 31%).

Postupak B: U ohladjenu (0 °C) suspenziju 95% NaH (0.027 g, 1.13 mmol) u anh. THF (2.5 mL) dokapavan je metil *P,P'*-bis(2,2,2-trifluoroetil)-fosfonoacetat (0.30 mL, 1.45 mmol). Reakciona smesa se meša u atmosferi argona u toku 30 minuta, a zatim je u reakcionu smesu dodat rastvor jedinjenja **8** (0.142 g, 0.56 mmol) u anh. THF (3 mL). Rezultujuća smesa se meša na -10 °C u toku 21 h, nakon čega je dodata još jedna porcija reagensa [Suspenziji NaH (95%, 0.014 g, 0.54 mmol) u anh. THF (1 mL) ohladjenoj na 0 °C doda se kap po kap metil *P,P'*-bis(2,2,2-trifluoroetil)fosfonoacetat (0.12 mL, 0.54 mmol) i meša 0.5 h u atm. Ar] i mešanje nastavi još 4 h. Reakciona smesa je izlivena u 5% HCl (20 mL), ekstrahovana prvo sa Et₂O (3×10 mL), a zatim sa EtOAc (3×10 mL). Organske faze su spojene, isprane zasićenim rastvorom NaCl, osušene i uparene. Višestrukim prečišćavanjem na koloni fleš silikagela (4:1 Et₂O/PE) i preparativnom TLC (hromatogrami razvijani dva puta u sistemu 4:1 Et₂O/PE) dobijena su čista jedinjenja **VIII** (0.028 g, 22%) i **IX** (0.036 g, 28%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za (7S)-goniobutenolid A (**VIII**):

Bele iglice, *tt* 94–95 °C (EtOAc/heksan, na 0 °C), [α]_D=+110.7 (*c* 0.3, CHCl₃), *R_f*=0.29 (19:1 DIPE/MeOH), lit.¹⁷ *tt* 94–96 °C, [α]_D=+144 (*c* 0.3, CHCl₃).

IR (film): ν_{\max} 3407 (OH), 1778–1750 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 3.00 (bs, 2 H, 2×OH), 4.67 (d, 1 H, *J*_{6,7}=6.3 Hz, H-7), 4.86 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=8.4, *J*_{6,7}=6.4 Hz, H-6), 5.32 (d, 1 H, *J*_{5,6}=8.5 Hz, H-5), 6.14 (d, 1 H, *J*_{2,3}=5.5 Hz, H-2), 7.23–7.45 (m, 6 H, Ph i H-3).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 71.21 (C-6), 77.05 (C-7), 113.54 (C-5), 120.57 (C-2), 126.75, 128.46, 128.61, 139.37 (Ph), 143.62 (C-3), 150.14 (C-4), 169.12 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 271.0368 (M⁺+K), izračunato za C₁₃H₁₂O₄K: 271.0367.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za (7*S*)-goniobutenolid B (**IX**):

Bezbojne iglice, *tt* 115–118 °C (CH₂Cl₂), [α]_D = -134.3 (*c* 0.3, CHCl₃), *R_f* = 0.39 (19:1 DIPE/MeOH), lit.¹⁷ *tt* 117–119 °C, [α]_D = -196 (*c* 0.3, CHCl₃).

IR (film): *v*_{max} 3435 (OH), 1788–1759 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.80 (bs, 2 H, 2×OH), 4.54 (t, 1 H, *J*_{5,6} = 7.2, *J*_{6,7} = 7.5 Hz, H-6), 4.59 (d, 1 H, *J*_{6,7} = 7.7 Hz, H-7), 5.58 (dd, 1 H, *J*_{5,6} = 6.9, *J*_{2,5} = 1.5 Hz, H-5), 6.10 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 5.5, *J*_{2,5} = 1.5 Hz, H-2), 7.29–7.43 (m, 5 H, Ph), 7.51 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 5.5 Hz, H-3).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 73.24 (C-6), 77.81 (C-7), 112.45 (C-5), 121.08 (C-2), 126.72, 126.84, 128.72, 139.14 (Ph), 140.89 (C-3), 151.56 (C-4), 169.15 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 233.0798 (M⁺+H), izračunatno za C₁₃H₁₃O₄: 233.0808; *m/e* 255.0620 (M⁺+Na), izračunatno za C₁₃H₁₂NaO₄: 255.0628.

4.8. Krasalakton D (**III**) i (4*R*)-krasalakton D (**IV**)

Postupak A: Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **7** (0.380 g, 1.51 mmol) u aps. MeOH (38 mL) doda se MCMP (0.753 g, 2.23 mmol). Nakon 0.5 h, hladjenje se ukloni i rastvor se na sobnoj temperaturi meša u toku dodatna 3 h, nakon čega se doda nova porcija MCMP (0.540 g, 1.51 mmol) i mešanje se na sobnoj temperaturi nastavi još 18 h. Reakciona smesa se upari i ostatak prečisti na koloni fleš silikagela (9:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu su dobijeni (+)-krasalakton D (**III**) i (4*R*)-krasalakton D (**IV**) u približnom odnosu 1:2 (0.179 g, 51%).

Rastvor jedinjenja **IV** (0.014 g, 0.06 mmol) u smesi CHCl₃ (0.6 mL) i TFA (4.6 μL, 0.06 mmol TFA u 0.5 mL CHCl₃) meša se na sobnoj temperaturi 6 dana, nakon čega se upari kodestilacijom sa toluenom, a ostatak se prečisti fleš hromatografijom (7:3 Et₂O/PE). Izolovana je smesa stereoizomera **III** i **IV** (0.014 g, 97%) u odnosu 2:1 (¹H NMR).

Postupak B: Rastvor jedinjenja **IIIe** (0.040 g, 0.11 mmol), AIBN (0.004 g, 0.022 mmol) i Bu₃SnH (0.05 mL, 0.20 mmol) u anh. toluenu (1.7 mL) meša se u atm. Ar, na 100 °C u toku 1 h, nakon čega se upari i prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Dobijeno je čisto jedinjenje **III** (0.021 g, 81%).

Postupak C: Rastvoru jedinjenja **IVe** (0.051 g, 0.14 mmol) u anh. toluenu (2.2 mL) u atm. argona doda se AIBN (0.005 g, 0.03 mmol) i Bu₃SnH (0.07 mL, 0.26 mmol). Reakciona smesa se meša na

100 °C u toku 1 h, nakon čega se upari, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc). Dobijeno je čisto jedinjenje **IV** (0.031 g, 94%).

Postupak D: Rastvoru jedinjenja **IVf** (0.0076 g, 0.02 mmol) u anh. toluenu (1.2 mL) u atm. argona doda se AIBN (0.0007 g, 0.004 mmol) i Bu₃SnH (0.01 mL, 0.04 mmol). Reakciona smesa se meša na 100 °C u toku 1 h, nakon čega se upari. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC. Hromatogram je razvijen jednom (4:1 CH₂Cl₂/EtOAc), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **IV** (0.0047 g, 95%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za krasalakton D (**III**):

Beli kristali, *tt* 140–142 °C, (EtOAc/heksan), $[\alpha]_D^{20} = +20.5$ (*c* 0.2, EtOH), $R_f = 0.63$ (5:2 EtOAc/heksan), lit.⁶⁴ *tt* 138–140 °C, $[\alpha]_D^{20} = +13.6$ (*c* 0.2, EtOH).

IR (film): ν_{\max} 3464 (OH), 1766 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.27 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.3$, $J_{5a,6} = 1.7$ Hz, H-5a), 2.57 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.3$, $J_{5b,6} = 6.4$ Hz, H-5b), 2.82 (bs, 1 H, OH), 4.43 (dt, 1 H, $J_{5a,6} = 2.0$, $J_{6,7} = 2.1$, $J_{5b,6} = 6.4$ Hz, H-6), 5.40 (d, 1 H, $J_{5,6} = 8.3$, $J_{6,7} = 2.2$ Hz, H-7), 6.29 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-2), 7.30 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-3), 7.28–7.45 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 42.38 (C-5), 78.14 (C-6), 91.34 (C-7), 114.28 (C-4), 124.82 (C-2), 125.05, 128.17, 128.71, 138.41 (Ph), 151.05 (C-3), 169.09 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 233.0799 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₃O₄: 233.0808; *m/e* 271.0355 (M⁺+K), izračunato za C₁₃H₁₂KO₄: 271.0367.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za izomer **IV**:

Bele iglice, *tt* 137–142 °C, (EtOAc/heksan), $[\alpha]_D^{20} = +28.0$ (*c* 0.5, EtOH), $R_f = 0.61$ (5:2 EtOAc/heksan).

IR (film): ν_{\max} 3445 (OH), 1772 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.20 (bs, 1 H, OH), 2.46 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 13.0$, $J_{5a,6} = 8.5$ Hz, H-5a), 2.60 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 13.1$, $J_{5b,6} = 6.1$ Hz, H-5b), 4.64 (dt, 1 H, $J_{5a,6} = 8.5$, $J_{6,7} = 6.3$, $J_{5b,6} = 6.2$ Hz, H-6), 4.97 (d, 1 H, $J_{6,7} = 6.3$ Hz, H-7), 6.19 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-2), 7.28 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-3), 7.32–7.52 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 42.52 (C-5), 77.00 (C-6), 88.86 (C-7), 113.51 (C-4), 123.24 (C-2), 125.99, 128.22, 128.45, 138.62 (Ph), 152.89 (C-3), 170.17 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 233.0799 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₃O₄: 233.0808.

4.9. (7S)-Krasalakton D (VI) i (4R,7S)-krasalakton D (VII)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja **8** (0.097 g, 0.38 mmol) u aps. MeOH (10 mL) doda se MCMP (0.193 g, 0.58 mmol). Nakon 30 minuta hladjenje se prekine, mešanje se na sobnoj temperaturi nastavi još 3 h, nakon čega se doda nova porcija MCMP (0.129 g, 0.38 mmol). Mešanje se na sobnoj temperaturi nastavi još 44 h, a zatim se reakciona smesa upari. Višestrukim prečišćavanjem na koloni fleš silikagela (9:1 Et₂O/PE i 17:3 CH₂Cl₂/EtOAc) dobijena su čista jedinjenja **VI** (0.034 g, 38%) i **VII** (0.026 g, 29%) i 20 mg smese **VIII** i **IX** koja je razdvojena preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani tri puta (4:1 Et₂O/PE) nakon čega su dobijena čista jedinjenja **VIII** (0.006 g, 7%) i **IX** (0.01 g, 11%).

Rastvor jedinjenja **VII** (0.035 g, 0.15 mmol) u smesi CHCl₃ (0.8 mL) i TFA (0.11 mL, 1.51 mmol) mešan je na 15 °C u toku 22.5 h, a zatim je uparen kodestilacijom sa toluenom. ¹H NMR spektroskopijom je određen odnos epimera **VII** i **VI** od 1:0.8. Smesa je razdvojena na koloni fleš silikagela (4:1 Et₂O/PE) nakon čega su dobijena čista jedinjenja **VI** (0.014 g, 41%) i **VII** (0.018 g, 51%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za izomer **VI**:

Bele igle, tt 170–175 °C (CH₂Cl₂/heksan), [α]_D=+32.0 (*c* 0.2, EtOH), R_f=0.24 (Et₂O).

IR (KBr): ν_{max} 3428 (OH), 1740 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.99 (bs, 1 H, OH), 2.54 (d, 1 H, J_{5a,5b}=14.0 Hz, H-5a), 2.69 (dd, 1 H, J_{5a,5b}=14.1, J_{5b,6}=4.6 Hz, H-5b), 4.60 (t, 1 H, J_{6,7}=4.2, J_{5b,6}=4.2 Hz, H-6), 5.40 (d, 1 H, J_{6,7}=4.0 Hz, H-7), 6.25 (d, 1 H, J_{2,3}=5.5 Hz, H-2), 7.21 (d, 1 H, J_{2,3}=5.6 Hz, H-3), 7.30–7.48 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 44.27 (C-5), 72.80 (C-6), 88.92 (C-7), 114.13 (C-4), 124.48 (C-2), 126.69, 128.37, 128.58, 135.12 (Ph), 151.72 (C-3), 169.22 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 271.0361 (M⁺+K), izračunato za C₁₃H₁₂KO₄: 271.0367; *m/e* 250.1064 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₆NO₄: 250.1074; *m/e* 233.0802 (M⁺+H), izračunato za C₁₃H₁₃O₄: 233.0808.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za stereoizomer **VII**:

Bezbojne igle, tt 139–141 °C (EtOAc/heksan), [α]_D=+73.0 (*c* 0.2, EtOH), R_f=0.54 (Et₂O).

IR (film): ν_{\max} 3435 (OH), 1767 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.81 (bs, 1 H, OH), 2.51 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.8$, $J_{5a,6}=1.4$ Hz, H-5a), 2.80 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.8$, $J_{5b,6}=5.3$ Hz, H-5b), 4.61 (ddd, 1 H, $J_{5a,6}=1.4$, $J_{6,7}=3.1$, $J_{5b,6}=5.0$ Hz, H-6), 5.40 (d, 1 H, $J_{6,7}=3.1$ Hz, H-7), 6.14 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 7.36 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.30–7.43 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 44.21 (C-5), 73.66 (C-6), 86.61 (C-7), 113.67 (C-4), 122.69 (C-2), 126.69, 128.61, 128.72, 134.26 (Ph), 152.99 (C-3), 170.09 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 233.0800 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_4$: 233.0808.

4.10. 6-*O*-Cinamoil-krasalakton D (IIIa) i (4*R*)-6-*O*-cinamoil-krasalakton D (IVa)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru cinamoil-hlorida (0.024 g, 0.14 mmol) i DMAP (0.021 g, 0.17 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (2.6 mL) dodata je smesa jedinjenja 0.7:1 **III** i **IV** (0.026 g, 0.11 mmol) rastvorena u anh. CH_2Cl_2 (1 mL). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 2 h, nakon čega se doda još jedna porcija cinamoil-hlorida (0.012 g, 0.07 mmol) i DMAP (0.011 g, 0.09 mL) i mešanje se na 0 °C nastavi još 1 h. Hladjenje se prekine i mešanje se na sobnoj temperaturi nastavi još 20 h. Reakciona smesa je prvo izlivena u 5% HCl (15 mL) a zatim ekstrahovana sa CH_2Cl_2 (3×9 mL). Organske faze su ispirane sa 10% NaCl (do pH 7), osušene i uparene. Ostatak je razdvojen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani dva puta (1:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$), pri čemu su dobijena čista jedinjenja **IIIa** (0.014 g, 34%) i **IVa** (0.015 g, 38%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IIIa**:

Beli prah, t_f 123–126 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$), $[\alpha]_D^{25} = +118.0$ (c 0.1, CHCl_3), $R_f = 0.31$ (1:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

IR (film): ν_{\max} 1775 i 1713 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.47 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.8$, $J_{5a,6}=1.3$ Hz, H-5a), 2.73 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.8$, $J_{5b,6}=6.9$ Hz, H-5b), 5.45 (m, 1 H, $J_{5a,6}=1.3$, $J_{6,7}=2.6$, $J_{5b,6}=6.9$ Hz, H-6), 5.57 (d, 1 H, $J_{6,7}=2.6$ Hz, H-7), 6.30 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 6.57 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 7.31 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.34–7.65 (m, 10 H, 2×Ph), 7.82 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3'). NOE kontakt: H-3 i *ortho* H-atomi iz Ph na H-7.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 40.21 (C-5), 78.94 (C-6), 88.02 (C-7), 113.71 (C-4), 117.18 (C-2'), 124.95 (C-2), 125.42, 128.28, 128.70, 128.89, 129.26, 130.60, 134.04, 137.85 (2 \times Ph), 146.25 (C-3'), 151.07 (C-3), 166.60 (C-1'), 169.61 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 363.1228 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{O}_5$: 363.1227; m/e 380.1491 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NO}_5$: 380.1492; m/e 385.1045 ($\text{M}^+\text{+K}$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{KO}_5$: 380.1046.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IVa**:

Bele iglice, t_t 112–115 $^\circ\text{C}$ (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +39.0 (c 0.1, CHCl_3), R_f =0.46 (1:1 $\text{Et}_2\text{O/PE}$).

IR (film): ν_{max} 1777 i 1716 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.48 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}$ =14.3, $J_{5a,6}$ =4.3 Hz, H-5a), 2.90 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}$ =14.3, $J_{5b,6}$ =5.6 Hz, H-5b), 5.42 (d, 1 H, $J_{6,7}$ =3.2 Hz, H-7), 5.54 (m, 1 H, H-6), 6.21 (d, 1 H, $J_{2,3}$ =5.5 Hz, H-2), 6.51 (d, 1 H, $J_{2',3'}$ =16.0 Hz, H-2'), 7.35 (d, 1 H, $J_{2,3}$ =5.6 Hz, H-3), 7.38–7.65 (m, 10 H, 2 \times Ph), 7.78 (d, 1 H, $J_{2',3'}$ =16.0 Hz, H-3'). NOE kontakt: H-7 i H-3.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 39.07 (C-5), 79.83 (C-6), 87.64 (C-7), 114.23 (C-4), 116.80 (C-2'), 122.90 (C-2), 125.82, 128.22, 128.29, 128.66, 130.80, 133.91, 137.96 (2 \times Ph), 146.37 (C-3'), 152.72 (C-3), 166.04 (C-1'), 170.17 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 363.1232 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{O}_5$: 363.1227; m/e 380.1493 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NO}_5$: 380.1492; m/e 385.1048 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{NaO}_5$: 385.1046.

4.11. 6-*O*-(4-Nitrocinamoil)-krasalakton **D** (**IIIb**) i (4*R*)-6-*O*-(4-nitrocinamoil)-krasalakton **D** (**IVb**)

U ohladjeni (0 $^\circ\text{C}$) rastvor smese 0.7:1 **III** i **IV** (0.016 g, 0.07 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (1.1 mL) dodaju se 4-nitrocinamoil-hlorida (0.018 g, 0.09 mmol) i DMAP (0.013 g, 0.10 mmol). Reakciona smesa se meša 2 h na 0 $^\circ\text{C}$, nakon čega se doda još jedna porcija 4-nitrocinamoil-hlorida (0.009 g, 0.04 mmol) i DMAP-a (0.006 g, 0.05 mmol) i mešanje se nastavi još 1 h na 0 $^\circ\text{C}$. Reakciona smesa se izlije u 5% NaCl (15 mL), ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3 \times 8 mL). Organske faze su spojene, osušene i uparene. Ostatak je dva puta prečišćen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani tri puta (3:2 PE/EtOAc), nakon čega su izolovana čista jedinjenja **IIIb** (0.008 g, 29%) i **IVb** (0.015 g, 56%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IIIb**:

Bezbojne pločice, t_t 189–191 $^\circ\text{C}$ (EtOH), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +52.0 (c 0.1, CHCl_3), R_f =0.43 (3:2 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1774 i 1717 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.47 (bd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.7$, H-5a), 2.73 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.8$, $J_{5b,6}=6.7$ Hz, H-5b), 5.47 (m, 1 H, H-6), 5.57 (d, 1 H, $J_{6,7}=2.0$ Hz, H-7), 6.32 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 6.69 (d, 1 H, $J_{2',3'}=15.9$ Hz, H-2'), 7.34 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.34–7.49 (m, 5 H, Ph), 7.74 i 8.29 (2 \times d, 4 H, $J=8.6$ Hz, *p*-NO₂Ph), 7.84 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3').

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 40.13 (C-5), 79.47 (C-6), 88.13 (C-7), 113.72 (C-4), 121.08 (C-2'), 123.32 (C-2), 124.19, 125.13, 128.39, 128.52, 128.80, 128.88, 137.67, 148.75 (2 \times Ph), 143.20 (C-3'), 150.98 (C-3), 165.66 (C-1'), 169.58 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 408.1069 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{NO}_7$: 408.1078; m/e 425.1333 (M^+NH_4), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7$: 425.1343; m/e 430.0893 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{NaO}_7$: 430.0897.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IVb**:

Beli prah, *tt* 162–165 °C (EtOH), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+24.0$ (c 0.1, CHCl_3), $R_f=0.51$ (3:2 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1774 i 1720 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.49 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.2$, $J_{5a,6}=4.7$ Hz, H-5a), 2.92 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.3$, $J_{5b,6}=5.8$ Hz, H-5b), 5.40 (d, 1 H, $J_{6,7}=3.5$ Hz, H-7), 5.56 (m, 1 H, H-6), 6.23 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 6.63 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 7.31 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.4$ Hz, H-3), 7.38–7.63 (m, 5 H, Ph), 7.72 i 8.29 (2 \times d, 4 H, $J=8.7$ Hz, *p*-NO₂Ph), 7.80 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3'). NOE kontakt: H-7 i H-3.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 39.24 (C-5), 80.17 (C-6), 87.47 (C-7), 114.03 (C-4), 121.08 (C-2'), 123.22 (C-2), 124.25, 125.88, 128.47, 128.75, 128.83, 137.73, 139.91, 148.75 (2 \times Ph), 143.35 (C-3'), 152.43 (C-3), 165.15 (C-1'), 169.45 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 408.1070 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{NO}_7$: 408.1078; m/e 425.1338 (M^+NH_4), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7$: 425.1343.

4.12. 6-*O*-(4-Metoksicinamoil)-krasalakton D (**IIIc**) i (4*R*)-6-*O*-(4-metoksicinamoil)-krasalakton D (**IVc**)

Rastvoru smese jedinjenja **III** i **IV** (0.7:1, 0.025 g, 0.11 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (3.2 mL) sukcesivno se dodaju 4-metoksicimetna kiselina (0.041 g, 0.23 mmol), DCC (0.056 g, 0.27 mmol) i DMAP (0.056 g, 0.46 mmol). Nakon 5 h mešanja na sobnoj temperaturi, reakciona smesa je izlivena u H_2O (20 mL) i ekstrahovana sa CH_2Cl_2 (3 \times 9 mL). Organske faze su spojene, isprane sa 10% NaCl (20

mL), osušene i uparene. Prečišćavanjem na koloni fleš silikagela (7:3 PE/EtOAc) dobijena je smesa epimera **IIIc** i **IVc** koji su razdvojeni preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani dva puta (7:3 PE/EtOAc), pri čemu su izolovana čista jedinjenja **IIIc** (0.014 g, 32%) i **IVc** (0.026 g, 60%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IIIc**:

Bezbojne igle, t_f 153–156 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_D^{25} +77.0$ (c 0.1, CHCl₃), $R_f = 0.26$ (7:3 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{\max} 1773 i 1709 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.46 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.8$, $J_{5a,6} = 1.3$ Hz, H-5a), 2.73 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.8$, $J_{5b,6} = 6.9$ Hz, H-5b), 3.86 (s, 3 H, OCH₃), 5.44 (m, 1 H, $J_{5a,6} = 1.6$, $J_{6,7} = 2.5$, $J_{5b,6} = 6.9$ Hz, H-6), 5.56 (d, 1 H, $J_{6,7} = 2.6$ Hz, H-7), 6.30 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 6.44 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 15.9$ Hz, H-2'), 6.94 i 7.54 (2d, 4 H, $J = 8.7$ Hz, *p*-OMePh), 7.31 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-3) 7.33–7.49 (m, 5 H, Ph), 7.77 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3'). NOE kontakt: H-3 i *orto*-aromatični H-atomi.

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 40.25 (C-5), 55.37 (OCH₃), 78.78 (C-6), 88.08 (C-7), 113.77 (C-4), 117.18 (C-2'), 124.95 (C-2), 114.36, 125.42, 128.28, 128.70, 128.89, 129.26, 130.60, 134.04, 137.85, 161.65 (2×Ph), 146.25 (C-3'), 151.07 (C-3), 166.60 (C-1'), 169.61 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 393.1328 (M⁺+H), izračunato za C₂₃H₂₁O₆: 393.1333; m/e 410.1589 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₃H₂₄NO₆: 410.1598; m/e 415.1147 (M⁺+Na), izračunato za C₂₃H₂₀NaO₆: 415.1152.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IVc**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{25} +29.0$ (c 0.1, CHCl₃), $R_f = 0.38$ (7:3 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{\max} 1775 i 1712 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.47 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.3$, $J_{5a,6} = 4.2$ Hz, H-5a), 2.89 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.3$, $J_{5b,6} = 5.7$ Hz, H-5b), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 5.41 (d, 1 H, $J_{6,7} = 3.1$ Hz, H-7), 5.52 (m, 1 H, H-6), 6.21 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 6.37 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 15.9$ Hz, H-2'), 6.94 i 7.52 (2×d, 4 H, $J = 8.7$ Hz, *p*-OMePh). 7.30–7.65 (m, 6 H, H-3 i Ph), 7.72 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 39.01 (C-5), 55.39 (OCH₃), 79.70 (C-6), 87.72 (C-7), 114.20 (C-2'), 114.30 (C-4), 122.82 (C-2), 114.42, 125.67, 125.81, 126.63, 128.25, 129.97, 138.01, 161.78 (2×Ph), 146.04 (C-3'), 152.83 (C-3), 166.40 (C-1'), 169.63 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 393.1319 (M⁺+H), izračunato za C₂₃H₂₁O₆: 393.1333; m/e 410.1581 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₃H₂₄NO₆: 410.1598; m/e 415.1139 (M⁺+Na), izračunato za C₂₃H₂₀NaO₆: 415.1152.

4.13. 6-O-(4-Fluorocinamoil)-krasalakton D (III_d) i (4R)-6-O-(4-fluorocinamoil)-krasalakton D (IV_d)

U rastvor smese jedinjenja 0.7:1 **III** i **IV** (0.019 g, 0.08 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (2 mL) sukcesivno se dodaju 4-fluorocimetna kiselina (0.031 g, 0.19 mmol), DCC (0.041 g, 0.20 mmol) i DMAP (0.046 g, 0.38 mmol). Nakon 5 h mešanja na sobnoj temperaturi, reakciona smesa je izlivena u H₂O (20 mL) i ekstrahovana sa CH₂Cl₂ (3×8 mL). Organske faze su spojene, isprane sa 10% NaCl (20 mL), osušene i uparene. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (7:3 PE/EtOAc). Dobijena smesa jedinjenja je konačno razdvojena preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni jednom (7:3 PE/EtOAc) pri čemu su dobijena čista jedinjenja **III_d** (0.011 g, 36%) i **IV_d** (0.016 g, 50%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **III_d**:

Bele tanke iglice, *t_m* 152–155 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +62.0$ (*c* 0.1, CHCl₃), *R_f* = 0.34 (7:3 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1775 i 1715 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.46 (bd, 1 H, *J*_{5a,5b} = 14.8 Hz H-5a), 2.73 (dd, 1 H, *J*_{5a,5b} = 14.8, *J*_{5b,6} = 6.8 Hz, H-5b), 5.45 (m, 1 H, H-6), 5.57 (d, 1 H, *J*_{6,7} = 2.4 Hz, H-7), 6.31 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 5.5 Hz, H-2), 6.51 (d, 1 H, *J*_{2',3'} = 16.0 Hz, H-2'), 7.31 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 5.5 Hz, H-3), 7.03–7.64 (m, 9 H, 2×Ph), 7.78 (d, 1 H, *J*_{2',3'} = 16.0 Hz, H-3').

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 40.23 (C-5), 79.01 (C-6), 88.10 (C-7), 113.74 (C-4), 116.97 i 117.01 (C-2'), 125.03 (C-2), 115.95, 116.30, 125.43, 128.43, 128.75, 130.16, 130.30, 137.85. 162.09 (2×Ph), 144.95 (C-3'), 151.06 (C-3), 166.10 i 166.50 (C-1'), 169.63 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 381.1122 (M⁺+H), izračunato za C₂₂H₁₈FO₅: 381.1133; *m/e* 398.1388 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₂H₂₁NFO₅: 398.1398; *m/e* 403.0943 (M⁺+Na), izračunato za C₂₂H₁₇NaFO₅: 403.0952.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IV_d**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24.0$ (*c* 0.1, CHCl₃), *R_f* = 0.54 (7:3 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1776 i 1717 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.48 (dd, 1 H, *J*_{5a,5b} = 14.3, *J*_{5a,6} = 4.3 Hz, H-5a), 2.90 (dd, 1 H, *J*_{5a,5b} = 14.3, *J*_{5b,6} = 5.7 Hz, H-5b), 5.42 (d, 1 H, *J*_{6,7} = 3.2 Hz, H-7), 5.54 (m, 1 H, H-6), 6.21 (d, 1 H,

$J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 6.43 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 7.35 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.08–7.64 (m, 9 H, 2×Ph), 7.73 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3').

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 39.08 (C-5), 79.85 (C-6), 87.61 (C-7), 114.19 (C-4), 116.02 (C-2'), 123.00 (C-2), 116.37, 116.50, 116.53, 125.82, 128.33, 128.68, 130.10, 130.23, 137.90, 162.14, 166.16 (2×Ph), 145.04 (C-3'), 152.67 (C-3), 165.94 (C-1'), 169.56 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 381.1122 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{FO}_5$: 381.1133; m/e 398.1388 (M^+NH_4), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NFO}_5$: 398.1398; m/e 403.0945 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{NaFO}_5$: 403.0952.

4.14. (7S)-6-O-Cinamoil-krasalakton D (VIa)

Ohladjenom rastvoru (0 °C) jedinjenja VI (0.011 g, 0.05 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (1.1 mL) dodaju se DMAP (0.009 g, 0.07 mmol) i cinamoil-hlorid (0.010 g, 0.06 mmol). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 2 h, nakon čega se doda još jedna porcija DMAP (0.004 g, 0.05 mmol) i cinamoil-hlorida (0.005 g, 0.03 mmol) i mešanje nastavi 1 h na 0 °C, a zatim još 45 minuta na sobnoj temperaturi. Reakciona smesa se izlije u 10% HCl (15 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×8 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10% NaCl (do pH 7), osuše i upare. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni jednom (4:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje VIa (0.012 g, 68%).

Beli kristali, t_f 168–172 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$), $[\alpha]_D^{25} = +36.5$ (c 0.2, CHCl_3), $R_f = 0.42$ (4:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

IR (film): ν_{max} 1776 i 1708 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.63 (d, 1 H, $J_{5a,5b}=14.6$, H-5a), 2.69 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.7$, $J_{5b,6}=5.3$ Hz, H-5b), 5.52 (d, 1 H, $J_{6,7}=4.5$ Hz, H-7), 5.81 (t, 1 H, $J=4.8$ Hz, H-6), 6.20 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 6.26 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 7.23 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.25–7.55 (m, 11 H, 2×Ph i H-3').

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 42.28 (C-5), 72.97 (C-6), 87.45 (C-7), 113.51 (C-4), 117.04 (C-2'), 124.49 (C-2), 127.39, 127.99, 128.17, 128.31, 128.77, 130.36, 134.10, 134.80 (2×Ph), 145.62 (C-3'), 151.81 (C-3), 165.62 (C-1'), 169.93 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 363.1223 (M^+H), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{O}_5$: 363.1227; m/e 380.1486 (M^+NH_4), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{NO}_5$: 380.1492; m/e 385.1038 (M^+Na), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{NaO}_5$: 385.1046.

4.15. (7S)-6-O-(4-Nitrocinamoil)-krasalakton D (VIb)

Rastvoru **VI** (0.029 g, 0.13 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (2 mL) koji je ohladjen na 0 °C doda se DMAP (0.032 g, 0.27 mmol) i 4-nitrocinamoil-hlorid (0.046 g, 0.22 mmol). Nakon mešanja u toku 1.5 h dodata je još jedna porcija 4-nitrocinamoil-hlorida (0.023 g, 0.11 mmol) i DMAP-a (0.016 g, 0.14 mmol) i mešanje nastavljeno još 2 h na 0 °C. Reakciona smesa je izlivena u 10% NaCl (25 mL) i ekstrahovana sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se spoje, osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 PE/EtOAc), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIb** (0.038 g, 74%).

Beli prah, tt 105–125 °C (Et₂O/heksan), $[\alpha]_D^{20} = +21.0$ (c 0.2, CHCl₃), $R_f = 0.37$ (1:1 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{\max} 1773 i 1721 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.64 (d, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.6$ Hz, H-5a), 2.82 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 14.7$, $J_{5b,6} = 5.3$ Hz, H-5b), 5.55 (d, 1 H, $J_{6,7} = 4.4$ Hz, H-7), 5.83 (t, 1 H, $J = 4.8$ Hz, H-6), 6.27 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 6.31 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 7.23 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-3), 7.15–8.30 (m, 10 H, 2×Ph i H-3').

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 42.26 (C-5), 73.50 (C-6), 87.35 (C-7), 113.48 (C-4), 121.33 (C-2'), 124.06 (C-2), 124.63, 127.06, 128.05, 128.37, 128.75, 134.76, 140.18, 148.49 (2×Ph), 142.54 (C-3'), 151.72 (C-3), 164.64 (C-1'), 169.89 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 425.1340 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₂H₂₁NO₇: 425.1343.

4.16. (7S)-6-O-(4-Metoksicinamoil)-krasalakton D (VIc)

Rastvoru jedinjenja **VI** (0.01 g, 0.05 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1.3 mL) sukcesivno se doda 4-metoksicimetna kiselina (0.017 g, 0.09 mmol), DCC (0.023 g, 0.11 mmol) i DMAP (0.023 g, 0.19 mmol). Nakon mešanja na sobnoj temperaturi u toku 3.5 h, reakciona smesa se izlije u H₂O (15 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×10 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10% NaCl (15 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 PE/EtOAc), pri čemu je dobijen čist proizvod **VIc** (0.015, 86%).

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{20} = -14.0$ (c 0.1, CHCl₃), $R_f = 0.49$ (3:2 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{\max} 1771 i 1717 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.64 (d, 1 H, $J_{5a,5b}=14.6$, H-5a), 2.79 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.7$, $J_{5b,6}=5.3$ Hz, H-5b), 3.83 (s, 3 H, OCH_3), 5.52 (d, 1 H, $J_{6,7}=4.5$ Hz, H-7), 5.81 (t, 1 H, $J=4.8$ Hz, H-6), 6.06 (d, 1 H, $J_{2,3}=16.0$ Hz, H-2'), 6.26 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 6.88 (d, 2 H, $J=8.8$ Hz, *p*-MeOPh). 7.23 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.25–7.52 (m, 8 H, Ph i H-3').

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 42.34 (C-5), 55.34 (OCH_3), 72.79 (C-6), 87.63 (C-7), 113.56 (C-4), 114.52 (C-2'), 124.48 (C-2), 114.22, 126.90, 127.42, 127.74, 128.28, 128.38, 129.89, 130.36, 134.88, 161.46 ($2\times\text{Ph}$), 145.31 (C-3'), 151.86 (C-3), 165.98 (C-1'), 169.98 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 393.1327 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{O}_6$: 393.1333; m/e 410.1588 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}_6$: 410.1598; m/e 415.1139 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{NaO}_6$: 415.1152.

4.17. (7S)-6-O-(4-Fluorocinamoil)-krasalakton D (VIId)

Rastvoru jedinjenja VI (0.01 g, 0.05 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (1 mL) sukcesivno se doda 4-fluorocimetna kiselina (0.017 g, 0.10 mmol), DCC (0.022 g, 0.11 mmol) i DMAP (0.025 g, 0.21 mmol). Nakon mešanja na sobnoj temperaturi u toku 4.5 h, doda se još jedna porcija 4-fluorocimetne kiseline (0.009 g, 0.05 mmol), DCC (0.012 g, 0.05 mmol) i DMAP-a (0.013 g, 0.11 mmol) i mešanje se na sobnoj temperaturi nastavi još 1 h. Reakciona smesa se izlije u H_2O (15 mL), ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×9 mL), a organske faze su spojene, isprane sa 10% NaCl (20 mL), osušene i uparene. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 PE/EtOAc), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje VI (0.013 g, 73%).

Bezbojni sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +60.0$ (c 0.1, CHCl_3), $R_f=0.58$ (1:1 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 1774 i 1713 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.64 (d, 1 H, $J_{5a,5b}=14.6$ Hz, H-5a), 2.79 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}=14.7$, $J_{5b,6}=5.3$ Hz, H-5b), 5.53 (d, 1 H, $J_{6,7}=4.4$, $J_{5b,6}=5.2$ Hz, H-7), 5.81 (dd, 1 H, $J_{6,7}=4.6$ Hz, H-6), 6.11 (d, 1 H, $J_{2,3}=16.0$ Hz, H-2'), 6.27 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-2), 7.06 (t, 2 H, Ph iz *p*-F-cinamata), 7.24 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.5$ Hz, H-3), 7.26–7.51 (m, 8 H, Ph i H-3').

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 42.32 (C-5), 73.03 (C-6), 87.45 (C-7), 113.51 (C-4), 116.80 i 116.83 (C-2'), 124.55 (C-2), 115.77, 116.12, 127.38, 128.00, 128.31, 130.02, 130.36, 130.41, 134.83, 161.94, 165.94 ($2\times\text{Ph}$), 144.30 (C-3'), 151.78 (C-3), 165.49 (C-1'), 169.98 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 398.1411 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NFO}_5$: 398.1398; m/e 381.1138 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{122}\text{H}_{18}\text{FO}_5$: 381.1133.

4.18. (4*R*,7*S*)-6-*O*-Cinamoil-krasalakton D (VIIa)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru cinamoil-hlorida (0.012 g, 0.72 mmol) i DMAP-a (0.011 g, 0.09 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1.6 mL) dodat je rastvor jedinjenja VII (0.026 g, 0.11 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1 mL). Reakciona smesa se meša 2 h na 0 °C nakon čega je dodata još jedna porcija cinamoil-hlorida (0.006 g, 0.04 mmol) i DMAP-a (0.005 g, 0.04 mmol) a mešanje nastavljeno još 1 h na 0 °C, nakon čega se hladjenje prekine i reakcija se na sobnoj temperaturi nastavi u toku 22.5 h. Reakciona smesa je izlivena u 10% HCl (15 mL) i ekstrahovana sa CH₂Cl₂ (3×8 mL). Organske faze su spojene, ispirane sa 10% NaCl (do pH 7), osušene i uparene. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani dva puta (1:1 Et₂O/PE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje VIIa (0.013 g, 62%).

Beli kristali, *tt* 163–166 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +51.0$ (*c* 0.2, CHCl₃), *R_f* = 0.58 (1:1 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{max} 1775 i 1713 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.63 (dd, 1 H, *J*_{5a,5b} = 15.1, *J*_{5a,6} = 2.6 Hz, H-5a), 3.00 (dd, 1 H, *J*_{5a,5b} = 15.2, *J*_{5b,6} = 6.4 Hz, H-5b), 5.59 (d, 1 H, *J*_{6,7} = 4.4 Hz, H-7), 5.54 (m, 1 H, H-6), 6.14 (d, 1 H, *J*_{2',3'} = 16.0 Hz, H-2'), 6.25 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 5.5 Hz, H-2), 7.26–7.65 (m, 12 H, 2×Ph, H-3 i H-3').

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 42.06 (C-5), 74.45 (C-6), 84.93 (C-7), 112.65 (C-4), 116.80 (C-2'), 123.96 (C-2), 126.92, 128.04, 128.07, 128.18, 128.84, 130.52, 133.93, 134.23 (2×Ph), 145.55 (C-3'), 151.61 (C-3), 165.38 (C-1'), 169.52 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 363.1220 (M⁺+H), izračunato za C₂₂H₁₉O₅: 363.1227; *m/e* 380.1486 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₂H₂₂NO₅: 380.1492; *m/e* 385.1036 (M⁺+Na), izračunato za C₂₂H₁₈NaO₅: 385.1046.

4.19. (4*R*,7*S*)-6-*O*-(4-Nitrocinamoil)-krasalakton D (VIIb)

Ohladjenom (0 °C) rastvoru jedinjenja VII (0.021 g, 0.09 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1.3 mL) doda se 4-nitrocinamoil-hlorid (0.024 g, 0.11 mmol) i DMAP (0.017 g, 0.14 mmol). Nakon 2 h mešanja na 0 °C, u reakcionu smesu je dodata još jedna porcija 4-nitrocinamoil-hlorida (0.012 g, 0.06 mmol) i DMAP-a (0.008 g, 0.07 mmol) a mešanje je nastavljeno još 1.5 h na 0 °C. Reakciona smesa se potom izlije u 5% NaCl (20 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se spoje, osuše i

upare, a ostatak se prečisti preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (7:3 PE/EtOAc) nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIIIb** (0.032 g, 89%).

Amorfni prah, t_f 85–90 °C (EtOH), $[\alpha]_D^{25} = +18.0$ (c 0.1, CHCl₃), $R_f = 0.46$ (13:7 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{\max} 1775 i 1720 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.63 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 15.2$, $J_{5a,6} = 2.7$ Hz, H-5a), 2.80 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 15.2$, $J_{5b,6} = 6.5$ Hz, H-5b), 5.59 (d, 1 H, $J_{6,7} = 4.4$ Hz, H-7), 5.89 (ddd, 1 H, $J_{5a,6} = 2.7$, $J_{6,7} = 4.5$, $J_{5b,6} = 6.5$ Hz, H-6), 6.20–6.30 (m, 2 H, H-2 i H-2'), 7.21–8.30 (m, 11 H, 2×Ph, H-3 i H-3').

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 41.97 (C-5), 74.62 (C-6), 84.81 (C-7), 112.51 (C-4), 120.97 (C-2'), 124.10 (C-2), 124.19, 126.90, 127.89, 128.39, 128.63, 130.07, 139.95, 148.56 (2×Ph), 142.48 (C-3'), 151.40 (C-3), 164.48 (C-1'), 169.43 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 425.1341 (M⁺+NH₄), izračunato za C₂₂H₂₁NO₇: 425.1343.

4.20. (4*R*,7*S*)-6-*O*-(4-Metoksicinamoil)-krasalakton D (VIIIc)

Rastvoru jedinjenja **VII** (0.011 g, 0.05 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1.5 mL) sukcesivno se dodaju sledeći reagensi: 4-metoksicimtna kiselina (0.018 g, 0.10 mmol), DCC (0.025 g, 0.12 mmol) i DMAP (0.025 g, 0.21 mmol). Nakon 3 h mešanja na sobnoj temperaturi, reakciona smesa se izlije u H₂O (15 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×9 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10% NaCl (15 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (3:2 PE/EtOAc), a zaostalo nečisto jedinjenje **VIIIc** je prečišćeno preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani tri puta (4:1 PE/EtOAc) nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIIIc** (0.015 g, 77%).

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{25} = +17.5$ (c 0.2, CHCl₃), $R_f = 0.68$ (3:2 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{\max} 1775 i 1710 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.61 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 15.2$, $J_{5a,6} = 2.6$ Hz, H-5a), 3.01 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 15.2$, $J_{5b,6} = 6.3$ Hz, H-5b), 3.84 (s, 3 H, OCH₃), 5.58 (d, 1 H, $J_{6,7} = 4.4$ Hz, H-7), 5.86 (ddd, 1 H, $J_{5a,6} = 2.6$, $J_{6,7} = 4.4$, $J_{5b,6} = 6.5$ Hz, H-6), 6.01 (d, 1 H, $J_{2',3} = 15.9$ Hz, H-2'), 6.24 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 6.88 (d, 2 H, $J = 8.8$ Hz, *p*-OMePh). 7.27–8.42 (m, 11 H, 2×Ph, H-3 i H-3').

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 42.12 (C-5), 55.34 (OCH₃), 74.30 (C-6), 84.96 (C-7), 112.71 (C-4), 114.16 (C-2'), 123.91 (C-2), 114.29, 126.66, 126.93, 128.07, 128.30, 129.77, 134.29, 161.57 (2×Ph), 145.26 (C-3'), 151.70 (C-3), 165.76 (C-1'), 169.59 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 393.1324 ($M^+ + H$), izračunato za $C_{23}H_{21}O_6$: 393.1333; m/e 410.1594 ($M^+ + NH_4$), izračunato za $C_{23}H_{24}NO_6$: 410.1598; m/e 415.1142 ($M^+ + Na$), izračunato za $C_{23}H_{20}NaO_6$: 415.1152.

4.21. (4*R*,7*S*)-6-*O*-(4-Fluorocinamoil)-krasalakton D (VII*d*)

Rastvoru jedinjenja **VII** (0.011 g, 0.05 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (1 mL) sukcesivno se doda 4-fluorocimetna kiselina (0.018 g, 0.11 mmol), DCC (0.023 g, 0.11 mmol) i DMAP (0.026 g, 0.21 mmol). Nakon mešanja na sobnoj temperaturi u toku 4.5 h, reakciona smesa je izlivena u H_2O (15 mL) i ekstrahovana sa CH_2Cl_2 (3×8 mL). Organske faze su spojene, isprane sa 10% NaCl (15 mL), osušene i uparene. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (4:1 PE/EtOAc), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VII*d*** (0.015 g, 88%).

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{25} = +34.5$ (c 0.2, $CHCl_3$), $R_f = 0.56$ (7:3 PE/EtOAc).

IR (film): ν_{max} 1778 i 1716 (C=O).

250 MHz 1H NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 2.61 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 15.2$, $J_{5a,6} = 2.7$ Hz, H-5a), 3.01 (dd, 1 H, $J_{5a,5b} = 15.2$, $J_{5b,6} = 6.4$ Hz, H-5b), 5.58 (d, 1 H, $J_{6,7} = 4.4$ Hz, H-7), 5.87 (ddd, 1 H, $J_{5a,5b} = 2.7$, $J_{6,7} = 4.4$, $J_{5b,6} = 6.5$ Hz, H-6), 6.06 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 15.9$ Hz, H-2'), 6.26 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 7.00–7.47 (m, 11 H, 2×Ph, H-3 i H-3').

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar ($CDCl_3$): δ 42.08 (C-5), 74.49 (C-6), 84.90 (C-7), 112.62 (C-4), 116.49 i 117.24 (C-2'), 124.04 (C-2), 116.45, 116.49, 126.91, 128.09, 128.33, 129.89, 130.05, 134.23, 161.99 i 165.99 (2×Ph), 144.25 (C-3'), 151.54 (C-3), 165.99 (C-1'), 169.51 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 381.1128 ($M^+ + H$), izračunato za $C_{22}H_{18}FO_5$: 381.1133; m/e 398.1392 ($M^+ + NH_4$), izračunato za $C_{22}H_{21}FNO_5$: 398.1398; m/e 403.0947 ($M^+ + Na$), izračunato za $C_{22}H_{17}FNaO_5$: 403.0952.

4.22. (4*R*,5*S*,7*R*)-5-Jodo-krasalakton D (III*e*), (4*S*,5*R*,7*R*)-5-jodo-krasalakton D (IV*e*) i (4*S*,5*S*,7*R*)-5-jodo-krasalakton D (IV*f*)

Postupak A: Rastvoru **I** (0.091 g, 0.39 mmol) u anh. CH_3CN (5.5 mL) doda se I_2 (0.329 g, 1.30 mmol) i $NaHCO_3$ (0.109 g, 1.30 mmol). Rezultujuća suspenzija se prvo meša na sobnoj temperaturi u toku 30 minuta, a zatim na 35 °C još 6 dana. Reakciona smesa se izlije u H_2O (25 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×15 mL). Organske faze se spoje i isperu sa 10% natrijum-sulfitom (25 mL)

i zasićenim rastovorm NaCl (25 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (1:1 Et₂O/PE), nakon čega je dobijeno nečisto jedinjenje **IVf** i smesa **IIIe** i **IVe**, koja je razdvojena preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (49:1 CH₂Cl₂/Me₂CO), nakon čega su dobijena čista jedinjenja **IIIe** (0.040 g, 28%) i **IVe** (0.029 g, 21%). Nečisto **IVf** je još jednom prečišćeno preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (1:1 Et₂O/PE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **IVf** (0.012 g, 8%).

Postupak B: Suspenzija jedinjenja **II** (0.036 g, 0.16 mmol), I₂ (0.135 g, 0.53 mmol) i NaHCO₃ (0.043 g, 0.53 mmol) u anh. CH₃CN (2.5 mL) meša se na sobnoj temperaturi 30 minuta a zatim na 35 °C još 7 dana. Reakciona smesa se izlije u H₂O (20 mL), ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (5×10 mL). Organske faze se spoje i isperu sa 10% natrijum-sulfitom (20 mL) i zasićenim rastovorm NaCl (20 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC (1:1 Et₂O/PE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **IVf** (0.006 g, 10%) i smesa **IIIe** i **IVe**, koja je razdvojena dodatnom preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (49:1 CH₂Cl₂/Me₂CO), nakon čega su dobijena čista jedinjenja **IIIe** (0.008 g, 14%) i **IVe** (0.015 g, 27%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IIIe**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{25} = +26.0$ (*c* 0.2, CHCl₃), $R_f = 0.49$ (49:1 CH₂Cl₂/Me₂CO).

IR (film): ν_{\max} 3445 (OH), 1779 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 3.20 (bs, 1 H, OH), 4.45–4.63 (m, 2 H, H-5 i H-6), 5.10 (d, 1 H, $J_{6,7} = 5.5$ Hz, H-7), 6.20 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 7.30–7.44 (m, 6 H, H-3 i Ph). NOE konatakt: H-7 i H-5.

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 28.59 (C-5), 86.36 (C-6), 87.59 (C-7), 113.06 (C-4), 123.99 (C-2). 125.87, 128.64, 128.70, 136.73 (Ph), 153.64 (C-3), 169.36 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 376.0040 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₅NiO₄: 376.0040.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IVe**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{25} = -5.5$ (*c* 0.2, CHCl₃), $R_f = 0.61$ (49:1 CH₂Cl₂/Me₂CO).

IR (film): ν_{\max} 3459 (OH), 1770 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.74 (bs, 1 H, OH), 3.91 (bs, 1 H, H-6), 4.67 (d, 1 H, $J_{5,6} = 3.6$ Hz, H-5), 5.10 (d, 1 H, $J_{6,7} = 7.1$ Hz, H-7), 6.22 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 7.30–7.56 (m, 5 H, Ph), 7.53 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-3). NOE kontakt: H-5 i Ph-H.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 37.68 (C-5), 76.85 (C-6), 86.71 (C-7), 113.68 (C-4), 124.93 (C-2), 126.34, 128.72, 128.77, 137.11 (Ph), 154.26 (C-3), 169.09 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 376.0041 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NIO}_4$: 376.0040.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IVf**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_{\text{D}} = -32.5$ (c 0.2, CHCl_3), $R_f = 0.70$ (DIPE).

IR (film): ν_{max} 3445 (OH), 1770 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.82 (bs, 1 H, OH), 4.49 (d, 1 H, $J_{5,6} = 10.1$ Hz, H-5), 4.57 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.2$, $J_{6,7} = 7.4$ Hz, H-6), 4.95 (d, 1 H, $J_{6,7} = 7.4$ Hz, H-7), 6.37 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-2), 7.09 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-3), 7.30–7.54 (m, 5 H, Ph). NOE kontakt: H-5 i H7, H-3 i H-5.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 31.27 (C-5), 83.67 (C-6), 86.38 (C-7), 111.10 (C-4), 126.37, 127.25, 128.77, 128.82, 137.76 (C-2 i Ph), 149.10 (C-3), 168.63 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 376.0041 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NIO}_4$: 376.0040.

4.23. (4*R*,5*S*,7*S*)-5-Jodo-krasalakton **D** (**VI**f) i (4*S*,5*R*,7*S*)-5-jodo-krasalakton **D** (**VI**e)

Postupak A: Suspenzija jedinjenja **VIII** (0.109 g, 0.47 mmol), NaHCO_3 (0.138 g, 1.64 mmol) i I_2 (0.412 g, 1.64 mmol) u anh. CH_3CN (6.5 mL) meša se na sobnoj temperaturi 30 minuta, a zatim na 35°C u toku 9 dana. Reakciona smesa se izlije u vodu (20 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×10 mL). Organske faze se isperu sa 10% natrijum-sulfitom (20 mL) i zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (1:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VI**e (0.068 g, 40%) i nečisto **VI**f koje je dodatno prečišćeno preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (DIPE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VI**f (0.0144 g, 9%).

Postupak B: Rastvor jedinjenja **VIII** (0.044 g, 0.19 mmol) i NIS (0.064 g, 0.28 mmol) u anh. CH_3CN (1.2 mL) meša se na sobnoj temperaturi 48 h. Reakciona smesa se izlije u 10% natrijum-sulfit (20 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×10 mL). Organske faze se isperu sa zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osuše i upare, a ostatak se prečisti preparativnom TLC (DIPE). Pri tome su dobijena čista jedinjenja **VI**e (0.010 g, 15%) i **VI**f (0.003 g, 4%).

Postupak C: Suspenzija jedinjenja **IX** (0.022 g, 0.09 mmol), NaHCO₃ (0.026 g, 0.31 mmol) i I₂ (0.078 g, 0.31 mmol) u anh. CH₃CN (1.9 mL) meša se na sobnoj temperaturi 30 minuta, a zatim na 35 °C u toku 10 dana. Reakciona smesa se izlije u vodu (20 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se isperu sa 10% natrijum-sulfitom (20 mL) i zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (1:1 Et₂O/PE), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **VIIe** (0.017 g, 51%) i nečisto **VIIf** koje je još jednom prečišćeno preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta (DIPE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIIf** (0.001 g, 3%).

Postupak D: Rastvoru **IX** (0.031 g, 0.14 mmol) u anh. DMF (2 mL) dodat je NIS (0.061 g, 0.27 mmol). Nakon 30 minuta, temperatura je povišena sa sobne na 40 °C i mešanje je nastavljeno još 46.5 h. Zatim je u reakcionu smesu dodata još jedna porcija NIS (0.031 g, 0.14 mmol), temperatura je povišena na 50 °C, a mešanje nastavljeno još 24 h. Reakciona smesa je potom razblažena sa EtOAc (5 mL). Organski rastvor je ispran sa 10% natrijum-sulfitom (20 mL) i zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osušen i uparen, a ostatak je prečišćen preparativnom TLC (7:3 Et₂O/PE), nakon čega su dobijena čista jedinjenja **VIIe** (0.009 g, 19%) i **VIIf** (0.006 g, 12%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **VIIf**:

Bele iglice, tt 108–112 °C (Et₂O/heksan), [α]_D=+12.0 (c 0.2, CHCl₃), R_f=0.56 (DIPE).

IR (KBr): ν_{max} 3464 (OH), 1777 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.47 (d, 1 H, J_{6,OH}=9.9 Hz, OH), 4.54 (s, 1 H, H-5), 4.72 (dd, 1 H, J_{6,7}=4.2, J_{6,OH}=9.6 Hz, H-6), 5.99 (d, 1 H, J_{6,7}=4.3 Hz, H-7), 6.28 (d, 1 H, J_{2,3}=5.6 Hz, H-2), 7.31–7.50 (m, 5 H, Ph), 7.55 (d, 1 H, J_{2,3}=5.7 Hz, H-3).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 29.83 (C-5), 81.32 (C-6), 86.13 (C-7), 114.77 (C-4), 125.54 (C-2), 126.50, 128.59, 128.75, 134.40 (Ph), 154.02 (C-3), 168.37 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 376.0041 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₅NiO₄: 376.0040.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **VIIe**:

Duge igle, tt 107–110 °C (CH₂Cl₂/heksan), [α]_D=−9.0 (c 0.2, CHCl₃), R_f=0.42 (1:1 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{max} 3404 (OH), 1760 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.92 (bs, 1 H, OH), 4.41 (t, 1 H, J_{5,6}=3.5 Hz, J_{6,7}=3.2 Hz, H-6), 4.94 (d, 1 H, J_{5,6}=3.9 Hz, H-5), 5.56 (d, 1 H, J_{6,7}=2.8 Hz, H-7), 6.12 (d, 1 H, J_{2,3}=5.5 Hz, H-2), 7.33–7.59 (m, 6 H, Ph i H-3). NOE kontakt: H-5 i H-7.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 30.16 (C-5), 74.92 (C-6), 83.84 (C-7), 114.16 (C-4), 122.18 (C-2), 126.61, 128.73, 128.92, 134.18 (Ph), 154.81 (C-3), 169.76 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 376.0029 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NIO}_4$: 376.0040.

4.24. (4R,5R,7S)-5-Jodo-krasalakton D (VIe)

Rastvoru **VIe** (0.031 g, 0.09 mmol) u smesi CHCl_3 (1.5 mL) i vode (0.01 mL) doda se TFA (0.06 mL, 0.86 mmol). Reakciona smesa se meša na 22 °C u toku 5 dana, a potom kodestiluje sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC (7:3 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$), nakon čega je dobijeno **VIe** (0.013 g, 42%) i regenerisano polazno jedinjenje **VIe** (0.013 g, 42%).

Duge igle, t_{t} 163–167 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +19.0$ (c 0.1, CHCl_3), $R_{\text{f}} = 0.58$ (4:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

IR (KBr): ν_{max} 3461 (OH), 1779–1739 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.20 (bs, 1 H, OH), 4.45 (bs, 1 H, H-6), 4.67 (d, 1 H, $J_{5,6} = 4.4$ Hz, H-5), 5.50 (d, 1 H, $J_{6,7} = 4.1$ Hz, H-7), 6.38 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-2), 7.09 (d, 1 H, $J_{2,3} = 5.6$ Hz, H-3), 7.31–7.57 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 31.88 (C-5), 73.69 (C-6), 86.29 (C-7), 112.48 (C-4), 126.72, 126.99, 128.55, 128.60, 134.85 (C-2 i Ph), 149.17 (C-3), 168.35 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 376.0040 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NIO}_4$: 376.0040.

4.25. (4S,5S,7R)-5-Hloro-krasalakton D (IVg)

Rastvoru jedinjenja **I** (0.050 g, 0.21 mmol) u anh. DMF (1.3 mL) doda se NCS (0.043 g, 0.32 mmol). Reakciona smesa se meša na 35 °C u toku 53 h, nakon čega se razblaži sa EtOAc (7 mL) i ispere 10% natrijum-sulfitom (20 mL). Organska faza je dodatno isprana zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osušena i uparena. Sirova reakciona smesa je prečišćena preparativnom TLC (DIPE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **IVg** (0.023 g, 40%).

Bele iglice, t_{t} 130–134 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +32.3$ (c 0.3, CHCl_3), $R_{\text{f}} = 0.45$ (DIPE).

IR (KBr): ν_{max} 3423 (OH), 1745 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 3.10 (d, 1 H, $J_{6,\text{OH}}=3.4$ Hz, OH), 4.37 (d, 1 H, $J_{5,6}=9.5$ Hz, H-5), 4.47 (m, 1 H, $J_{6,7}=7.7$, $J_{5,6}=9.2$, $J_{6,\text{OH}}=3.4$ Hz, H-6), 4.95 (d, 1 H, $J_{6,7}=7.6$ Hz, H-7), 6.35 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.6$ Hz, H-2), 7.14 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.6$ Hz, H-3), 7.29–7.53 (m, 5 H, Ph). NOE kontakt: H-3 i H-5.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 63.51 (C-5), 81.57 (C-6), 84.87 (C-7), 110.39 (C-4), 126.93 (C-2), 126.43, 128.78, 128.89, 137.71 (Ph), 148.83 (C-3), 168.69 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 284.0696 (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NClO}_4$: 284.0684.

4.26. (4*R*,5*S*,7*R*)-5-Hloro-krasalakton D (III*f*) i (4*S*,5*R*,7*R*)-5-hloro-krasalakton D (IV*h*)

Rastvoru jedinjenja **II** (0.010 g, 0.43 mmol) u anh. DMF (2 mL) doda se NCS (0.086 g, 0.64 mmol). Reakciona smesa se meša na 36 °C u toku 70 h, nakon čega se razblaži sa EtOAc (5 mL) i rastvor se ispere sa 10% natrijum-sulfitom (20 mL). Nakon ekstrakcije vodene faze sa EtOAc (4×10 mL), organske faze se spoje, isperu sa zasićenim NaCl (20 mL), osuše i upare. Višestrukim prečišćavanjem fleš hromatografijom (1:1 DIPE/PE), dobijaju se čista jedinjenja **III*f*** (0.029 g, 26%) i **IV*h*** (0.019 g, 17%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **III*f***:

Duge bezbojne igle, t_t 106–109 °C (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_{\text{D}}=+11.3$ (c 0.3, CHCl_3), $R_f=0.49$ (DIPE).

IR (KBr): ν_{max} 3430 (OH), 1765 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.88 (bs, 1 H, OH), 4.39–4.52 (m, 2 H, H-5 i H-6), 5.15 (d, 1 H, $J_{6,7}=4.8$ Hz, H-7), 6.35 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.7$ Hz, H-2), 7.32–7.50 (m, 6 H, H-3, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 66.16 (C-5), 85.15 (C-6), 88.91 (C-7), 113.55 (C-4), 125.35 (C-2), 126.02, 128.72, 128.84, 136.96 (Ph), 149.78 (C-3), 168.54 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 284.0687 (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NClO}_4$: 284.0684.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **IV*h***:

Bele iglice, t_t 110–111 °C (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_{\text{D}}=-1.0$ (c 0.2, CHCl_3), $R_f=0.46$ (DIPE).

IR (KBr): ν_{max} 3446 (OH), 1766 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.53 (d, 1 H, $J_{6,\text{OH}}=8.4$ Hz, OH), 4.52 (d, 1 H, $J_{5,6}=4.4$ Hz, H-5), 4.70 (m, 1 H, H-6), 5.09 (d, 1 H, $J_{6,7}=7.8$ Hz, H-7), 6.34 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.6$ Hz, H-2), 7.33–7.51 (m, 5 H, Ph), 7.48 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.6$ Hz, H-3).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 66.07 (C-5), 77.23 (C-6), 85.67 (C-7), 112.90 (C-4), 125.53 (C-2), 126.31, 126.35, 128.78, 137.24 (Ph), 150.55 (C-3), 168.49 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 284.0684 (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NClO}_4$: 284.0684.

4.27. (4*S*,5*S*,7*S*)-5-Hloro-krasalakton D (VIIf)

Postupak A: Rastvoru jedinjenja **VIII** (0.037 g, 0.16 mmol) u anh. DMF (1.1 mL) doda se NCS (0.042 g, 0.32 mmol), a rezultujuća smesa se meša na 40 °C u toku 69.5 h, nakon čega se razblaži sa EtOAc (7 mL) i izlije u 10% natrijum-sulfit (20 mL). Organski sloj se odvoji a vodena faza se ekstrahuje sa EtOAc (3×9 mL). Spojene organske faze se isperu sa zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osuše i upare. Ostatak se prečisti dva puta preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijani, prvi put jednom, drugi put tri puta (DIPE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIIf** (0.006 g, 13%).

Postupak B: Rastvoru jedinjenja **IX** (0.035 g, 0.15 mmol) u anh. DMF (0.85 mL) doda se NCS (0.040 g, 0.30 mmol). Reakciona smesa se meša na 37 °C u toku 69 h, nakon čega se razblaži sa EtOAc (5 mL) i izlije u 10% natrijum-sulfit (20 mL). Nakon ekstrakcije sa EtOAc (3×9 mL), organske faze se isperu sa zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osuše i upare. Ostatak se prečisti preparativnom TLC (DIPE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIIf** (0.008 g, 19%).

Bele iglice, t_f 145–148 °C (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_D^{25}=-33.0$ (c 0.2, CHCl_3), $R_f=0.43$ (DIPE).

IR (KBr): ν_{max} 3456 (OH), 1772 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 4.32 (d, 1 H, $J_{5,6}=6.6$ Hz, H-5), 4.83 (m, 1 H, H-6), 5.31 (s, 1 H, OH), 5.62 (d, 1 H, $J_{6,7}=6.9$ Hz, H-7), 6.38 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.6$ Hz, H-2), 7.30 (d, 1 H, $J_{2,3}=5.6$ Hz, H-3), 7.31–7.59 (m, 5 H, Ph). NOE kontakt: H-3 i H-5.

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 63.94 (C-5), 77.79 (C-6), 82.99 (C-7), 110.03 (C-4), 126.52 (C-2), 127.07, 128.83, 129.11, 133.95 (Ph), 148.78 (C-3), 173.48 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 284.0683 (M^++NH_4), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NClO}_4$: 284.0684.

4.28. (4S,5S,7S)-5-Bromo-krasalakton D (VIIg)

Postupak A: Suspenzija jedinjenja **VIII** (0.042 g, 0.18 mmol), broma (0.2 mL, 0.36 mmol) i NaHCO₃ (0.020 g, 0.36 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (2 mL), se meša na sobnoj temperaturi 2.5 h nakon čega se izlije u 10% natrijum-sulfit i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×10 mL). Organske faze se isperu vodom (20 mL) i zasićenim rastvorom NaCl (20 mL), osuše i upare. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC, uz razvijanje hromatograma dva puta (7:3 Et₂O/PE), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **VIIg** (0.007 g, 12%).

Postupak B: Rastvoru jedinjenja **VIII** (0.046 g, 0.20 mmol) u anh. DMF (0.6 mL) u atm. N₂ doda se rastvor NBS (0.035 g, 0.20 mmol) u anh. DMF (0.6 mL). Reakciona smesa se meša na 20–25 °C u toku 149 h, a zatim se temperatura povisi na 30 °C. Nakon 10 dana temperatura se povisi na 35 °C i mešanje nastavi još 77 h. U reakcionu smesu se zatim doda nova porcija rastvora NBS (0.018 g, 0.10 mmol) u anh. DMF (0.3 mL). Nakon ukupno 16 dana temperatura je povišena na 45 °C i mešanje nastavljeno 2 dana. Nakon mešanja u toku dodatna dva dana na sobnoj temperaturi, reakciona smesa je razblažena sa EtOAc (15 mL). Organska faza je isprana sa 5% NaHCO₃ (20 mL), H₂O i zasićenim rastvorom NaCl. Organski sloj je osušen i uparen. Ostatak je prečišćen preparativnom TLC (3:2 Et₂O/PE), nakon čega je dobijeno nečisto **VIIg** koje je ponovo prečišćeno preparativnom TLC, uz razvijanje hromatograma dva puta (DIPE). Pri tome je dobijeno čisto jedinjenje **VIIg** (0.018 g, 29%).

Bezbojne igle, *t*_m 147–151 °C (Et₂O/heksan), [α]_D = -21.0 (*c* 0.2, CHCl₃), R_f = 0.60 (DIPE).

IR (film): ν_{\max} 3449 (OH), 1783–1767 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.86 (bs, 1 H, OH), 4.31 (d, 1 H, *J*_{5,6} = 6.9 Hz, H-5), 4.91 (t, 1 H, *J* = 6.5 Hz, H-6), 5.59 (d, 1 H, *J*_{6,7} = 6.9 Hz, H-7), 6.38 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 5.6 Hz, H-2), 7.29 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 5.6 Hz, H-3) 7.31–7.52 (m, 5 H, Ph). NOE kontakt: H-3 i H-5.

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 53.52 (C-5), 78.21 (C-6), 83.11 (C-7), 110.03 (C-4), 122.18 (C-2), 126.64, 127.05, 128.78, 129.40, 134.04 (Ph), 148.83 (C-3), 168.66 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 328.0178 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₃H₁₅NBrO₄: 328.0179.

4.29. 3,6-Anhidro-2-deoksi-D-ido-heptono-1,4-lakton (9)

U rastvor osušene D-ksiloze (1.526 g, 10.17 mmol) u anh. DMF (13 mL) doda se Meldrum-ova kiselina (1.466 g, 10.17 mmol) i anh. Et₃N (1.42 mL, 10.17 mmol). Reakciona smesa se meša 7 dana na 46 °C, nakon čega se rastvarač upari. Nakon prečišćavanja na dve kolone fleš silikagela (7:1 CHCl₃/MeOH) dobijeno je čisto jedinjenje **9** (1.15 g, 65%).

Beli prah, tt 72–74 °C (19:1 EtOAc/MeOH), [α]_D=+26.8 (c 1.8, H₂O), lit.¹²¹ tt 71–75 °C, [α]_D=+28.4 (c 1.9, H₂O), R_f=0.72 (9:1 CH₂Cl₂/MeOH).

IR (film): ν_{max} 3419 (OH), 1770 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (acetone-*d*₆): δ 2.92 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.5 Hz, H-2a), 3.30 (dd, 1 H, J_{2b,3}=6.0, J_{2a,2b}=18.5 Hz, H-2b), 4.21 (dd, 1 H, J_{7a,7b}=11.5, J_{7a,6}=5.5 Hz, H-7a), 4.29 (d, 1 H, J_{6,7b}=5.0, J_{7a,7b}=11.5 Hz, H-7b), 4.45 (m, 1 H, H-6), 4.86 (d, 1 H, J_{5,6}=3.1 Hz, H-5), 5.33 (d, 1 H, J_{3,4}=4.3 Hz, H-4), 5.40 (t, 1 H, H-3).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (acetone-*d*₆): δ 36.47 (C-2), 60.88 (C-7), 75.06 (C-5), 77.50 (C-3), 82.11 (C-6), 89.08 (C-4), 176.34 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 175.0597 (M⁺+H), izračunato za C₇H₁₁O₅: 175.0601.

4.30. 3,6-Anhidro-2,7-dideoksi-7-jodo-D-ido-heptono-1,4-lakton (10)

Rastvoru jedinjenja **9** (0.280 g, 1.61 mmol) u anh. THF (2.5 mL) doda se imidazol (0.219 g, 3.22 mmol) i Ph₃P (0.845 g, 3.22 mmol). U smesu zagrejanu na temperaturu ključanja doda se I₂ (0.491 g, 1.93 mmol) u anh. THF (1.4 mL) u porcijama po 0.1 mL svakih 20–30 sekundi. Reakciona smesa se meša na temperaturi ključanja 3 h, nakon čega se upari. Nakon dvostrukog prečišćavanja na koloni fleš silikagela (2:1 PE/EtOAc) dobija se čisto jedinjenje **10** (0.290 g, 63%).

Beli prah, tt 131 °C (PE/EtOAc; na 118 °C detektovana promena boje u žuto), [α]_D=+10.7 (c 1, CHCl₃), R_f=0.32 (1:1 PE/EtOAc), lit.¹²² tt 131–133 °C, [α]_D=+17.2 (c 1, CHCl₃).

IR (CHCl₃): ν_{max} 3436 (OH), 1778 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.64 (d, 1 H, J_{2a,2b}=18.7 Hz, H-2a), 2.76 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=18.7, J_{2b,3}=5.3 Hz, H-2b), 3.10 (bs, 1 H, OH), 3.18–3.34 (m, 2 H, H-7a i H-7b), 4.30 (m, 1 H, J_{5,6}=2.6, J_{6,7}=7.2 Hz, H-6), 4.59 (bs, 1 H, H-5), 4.93 (d, 1 H, J_{3,4}=4.2 Hz, H-4), 5.04 (m, 1 H, H-3).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ -1.08 (C-7), 36.24 (C-2), 73.88 (C-5), 77.62 (C-3), 81.43 (C-6), 87.72 (C-4), 175.59 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 301.9887 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NIO}_4$: 301.9884.

4.31. 2,6,7-Trideoksi-D-ido-6-hepteno-1,4-lakton (11)

Suspenziji jedinjenja **10** (2.276 g, 8.01 mmol) u smesi 4:1 THF/ H_2O (71 mL) doda se aktivirani Zn u prahu* (10.477 g, 160.25 mmol). Reakciona smesa se meša na temperaturi ključanja u toku 1 h, nakon čega se upari i prečisti na koloni fleš silikagela (3:1 EtOAc/PE), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **11** (1.197 g, 94%).

Beli prah, t_t 66 °C (CHCl_3), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +10.5$ (c 0.2, MeOH), $R_f = 0.32$ (3:1 EtOAc/PE).

IR (KBr): ν_{max} 3410 (OH), 1770 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (metanol- d_4): δ 2.46 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.5$, $J_{2a,3} = 1.5$ Hz, H-2a), 2.88 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.5$, $J_{2b,3} = 5.5$ Hz, H-2b), 4.21 (dd, 1 H, $J = 3.9$, $J = 7.6$ Hz, H-4), 4.36–4.59 (m, 2 H, H-3 i H-5), 5.27 (dt, 1 H, $J_{5,7a} = 1.6$, $J_{6,7a} = 10.6$, $J_{7a,7b} = 1.7$ Hz, H-7a), 5.49 (dt, 1 H, $J_{5,7b} = 1.7$, $J_{6,7b} = 17.3$, $J_{7a,7b} = 1.7$ Hz, H-7b), 6.02 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 5.2$, $J_{6,7b} = 17.3$ Hz, H-6).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (metanol- d_4): δ 40.60 (C-2), 68.96 i 71.56 (C-3 i C-5), 88.62 (C-4), 117.55 (C-7), 136.93 (C-6), 178.37 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 176.0914 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{NO}_4$: 176.0917.

4.32. (E)-2-Deoksi-7-C-fenil-D-ido-6-hepteno-1,4-lakton (12)

Jedinjenju **11** (0.105 g, 0.67 mmol) rastvorenom u smesi anh. CH_2Cl_2 (2 mL) i anh. THF (1 mL) doda se stiren (0.76 mL, 6.66 mmol) i Grubbs-ov katalizator druge generacije (0.057 g, 0.07 mmol). Reakciona smesa se meša u atmosferi argona na sobnoj temperaturi 18 h, nakon čega se upari i prečisti na dve kolone fleš silikagela (24:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Dobijeno je čisto jedinjenje **12** (0.079 g, 50%).

Bele iglice, t_t 132–135 °C (CH_2Cl_2), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +10.5$ (c 0.2, MeOH), $R_f = 0.53$ (24:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$).

* Vodena suspenzija Zn u prahu tretirana je sa 3M HCl. Nakon ~1 minut, smesa je razložena vodom i procedjena preko Büchnerovog levka. Talog je ispiran vodom i THF. Tako aktiviran Zn je sušen u vakuumu.

IR (KBr): ν_{\max} 3458 (OH), 1763 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (metanol- d_4): δ 2.48 (bd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.9$ Hz, H-2a), 2.88 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.5$, $J_{2b,3}=5.4$ Hz, H-2b), 4.31 (dd, 1 H, $J_{3,4}=3.8$, $J_{4,5}=7.4$ Hz, H-4), 4.49 (bs, 1 H, H-3), 4.70 (bt, 1 H, $J=6.3$ Hz, H-5), 6.39 (dd, 1 H, $J_{5,6}=5.8$, $J_{6,7}=16.0$ Hz, H-6), 6.82 (d, 1 H, $J_{6,7}=16.0$ Hz, H-7), 7.11–7.71 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (metanol- d_4): δ 40.64 (C-2), 69.05 (C-3), 71.47 (C-5), 88.73 (C-4), 127.57, 128.80, 129.61, 138.14 (Ph), 127.87 (C-6), 133.53 (C-7), 178.39 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 252.1230 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_4$: 252.1230.

4.33. (*E*)-2-Deoksi-7-*C*-fenil-3,5-*O*-izopropiliden-*D*-ido-6-hepteno-1,4-lakton (**13**)

Postupak A: U rastvor jedinjenja **12** (0.059 g, 0.25 mmol) u anh. acetonu (1 mL) doda se 2,2-DMP (0.15 mL, 1.08 mmol) i *p*-TsOH·H₂O (0.0003 g, 0.0015 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 3 h. Reakciona smesa se neutrališe dodatkom jedne kapi 10% NaHCO₃, zatim se upari, a ostatak prečisti na dve kolone fleš silikagela (3:1 PE/Me₂CO), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **13** (0.043 g, 62%).

Postupak B: Rastvoru jedinjenja **14** (0.070 g, 0.35 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (1.5 mL) doda se stiren (0.41 mL, 3.53 mmol) i Grubbs-ov katalizator druge generacije (0.030 g, 0.04 mmol). Reakciona smesa se meša u atmosferi argona na sobnoj temperaturi 49 h, nakon čega se upari i prečisti hromatografijom na koloni fleš silikagela (CH₂Cl₂). Nečisto **13** je dodatno prečišćeno preparativnom TLC, uz razvijanje hromatograma dva puta (99:1 CH₂Cl₂/EtOAc), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **13** (0.069 g, 71%).

Bele iglice, *tt* 191–194 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +174.0$ (*c* 0.2, CHCl₃), $R_f = 0.75$ (99:1 CH₂Cl₂/EtOAc).

IR (KBr): ν_{\max} 1771 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.45 i 1.56 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 2.57 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=17.2$ Hz, H-2a), 2.73 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.2$ Hz, $J_{2b,3}=4.1$ Hz, H-2b), 4.16 (t, 1 H, $J_{4,5}=2.2$ Hz, $J_{3,4}=2.2$ Hz, H-4), 4.60–4.76 (m, 2 H, H-3 i H-5), 6.37 (dd, 1 H, $J_{6,7}=15.9$ Hz, $J_{5,6}=7.1$ Hz, H-6), 6.72 (d, $J_{6,7}=16.0$ Hz, H-7), 7.23–7.48 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 19.19 i 29.16 (CMe_2), 37.92 (C-2), 67.13 (C-5), 69.73 (C-3), 75.56 (C-4), 98.19 (CMe_2), 124.43 (C-6), 126.65, 127.99, 128.38, 135.89 (Ph), 133.65 (C-7), 175.00 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 292.1540 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_4$: 292.1543; m/e 297.1105 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NaO}_4$: 297.1097; m/e 313.0841 ($\text{M}^+\text{+K}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{KO}_4$: 313.0837.

4.34. 2,6,7-Trideoksi-3,5-*O*-izopropiliden-D-ido-6-hepteno-1,4-lakton (14)

Rastvoru jedinjenja **11** (0.137 g, 0.87 mmol) u anh. acetonu (1.5 mL) doda se 2,2-DMP (0.5 mL, 3.72 mmol) i *p*-TsOH \cdot H $_2$ O (0.001 g, 0.005 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi u toku 1 h, nakon čega se doda jedna kap 10% NaHCO $_3$, upari i prečisti na koloni fleš silikagela (5:2 PE/Me $_2$ CO), pri čemu je dobijeno čisto jedinjenje **14** (0.137 g, 80%).

Beli prah, t_f 97–102 °C (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_D^{25} = +146.0$ (c 0.2, CHCl_3), $R_f = 0.25$ (2:1 PE/Me $_2$ CO).

IR (KBr): ν_{max} 1778 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.34 i 1.45 (2 \times s, po 3 H svaki, CMe_2), 2.42 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.2$ Hz, H-2a), 2.68 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.2$, $J_{2b,3} = 4.2$ Hz, H-2b), 4.12 (t, 1 H, $J_{4,5} = 2.3$, $J_{3,4} = 2.3$ Hz, H-4), 4.51 (bd, 1 H, $J_{5,6} = 5.3$ Hz, H-5), 4.61 (dd, $J_{2b,3} = 4.1$, $J_{3,4} = 2.6$ Hz, H-3), 5.23 (dt, 1 H, $J_{5,7a} = 1.2$, $J_{6,7a} = 10.5$ Hz, $J_{7a,7b} = 1.3$ Hz, H-7a), 5.34 (dt, 1 H, $J_{5,7b} = 1.2$, $J_{6,7b} = 17.1$, $J_{7a,7b} = 1.2$ Hz, H-7b), 5.89 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 6.2$, $J_{6,7b} = 17.1$, $J_{6,7a} = 10.5$ Hz, H-6).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 19.09 i 29.05 (CMe_2), 37.83 (C-2), 67.05 (C-3), 69.40 (C-5), 75.26 (C-4), 97.98 (CMe_2), 118.01 (C-7), 133.48 (C-6), 175.19 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 199.0965 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_4$: 199.0965.

4.35. (4*S*,4*aS*,7*aR*)-4-((*S*)-1,2-dihidroksietil)-2,2-dimetiltetrahidro-6*H*-furo[3,2-*d*][1,3]dioksin-6-on (15)

Postupak A: Suspenziji AD-mix- α (0.560 g) u smesi 1:1 t BuOH/H $_2$ O (2.8 mL) doda se kristalno jedinjenje **14** (0.080 g, 0.4 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 117 h, nakon čega se doda natrijum-sulfit (0.400 g) i mešanje nastavi još 1 h. Sirova reakciona smesa se upari i

ostatak se ekstrahuje dva puta sa EtOAc (3×6 mL) i ⁱPrOH (3×6 mL). Organska faza se upari i prečisti na dve kolone fleš silikagela (19:1 ⁱPrOH/EtOAc), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **15** (0.02 g, 21%; 33% računato na izreagovalo polazno **14**). Pored toga, regenerisano je i polazno jedinjenje **14** (0.028 g, 35%).

Postupak B: Suspenziji AD-mix-β (0.56 g) u smesi 1:1 ^tBuOH/H₂O (2.8 mL) doda se kristalno jedinjenje **14** (0.08 g, 0.4 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 117 h, nakon čega se doda natrijum-sulfit (0.4 g) i mešanje nastavi još 1 h. Sirova reakciona smesa se upari i ekstrahuje dva puta sa EtOAc (3×6 mL) i ⁱPrOH (3×6 mL). Organska faza se upari i prečisti na dve kolone fleš silikagela (19:1 ⁱPrOH/EtOAc), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **15** (0.024 g, 26%; 41% računato na izreagovalo polazno jedinjenje **14**). Takodje je regenerisano i polazno jedinjenje **14** (0.028 g, 36%).

Postupak C: Rastvoru **14** (0.078 g, 0.39 mmol) u smesi 10:1 Me₂CO/H₂O (4 mL) doda se 2.5 wt% OsO₄ u ^tBuOH (0.4 mL, 0.04 mmol) i NMO (0.138 g, 1.18 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 23.5 h nakon čega se upari, a ostatak se prečisti na dve kolone fleš silikagela (1:1 PE/Me₂CO). Dobijeno je čisto jedinjenje **15** (0.091 g, 99.7%).

Bele iglice, tt 139–143 °C (Me₂CO /PE), [α]_D=+80.8 (c 0.1, MeOH), R_f=0.55 (1:1 PE/Me₂CO).

IR (KBr): ν_{max} 3382 (OH), 1765 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 1.24 i 1.41 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 2.25 (d, 1 H, J_{2a,2b}=17.0 Hz, H-2a), 2.95 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=17.0 Hz, J_{2b,3}=4.1 Hz, H-2b), 3.44–3.62 (m, 3 H, H-7 i H-5), 3.93 (dd, 1 H, J_{6,7}=1.6 Hz, J_{5,6}=9.0 Hz, H-6), 4.36–4.50 (m, 2 H, H-4 i OH), 4.65 (m, 1 H, H-3), 4.94 (d, 1 H, J_{7,OH}=5.9 Hz, C₇-OH).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 19.35 i 29.19 (CMe₂), 37.85 (C-2), 62.49 (C-7), 67.49 (C-6), 67.75 (C-3), 69.73 (C-5), 73.15 (C-4), 97.49 (CMe₂), 176.04 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 250.1279 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₀H₂₀NO₆: 250.1285; *m/e* 255.0832 (M⁺+Na), izračunato za C₁₀H₁₆NaO₆: 255.0839; *m/e* 271.0572 (M⁺+K), izračunato za C₁₀H₁₆KO₆: 271.0578.

4.36. (Z)-7-C-Fenil-3,5-O-izopropiliden-2,6,7-trideoksi-D-ido-6-hepteno-1,4-lakton (17)

Rastvoru jedinjenja **15** (0.036 g, 0.16 mmol) u smesi 2:1 MeOH/H₂O (3 mL) doda se NaIO₄ (0.101 g, 0.47 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 3 h, nakon čega se filtruje, talog se ispere anhidrovanim EtOAc, a spojeni filtrati se upare, pri čemu je dobijeno sirovo jedinjenje **16**.

U ohladjeni (−15 °C) rastvor Ph₃PCH₂PhBr (0.075 g, 0.17 mmol) u anh. THF (1 mL) doda se LiHMDS (0.05 mL, 0.31 mmol). Nakon 15 minuta dodat je rastvor sirovog jedinjenja **16** u anh. THF (1.2 mL). Reakciona smesa se meša 1.5 h na −15 °C nakon čega se izlije u zasićen rastvor NH₄Cl (8 mL), ekstrahuje prvo sa CH₂Cl₂ (3×8 mL), a zatim sa EtOAc (2×8 mL). Spojene organske faze se osuše i upare, a ostatak prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 Et₂O/PE → Et₂O) nakon čega su dobijeni čist Z-izomer **17** (0.014 g, 32%) i E-izomer **13** (0.004 g, 8%). Prinos računat na **15**.

Bezbojne pločice, tt 107–109 °C (CH₂Cl₂/heksan), [α]_D=+3.5 (c 0.2, CHCl₃), R_f=0.3 (3:2 Et₂O/PE).

IR (CHCl₃): ν_{max} 1785 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.47 i 1.51 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 2.55 (d, 1 H, J_{2a,2b}=17.2 Hz, H-2a), 2.69 (dd, 1 H, J_{2a,2b}=17.2, J_{2b,3}=4.1 Hz, H-2b), 4.07 (t, 1 H, J_{4,5}=2.4 Hz, J_{3,4}=2.4 Hz, H-4), 4.58 (dd, 1 H, J_{3,4}=2.7, J_{2b,3}=3.8 Hz, H-3), 4.93 (dd, 1 H, J_{4,5}=2.1, J_{5,6}=9.0 Hz, H-5), 6.03 (dd, 1 H, J_{6,7}=11.5, J_{5,6}=9.0 Hz, H-6), 6.83 (d, J_{6,7}=11.5 Hz, H-7), 7.19–7.44 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 19.29 i 29.43 (CMe₂), 38.08 (C-2), 64.90 (C-5), 67.14 (C-3), 75.23 (C-4), 98.36 (CMe₂), 126.32 (C-6), 127.72, 128.40, 128.43, 136.24 (Ph), 134.93 (C-7), 174.96 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 292.1535 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₆H₂₂NO₄: 292.1543.

4.37. (Z)-2-Deoksi-7-C-fenil-D-ido-6-hepteno-1,4-lakton (18)

Jedinjenje **17** (0.081 g, 0.3 mmol) se doda u prethodno ohladjen (0 °C) rastvor TFA/H₂O (1:1, 1.65 mL). Reakciona smesa se meša na 0 °C u toku 1.5 h nakon čega se kodestiluje sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (7:3 PE/Me₂CO) nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **18** (0.061 g, 88%).

Duge igle, tt 136–140 °C (Me₂CO/heksan), [α]_D=−21.5 (c 0.2, MeOH), R_f=0.43 (3:2 PE/Me₂CO).

IR (KBr): ν_{max} 3471, 3366 (OH), 1771 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 2.30 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.0$, $J_{2a,3}=2.0$ Hz, H-2a), 2.81 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.0$, $J_{2b,3}=5.3$ Hz, H-2b), 4.25–4.43 (m, 2 H, H-3 i H-4), 4.72 (m, 1 H, H-5), 5.28 (d, 1 H, $J_{5,\text{OH}}=6.5$ Hz, C₅-OH), 5.36 (d, 1 H, $J_{3,\text{OH}}=4.5$ Hz, C₃-OH), 5.70 (dd, 1 H, $J_{6,7}=11.7$, $J_{5,6}=9.7$ Hz, H-6), 6.58 (d, 1H, $J_{6,7}=11.8$ Hz, H-7), 7.18–7.44 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 39.69 (C-2), 64.94 (C-5), 67.31 (C-3), 86.74 (C-4), 127.47 (C-6), 128.45, 129.10, 130.00, 136.67 (Ph), 131.90 (C-7), 176.21 (C-1).

4.38. Kardiobutanolid (V) i (6*S*,7*S*)-kardiobutanolid (Vc)

Postupak A: Rastvoru **18** (0.040 g, 0.17 mmol) u smesi 10:1 Me₂CO/H₂O (2 mL) doda se NMO (0.059 g, 0.51 mmol) i 2.5 wt% rastvor OsO₄ u ^tBuOH (0.17 mL, 0.02 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 3 h i upari. Ostatak se prečisti na dve kolone fleš silikagela (4:1 EtOAc/PE→EtOAc), pri čemu su izolovana čista jedinjenja **Vc** (0.016 g, 35%) i **V** (0.011 g). Preostali manje čist proizvod **V** je dodatno prečišćen preparativnom TLC (EtOAc). Izolovano je ukupno 0.023 g čistog jedinjenja **V** (51%).

Postupak B: Jedinjenju **19** (0.046 g, 0.15 mmol) ohladjenom na 0 °C doda se smesa 4:1 TFA/H₂O (1.7 mL). Reakciona smesa se meša 105 minuta na 0 °C, a zatim na sobnoj temperaturi još 75 minuta. Reakciona smesa se kodestiluje sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a ostatak se prečisti na dve kolone fleš silikagela (EtOAc). Pri tome se dobija čisto jedinjenje **Vc** (0.027 g, 68%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za prirodni proizvod **V**:

Beli prah, *tt* 190–191 °C (Me₂CO/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}=+3.7$ (*c* 0.3, MeOH), lit.¹⁰ 189–190 °C (Me₂CO), $[\alpha]_{\text{D}}=+6.4$ (*c* 0.3, MeOH), $R_f=0.36$ (EtOAc), lit.⁶⁸ $[\alpha]_{\text{D}}=+5.5$ (*c* 0.3, MeOH).

IR (KBr): ν_{max} 3516, 3477, 3376 (OH), 1759 (C=O).

400 MHz ^1H NMR (acetone- d_6 +D₂O): δ 2.43 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=17.5$ Hz, H-2a), 2.91 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.4$ Hz, $J_{2b,3}=4.9$ Hz, H-2b), 3.90 (dd, 1H, 1 H, $J_{6,7}=8.1$, $J_{5,6}=1.4$ Hz, H-6), 4.38 (dd, 1H, $J_{5,6}=1.4$, $J_{4,5}=8.1$ Hz, H-5), 4.55–4.61 (m, 2 H, H-3 i H-4), 4.77 (d, 1 H, $J_{6,7}=8.1$ Hz, H-7), 7.18–7.44 (m, 5 H, Ph).

100 MHz ^{13}C NMR Spektar (acetone- d_6): δ 39.52 (C-2), 67.67 (C-3), 67.79 (C-5), 73.31 (C-6), 74.58 (C-7), 85.78 (C-4), 126.98, 127.10, 127.74, 143.36 (Ph), 175.33 (C-1).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **Vc**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{20} = +20.5$ (c 0.2, MeOH), $R_f = 0.33$ (EtOAc).

IR (MeOH): ν_{\max} 3391 (OH), 1766 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 2.36 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.1$, $J_{2a,3} = 3.7$ Hz, H-2a), 2.88 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.2$, $J_{2b,3} = 6.6$ Hz, H-2b), 3.56 (m, 1 H, $J_{5,6} = 7.6$, $J_{4,5} = 4.1$ Hz, H-5), 3.72 (m, 1 H, $J_{5,6} = 7.6$, $J_{6,7} = 4.7$, H-6), 4.38–4.62 (m, 2 H, H-3 i H-4), 4.78 (t, 1 H, $J_{7,\text{OH}} = 4.3$, $J_{6,7} = 4.4$ Hz, H-7), 4.97 (d, 1 H, $J_{6,\text{OH}} = 5.6$ Hz, C₆-OH), 5.04 (d, 1 H, $J_{5,\text{OH}} = 4.9$ Hz, C₅-OH), 5.35 (d, 1 H, $J_{7,\text{OH}} = 4.3$, C₇-OH), 5.43 (d, 1 H, $J_{3,\text{OH}} = 4.0$ Hz, C₃-OH), 7.12–7.47 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 38.38 (C-2), 67.77 (C-3), 70.43 (C-5), 72.77 (C-7), 73.31 (C-6), 82.97 (C-4), 126.68, 127.29, 127.99, 142.41 (Ph), 175.89 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 291.0854 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NaO}_6$: 291.0839.

4.39. (7S)-kardiobutanolid (Va) i (6S)-kardiobutanolid (Vb)

Postupak A: Rastvoru **12** (0.057 g, 0.24 mmol) u smesi 10:1 $\text{Me}_2\text{CO}/\text{H}_2\text{O}$ (2.9 mL) doda se NMO (0.086 g, 0.73 mmol) i 2.5 wt% rastvor OsO_4 u $t\text{-BuOH}$ (0.3 mL; 0.02 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 1 h, nakon toga se upari, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (EtOAc). Nečiste frakcije su dodatno prečišćene preparativnom TLC. Hromatogrami su razvijeni dva puta u EtOAc. Izolovana su čista jedinjenja **Va** (0.01 g, 16%) i **Vb** (0.018 g, 28%).

Postupak B: Ohladjen (0 °C) rastvor jedinjenja **20** (0.028 g, 0.09 mmol) u smesi 4:1 TFA/ H_2O (1 mL) meša se na 0 °C u toku 1.5 h, a zatim se upari kodestilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (49:1 EtOAc/ $i\text{-PrOH}$), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **Va** (0.021 g, 86%).

Postupak C: Prethodno ohladjen (0 °C) rastvor jedinjenja **21** (0.028 g, 0.09 mmol) u 4:1 smesi TFA/ H_2O (1 mL) meša se 150 minuta na 0 °C, a zatim još 105 minuta na sobnoj temperaturi. Reakciona smesa se upari kodestilacijom sa toluenom a ostatak se prečisti fleš hromatografijom (EtOAc) dajući čisto jedinjenje **Vb** (0.02 g, 84%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **Va**:

Beli prah, t_f 165–168 °C (EtOAc/ $i\text{-PrOH}$), $[\alpha]_D^{20} = +10.3$ (c 0.3, MeOH), $R_f = 0.2$ (49:1 EtOAc/ $i\text{-PrOH}$).

IR (KBr): ν_{\max} 3364 (OH), 1761 i 1744 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 2.17 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=17.1$ Hz, H-2a), 2.88 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.1$, $J_{2b,3}=4.9$ Hz, H-2b), 3.40 (m, 1 H, H-5, prekriven sa H_2O), 3.71 (bt, 1 H, $J_{6,\text{OH}}=6.1$, $J_{6,7}=6.1$, H-6), 4.33 (m, H-3), 4.40 (t, 1 H, $J_{3,4}=3.2$, $J_{4,5}=8.3$ Hz, H-4), 4.65 (dd, 1 H, $J_{6,7}=6.5$, $J_{7,\text{OH}}=3.6$ Hz, H-7), 4.76 (d, 1 H, $J_{6,\text{OH}}=6.1$ Hz, C₆-OH), 4.92 (d, 1 H, $J_{5,\text{OH}}=7.0$ Hz, C₅-OH), 5.17 (m, 2 H, C₇-OH i C₃-OH), 7.16–7.40 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 40.04 (C-2), 66.73 (C-3), 68.99 (C-5), 74.01 (C-6), 74.12 (C-7), 86.65 (C-4), 126.92, 127.23, 127.70, 142.77 (Ph), 176.10 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 291.0848 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NaO}_6$: 291.0839.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **Vb**:

Beo lepljiv prah, t_f 134–142 °C (Me_2CO /heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+8.0$ (c 0.3, MeOH), $R_f=0.33$ (EtOAc).

IR (KBr): ν_{\max} 3494, 3431, 3324 (OH), 1752 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (DMSO- d_6 + D_2O): δ 2.40 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.2$ Hz, H-2a), 2.76 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.0$, $J_{2b,3}=6.7$ Hz, H-2b), 3.40 (dd, 1 H, $J_{5,6}=8.9$, $J_{6,7}=1.2$ Hz, H-6), 4.00 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.4$, $J_{5,6}=9.1$, H-5), 4.54 (m, H-3 i H-4), 4.88 (bs, 1 H, H-7), 4.66 (d, izmenjiv sa D_2O , 1 H, $J=8.6$ Hz), 5.05 (d, izmenjiv sa D_2O , 1 H, $J=5.7$ Hz, OH), 5.15 (d, izmenjiv sa D_2O , 1 H, $J=6.2$ Hz, OH), 5.48 (d, izmenjiv sa D_2O , 1 H, $J=3.8$ Hz, OH), 7.08–7.50 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 38.12 (C-2), 67.91 (C-3), 68.58 (C-5), 70.35 (C-7), 74.27 (C-6), 82.76 (C-4), 126.29, 126.41, 127.54, 144.30 (Ph), 175.81 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 291.0851 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NaO}_6$: 291.0839.

4.40. 3,5-*O*-Izopropiliden-(6*S*,7*S*)-kardiobutanolid (19)

Postupak A: Suspenziji AD-mix- α (0.35 g) u smesi 1:1 $^t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2 mL) doda se kristalno jedinjenje **17** (0.051 g, 0.18 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 6 dana, a zatim se obradi dodatkom natrijum-sulfita (0.257 g) uz mešanje na sobnoj temperaturi još 1 h. Reakciona smesa se upari, a ostatak se sukcesivno ekstrahuje sa Et_2O (2×10 mL), EtOAc (2×10 mL), EtOAc/ $^i\text{PrOH}$ (1:1, 2×10 mL) i CH_2Cl_2 (2×10 mL). Spojene organske faze se upare a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (Et_2O). Pri tome je dobijeno čisto jedinjenje **19** (0.025 g, 44%; 54% računato na izreagovalo polazno jedinjenje), a regenerisano je polazno jedinjenje **7** (0.01 g, 20%).

Postupak B: Suspenziji AD-mix- β (0.24 g) u smesi 1:1 ^tBuOH/H₂O (1.8 mL) doda se kristalno jedinjenje **17** (0.051 g, 0.18 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 49 h, nakon čega se doda još jedna porcija AD-mix- β (0.12 g). Nakon ukupno 6 dana, u reakcionu smesu se doda natrijum-sulfit (0.257 g) i mešanje se na sobnoj temperaturi nastavi još 1 h. Reakciona smesa se rasporedi između EtOAc (7 mL) i H₂O (7 mL), organska faza se odvoji, a vodena faza se sukcesivno ekstrahuje sa EtOAc (5×7 mL), 9:1 smesom EtOAc/ⁱPrOH (2×5 mL) i CH₂Cl₂ (2×5 mL). Organske faze se osuše i upare, a ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (Et₂O). Pri tome je dobijeno čisto jedinjenje **19** (0.023 g, 40%; 49% računato na izreagovalo **17**), a regenerisano je i polazno jedinjenje **17** (0.001 g, 20%).

Postupak C: Rastvoru jedinjenja **17** (0.028 g, 0.1 mmol) u 10:1 smesi Me₂CO/H₂O (1.5 mL) doda se NMO (0.036 g, 0.31 mmol) i 2.5 wt% rastvor OsO₄ u ^tBuOH (0.1 mL, 0.01 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 4 h, a zatim se upari i prečisti preparativnom TLC (EtOAc). Dobijeno je čisto jedinjenje **19** (0.02 g, 63%).

Bele iglice, *t*_m 165–168 °C (CH₂Cl₂/heksan), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +39.0$ (*c* 0.2, MeOH), *R*_f = 0.26 (Et₂O).

IR (KBr): ν_{max} 3428 (OH), 1773 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 1.30 i 1.32 (2×s, po 3 H svaki, CMe₂), 2.24 (d, 1 H, *J*_{2a,2b} = 17.0 Hz, H-2a), 2.91 (dd, 1 H, *J*_{2a,2b} = 17.0, *J*_{2b,3} = 4.1 Hz, H-2b), 3.41 (m, 1 H, H-5, prekriven sa H₂O), 3.97 (ddd, 1 H, *J*_{6,7} = 2.4, *J*_{6,OH} = 4.5, *J*_{5,6} = 9.5 Hz, H-6), 4.28 (dd, *J*_{3,4} = 2.0, *J*_{4,5} = 2.0 Hz, H-4), 4.57 (m, 1 H, H-3), 4.72 (dd, 1 H, *J*_{6,7} = 2.4, *J*_{6,OH} = 4.5 Hz, H-7), 5.20 (d, 1 H, *J*_{6,OH} = 4.7 Hz, C₆-OH), 5.26 (d, 1 H, *J*_{7,OH} = 4.5 Hz, C₇-OH), 7.17–7.42 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 19.03 i 29.17 (CMe₂), 37.78 (C-2), 67.64 (C-6), 68.10 (C-5), 71.89 (C-3), 72.29 (C-7), 73.02 (C-4), 97.45 (CMe₂), 126.77, 127.09, 128.18, 140.76 (Ph), 175.95 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 326.1592 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₆H₂₄NO₆: 326.1598; *m/e* 331.1145 (M⁺+Na), izračunato za C₁₆H₂₀NaO₆: 331.1152; *m/e* 347.0894 (M⁺+K), izračunato za C₁₆H₂₀KO₆: 347.0892.

4.41. 3,5-*O*-Izopropiliden-(7*S*)-kardiobutanolid (**20**)

Suspenziji AD-mix- α (0.745 g) u smesi 1:1 ^tBuOH/H₂O (5 mL) doda se kristalno jedinjenje **13** (0.146 g, 0.53 mmol). Reakciona smesa se meša na sobnoj temperaturi 48 h, nakon čega se doda

natrijum-sulfit (0.73 g) i mešanje nastavi još 1 h. Reakciona smesa se upari, a ostatak se sukcesivno ekstrahuje sa Me_2CO (2×10 mL), sa smesom 1:1 EtOAc/ i PrOH (2×10 mL) i EtOAc (2×10 mL). Ekstrakcija se ponovi još jednom a spojeni ekstrakti se upare. Ostatak se prečisti na koloni fleš silikagela (3:2 heksan/ Me_2CO), nakon čega je dobijeno čisto jedinjenje **20** (0.07 g, 43%; 49% računato na izreagovalo **13**) i regenerisano polazno jedinjenje **13** (0.018 g, 12%).

Bezbojne igle, t_t 142–145 °C (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_D^{20} = +20.0$ (c 0.2, MeOH), $R_f = 0.42$ (EtOAc).

IR (KBr): ν_{max} 3491 i 3416 (OH), 1788 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar ($\text{DMSO-}d_6$): δ 1.30 i 1.45 ($2 \times s$, po 3 H svaki, CMe_2), 2.31 (d, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.0$ Hz, H-2a), 2.96 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.1$, $J_{2b,3} = 4.2$ Hz, H-2b), 3.67 (td, 1 H, $J_{6,7} = 1.5$, $J_{6,\text{OH}} = 7.1$, $J_{5,6} = 8.1$ Hz, H-6), 4.21 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.1$, $J_{4,5} = 1.7$ Hz, H-5), 4.56 (t, 1 H, $J_{3,4} = 2.0$, $J_{4,5} = 2.0$ Hz, H-4), 4.61 (d, 1 H, $J_{6,\text{OH}} = 6.9$ Hz, C₆-OH), 4.65–4.79 (m, 2 H, H-3 i H-7), 5.31 (d, 1 H, $J_{7,\text{OH}} = 6.9$ Hz, C₇-OH), 7.16–7.40 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar ($\text{DMSO-}d_6$): δ 19.36 i 29.35 (CMe_2), 37.39 (C-2), 67.42 (C-3), 70.09 (C-5), 71.22 (C-7), 73.30 (C-4), 73.83 (C-6), 97.83 (CMe_2), 126.44, 127.62, 127.90, 143.60 (Ph), 176.09 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 326.1593 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{NO}_6$: 326.1598; m/e 331.1147 ($\text{M}^+ + \text{Na}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NaO}_6$: 331.1152; m/e 347.0891 ($\text{M}^+ + \text{K}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{KO}_6$: 347.0892.

4.42. 3,5-*O*-Izopropiliden-(6*S*)-kardiobutanolid (21)

Smesi 1:1 t BuOH/ H_2O (2.2 mL) doda se AD-mix- β (0.448 g). Nakon 10 minuta u rastvor se doda kristalno jedinjenje **13** (0.064 g, 0.23 mmol). Rezultujuća smesa se meša na sobnoj temperaturi 26 h, nakon čega se doda natrijum-sulfit (0.32 g) i mešanje nastavi još 1 h. Reakciona smesa se upari a ostatak se sukcesivno ekstrahuje sa EtOAc (4×5 mL) i 1:1 EtOAc/ i PrOH (4×5 mL), upari i ostatak se prečisti na tri kolone fleš silikagela (EtOAc). Pri tome je dobijeno čisto jedinjenje **21** (0.033 g, 46%).

Bele iglice, t_t 149–152 °C (CH_2Cl_2 /heksan), $[\alpha]_D^{20} = +36.5$ (c 0.2, MeOH), $R_f = 0.43$ (Et_2O).

IR (KBr): ν_{max} 3426 (OH), 1771 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 1.30 i 1.46 ($2\times s$, po 3 H svaki, CMe_2), 2.27 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=17.0$ Hz, H-2a), 2.97 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.0$, $J_{2b,3}=4.2$ Hz, H-2b), 3.58 (bt, 1 H, $J=9.1$ Hz, H-6), 4.18 (dd, 1 H, $J_{5,6}=9.2$, $J_{4,5}=1.8$ Hz, H-5), 4.46 (t, 1 H, $J_{3,4}=2.0$, $J_{4,5}=2.0$ Hz, H-4), 4.65 (m, 2 H, H-3 i H-7), 4.77 (d, 1 H, $J_{6,\text{OH}}=8.6$ Hz, C₇-OH), 5.21 (d, 1 H, $J_{7,\text{OH}}=6.3$ Hz, C₆-OH), 7.14–7.41 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (DMSO- d_6): δ 19.30 i 29.20 (CMe_2), 37.82 (C-2), 67.49 (C-5), 67.81 (C-3), 70.26 (C-7), 72.63 (C-6), 73.39 (C-4), 97.45 (CMe_2), 126.77, 126.87, 128.51, 140.75 (Ph), 175.93 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 326.1592 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{NO}_6$: 326.1598; m/e 331.1146 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NaO}_6$: 331.1152; m/e 347.0890 ($\text{M}^+\text{+K}$), izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{KO}_6$: 347.0892.

4.43. (6*S*,7*S*)-3,5-*O*-Izopropiliden-6,7-karbonat-kardiobutanolid (22)

Suspenziji jedinjenja **19** (0.024 g, 0.08 mmol) u anh. toluenu (1 mL) doda se Im_2CO (0.031 g, 0.19 mmol). Reakciona smesa se meša na 80 °C u toku 165 minuta, nakon čega se upari i prečisti na koloni fleš silikagela (4:1 $\text{Et}_2\text{O/PE}$), dajući čisto jedinjenje **22** (0.021 g, 82%).

Bezbojne pločice, t_f 232–235 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{heksan}$), $[\alpha]_D^{20} = +58.0$ (c 0.3, CHCl_3), $R_f = 0.47$ (Et_2O).

IR (KBr): ν_{max} 1806 (C=O, karbonat), 1785 (C=O, lakton).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 0.65 i 1.16 ($2\times s$, po 3 H svaki, CMe_2), 2.42 (d, 1 H, $J_{2a,2b}=17.2$ Hz, H-2a), 2.91 (dd, 1 H, $J_{2a,2b}=17.3$, $J_{2b,3}=4.2$ Hz, H-2b), 3.73 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.1$, $J_{5,6}=9.6$ Hz, H-5), 4.22 (t, 1 H, $J_{3,4}=2.3$, $J_{4,5}=2.3$ Hz, H-3), 4.46 (dd, 1 H, $J_{3,4}=2.6$, $J_{2b,3}=4.0$ Hz, H-3), 5.12 (dd, 1 H, $J_{6,7}=7.9$, $J_{5,6}=9.6$ Hz, H-6), 5.84 (d, 1 H, $J_{6,7}=7.9$ Hz, H-7), 7.51–7.29 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 17.78 i 28.48 (CMe_2), 37.82 (C-2), 65.60 (C-5), 67.04 (C-3), 71.97 (C-4), 76.20 (C-6), 79.93 (C-7), 97.96 (CMe_2), 127.10, 128.36, 129.48, 132.91 (Ph), 153.80 (C=O iz karbonata), 174.30 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 352.1394 ($\text{M}^+\text{+NH}_4$), izračunato za $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{NO}_7$: 352.1391; m/e 357.0945 ($\text{M}^+\text{+Na}$), izračunato za $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NaO}_7$: 357.0945; m/e 335.1128 ($\text{M}^+\text{+H}$), izračunato za $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_7$: 335.1125.

4.44. 2-Deoksi-L-glicero-D-ido-heptono-1,4-lakton (Vd)

Jedinjenju **15** (0.055 g, 0.24 mmol) ohladjenom na 0 °C doda se 4:1 TFA/H₂O (1.4 mL) i meša 1 h. Reakciona smesa se kodestiluje sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode i prečisti na dve kolone fleš silikagela (9:1 EtOAc/MeOH). Dobijeno je čisto jedinjenje **Vd** (0.037 g, 82%).

Bezbojni sirup, $[\alpha]_D^{20} = +23.5$ (c 0.2, MeOH), $R_f = 0.28$ (9:1 EtOAc /MeOH).

IR (MeOH): ν_{\max} 3394 (OH), 1768 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (DMSO-*d*₆+H₂O): δ 2.34 dd (1 H, $J_{2a,2b} = 17.5$, $J_{2a,3} = 2.3$ Hz, H-2a), 2.77 (dd, 1 H, $J_{2a,2b} = 17.5$, $J_{2b,3} = 5.7$ Hz, H-2b), 3.40 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 5.4$, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, H-7a), 3.48 (m, 1 H, H-6), 3.57 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 3.0$, $J_{7a,7b} = 10.5$ Hz, H-7b), 3.78 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 7.0$, $J_{4,5} = 4.2$ Hz, H-5), 4.50 (m, 2 H, H-4 i H-3).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (DMSO-*d*₆): δ 38.54 (C-2), 62.73 (C-7), 67.66 (C-3), 69.61 (C-5), 71.07 (C-6), 83.18 (C-4), 175.96 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 231.0254 (M⁺+K), izračunato za C₇H₁₂KO₆: 231.0266.

4.45. Metil 7-C-fenil-5,7-karbonil-D-gluko-hept-2-enoat (23)

Rastvor jedinjenja **5** (0.133 g, 0.46 mmol) u 9:1 TFA/H₂O (1.9 mL) mešan je na 0 °C tokom 30 minuta i zatim još 1.5 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smesa je uparena kodestilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (24:1 CH₂Cl₂/MeOH) pri čemu je izolovano čisto (higroskopno) jedinjenje **7** (0.115 g, 100%).

Suspenziji 95% NaH (0.014 g, 0.57 mmol) u anh. THF (1.7 mL) na 0 °C dodat je TMPA (0.15 mL, 0.91 mmol) kap po kap. Rezultujuća smesa je zagrejana do sobne temperature i mešana 40 minuta. Smesa je potom ponovo ohladjena na 0 °C, nakon čega je dodat rastvor jedinjenja **7** (0.115 g, 0.46 mmol) u anh. THF (1.3 mL). Reakciona smesa je mešana na 0 °C u toku 5 minuta i potom je hladjenje prekinuto a mešanje je nastavljeno još 1 h na sobnoj temperaturi. Reakciona smesa je izlivena u zasićen rastvor NH₄Cl i potom ekstrahovana sa EtOAc (4×7 mL). Organske faze su spojene, osušene i uparene. Dvostrukim prečišćavanjem fleš hromatografijom (3:2 Et₂O/PE) dobijeno je čisto jedinjenje **23** (0.104 g, 74%).

Bezbojne igle, *t*_m 96–99 °C (CH₂Cl₂/heksan), [α]_D=+2.0 (*c* 0.2, CHCl₃), *R*_f=0.38 (19:1 DIPE/MeOH).

IR (film): ν_{\max} 3448 (OH), 1785 i 1707 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 3.67 (s, 3 H, CH₃), 3.78 (bs, 3 H, H-4 i 2×OH), 4.68 (dd, 1 H, *J*_{4,5}=2.8, *J*_{5,6}=5.1 Hz, H-5), 4.80 (dd, 1 H, *J*_{6,7}=3.3, *J*_{5,6}=5.1 Hz, H-6), 5.10 (d, 1 H, *J*_{6,7}=3.4 Hz, H-7), 5.96 (dd, 1 H, *J*_{2,4}=1.1, *J*_{2,3}=15.7 Hz, H-2), 6.65 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=4.8, *J*_{2,3}=15.7 Hz, H-3), 7.28–7.40 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 51.91 (CO₂CH₃), 70.54 (C-4), 71.48 (C-7), 78.17 (C-5), 80.72 (C-6), 123.13 (C-2), 125.89, 128.57, 128.90, 136.69 (Ph), 143.53 (C-3), 155.02 (C=O karbonat), 166.45 (C-1).

HRMS (ESI): *m/e* 326.1223 (M⁺+NH₄), izračunato za C₁₅H₂₀NO₇: 326.1234; *m/e* 331.0778 (M⁺+Na), izračunato za C₁₅H₁₆NaO₇: 331.0788, *m/e* 347.0521 (M⁺+K), izračunato za C₁₅H₁₆KO₇: 347.0528.

4.46. 3-Deoksi-kardiobutanolid (Ve)

Suspenzija jedinjenja **23** (0.047 g, 0.15 mmol) i PtO₂ (0.001 g, 0.004 mmol) u aps. MeOH (1 mL) hidrogenovana je na sobnoj temperaturi u toku 12 h. Nakon što je dovod vodonika prekinut u reakcionu smesu je dodata prva od tri ekvivalentne porcije 0.1 M NaOMe (0.6 mL, 0.06 mmol). Nakon 1 h je dodata druga porcija, a nakon 2 h treća. Nakon ukupno 15 h u reakcionu smesu je dodata 2:1 TFA/H₂O (3 mL) i mešanje nastavljeno 0.5 h. Reakciona smesa je uparena kodestilacijom sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a ostatak je prečišćen na koloni fleš silikagela (EtOAc). Pri tome je dobijeno čisto jedinjenje **Ve** (0.029 g, 74%).

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za **Ve**:

Beli prah, *t*_m 108–112 °C (CH₂Cl₂/heksan), [α]_D=–11.1 (*c* 0.4, CHCl₃), *R*_f=0.34 (EtOAc).

IR (CHCl₃): ν_{\max} 3407 (OH), 1760 (C=O).

250 MHz ¹H NMR Spektar (acetone-*d*₆+D₂O): δ 1.80 (m, 1 H, H-3a), 2.17–3.36 (m, 1 H, H-3b), 2.39–2.60 (m, 2 H, H-2), 3.67 (d, 2 H, *J*_{5,6}=2.0 Hz, *J*_{6,7}=7.7 Hz, H-6), 3.89 (dd, 1 H, *J*_{4,5}=6.3 Hz, *J*_{5,6}=2.0 Hz, H-5), 4.65 (m, 1 H, *J*_{4,5}=6.3 Hz, H-4), 4.73 (d, 1 H, *J*_{6,7}=7.7 Hz, H-7), 7.14–7.43 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (aceton- d_6 + D_2O): δ 24.72 (C-2), 28.96 (C-3), 73.21 (C-5), 73.96 (C-6), 74.50 (C-7), 83.17 (C-4), 127.76, 127.84, 128.53 i 143.59 (Ph), 178.98 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 275.0890 (M^+ +Na), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NaO}_5$: 275.0890; m/e 291.0639 (M^+ +K), izračunato za $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{KO}_5$: 291.0629.

Iz reakcione smese su izolovane minimalne količine intermedijera **24** i **25** (Shema 3.30.) u cilju karakterizacije:

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **24**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +17.5$ (c 0.2, CHCl_3), $R_f = 0.30$ (19:1 DIPE/MeOH).

IR (film): ν_{max} 3454 (OH), 1786 i 1720 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3 + D_2O): δ 1.62 (m, 2 H, CH_2 -3), 2.31 (t, 2 H, CH_2 -2), 3.03 (m, 1 H, H-4), 3.60 (s, 3 H, CH_3), 4.55 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.4$, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, H-5), 4.78 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 5.0$, $J_{6,7} = 3.8$ Hz, H-6), 5.10 (d, 1 H, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, H-7), 7.28–7.48 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3 + D_2O): δ 27.39 (C-3), 29.95 (C-2), 51.80 (CO_2CH_3), 70.44 (C-4), 71.41 (C-7), 79.14 (C-5), 81.14 (C-6), 125.96, 128.27, 128.71, 137.15 (Ph), 155.45 (C=O karbonat), 174.25 (C-1).

HRMS: m/e 328.1398 (M^+ + NH_4), izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_7$: 328.1391; m/e 333.0950 (M^+ +Na), izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NaO}_7$: 333.0945.

Fizičke konstante i spektroskopski podaci za proizvod **25**:

Bezbojni sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +72.0$ (c 0.1, CHCl_3), $R_f = 0.23$ (4:1 Et_2O /PE).

IR (film): ν_{max} 3446 (OH) i 1790 (C=O).

250 MHz ^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 1.96–2.23 (m, 2 H, $2 \times \text{H}$ -3), 2.32–2.64 (m, 2 H, $2 \times \text{H}$ -2), 3.36 (bs, 1 H, OH), 3.84 (td, 1 H, $J_{4,5} = 1.9$, $J_{3,4} = 6.6$ Hz, H-4), 4.72 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.0$, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, H-5), 4.82 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 3.5$, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, H-6), 5.19 (d, $J_{6,7} = 3.5$ Hz), 7.30–7.53 (m, 5 H, Ph).

62.5 MHz ^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 23.08 (C-3), 27.77 (C-2), 70.97 (C-7), 76.85 (C-5), 77.98 (C-4), 80.73 (C-6), 125.71, 128.66, 129.01, 136.59 (Ph), 153.96 (C=O karbonat), 176.14 (C-1).

HRMS (ESI): m/e 296.1116 (M^+ + NH_4), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_6$: 296.1129; m/e 301.0675 (M^+ +Na), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{NaO}_6$: 301.0683, m/e 317.0414 (M^+ +K), izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{KO}_6$: 317.0422.

5. ZAKLJUČAK

U radu je ostvarena totalna sinteza prirodnih stiril-laktona goniobutenolida A (**I**), B (**II**), krasalaktona D (**III**) i 3-deoksi-kardiobutanolida (**Ve**) iz zajedničkog intermedijera **7**. Laktol **7** je sintetizovan iz **3**, koji se lako dobija iz D-glukoze, nakon zaštite slobodnih hidroksilnih grupa u obliku cikličnog karbonata uz naknadnu hidrolizu 1,2-*O*-izopropilidenske zaštite. Ključni korak sinteze je nova *one pot* kaskadna sekvenca koja počinje *Z*-selektivnom Wittig-ovom (ili HWE-ovom) olefinacijom, a intermedijerno nagradjeni olefin naknadno podleže spontanoj laktonizaciji. Bazna sredina reakcione smese omogućava deprotonaciju vodonika sa C-4, što dalje vodi do spontane dekarboksilacije i nastajanja **I** i **II**. Viši prinos **I** i **II** je dobijen u uslovima HWE olefinacije (44%, *Z/E* ~ 2:1) nego u uslovima Wittig-ove olefinacije (30%, *Z/E* ~ 2:1). U ovim reakcijama kao sporedni proizvodi nastali su krasalakton D (**III**) i njegov C-4 epimer **IV**, kao posledica 5-*endo*-trig spirociklizacije **I** i **II** uzrokovano nukleofilnim napadom hidroksilne grupa sa C-7 na C-4. Nakon produženja vremena Wittig-ove reakcije i optimizacije reakcionih uslova spirolaktoni **III** i **IV** su izolovani kao glavni reakcioni proizvodi (**III/IV** ~ 1:2, 51%). Tretmanom manje stabilnog izomera **IV** sa TFA u hloroformu formirana je 2:1 smesa **III/IV** (97%). Primenom iste reakcione sekvence na alkohol **4** dobijen je laktol **8** koji je zatim preveden u odgovarajuće 7-epimere: (7*S*)-goniobutenolid A (**VIII**) i B (**IX**), (7*S*)-krasalakton D (**VI**) i (4*R*,7*S*)-krasalakton D (**VII**).

Stereoselektivnom olefinacijom laktola **7** sa trimetil-fosfonoacetatom dobijen je *E*-enoat **22**. „One-pot“ hidrogenovanje **22**, u prisustvu PtO₂, uz naknadno uklanjanje karbonatne zaštite natrijum-metoksidom, bilo je praćeno laktonizacijom, pri čemu je dobijen 3-deoksi-kardiobutanolid (**Ve**; 74%).

Esterifikacijom laktona **III**, **IV**, **VI** i **VII** sa cinamoil-hloridom, 4-nitrocinaoail-hloridom, 4-metoksicimetnom kiselinom i 4-fluorocimetnom kiselinom sintetizovani su odgovarajući cinamoati **IIIa-d**, **IVa-d**, **VIa-d** i **VIIa-d**.

Haloeterifikacijom nezasićenih laktona **I**, **II**, **VIII** i **IX** sintetizovani su odgovarajući halogenidni derivati krasalaktona D (**IIIe,f**, **IVe-h**, **VIe,f** i **VIIe-g**).

Sinteza prirodnog kardiobutanolida (**V**), njegovih stereoizomera **Va–c** i defenilovanog analoga **Vd** ostvarena je iz zajedničkog intermedijera **11**, koji je dobijen iz D-ksiloze u tri sintetske faze, koje obuhvataju: kondenzaciju D-ksiloze sa Meldrum-ovom kiselinom, supstituciju primarne hidroksilne grupe jodom i reduktivno otvaranje THF prstena sa aktiviranim Zn. Zaštitom slobodnih hidroksilnih grupa **11** dobijen je acetonid **14**. Ukrštenom olefinskom metatezom **11** i **14** sa stirenom, u prisustvu Grubbs-ovog katalizatora druge generacije, formirani su *E*-olefini **12** i **13**. Dihidroksilacijom **12** sa OsO₄ finalizovana je efikasna petofazna sinteza (7*S*)-kardiobutanolida (**Va**) i (6*S*)-kardiobutanolida (**Vb**) bez upotebe zaštitnih grupa. Selektivna sinteza **Va** i **Vb** postignuta je asimetričnom dihidroksilacijom **13** sa AD-mix- α , odnosno β koja je praćena hidrolitičkim uklanjanjem izopropilidenske zaštite diola **20** i **21**. Kardiobutanolid (**V**) i njegov 6*S*,7*S*-stereoizomer **Vc** su dobijeni dihidroksilacijom *Z*-olefina **18**, koji je sintetizovan reakcionom sekvencom koja obuhvata dihidroksilaciju **14**, oksidativno cepanje diola **15**, olefinaciju aldehida **16** i deprotekciju *Z*-olefina **17**. Defenilovani derivat **Vd** je formiran nakon uklanjanja izopropilidenske zaštite iz **15**.

Nakon sinteze, ispitan je uticaj pet sintetizovanih prirodnih laktona i 36 njihovih derivata i analoga na proliferaciju deset malignih (K562, HL-60, Jurkat, Raji, HT-29, PC3, MDA-MB231, MCF-7, HeLa i A549) i jedne normalne ćelijske linije (MRC-5) primenom MTT testa. Ustanovljeno je da svi ispitan molekuli (**I**, **II**, **III**, **IIIa–f**, **IV**, **IVa–h**, **V**, **Va–e**, **VI**, **VIa–f**, **VII**, **VIIa–g**, **VIII** i **IX**) inhibiraju rast malignih ćelija u većoj ili manjoj meri.

Prema ćelijskoj liniji K562 submikromolarnu aktivnost pokazuju molekuli **I** (IC₅₀ 0.35 μ M), **III** (IC₅₀ 0.12 μ M), **IV** (IC₅₀ 0.54 μ M), **IVh** (IC₅₀ 0.18 μ M), **VII** (IC₅₀ 0.54 μ M), **VIII** (IC₅₀ 0.15 μ M), **V** (IC₅₀ 0.05 μ M) i **Ve** (IC₅₀ 0.54 μ M) pri čemu su **III**, **IVh**, **VIII** i **V** aktivniji od komercijalnog antitumorskog agensa doksorubicina (DOX) 2.1, 1.4, 1.7 i 5 puta. Molekuli **I**, **VII**, **V**, **Vd** i **Ve** su submikromolarnu aktivnost pokazali i prema HL-60 ćelijama, a bili su aktivniji od doksorubicina 3.7, 4.8, 3.8, 1.2 i 10.2 puta, respektivno. Kao najjači inhibitor proliferacije Jurkat ćelija se pokazao bromidni derivat **VIIg** (IC₅₀ 0.03 μ M), ali su izuzetno aktivni i analozi **III**, **IIIa**, **IV**, **VIII**, **V**, **Vd** i **Ve**. Čak 12 jedinjenja je aktivnije od DOX prema ćelijama Burkitt-ovog limfoma (Raji): **III**, **IVa**, **IVg**, **Va**, **VIe**, **VIg**, **VII**, **VIIg**, **V**, **Va**, **Vd** i **Ve**. Prema ćelijama ER⁺ adenokarcinoma dojke (MCF-7) submikromolarnu i mikromolarnu aktivnost pokazuje 29 ispitanih jedinjenja, od kojih su **VIe**, **VIg** i **VIIg** aktivniji od DOX 1.2, 20 i 4 puta. Submikromolarnu i mikromolarnu aktivnost prema MDA-MB 231 ćelijama pokazuje 19 jedinjenja, a prema HeLa 26. Jaku citotoksičnost prema ćelijama adenokarcinoma pluća (A549) pokazuje deset jedinjenja od kojih su čak osam aktivniji od DOX.

Važno je istaći da ni jedno od ispitivanih jedinjenja nije pokazalo aktivnost prema zdravim ćelijama MRC-5, što ukazuje da su oni selektivni antitumorski agensi. Ovu pretpostavku bi trebalo proveriti na većem broju zdravih ćelijskih linija.

Uspostavljanjem korelacionih odnosa između strukture i antitumorske aktivnosti (SAR) u cilju utvrđivanja uticaja prirode funkcionalnih grupa odnosno stereochemije na antitumorsku aktivnost sintetizovanih jedinjenja nadjeno je: (a) da su molekuli sa *Z*-konfiguracijom aktivniji od *E*-izomera; (b) da u slučaju *7R* izomera (**III** i **IV**) promena konfiguracije iz *4S* u *4R* vodi do smanjenja biološke aktivnosti, a u slučaju *7S* izomera (**VI** i **VII**) i svih cinamoata (**IIIa–d**, **IVa–d**, **VIa–d**, **VIIa–d**) ista promena vodi do pojačavanja citotoksičnosti; (c) da u slučaju cikličnih molekula (**III**, **IV**, **VI**, **VII**) *7R* konfiguracija utiče na povećanje antiproliferativne aktivnosti, a kod acikličnih (**I**, **II**, **VIII**, **IX**) i cikličnih estarskih derivata *7S*; (d) da elektron-donorska grupa (OMe) u *para* položaju cinamoil-ostataka utiče povoljnije na antiproliferativnu aktivnost od elektron-akceptorskih grupa (F, NO₂); (e) da prisustvo atoma halogena u strukturi spiro-laktona uglavnom doprinosi povećanju biološke aktivnosti; (f) da prisustvo broma i joda u strukturama ispitanih laktona povoljnije utiče na aktivnost od hlora; (g) da promena konfiguracije na pojedinačnim stereocentrima prirodnog kardiobutanolida (**V**) iz *7R* u *7S* i iz *6R* u *6S*, vodi do smanjenja biološke aktivnosti; (h) da odsustvo fenil-grupe povoljno utiče na povećanje biološke aktivnosti molekula tipa kardiobutanolida; (i) da je prisustvo hidroksilnih grupa u strukturi ovog tipa molekula važno za citotoksičnu aktivnost.

Primenom protočne citometrije je ustanovljeno da 36 od 41 ispitanih novosintetizovanih jedinjenja povećava procenat K562 ćelija u sub G1 fazi u odnosu na kontrolu, od kojih je najpotentniji lakton **IVa** (56.93% ćelija). Visoke vrednosti (>30%) specifične apoptoze detektovane su za 15 jedinjenja, od kojih 7 jedinjenja uvodi u apoptozu više od 80% ćelija. Halogenid **VIIe** indukuje najveći procenat specifične apoptoze (86.29%). Semi-kvantitativnom Western blot metodom je ispitana ekspresija markera apoptoze (Bcl-2, Bax, kaspaza 3, PARP) nakon tretmana K562 ćelija sintetizovanim jedinjenjima, na osnovu čega se može pretpostaviti da 5 jedinjenja (**IVe**, **VIIa,b,d** i **IX**) indukuju apoptozu kaspaza-zavisnim putem, 4 jedinjenja (**IIIb,f**, **VI** i **VIIc**) kaspaza-nezavisnim putem, 17 jedinjenja (**I**, **II**, **IV**, **VII**, **VIII**, **IVa,g,h**, **Va,b,e**, **VIb,c,d** i **VIIe,f,g**) kaspaza-zavisnim putem regulisanim Bcl-2 familijom proteina i 13 jedinjenja (**IIIa,c,d**, **IVb,c,d,f**, **V**, **Vc,d** i **VIa,e,f**) kaspaza-nezavisnim putem regulisanim Bcl-2 familijom proteina. Dva jedinjenja (**III** i **IIIe**) smanjuju ekspresiju svih ispitanih proteina te se mehanizam njihovog dejstva na osnovu ovih rezultata ne može pouzdano tvrditi.

6. SUMMARY

Total synthesis of naturally occurring styryl-lactones goniotebunolides A (**I**) and B (**II**), crassalactone D (**III**) and 3-deoxy-cardiobutanolide (**Ve**) was accomplished starting from common intermediate **7**. Lactol **7** is synthesized from **3** that is easily available from D-glucose after hydroxyl group protection and hydrolytic removal of the isopropylidene protective group. The key step of the synthesis was new one-pot cascade comprised of *Z*-selective Wittig or HWE olefination, followed by lactonisation and E_2 elimination, which afforded **I** and **II**. HWE olefination afforded a higher yield of **I** and **II** (44%, *Z/E* ~ 2:1) compared with Wittig olefination (30%; *Z/E* ~ 2:1). Apart from the main products **I** and **II**, minor amounts of crassalactone D (**III**) and the corresponding 4-epimer **IV** were isolated from both Wittig and HWE reactions of **7**. These side products were presumably formed by 5-*endo*-trig spirocyclization of the unsaturated lactones **I** and **II** after nucleophilic attack of the hydroxyl group from C-7 at C-4 position.

After prolonging the reaction time and by optimizing the reaction conditions spiro-lactones **III** and **IV** were isolated as major products (**III/IV** ~ 1:2, 51%). Less stable isomer **IV** was converted to the more stable **III** after treatment with TFA in CHCl_3 . Mixture of **III** and **IV** in 2:1 ratio was formed (97%). The corresponding 7-epimers, (7*S*)-goniobutenolides A (**VIII**) and B (**IX**), (7*S*)-crassalactone D (**VI**) and (4*R*,7*S*)-crassalactone D (**VII**) were synthesized applying similar reactions sequence on **8** which is obtained from alcohol **4**.

Olefination of **7** with trimethyl phosphonoacetate took place stereoselectively to afford the (*E*)-enoate **22**. One-pot hydrogenation of **22** over PtO_2 followed by subsequent sodium methoxide carbonate deprotection occurred with concomitant lactonisation to afford the 3-deoxy-cardiobutanolide (**Ve**).

Compounds **III**, **IV**, **VI** and **VII** were treated with cinnamoyl chloride, *p*-nitrocinnamoyl chloride, *p*-methoxycinnamic acid and *p*-fluorocinnamic acid to afford the corresponding cinnamic ester derivatives **IIIa-d**, **IVa-d**, **VIa-d** and **VIIa-d**.

Synthesis of halogenated derivatives **IIIe,f**, **IVe-h**, **VIe,f** and **VIIe-g** is carried out by halotherification of **I**, **II**, **VIII** and **IX**.

Synthesis of cardiobutanolide (**V**), the corresponding stereoisomers **Va–c** and dephenylated analogue **Vd** was achieved from common intermediate **11** that is obtained through three step sequence starting from D-xylose (cyclocondensation with Meldrum's acid, replacement of primary OH group with iodine, Zn mediated reductive ring opening). Protection of free OH groups of **11** afforded **14**. Cross olefin metathesis of **11** and **14** with styrene in the presence of Grubbs second generation catalyst gave *E*-olefins **12** and **13**. An efficient, protective group free, five step synthesis of (7*S*)-cardiobutanolide (**Va**) and (6*S*)-cardiobutanolide (**Vb**) is completed after treatment of **12** with OsO₄. Selective synthesis of **Va** and **Vb** is achieved by employing asymmetric dihydroxylation of **13** with AD-mix- α and β and deprotection of formed diols **20** and **21**. Cardiobutanolide (**V**) and the corresponding 6*S*,7*S*-stereoisomer **Vc** were obtained upon dihydroxylation of **18** that is synthesized using the reaction sequence, which involves dihydroxylation of **14**, oxidative cleavage of diol **15** with NaIO₄ followed by olefination of **16** and removal of protective isopropylidene group from *Z*-olefin **17**. Dihydroxylation of **17** followed by hydrolytic removal of isopropylidene protective group furnished also **Vc**. Finally, deprotection of **15** yielded dephenylated analogue of (6*S*)-cardiobutanolide **Vd**.

Five synthesized natural lactones and 36 their analogues and derivatives were evaluated for their antiproliferative activity against ten malignant cell lines (K562, HL-60, Jurkat, Raji, HT-29, PC3, MDA-MB231, MCF-7, HeLa and A549) as well as against a single normal cell line (MRC-5) by using the MTT test. It is found that all tested compounds (**I**, **II**, **III**, **IIIa–f**, **IV**, **IVa–h**, **V**, **Va–e**, **VI**, **VIa–f**, **VII**, **VIIa–g**, **VIII** and **IX**) more or less inhibit growth of malignant cell lines.

Compounds **I** (IC₅₀ 0.35 μ M), **III** (IC₅₀ 0.12 μ M), **IV** (IC₅₀ 0.54 μ M), **IVh** (IC₅₀ 0.18 μ M), **VII** (IC₅₀ 0.54 μ M), **VIII** (IC₅₀ 0.15 μ M), **V** (IC₅₀ 0.05 μ M) and **Ve** (IC₅₀ 0.54 μ M) showed sub-micromolar antiproliferative activities toward K562 cell line, and **III**, **IVh**, **VIII** and **V** exhibited 2.1-, 1.4-, 1.7- and 5-fold higher activity than doxorubicin (DOX). Five compounds (**I**, **VII**, **V**, **Vd** and **Ve**) showed sub-micromolar antiproliferative activities toward HL-60 cells and exhibited 3.7-, 4.8-, 3.8-, 1.2- and 10.2-fold higher activity than DOX. The most potent growth inhibitory activity against Jurkat cell line showed **VIIg** (IC₅₀ 0.03 μ M), but also very active were **III**, **IIIa**, **IV**, **VIII**, **V**, **Vd** and **Ve**. Twelve compounds are more active than DOX against Burkitt lymphoma cells (Raji): **III**, **IVa**, **IVg**, **Va**, **VIe**, **VIg**, **VII**, **VIIg**, **V**, **Va**, **Vd**, **Ve**. Twenty nine compounds showed sub-micromolar and micromolar activity toward ER⁺ breast adenocarcinoma cells (MCF-7), of which **VIe**, **VIg** and **VIIg** demonstrated 1.2-, 20- and 4-fold higher activity than DOX. Nineteen compounds exhibit sub-micromolar and micromolar activity toward MDA-MB 231 cells, and 26

compounds toward HeLa cells. Ten compounds displayed significant growth inhibitory activity toward A549 cells, of which 8 are more active than DOX.

Remarkably, all synthesized compounds were found to be completely inactive against the normal MRC-5 cells. These results do suggest that these molecules represent selective antitumour agents, but this should be verified by additional *in vitro* experiments with different normal cell lines.

Influence of functional groups on antitumour activity was established by correlating structures of synthesized compounds and their activity (SAR). It is found that: (a) *Z*-olefins are more active than *E*-olefins; (b) changing configuration from 4*S* to 4*R* in case of 7*R* stereoisomers (**III** and **IV**) decrease biological activity, but in case of 7*S* congeners (**VI** and **VII**) and cinnamic esters (**IIIa–d**, **IVa–d**, **VIa–d**, **VIIa–d**) the change of stereochemistry increases activity; (c) 7*R* configuration influenced increase of activity in the case of acyclic compounds (**III**, **IV**, **VI**, **VII**) but 7*S* configuration has same influence in the case of acyclic molecules (**I**, **II**, **VIII**, **IX**) and cyclic cinnamic esters; (d) electron-donation group (OMe) in *para* position of cinnamoyl group is more beneficial to cytotoxic activity than electron-withdrawing groups (F, NO₂); (e) the presence of halogen atoms in structures of spiro lactones mainly increases biological activity; (f) introduction of bromine and iodine atoms is more beneficial to antiproliferative activity of investigated spiro lactones than introduction of chlorine; (g) alteration of configuration on single stereocenters of natural cardiobutanolide (**V**) from 7*R* to 7*S* and from 6*R* to 6*S* decreases biological activity; (h) phenyl group absence is beneficial for activity of cardiobutanolid-type molecules; (i) presence of hydroxyl groups in structure of cardiobutanolid-type molecules is important for cytotoxic activity.

It was determined by flow-cytometry that 36 of 41 newly synthesized compounds increase percentage of K562 cells in sub G1 phase compared with control, of which **IVa** (56.93% cells) was the most potent. High percentage (>30%) of specific apoptosis was detected for 15 compounds, of which for 7 even more than 80%. Halogenated derivative **VIIe** induced the highest percentage of specific apoptosis (86.29%). Western blot analysis of apoptosis markers (Bcl-3, Bax, caspase 3, PARP) suggested that 5 compounds (**IVe**, **VIIa,b,d** i **IX**) induced apoptosis in caspase-dependent way, 4 compounds (**IIIb,f**, **VI** i **VIIc**) in caspase-independent way, 17 compounds (**I**, **II**, **IV**, **VII**, **VIII**, **IVa,g,h**, **Va,b,e**, **VIb,c,d** i **VIIe,f,g**) in caspase-dependent way, regulated by Bcl-2 superfamily and 13 compounds (**IIIa,c,d**, **IVb,c,d,f**, **V**, **Vc,d** i **VIa,e,f**) in caspase-independent way which is regulated by Bcl-2 superfamily. Two compounds (**III** and **IIIe**) decreased expression of all investigated proteins and therefore certain determination of their mechanism of action was impossible.

7. SKRAĆENICE

Ac	acetil
AIBN	azobisisobutironitril
anh.	anhidrovan
aps.	apsolutni
atm.	atmosfera
aq	vodeni rastvor
Bu	butil
bs	široki signal (<i>engl.</i> broad signal)
CPBA	hlorperoksibenzoeva kiselina
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0.]undec-7-en
DCC	<i>N,N'</i> -dicikloheksilkarbodiimid
d	dublet
dd	dvostruki dublet
DEAD	dietil-azodikarboksilat
(DHQD) ₂ PHAL	hidrohinidin 1,4-ftalazinedil dietar
Dibal-H	diizobutilamonijum-hidrid
DIPE	diizopropiletar
DMAP	4-dimetilaminopiridin
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMP	2,2-dimetoksipropan
dt	dublet tripleta
Et	etil

IND	indol
Im	imidazol
LiHMDS	litijum-heksametilidisilazid
m	multiplet
MB	metilen-plavo (engl. methylene blue)
MCMP	(metoksikarbonil)-metilentrifenilfosforan
Me	metil
Ms	mezil (metansulfonil)
NBS	<i>N</i> -bromosukcinimid
NCS	<i>N</i> -hlorosukcinimid
NIS	<i>N</i> -jodosukcinimid
NMO	4-metil-morfolin- <i>N</i> -oksid
PDC	piridinijum-dihromat
PE	petrol-etar
Ph	fenil
Pr	propil
PPTS	piridinijum- <i>p</i> -toluensulfonat
Py	piridin
rt	sobna temperatura
s	singlet
t	triplet
TBAF	tetrabutilamonijum-fluorid
TBDMS	<i>terc</i> -butildimetilsilil
Tf	trifluorometansulfonilt (triflil)
TFA	trifluorsirćetna kiselina
TFAA	anhidrid trifluorsirćetne kiseline

THF	tetrahidrofur
tk	temperatura ključanja
TMPA	trimetilfosfonoacetat
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -toluensulfonska kiselina
tt	temperatura topljenja

8. LITERATURA

1. Wu, Y. C.; Duh, C. Y.; Chang, F. R.; Chang, G. Y.; Wang, S. K.; Chang, J. J.; McPhail, D. R.; McPhail, A. T.; Lee, K. H. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1077.
2. Talapatra, S. K.; Basu, D.; Deb, T.; Goswami, S.; Talapatra, B. *Indian J. Chem.* **1985**, *24B*, 29.
3. Sam, T. W.; Yeu, C. S.; Matsjeh, S.; Gan, E. K.; Razak, D.; Mohamed, A. L. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2541.
4. Geran, R. I.; Greenberg, N. H.; MacDonald, M. M.; Schumacher, A. M.; Abbott, B. J. *Cancer Chemother. Res.* **1972**, *3*, 1.
5. Fang, X.-P.; Anderson, J. E.; Chang, C.-J.; Fanwick, P. E.; McLaughlin, J. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1990**, 1655.
6. Fang, X.-P.; Anderson, J. E.; Chang, C.-J.; McLaughlin, J. L.; Fanwick, P. E. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1034.
7. Fang, X.-P.; Anderson, J. E.; Chang, C.-J.; McLaughlin, J. L. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 9751.
8. El-Zayat, A. L.; 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.
9. Alkofahi, A.; Ma, W.-W.; Mckenzie, A. T.; Bym, S. R.; McLaughlin, J. L. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 1371.
10. Hisham, A.; Toubi, M.; Shualiy, W.; Bai, M. D. A.; Fujimoto, Y. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 597.
11. Chen, C. Y.; Chang, F. R.; Shih, Y. C.; Hsieh, T. J.; Chia, Y. -C.; Tseng, H. Y.; Chen, H. C.; Chen, S. J.; Hsu, M. C.; Wu, Y. C. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1475.
12. Murthy, M. M.; Subramanyam, M.; Bindu, M. H.; Annapurna, J. *Fitoterapia* **2005**, *76*, 336.
13. Kanokmedhakul, S; Kanokmedhakul, K.; Yodbuddee, D.; Phonkerd, N. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 616.
14. Tuchinda, P.; Pohmakotr, M.; Reutrakul, V.; Thanyachareon, W.; Sophasan, S.; Yoosook, C.; Santisuk, T.; Pezzuto, J. M. *Planta. Med.* **2001**, *67*, 572.
15. Tuchinda, P.; Munyoo, B.; Pohmakotr, M.; Thinapong, P.; Sophasan, S.; Santisuk, T.; Reutrakul, V. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1728.

16. Hanessian, S. *Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach*, Pergamon Press, Oxford, **1983**.
17. Shing, T. K. M.; Tai, V. W.-F.; Tsui, H.-C. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1293.
18. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C.; Zhou, Z.-H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 810.
19. Xu, D.; Sharpless, K. B. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 4685.
20. Xu, D.; Crispino, G.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 7570.
21. Asaoka, M.; Yanagida, N.; Ishibashi, K.; Takei, H. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 4269.
22. Sharpless, K. B.; Amberg, W.; Bennani, Y. L.; Crispino, G. A.; Hartung, J.; Jeong, K.-S.; Kwong, H.-L.; Morikawa, K.; Wang, Z.-M.; Xu, D.; Zhang, X.-L. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 2768.
23. Wang, L.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 7568.
24. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C.; Zhou, Z.-H. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 3121.
25. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C.; Zhou, Z.-H.; Mak, T. C. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1992**, 887.
26. Brimacombe, J. S.; Tucker, L. C. N. *Carbohydr. Res.* **1966**, 2, 341.
27. Valverde, S.; Lomas, M. M.; Herradon, B.; Ochoa, S. G. *Tetrahedron* **1987**, 43, 1895.
28. Tronchet, J. M. J.; Gentile, B. *Helv. Chim. Acta* **1979**, 62, 2091.
29. Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 863.
30. Ko, S. Y.; Lerpiniere, J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 2101.
31. Gao, Y.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 7538.
32. Lohray, B. B. *Synthesis* **1992**, 1035.
33. Asaoka, M.; Sugimura, N.; Takei, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 1953.
34. Schmitt, S. M.; Johnston, D. B. R.; Christensen, B. G. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 1135.
35. Schmitt, S. M.; Johnston, D. B. R.; Christensen, B. G. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 1142.
36. Surivet, J.-P.; Vatele, J.-M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4373.
37. Kobayashi, Y.; Takemoto, Y.; Kamijo, T.; Harada, H.; Ito, Y.; Terashima, S. *Tetrahedron* **1992**, 48, 1853.
38. Vanrheenen, V.; Kelly, R. C.; Cha, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 17, 1973.
39. Kitora, M.; Negishi, E. *Synthesis* **1997**, 121.
40. Lu, X.; Huang, X.; Ma, S. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 5963.
41. Kundu, N. G.; Pal, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 86.
42. Kitora, M.; Negishi, E.-I. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 9041.
43. Lodge, E. P.; Heathcock, C. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 3353.

44. Eliel, E. L.; Wilen, S. H.; Mander, L. N. *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley & Sons, New York, **1994**, 875.
45. Mukai, C.; Hirai, S.; Kim, I. J.; Kido, M.; Hanaoka, M. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 6457.
46. Mukai, C.; Kim, I. J.; Hanaika, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **1992**, *3*, 1007.
47. Mukai, C.; Kim, I. J.; Furu, E.; Hanaika, M. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8323.
48. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 432.
49. Shing, T. K. M.; Tsui, H.-C. Zhou, Z.-H. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8659.
50. Solladie, G.; Hanquet, G.; Rolland, C. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 177.
51. Solladie, G.; Demailly, G.; Greck, C. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1552.
52. Solladie, G.; Almario, A. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1937.
53. Solladie, G.; Huser, N.; Fisher, J.; Decian, A. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4988.
54. Ohtani, I.; Kusumi, T.; Ishitsuka, M. O.; Kakisawa, H. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3147.
55. Ward, D. E.; Rhee, C. K. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7165.
56. Pavlakos, E.; Georgiou, T.; Tofi, M.; Montagnon, T.; Vassilikogiannakis, G. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4556.
57. Montagnon, T.; Tofi, M.; Vassilikogiannakis, G. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1001.
58. Margaros, I.; Montagnon, T.; Tofi, M.; Pavlakos, E.; Vassilikogiannakis, G. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5308.
59. Feringa, B. L. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, *106*, 469.
60. Adam W.; Rodriguez, A. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3505.
61. Katsumura, S.; Hori, K.; Fujiwara, S.; Isoe, S. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4625.
62. Bury, P.; Hareau, G.; Kocieńsky, P.; Dhanak, D. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 8793.
63. Shiraki, R.; Sumino, A.; Tadano, K.; Ogawa, S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2845.
64. Yang, Z.; Tang, P.; Gauuan, J. F.; Molino, B. F. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 9546.
65. Zhang, S.; Marshall, D.; Liebeskind, L. S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2796.
66. Varasi, M.; Walker, K. A. M.; Maddox, M. L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4235.
67. Stork, G.; West, F.; Lee, H. Y.; Isaacs, R. C. A.; Manabe, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10660.
68. Ruiz, P.; Murga, J.; Carda, M.; Marco, J. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 713.
69. Matsuura, D.; Takabe, K.; Yoda, H. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1371.
70. Radha Krishna, P.; Reddy, P. V. N. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4627.
71. Garg, A.; Singh, R. P.; Singh, V. K. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11240.
72. Prasad, K. R.; Gholap, S. L. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2916.

73. Radha Krishna, P.; Kumar, E. S. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6676.
74. Yadav, J. S.; Madhavarao, B.; Rao, K. S. *Synlett* **2009**, 3179.
75. Chandrasekhar, S.; Kiranmao, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4058.
76. Pal, P.; Shaw, K. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 4036.
77. Srećo Zelenović, B. Dizajn, sinteza i antiproliferativna aktivnost prirodnih citotoksičnih laktona i analoga, Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 2012.
78. Fernandes, R. A.; Kattanguru, P. *Asian J. Org. Chem.* **2013**, *2*, 74.
79. Song, J.; Hollingsworth, R. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 387.
80. Andrey, O.; Sperry, J.; Larsen, U. S.; Brimble, M. A. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 3912.
81. Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360.
82. Hoveyda, A. H.; Lombardi, P. J.; Brjen, R. V. O.; Zhugralin, A. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8378.
83. Voigtritter, K.; Ghorai, S.; Lipshutz, B. H. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4697.
84. Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Gray, B. L.; Hoveyda, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168.
85. Gessler, S.; Randl, S.; Blechert, S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9973.
86. Kolb, H. C.; Niuwehenze, M. S.; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483.
87. Zaitsev, A. B.; Adolfsson, H. *Synthesis* **2006**, *11*, 1725.
88. Corey, E. J.; Helal, E. C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1986.
89. Garcia, J.; Lopez, M. L.; Romeu, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *10*, 2617.
90. Gladding, J. A.; Bacci, J. P.; Shaw, S. A.; Smith, A. B. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 6697.
91. Delton, M. A.; Yuen, G. U. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 2473.
92. Wang, Z.; Cui, Y. T.; Xu, Z. B.; Qu, J. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2270.
93. Liu, L.; Hudgins, R. W.; Shack, S.; Yin, M. Q.; Samid, D. *Int. J. Cancer.* **1995**, *62*, 345.
94. Narasimhan, B.; Belsare, D.; Pharande, D.; Mourya, V. Dhake, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 827.
95. Blazquez, M. A.; Bermejo, A.; Zafra-Polo, M. C.; Cortes, D. *Phytochem. Anal.* **1999**, *10*, 161.
96. Neumann, C. S.; Fujimori, D. G.; Walsh, C. T. *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 99.
97. Gribble, G. W. *J. Nat Prod.* **1992**, *55*, 1353.
98. Izak, R. R.; Sims, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6136.
99. Lindquis, N.; Fenical, W. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 2521.

100. Gribble, G. W. *J. Chem. Educ.* **2004**, *81*, 1441.
101. Campagnuolo, C.; Fattorusso, E.; Tagliatalata-Scafati, O. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 284.
102. Gul, W.; Hamann, M. T. *Life Sci.* **2005**, *78*, 442.
103. Frederich, M.; Tits, M.; Angenot, L. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2008**, *102*, 11.
104. Lee, M. D.; Ellestad, G. A.; Borders, D. B. *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 235.
105. Ellestad, G. A. *Chirality* **2011**, *23*, 660.
106. Faulkner, D. J. *Nat. Prod. Rep.* **1990**, 269.
107. Sanmartin, A.; Negrete, R.; Roviroso, J. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2165.
108. Watanabe, K.; Umeda, K.; Kurita, Y.; Takayama, C. *Pestic. Biochem. Physiol.* **1990**, *37*, 275.
109. Suzuki, M.; Matsuo, Y.; Takeda, S.; Suzuki, T. *Phytochemistry* **1993**, *33*, 651.
110. Hori, Y.; Abe, Y.; Shigematsu, N.; Goto, T.; Okuhara, M.; Kohsaka, M. *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 1890.
111. Shiomi, K.; Iinuma, H.; Hamada, M.; Naganawa, H.; Manabe, M.; Matsuki, C.; Takeuchi, T.; Umezawa, H. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 487.
112. Popsavin, V.; Srećo, B.; Bendeković, G.; Francuz, J.; Popsavin, M.; Kojić, V.; Bogdanović, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2876.
113. Trieu, Q. H.; Maio, H. D. T.; Van Pham, C.; Litaudon, M.; Gueritte, F.; Retailleau, P.; Schimtz-Afonso, I.; Gimello, O.; Van Nguyen, H.; Van Chau, M. *Nat. Prod. Commun.* **2014**, *9*, 495.
114. Zamora-Mata, F.; Martinez, M. B.; Perez, J. A. G. *Carbohydr. Res.* **1990**, *210*, 223.
115. Ramirez, E.; Sanchez, Meza-Leon, M. R. L.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2178.
116. Still, W. C.; Gennari, C. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4405.
117. Pihko, P. M.; Salo, T. M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4361.
118. Touchard, F. P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5519.
119. Surivet, J.-P.; Vatele, J.-M. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 13011.
120. Neises, B.; Steglich, W. *Org. Synth.* **1985**, *63*, 183.
121. Dimitriev, B. A.; Chernyak, A. Y.; Kochetkov, I. K. *Zhur. Org. Khim.* **1972**, *41*, 2757.
122. Zhang, C.; Liu, J.; Du, Y. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3278.
123. Moitessier, N.; Chretien, F.; Chalpleur, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 2889.
124. Iwashima, M.; Kinsho, T.; Smith, A. B. III *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2199.

125. Scudiero, D. A.; Shoemaker, R. H.; Paull, K. D.; Monks, A.; Tierney, S.; Nofziger, T. H.; Currens, M. J.; Seniff, D.; Boyd, M. R. *Cancer. Res.* **1988**, *48*, 4827.
126. Bruns, R.; Wernicke, A.; Koll, P. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 9793.
127. Arends, M. J.; Morris, R. G.; Wyllie, A. H. *Am. J. Pathol.* **1990**, *136*, 593.
128. Gong, J.; Traganos, F.; Darzynkiewicz, Z. *Anal. Biochem.* **1994**, *218*, 314.
129. Nunez, R. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2001**, *3*, 67.
130. Riccardi, C.; Nicoletti, I. *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1458.
131. Wallen, C. A.; Higashikubo, R.; Dethlefsen, L. A. *Cytometry* **1982**, *3*, 155.
132. Pollack, A.; Ciancio, G. *Methods Cell. Biol.* **1990**, *33*, 19.
133. Ormerod, M. G.; Collins, M. K.; Rodriguez-Tarduchy, G. Robertson, D. *J. Immunol. Methods* **1992**, *153*, 57.
134. Darzynkiewicz, Z.; Bedner, R.; Smolewski, P. *Semin. Hematol.* **2001**, *38*, 179.
135. Fadok, V.A.; Voelker, D. R.; Campbell, P. A.; Cohen, J. J. Bratton, D. L.; Henson, P. M. *J. Immunol.* **1992**, *148*, 2207.
136. Koopman, G. Reutelingspreger, C. P.; Kuijten, G. A.; Keehnen, R. M.; Pals, S. T.; van Oers, M. H. *Blood* **1994**, *84*, 1415.
137. Sellins, K. S.; Cohen, J. J. *J. Immunol.* **1987**, *139*, 3199.
138. Zhou, Z. *Developmental Cell* **2007**, *13*, 759.
139. Zwaal, R. F.; Comfurius, P.; Bevers, E. M. *Cell Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 971.
140. van Genderen, H.; Kenis, H.; Lux, P.; Ungeth, L.; Maassen, C.; Deckers, N. *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 363.
141. Zhou, Q.; Zhao, J.; Stout, J. G.; Luhm, R. A.; Wiedmer, T.; Sims, P. J. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 18240.
142. Mirnikjoo, B.; Balasubramanian, K.; Schroit, A. J. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 22512.
143. Lee, S.-H.; Meng, X. W.; Flatten, K. S.; Loegering, D. A.; Kaufmann, S. H. *Cell Death Differ.* **2013**, *20*, 64.
144. Liest, M.; Single, B.; Castoldi, A. F.; Kuhne, S.; Nicotera, P. *J. Exp. Med.* **1997**, *185*, 1481.
145. Trump, B. F.; Berezsky, I.; Chang Shand Phelps, P. C. *Toxicologic Path* **1997**, *25*, 82.
146. Czabotar, P. E.; Lessene, G.; Strasser, A.; Adams, J. M. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2014**, *15*, 49.
147. Verhagen, A. M.; Ekert, P. G.; Pakusch, M.; Silke, J.; Connolly, L. M.; Reid, G. E.; Moritz, R. L.; Simpson, R. J.; Vaux, D. L. *Cell* **2000**, *102*, 43.
148. Du, C.; Fang, M.; Li, Y.; Li, L.; Wang, X. *Cell* **2000**, *102*, 33.

149. Salvesen, G. S. *Cell Death Differ.* **2002**, *9*, 3.
150. Putt, K. S.; Chen, G. W.; Pearson, J. M.; Sandhorst, J. S.; Hoagland, M. S.; Kwon, J.-T.; Hwang, S.-K.; Jin, H.; Churchwell, M. I.; Cho, M.-H.; Doerge, D. R.; Helferich, W. G.; Hergenrother, P. J. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 543.
151. D'Amours, D.; Sallmann, F. R.; Dixit, V. M.; Poirier, G. G. *J. Cell Sci.* **2001**, *114*, 3771.
152. Kaufmann, S. H.; Desnoyers, S.; Ottaviano, Y.; Davidson, N. E.; Poirier, G. G. *Cancer Res.* **1993**, *53*, 3976.
153. Casiano, C. A.; Martin, S. J.; Green, D. R.; Tan, E. M. *J. Exp. Med.* **1996**, *184*, 765.

9. BIOGRAFIJA



Ivana Kovačević je rođena 19. 03. 1985. godine u Vrbasu. Diplomске akademske studije biohemije upisala je 2003. godine; na osnovnim studijama je diplomirala 2007. a master akademske studije biohemije je završila 2008. godine na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu.

U zvanje istraživača-pripravnika za užu naučnu oblast biohemija je izabrana 2007. godine, a u zvanje istraživača-saradnika 2010. godine.

Doktorske studije hemije, na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu, upisala je 2008. godine. Sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija hemije položila je sa prosečnom ocenom 9.33. Bila je stipendista-doktorant Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj do januara 2011. godine, od kada radi kao saradnik na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (broj 172006). Bila je saradnik na jednogodišnjem projektu koji je tokom 2013. godine finansirao Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj. Angažovana je u izvodjenju vežbi iz predmeta Hemija farmaceutskih proizvoda, Monosaharidi i bioaktivni derivati i Hemija prirodnih proizvoda. Pomagala je pri izradi četiri diplomska i pet master radova.

Koautor je tri naučna rada koji su objavljeni u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), šest naučnih saopštenja prezentovanih na međunarodnim naučnim skupovima (M34), kao i sedam saopštenja prezentovanih na domaćim naučnim skupovima (M64).

Član je Srpskog hemijskog društva.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada: VR	Doktorska disertacija
Autor: AU	Ivana Kovačević
Mentor: MN	Dr Velimir Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Prirodni stiril-laktone, njihovi derivati i analozi kao potencijalni antitumorski agensi: Dizajn, sinteza i SAR ispitivanja
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	Srpski
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: 10 (uključujući poglavlje Prilog). Strana: 237 (64 strane poglavlja Prilog I, 19 strana poglavlja Prilog II). Lit. citata: 153. Tabela: 126 (86 tabela u Prilogu II). Shema: 53. Slika: 250 (126 slika NMR spektara u Prilogu I, 86 slika u Prilogu II)
Naučna oblast: NO	Hemija
Naučna disciplina: ND	Medicinska hemija
Predmetna odrednica/ Ključne reči: PO	Citotoksični stiril-laktone, goniobutenolidi A i B, krasalakton D, kardiobutanolid, 3-deoksi-kardiobutanolid, sinteza analoga i derivata, D-glukoza, D-ksiloza, antiproliferativna aktivnost.
UDK Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za hemiju, PMF, Trg D. Obradovića 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	—
Izvod: IZ	U radu je ostvarena sinteza četiri prirodna proizvoda, goniobutenolida A i B, krasalaktona D i 3-deoksi-kardiobutanolida i 32 derivata i analoga polazeći iz D-glukoze. Sinteza prirodnog stiril-laktone, kardiobutanolida i njegova 4 derivata je izvedena polazeći iz D-ksiloze. Ispitan je uticaj sintetizovanih jedinjenja na inhibiciju rasta 10 tumorskih i jedne zdrave ćelijske linije. Uspostavljene su i korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti

	(SAR) i ispitan je mehanizam antitumorskog dejstva.
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	27. 05. 2014.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (Naučni stepen/ime i prezime/zvanje/fakultet) KO Predsednik: Član: Član: Član	Dr Mirjana Popsavina, red. prof. PMF-a u Novom Sadu Dr Velimir Popsavin, 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	Ivana Kovačević
Mentor: MN	Professor Velimir Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad
Title: TI	Natural styryl-lactones, their derivatives and analogues as potential antitumour agents: Design, synthesis and a SAR study
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: 10 (including the chapter Appendix). Pages: 237 (64 page in the chapter Appendix). References: 153. Schemes: 53. Tables: 126 (86 tables in the chapter Appendix II). Figures: 250 (126 figures of NMR spectra in the chapter Appendix I, 86 figures in the chapter Appendix II).
Scientific field: SF	Chemistry
Scientific discipline: SD	Medicinal Chemistry
Subject/key words: SKW	Cytotoxic styryl lactones, goniobutenolide A and B, crassalactone D, cardiobutenolide, 3-deoxy-cardiobutenolide, synthesis of analogues and derivatives, D-glucose, D-xylose, antiproliferative activity
Holding data: HD	Department of Chemistry (Library), Trg D. Obradovića 3, 21000 Novi Sad
Note: NO	—
Abstract: AB	Synthesis of four natural products: goniobutenolide A and B, crassalactone D, 3-deoxy-cardiobutenolide and their 32 analogues and derivatives is accomplished starting from D-glucose. Synthesis

	of natural styryl lactone cardiobutanolide and its four derivatives is achieved starting from D-xylose. Synthesized natural lactones, their analogues and derivatives were evaluated for their antiproliferative activity against ten malignant cell lines as well as against a single normal cell line. Influence of functional groups on antitumour activity was established by correlating structures of synthesized compounds with their biological activity (SAR). Also, mechanism of antitumour action was investigated.
Accepted by the Scientific Board on: DP	27. 05. 2014.
Defended: DE	
Thesis defend board: (Degree/name/surname/title/faculty) DB President: Member: Member: Member:	Professor Mirjana Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, Novi Sad Professor Velimir Popsavin, 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.