



Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO--MATEMATIČKI FAKULTET

Robert Junior Kolman

**SINTEZA PROPARGILNIH EPOKSIDA I NJIHOVA  
REZOLUCIJA HALOGENHIDRIN-  
DEHALOGENAZAMA**

DOKTORSKI RAD

Mentorica:  
dr. sc. Irena Dokli

Zagreb, 2024.





University of Zagreb  
FACULTY OF SCIENCE

Robert Junior Kolman

**SYNTHESIS OF PROPARGYLIC EPOXIDES AND  
THEIR RESOLUTION BY HALOHYDRIN  
DEHALOGENASES**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:  
Dr. Irena Dokli

Zagreb, 2024.





*Ova doktorska disertacija izrađena je u Laboratoriju za stereoselektivnu sintezu i biokatalizu, Zavoda za organsku kemiju i biokemiju, Instituta Ruđer Bošković, pod vodstvom dr. sc. Irene Dokli, v. zn. sur. Instituta Ruđer Bošković, u sklopu poslijediplomskog sveučilišnog studija Kemija pri Kemijskom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.*

*Doktorska disertacija financirana je sredstvima iz projekta „Enzymatic Synthesis of Fluorinated Chiral Building Blocks“ (HrZZ, IP-2018-01-4493) te vlastitim sredstvima laboratorija.*



Predgovor

[npr. zahvale i sl.; može se nasloviti i drugačije]



# Sadržaj

|  |           |
|--|-----------|
| SAŽETAK.....   | XI        |
| ABSTRACT .....   | XIII      |
| <b>§ 1. UVOD.....</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1. Propargilni spojevi kao građevni blokovi u organskoj sintezi.....   | 1         |
| <b>§ 2. LITERATURNI PREGLED .....</b>  | <b>4</b>  |
| 2.1. Propargil-epoksidi.....   | 4         |
| 2.1.1. Sinteza propargil-epoksida .....  | 5         |
| 2.1.2. Reakcije propargil-epoksida i alkohola .....  | 10        |
| 2.1.3. Primjena u organskoj sintezi.....   | 14        |
| 2.2. Metode stereoselektivne sinteze .....   | 20        |
| 2.2.1. Kinetička rezolucija .....  | 21        |
| 2.3. Halogenhidrin-dehalogenaze (HHDH).....  | 25        |
| <b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>  | <b>32</b> |
| 3.1. Materijali i metode.....  | 32        |
| 3.2. Priprava propargil-epoksida i alkohola .....  | 33        |
| 3.2.1. Priprava trimetil[2-(n-metilfenil)etiril]silana, n = 3, 4 (1a-b) .....  | 33        |
| 3.2.2. Priprava etinilarena (2a-c).....  | 34        |
| 3.2.3. Priprava enina (3a-k) .....   | 35        |
| 3.2.4. Priprava 3-fenilprop-2-in-1-ala (4).....  | 40        |
| 3.2.5. Priprava derivata 2-etiniloksirana (6a-g) .....   | 41        |
| 3.2.6. Priprava 1-bromalkan-2-ona (8a-b).....  | 45        |
| 3.2.7. Priprava 3-brom-1-fenilpropan-2-ona (8c).....   | 46        |
| 3.2.8. Priprava 1,3-dibrompropan-2-ona (8d).....   | 47        |
| 3.2.9. Priprava propargil-bromhidrina (11a-d) .....  | 48        |
| 3.2.10. Priprava 2-alkil-2-etiniloksirana (6h-j).....  | 49        |
| 3.2.11. Priprava racemičnih azidoalkohola (12a-i, 13a-f) .....   | 52        |
| 3.3. Kinetička rezolucija propargil-epoksida.....  | 56        |
| 3.3.1. Ispitivanje reakcija otvaranja prstena propargil-epoksida kataliziranih s HHDH na analitičkoj skali .....     | 57        |
| 3.3.2. Optimizacija uvjeta reakcija otvaranja prstena propargil-epoksida kataliziranih s HHDH na uvećanoj skali..... | 58        |
| 3.3.3. Reakcije otvaranja prstena propargil-epoksida katalizirane s HHDH na preparativnoj skali .....                | 58        |

---

|   |            |
|---|------------|
| 3.3.4. Postmodifikacijske reakcije.....                                       | 59         |
| <b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>  | <b>64</b>  |
| <b>4.1. Sinteza racemičnih propargilnih spojeva.....</b>                      | <b>65</b>  |
| 4.1.1. Sinteza monosupstituiranih propargil-epoksida .....                    | 65         |
| 4.1.2. Sinteza 2,2-disupstituiranih propargil-epoksida.....                   | 75         |
| 4.1.3. Sinteza homopropargil-epoksida i halogeniranih propargil-epoksida..... | 81         |
| 4.1.4. Sinteza racemičnih azidoalkohola.....                                  | 86         |
| <b>4.2. Enzimske reakcije .....</b>   | <b>87</b>  |
| 4.2.1. Reakcije kinetičke rezolucije na analitičkoj skali .....               | 88         |
| 4.2.2. Reakcije kinetičke rezolucije na preparativnoj skali.....              | 93         |
| <b>4.3. Postmodifikacijske reakcije.....</b>                                  | <b>95</b>  |
| <b>§ 5. ZAKLJUČAK .....</b>   | <b>99</b>  |
| <b>§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ, SIMBOLÂ I KEMIJSKIH FORMULÂ .....</b>          | <b>101</b> |
| <b>§ 7. LITERATURNI IZVORI.....</b>   | <b>108</b> |
| <b>§ 8. DODACI .....</b>  | <b>XV</b>  |
| 8.1. Tablice.....   | xv         |
| 8.2. NMR / IR spektri.....  | xxiii      |
| 8.3. HPLC / GC kromatogrami.....  | lxii       |
| <b>§ 9. ŽIVOTOPIS .....</b>   | <b>LXX</b> |



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Doktorska disertacija

## SAŽETAK

### SINTEZA PROPARGILNIH EPOKSIDA I NJIHOVA REZOLUCIJA HALOGENHIDRIN-DEHALOGENAZAMA

Robert Junior Kolman

Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

Raznovrsna reaktivnost uslijed prisustva ugljik-ugljik trostruke veze čini propargil-epoksidge građevnim blokovima u organskoj sintezi. Međutim, postoji malo opisanih metoda za njihovu pripremu. Halogenhidrin-dehalogenaze (HHDH) su enzimi koji kataliziraju pretvorbu halogenhidrina i epoksida u oba smjera. U okviru ove doktorske disertacije sintetizirane su dvije serije racemičnih terminalnih propargil-epoksida. Spojevi su sintetizirani s različitim brojem, položajem i vrstom supstituenata. Time je istražena mogućnost upotrebe propargil-epoksida kao supstrata HHDH u reakcijama kinetičke rezolucije. Pokazano je da su aromatima monosupstituirani te disupstituirani spojevi dobri supstrati, dok alifatima monosupstituirani nisu dobro prihvaćeni. Najbolji supstrati iz skupine aromatskih te disupstituiranih spojeva upotrijebljeni su za sintezu optički čistih propargilnih azidoalkohola na preparativnoj skali. Na optički čistim spojevima provedene su reakcije postmodifikacija te je dobiven spoj koji sadrži dihidrofuranyl-triazolni motiv koji se nalazi u spojevima s poznatim biološkim aktivnostima.

(115 stranica, 7 slika, 14 tablica, 77 shema, 173 literaturna navoda, jezik izvornika: Hrvatski)

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

Ključne riječi: biokataliza/ cinkom katalizirana Grignardova reakcija/ halogenhidrin-dehalogenaze/ kinetička rezolucija/ propargil-alkoholi/ propargil-epoksidi/ triazoli

Mentor: dr. sc. Irena Dokli, v. zn. sur.

Rad prihvaćen: 4. rujna 2024.

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Ines Primožič
2. dr. sc. Antonija Tomić, zn. sur.
3. izv. prof. dr. sc. Đani Škalamera







University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Doctoral Thesis

## ABSTRACT

### SYNTHESIS OF PROPARGYLIC EPOXIDES AND THEIR RESOLUTION BY HALOHYDRIN DEHALOGENASES

Robert Junior Kolman

Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

Owing to the presence of a carbon-carbon triple bond, propargylic epoxides are valuable building blocks in organic synthesis. However, known methods for their synthesis are scarce. Halohydrin dehalogenases (HHDH) are enzymes that facilitate the conversion of epoxides and halohydrins in both directions. Within this dissertation, two series of racemic terminal propargylic epoxides were synthesized. The number, position and type of substituents was varied. The use of propargylic epoxides as substrates in kinetic resolution reactions catalyzed by HHDHs was investigated. It was demonstrated that the aromatic monosubstituted and disubstituted compounds are good substrates, whereas the aliphatic monosubstituted compounds aren't well accepted. The best performing aromatic monosubstituted and disubstituted compounds were used for synthesis of optically pure propargylic azido alcohols on a preparative scale. Optically pure compounds were then transformed in post-modification reactions. A compound containing the dihydrofuranyl triazole motif, found in compounds with known biological activities, was obtained.

(115 pages, 7 figures, 14 tables, 77 schemes, 173 references, original in Croatian)

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

Keywords: biocatalysis/ halohydrin dehalogenases/ kinetic resolution/ propargylic alcohols/ propargylic epoxides/ triazoles/ zinc-catalyzed Grignard reaction

Supervisor: Dr. Irena Dokli, Senior Research Associate

Thesis accepted: 4<sup>th</sup> September 2024

Reviewers:

Dr. Ines Primožič, Full Professor with Tenure  
Dr. Antonija Tomić, Research Associate  
Dr. Đani Škalamera, Associate Professor



## § 1. UVOD

### 1.1. Propargilni spojevi kao građevni blokovi u organskoj sintezi

Propargil-epoksidi i alkoholi zbog ugljik-ugljik trostruke veze podilaze mnogim inter- i intramolekulskim reakcijama. Osim uobičajenih reakcija epoksidnog prstena,<sup>1</sup> njihova reaktivnost omogućuje pretvorbu u razne heterocikličke spojeve,<sup>2,3</sup> kao što su derivati furana,<sup>4,5</sup> pirola<sup>6,7</sup> i triazola,<sup>8,9</sup> te u derivate alena.<sup>10</sup> Zbog sintetske raznovrsnosti koriste se kao međuprodukti i građevni blokovi u sintezi biološki aktivnih tvari,<sup>11</sup> prirodnih spojeva<sup>12</sup> i farmaceutika.<sup>13</sup> Iako su optički čisti spojevi često potrebni i važni u takvim sintezama, literaturno je opisano svega nekoliko metoda za (stereoselektivnu) pripremu propargil-epoksida.<sup>14</sup> Poznate metode uglavnom uključuju upotrebu specifičnih reagensa i katalizatora, kao što su organotelurijevi ilidi,<sup>15</sup> organogalijeve baze<sup>16</sup> te kiralni dioksirani.<sup>17</sup>

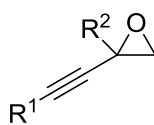
Upotreba enzima kao stereoselektivnih katalizatora u organskoj sintezi u porastu je posljednjih nekoliko desetljeća kao jednostavna, efikasna i svestrana metoda u skladu s načelima održivosti zelene kemije. Visoka specifičnost različitih enzima u uvođenju kemijskih pretvorbi omogućava provedbu širokog raspona reakcija, kao što su oksidoreduktaze (oksidoredukcije karbonila, imina, reduktivna aminacija), hidrolaze (hidroliza (tio)estera, lipida, amida) i lijaze (hidroliza nitrila u amide i karboksilne kiseline, aldolne kondenzacije te pretvorbe epoksidnog prstena).<sup>18</sup>

Između ostalih, poznata je skupina biokatalizatora koji provode pretvorbu halogenhidrina i epoksida u oba smjera – halogenhidrin-dehalogenaze, također poznate kao halogenalkohol-dehalogenaze, halogenalkohol/halogenhidrin epoksidaze ili hidrogen-halid lijaze (EC 4.5.1.–, HDDH). Njihova sposobnost da kataliziraju reakcije enantioselektivnog otvaranja epoksidnog prstena različitim neprirodnim nukleofilima korisna je u pripravi optički aktivnih epoksida,  $\beta$ -supstituiranih alkohola i heterocikličkih spojeva. Daljnjim transformacijama dobivaju se vrijedne građevne jedinice za sintezu farmaceutika te prirodnih spojeva.<sup>19</sup> S obzirom na dobra katalitička svojstva, postavilo se pitanje upotrebe propargil-epoksida u reakcijama kinetičke rezolucije kataliziranim HDDH kao jednostavne i dostupne alternative metode za sintezu optički čistih propargilnih spojeva.

### 1.1.1. Ciljevi i svrha rada

Predmet ovog doktorskog rada jest sinteza propargil-epoksida i njihova upotreba u reakcijama enzimske kinetičke rezolucije kataliziranim HHDH (slika 1). Enzimsko otvaranje epoksida predstavlja atraktivnu alternativu metodama organometalne katalize, budući da se enzimske reakcije odvijaju pri sobnoj temperaturi, neutralnom pH i pod atmosferskim tlakom, te su vrlo kemo-, regio- i enantioselektivne. Sposobnost enzima da kataliziraju otvaranje epoksida tijekom proteklih se godina intenzivno proučavala.<sup>20-22</sup> Hidrolitičko otvaranje epoksida do vicinalnih diola kataliziraju epoksid-hidrolaze,<sup>23-26</sup> dok HHDH mogu prihvatiti veći broj neprirodnih anionskih nukleofila pri čemu nastaju različiti 1,2-difunkcionalizirani organski spojevi.<sup>27</sup> Skupina HHDH enzima dijeli se na sedam tipova (A – G, odnosno HheA – HheG) koji se razlikuju u obliku i veličini aktivnog mjesta,<sup>28</sup> što određuje njihovu regio- te enantioselektivnost, kao i strukturne karakteristike prihvaćenih supstrata.<sup>19</sup> Većina HHDH dobro prihvaća različito supstituirane terminalne epoksidge, aromatske te također alifatske, uključujući spiroepoksidge.<sup>29-31</sup> HheG odnosno HheD zbog prostranijeg aktivnog mjesta prihvaćaju neterminalne spojeve, točnije 2,3-disupstituirane (uključujući cikličke) te višesupstituirane epoksidge.<sup>19,32</sup>

Ciljevi ovog doktorskog rada temelje se na hipotezi da ugljik-ugljik trostruka veza zbog svoje linearne geometrije i najmanje duljine veze u slijedu hibridizacije nije sterički zahtjevan supstituent te bi se stoga propargil-epoksidge mogli koristiti kao supstrati HHDH u svrhu pripreme optički čistih propargilnih spojeva kao građevnih blokova za upotrebu u stereoselektivnoj sintezi.



R<sup>1</sup> = H, Cp, *t*-Bu, Ph, *p*-Tol, *m*-Tol

R<sup>2</sup> = H, Me, Et, Bu, Bn

**Slika 1.** Općenita strukturna formula ciljnih molekula doktorskog rada.

Svrha rada je proučavanje utjecaja supstituiranosti terminalnog oksiranskog prstena i prirode supstituenata na prihvaćanje propargil-epoksidge kao supstrata HHDH u reakcijama enzimske kinetičke rezolucije. Primjena postojećih te razvoj novih sintetskih metoda omogućava pripravu terminalnih propargil-epoksidge s različitim brojem, položajem i vrstom supstituenata. Time je omogućeno ispitivanje reakcija kinetičke rezolucije raznovrsno

supstituiranih propargil-epoksida s različitim nukleofilima u prisustvu nekoliko tipova HHDH. Ove reakcije do sada nisu bile poznate u literaturi.

Osim ispitivanja reakcija enzimske rezolucije sintetiziranih epoksida pomoću HHDH, svrha rada je i primjena razvijene metode u sintezi heterocikličkih spojeva s potencijalnim biološkim aktivnostima, čime bi se proširio izbor mogućih alata za pripremu građevnih blokova u sintezi prirodnih spojeva te farmaceutika.

Metodologija rada obuhvaća optimizaciju sintetskog puta pripreme dvije serije racemičnih terminalnih propargil-epoksida, monosupstituiranog i disupstituiranog strukturnog motiva te sintezu ciljnih molekula. Dodatno, uključuje sintezu racemičnih standarda očekivanih produkata te razvoj analitičkih metoda za praćenje tijeka enzimskih reakcija korištenjem plinske kromatografije (GC) i tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). Nadalje, metodologijom je obuhvaćeno ispitivanje reakcija niza pripremljenih različito supstituiranih ciljnih spojeva (aromatima odnosno alkilima monosupstituirani te disupstituirani s terminalnom odnosno internom trostrukom vezom) s različitim nukleofilima (azid, nitrit, cijanid, cijanat, tiocijanat, formijat) u prisustvu nekoliko tipova HHDH (A, B i C). U metodologiju je uključena i optimizacija uvjeta enzimskih reakcija te provedba reakcija na uvećanoj skali uz analizu produkata GC-om i HPLC-om na kolonama s kiralnim nepokretnim fazama te polarimetrijom. Konačno, obuhvaća upotrebu dobivenih optički čistih produkata u modelnim reakcijama postmodifikacija.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

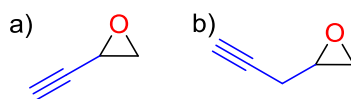
U ovom literaturnom pregledu opisani su propargilni spojevi te je dan pregled poznatih metoda pripreme propargil-epoksida u racemičnom i kiralnom obliku. Dodatno, dan je pregled reakcija kojima podliježu propargil-epoksidi i alkoholi uz primjere njihove primjene u sintezi prirodnih spojeva i biološki aktivnih tvari. Opisane su metode stereoselektivne sinteze s naglaskom na kinetičku rezoluciju te upotreba HHDH kao bioloških katalizatora u organskoj sintezi.

### 2.1. Propargil-epoksidi

Epoksidi su tročlani ciklički eteri, odnosno spojevi koji sadržavaju oksiranski prsten.<sup>33</sup> Unatoč maloj veličini prstena, vezni kutovi ne odudaraju mnogo od optimalnih vrijednosti, već dolazi do smanjenog preklapanja orbitala. Manje preklapanje orbitala dovodi do kutne napetosti, koja u kombinaciji s torzijskom i steričkom napetošću te devijacijom od optimalne duljine veza rezultira značajnom napetošću epoksidnog prstena.<sup>34</sup>

Opisana napetost te polarnost C-O veza oksiranskog prstena čine ove spojeve vrlo reaktivnima, zbog čega stupaju u mnoge reakcije te su korisni građevni blokovi u organskoj sintezi.<sup>33</sup> Neke od mogućih reakcija su redukcije do alkohola i alkena te pregradnje u aldehide, ketone i alilne alkohole. Otvaranjem prstena različitim nukleofilima moguće je dobiti širok raspon produkata, kao što su vicinalno supstituirani alkoholi, fosfonati, karbonati, tiirani, aziridini i oksazolidinoni. Imaju primjenu u pripravi industrijski važnih proizvoda, kao što su surfaktanati, antistatici, antikorozivni spojevi, maziva, tekstili, kozmetički proizvodi, sintetske gume, epoksi smole, ljepila, insekticidi i poljoprivredna sredstva.<sup>1</sup>

Propargilni spojevi sadrže zasićeni ugljik vezan na trostruku vezu,<sup>35</sup> a kod homopropargilnih je zasićeni ugljik za jedan položaj udaljen.<sup>36</sup> Zbog prisutne trostruke veze ovaj motiv podložan je mnogim transformacijama, kao što su prijelaznim metalima katalizirane adicije aromata na trostruku vezu te pregradnje propargilnih i aromatskih spojeva,<sup>3</sup> izomerizacije u alene (samostalne, uz prijenos kiralnosti,<sup>37</sup> ili praćene pregradnjama<sup>10</sup>), te 1,3-dipolarna cikloadicija azida (*click*-reakcija).<sup>8</sup> Dodavanjem kisika na ove motive mogu se dobiti odgovarajući karbonilni spojevi, alkoholi i epoksidi (slika 2), koji podliježu reakcijama oba sastavna motiva te dodatno ciklizacijama u razne heterocikličke motive, dajući širok raspon sintetskih mogućnosti.<sup>2,38</sup>



**Slika 2.** Najjednostavniji a) propargil- i b) homopropargil-epoksid; odgovarajući motivi označeni su plavo

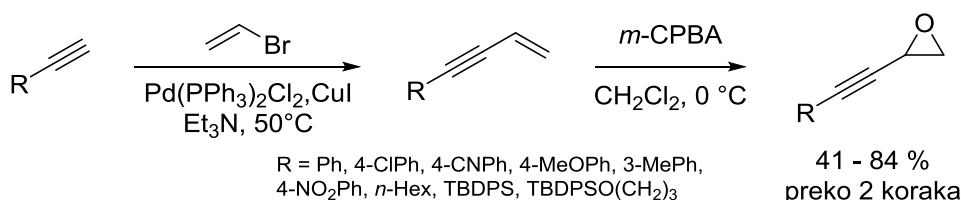
### 2.1.1. Sinteza propargil-epoksida

Uobičajene metode za sintezu epoksida mogu se podijeliti na adicije kisika na alken (epoksidacije) i adicije ugljika na karbonilnu skupinu. Epoksidacija dvostruke veze može se provesti reakcijom s peroksikiselinama ili njihovim solima, bilo organskim ili anorganskim. Peroksikiseline se mogu generirati *in situ* iz odgovarajućih kiselina te nitrila ili koristiti kao komercijalno dostupni reagensi. Osim peroksikiselina, kao oksidacijska sredstva mogu se upotrijebiti i vodikov peroksid, organski hidroperoksidi ili elementarni kisik uz različite baze i katalizatore, te hipohalogenaste kiseline i njihove soli.<sup>1,39</sup>

U sintezi epoksida iz karbonilnih spojeva reagensi mogu biti karbeni<sup>39</sup> ili karbanioni. Sinteze reakcijama Williamsonovog tipa temelje se na pripravi halogenhidrina i njegovoj ciklizaciji uz eliminaciju halogenovodika.<sup>1</sup> Za to potrebni halogeni supstituent može se nalaziti na elektrofilu, primjer čega je adicija organometalnih reagensa na halogenirane karbonilne spojeve, ili na nukleofilu kao kod Darzensove kondenzacije, u kojoj dolazi do adicije halogeniranog enolata ili organometalnog reagensa na aldehide i ketone.<sup>1,39</sup>

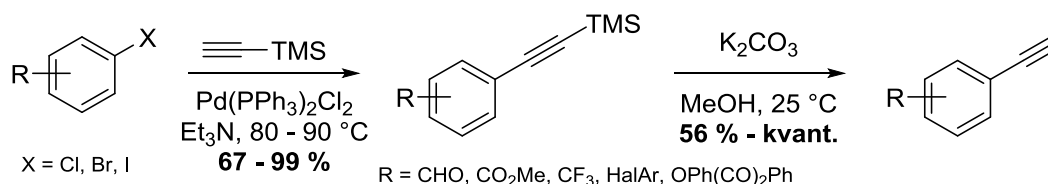
### Sinteza racemičnih spojeva

Jedna od strategija sinteze propargil-epoksida sastoji se od uvođenja ugljik-ugljik dvostruke veze na terminalni alkin Sonogashirinom reakcijom i njenom epoksidacijom. Lautens *et al.* proveli su Sonogashirinu reakciju raznih aromatskih i alifatskih alkina pri 50 °C uz Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> i CuI kao katalizatore u trietilaminu. Konačni spojevi dobiveni su reakcijom sirovog enina s *m*-CPBA provedenom pri 0 °C (shema 1).<sup>40</sup>



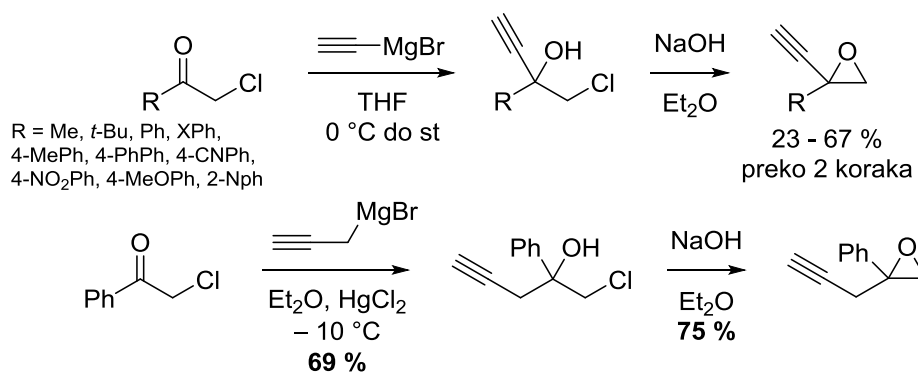
**Shema 1.** Sinteza propargil-epoksida iz terminalnih alkina slijedom Sonogashirine reakcije i epoksidacije.

Polazni terminalni alkini se pri tome mogu koristiti kao komercijalno dostupne kemikalije ili sintetizirati iz acetilena ili njegovih derivata. Primjer je sinteza zaštićenih alkina Sonogashirinom reakcijom TMS-acetilena s alkenil- ili aril-halogenidima praćena uklanjanjem sililne zaštitne skupine. Lau *et al.* opisali su sintezu derivata etinilbenzena reakcijom odgovarajućih aril-jodida i TMS-acetilena uz  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  u trietilaminu i solvolizom nastalog etinilsilana u metanolu uz  $\text{K}_2\text{CO}_3$  kao bazu (shema 2).<sup>41</sup>



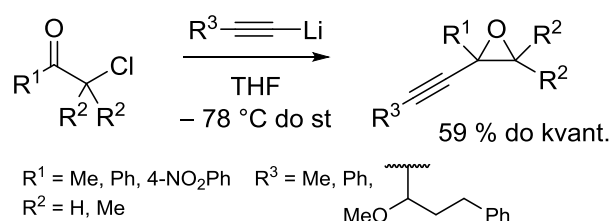
**Shema 2.** Sinteza terminalnih alkina iz aril-halogenida preko zaštićenih alkina.<sup>41</sup>

Od organometalnih reagensa korištenih u sintezi propargil-epoksida može se istaknuti upotreba Grignardovih reagensa kao što su etinil- ili propargilmagnezijevi halogenidi, pri čemu je potreban korak ciklizacije nastalog halogenhidrina reakcijom s bazom (shema 3).<sup>42-46</sup>



**Shema 3.** Sinteza terminalnih propargil-epoksida Grignardovom reakcijom i ciklizacijom Williamsonovog tipa.<sup>42-44</sup>

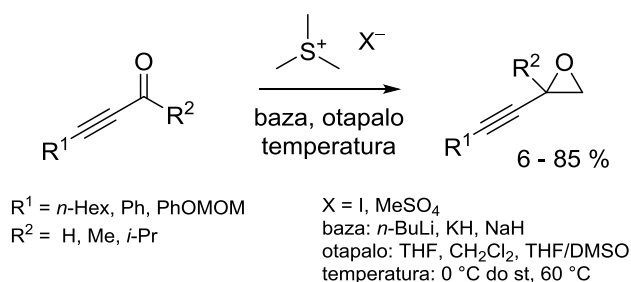
Uz Grignardove reagense, poznata je i upotreba litijevih acetilida. U ovom slučaju alkoksidni ion po nastanku napada susjedni ugljikov atom supstituiran halogenom te dolazi do zatvaranja epoksidnog prstena bez posredovanja protoniranog halogenhidrina (shema 4).<sup>44,47,48</sup>



**Shema 4.** Sinteza terminalnih propargil-epoksida iz halogenketona i litijevih acetilida.<sup>44,47,48</sup>



Epoksidi se iz karbonilnih spojeva mogu dobiti i Corey-Chaykovskyjevom reakcijom. Reagensi su sumporovi ilidi *in situ* generirani iz sulfonijevih soli, stoga se reakcija odvija preko betaina. Napadom alkoksida na susjedni ugljik supstituiran sulfonijevim kationom zatvara se oksiranski prsten, pri čemu je organski sulfid izlazna skupina.<sup>49,50</sup> U slučaju propargilnih spojeva, poznato je nekoliko primjera stvaranja terminalnog oksiranskog prstena Corey-Chaykovskyjevom reakcijom, koji su objedinjeni na shemi 5.<sup>51-53</sup>

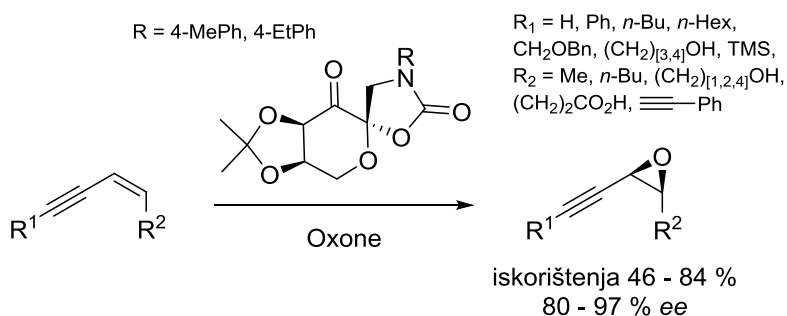


**Shema 5.** Sinteza terminalnih propargil-epoksida Corey-Chaykovskyjevom reakcijom.<sup>51-53</sup>

### Stereoselektivna sinteza

Od poznatih metoda stereoselektivne priprave može se istaknuti Sharplessova asimetrična epoksidacija. Ova metoda koristi titanijev izopropoksid za koordiniranje supstrata (koji u tu svrhu treba u strukturi sadržavati alilni alkohol), te L- odnosno D-dietil-tartarat (DET) kao kiralni ligand, i konačno *tert*-butilhidroperoksid kao oksidans.<sup>54</sup> Kombinacija četiri komponente daje odgovarajuće epoksidge s visokom selektivnošću, no uvjet postojanja alilnog alkohola na željenom mjestu epoksidacije je ograničavajući faktor.

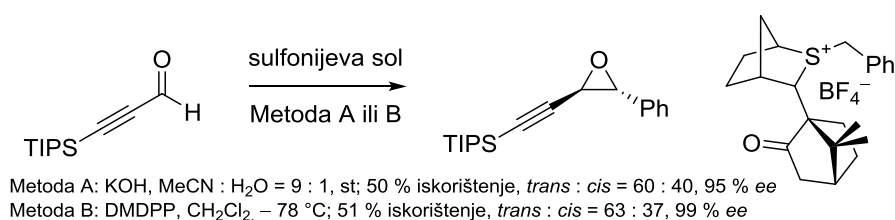
Osim Sharplessove asimetrične epoksidacije, poznate su i druge stereoselektivne varijacije epoksidacije dvostruke veze. Shi *et al.* su koristili kiralni dioksiran pripremljen oksidacijom odgovarajućeg ketona pomoću kalijevog peroksisulfata u obliku trostruke soli  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ , poznate kao *Oxone* (shema 6).<sup>17</sup> Upotrijebljeni keton sintetiziran je polazeći od glukoze.



**Shema 6.** Stereoselektivna epoksidacija kiralnim dioksiranom.<sup>17</sup>

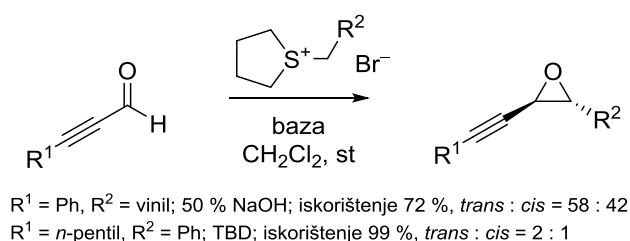
Selektivnost se postiže pozicioniranjem enina  $\pi,\pi$ -interakcijom alkina s fenilnim supstituentom na oksazolidinonu, no i hidrofobne interakcije imaju utjecaj, stoga su bolji rezultati dobiveni za spojeve s nepolarnijim skupinama na alkinu i polarnijim na alkenu.

Optički čisti propargil-epoksidi se mogu dobiti i Corey-Chaykovskyjevom reakcijom s kiralnim sulfonijevim solima. Aggarwal *et al.* opisali su upotrebu kamfilnorborean sulfonijevih soli u reakciji s raznim karbonilnim spojevima, između ostalog i TIPS-zaštićenog propargil-aldehida. Odgovarajući interni epoksidi dobiveni su s *trans*-dijastereoselektivnošću te enantioselektivno (shema 7).<sup>55</sup>



**Shema 7.** Dijastereo- i enantioselektivna Corey-Chaykovskyjeva reakcija uz kiralnu sulfonijevu sol.<sup>55</sup>

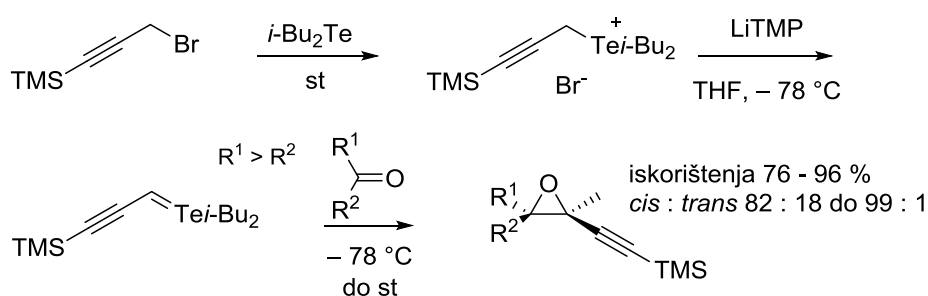
Corey-Chaykovskyjeva reakcija odvija se stereoselektivno i s akiralnim sumporovim ilidima, ako je metilenska skupina koja se prenosi sa sulfonijevog kationa na karbonil supstituirana. Budući da je adicija sumporovih ilida na karbonil reverzibilna, dolazi do pomaka ravnoteže u stabilniji *anti* betain te nastaju interni epoksidi s *trans*-dijastereoselektivnošću. Reverzibilnost procesa, a time i selektivnost, raste s većom stabilnošću oba reaktanta i veličinom supstituenata te pada sa stabilizacijom naboja na sumporu i kisiku u betainu protuionima.<sup>56</sup> Primjeri stereoselektivne sinteze propargil-epoksida Corey-Chaykovskyjevom reakcijom prikazani su na shemi 8.<sup>57,58</sup>



**Shema 8.** Stereoselektivna sinteza internih propargil-epoksida pomoću supstituiranih sulfonijevih ilida.<sup>57,58</sup>

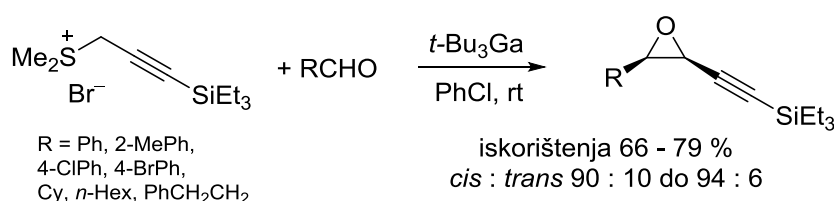
Zhou *et al.* opisali su stereoselektivnu varijantu Corey-Chaykovskyjeve reakcije upotrebom organotelurijevih ilida. Reakcijom TMS-zaštićenog propargil-bromida s diizobutiltelurijem pripravili su odgovarajuće soli. Za pripremu ilida bio je potreban LiTMP, budući da je s LDA

dobiven propargil-alkohol. Reakcijom s karbonilnim spojevima selektivno su dobiveni *cis*-epoksidi (shema 9). Selektivnost procesa objašnjena je mehanizmom preko oksateluretana, iz kojih otvaranjem u betain i napadom kisika na susjedni ugljik nastaju konačni produkti. Oksateluretani mogu nastati kao *trans*- tj. *cis*- izomeri s obzirom na odnos TMS-alkina i većeg supstituenta na karbonilnom ugljiku te iz njih nastaju *cis*- odnosno *trans*-epoksidi. Selektivnost tada proizlazi iz manjih steričkih odbijanja skupina kod *trans*-oksateluretana što ga čini povoljnijim međuproduktom te preferencijalno nastaje *cis*-epoksid.<sup>15</sup>



**Shema 9.** Stereoselektivna sinteza propargil-epoksida upotrebom organotelurijevih ilida.<sup>15</sup>

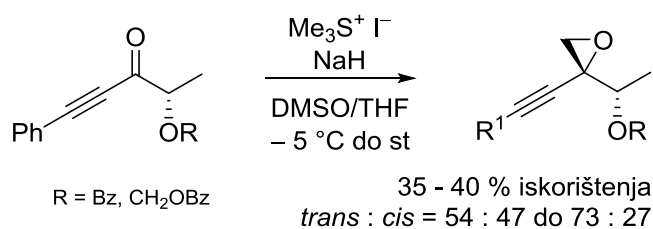
Nishimura *et al.* prijavljuju Corey-Chaykovskyjevu reakciju propargil-sumporovih ilida pripremljenih upotrebom trialkilgalija kao baze, također s visokom *cis*-stereoselektivnošću (shema 10). U ovom slučaju, galij koordinira karbonilni kisik te se napad ilida odvija s *anti*-konfiguracijom s obzirom na odnos trialkilgalija i sulfonijevog iona. Pri tome, manja sterička odbijanja supstituiranog alkina i *tert*-butil skupina galija čine *sinklinalnu* konformaciju s obzirom na odnos alkina i supstituenta na karbonilnom kisiku povoljnijom te selektivno nastaje *cis*-epoksid.<sup>16</sup>



**Shema 10.** Stereoselektivna Corey-Chaykovskyjeva reakcija uz trialkilgalij kao bazu.<sup>16</sup>

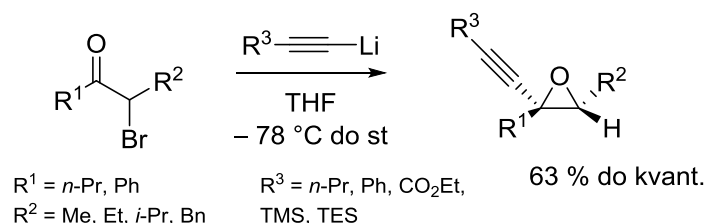
Ako se kao supstrati adicije metilenske skupine koriste optički čisti spojevi s kiralnim centrom na  $\alpha$ -položaju, uslijed asimetrične indukcije dobivaju se terminalni propargil-epoksidi s *trans*-stereoselektivnošću (shema 11).<sup>59</sup> Prema Felkin-Anhovom modelu,<sup>60</sup> nukleofilni napad na  $\alpha$ -kiralni karbonilni spoj odvija se na način da je najveća skupina okomita na ravninu karbonilne skupine što omogućava *anti*-prilaz. Napad nukleofila odvija se

pod kutom od 95 do 105° sa strane najmanjeg supstituenta čime se minimiziraju sterička odbijanja te produkti nastaju dijastereoselektivno.



**Shema 11.** Dijastereoselektivna Corey-Chaykovskyjeva reakcija  $\alpha$ -kiralnih propargil-ketona.<sup>59</sup>

*Cis*-epoksidi nastaju na analogan način u reakcijama adicije litijevih acetilida na  $\alpha$ -kiralne halogenketone (shema 12). Budući da je na kiralnom centru prisutni halogeni atom elektron-odvlačeća skupina, ona zauzima okomitu orijentaciju na ravninu karboksilne skupine uslijed poravnavanja orbitala, što omogućava stabilizaciju kroz delokalizaciju elektronske gustoće hiperkonjugacijom. Karbonilna skupina orijentira se na način da omogućava napad nukleofila sa strane najmanjeg supstituenta.<sup>60</sup> Po nastanku alkoksidnog iona, njegov nukleofilni napad na  $\alpha$ -položaj odvija se  $\text{S}_{\text{N}}2$  procesom, dakle *anti* u odnosu na halogen. Zajednički učinak dvaju procesa rezultira dijastereoselektivnim nastankom produkta.<sup>61,62</sup>

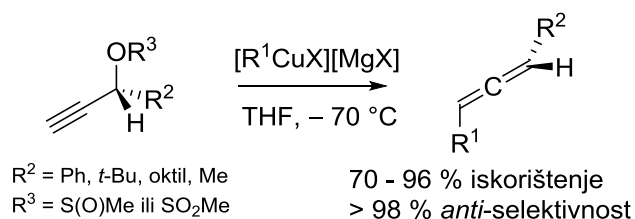


**Shema 12.** Stereoselektivna priprava *cis*-propargil-epoksida adicijom litijevih acetilida na halogenketone s kiralnim centrom u  $\alpha$ -položaju.<sup>61,62</sup>

### 2.1.2. Reakcije propargil-epoksida i alkohola

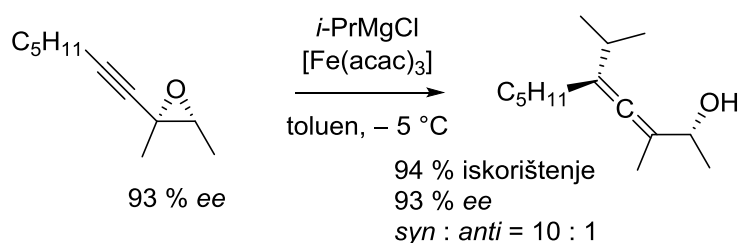
Od reakcija propargil-epoksida i alkohola mogu se istaknuti pretvorba u alene; ciklizacija u druge heterocikličke prstenove kao što su derivati furana, pirola, pirana, oksazolidinona, tiirana i aziridina; te razne intra- i intermolekulske pregradnje.

Derivati propargil-alkohola s dobrom izlaznom skupinom mogu se djelovanjem organometalnih spojeva bakra prevesti u odgovarajuće alene uz prijenos kiralnosti. Elsevier *et al.* opisali su upotrebu organometalnog reagensa  $[\text{RCuX}][\text{MgX}]$  pripremljenog iz Grignardovog reagensa i soli bakra(I) u ovu svrhu, pri čemu se nukleofilni napad odvija s visokom *anti*-selektivnošću u odnosu na izlaznu skupinu (shema 13).<sup>63</sup>



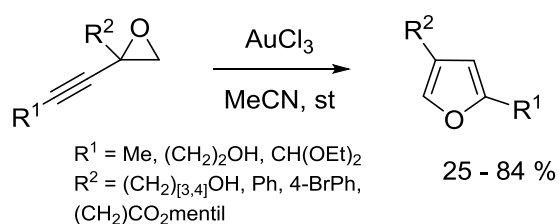
**Shema 13.** Pretvorba derivata propargil-alkohola u alene uz prijenos kiralnosti.<sup>63</sup>

Osim uobičajenog otvaranja epoksidnog prstena 1,2-adicijom, kod propargil-epoksida može doći i do konjugirane adicije analognim procesom. U radu iz 2003. opisana je konjugirana adicija Grignardovih reagensa na propargil-epoksidge katalizirana željezo(III) acetilacetonatom uz prijenos kiralnosti te *syn*-selektivnost (shema 14).<sup>64</sup>



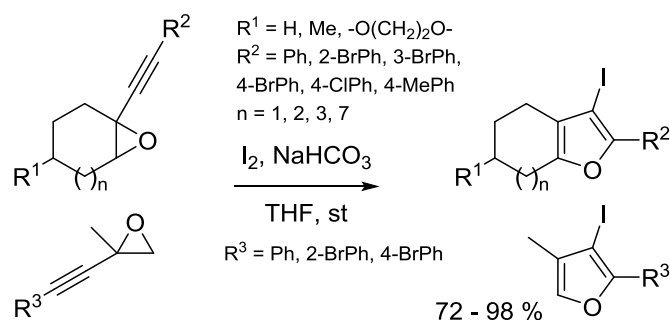
**Shema 14.** Sintaza homopropargil-alkohola konjugiranim otvaranjem prstena propargil-epoksida uz prijenos kiralnosti.<sup>64</sup>

Nadalje, propargil-epoksidge i alkoholi podliježu intramolekularnoj ciklizaciji pri čemu nastaju razni heterociklički spojevi. Hashmi *et al.* opisali su zlatom kataliziranu sintezu 2,4-disupstituiranih derivata furana iz 2,2-disupstituiranih propargil-epoksidge pri sobnoj temperaturi u iskorištenjima 25-84 % (shema 15).<sup>4</sup> Uloga zlata je koordiniranje i aktivacija trostruke veze, što omogućava pomak epoksidnog kisika i proširenje prstena.

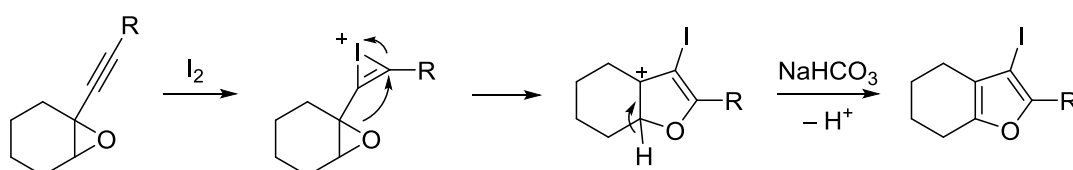


**Shema 15.** Zlatom katalizirana pregradnja terminalnih propargil-epoksidge u furane.<sup>4</sup>

Osim metalokatalizom, ovakve pretvorbe moguće su i u prisustvu joda i baze, prijavljuju Liang *et al.* (shema 16). Koordinacijom trostruke veze na jod nastaje jodonijev kation, te zatim nukleofilnim napadom epoksidnog kisika dolazi do nastanka furanskog prstena, koji se aromatizira deprotoniranjem (shema 17).<sup>65</sup>

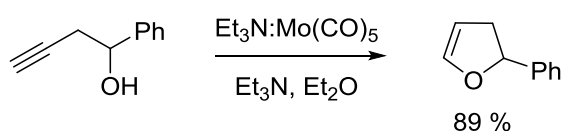


**Shema 16.** Sinteza 3-jodfurana elektrofилном ciklizacijom propargil-epoksida.<sup>65</sup>



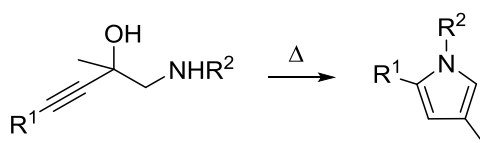
**Shema 17.** Mehanizam proširenja oksiranskog prstena propargil-epoksida u prisustvu joda.<sup>65</sup>

Analogna pretvorba može se dobiti *5-endo-dig* ciklizacijom homopropargil alkohola, pri čemu nastaju odgovarajući dihidrofurani. Ova pretvorba može biti katalizirana bazom<sup>66</sup> ili prijelaznim metalima pri čemu se reakcija u oba slučaja odvija preko alenskog međuprodukta. Primjer je sinteza 2-fenilfurana iz 1-fenilbut-3-in-1-ola katalizirana pentakarbonilmolibden kompleksom koju su proveli McDonald *et al.* (shema 18).<sup>5</sup>



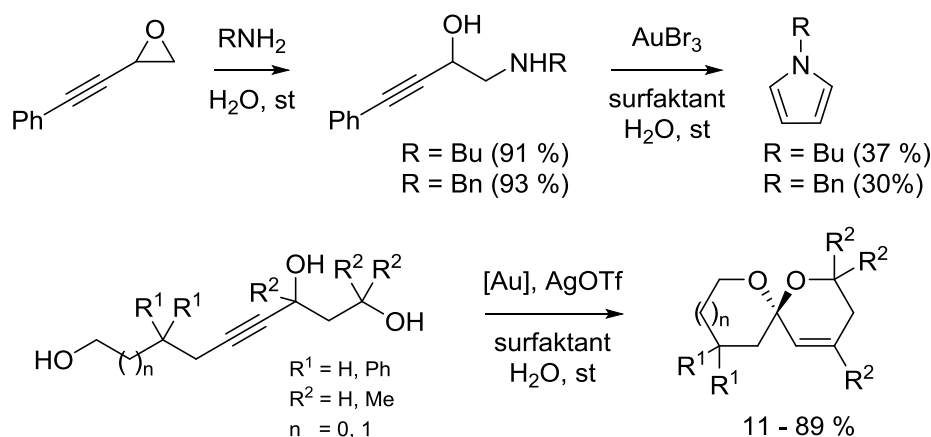
**Shema 18.** *5-endo-dig* ciklizacija homopropargil-alkohola katalizirana kompleksom molibdena.<sup>5</sup>

Osim furana, propargilni spojevi mogu se prevesti i u derivate pirola. Reakcije se odvijaju preko propargil-alkohola i amina. Voskanyan *et al.* proveli su ciklizaciju 1,4-dibrom-1,2-butadiena reakcijom s primarnim ili sekundarnim aminima.<sup>6</sup> Pretpostavljeno je da se proces odvija preko odgovarajućeg propargilnog diamina, analogno prethodno opisanim procesima citiranim unutar rada. Između ostalog, poznata je ciklizacija propargilnog amino alkohola u trisupstituirani pirol (shema 19).



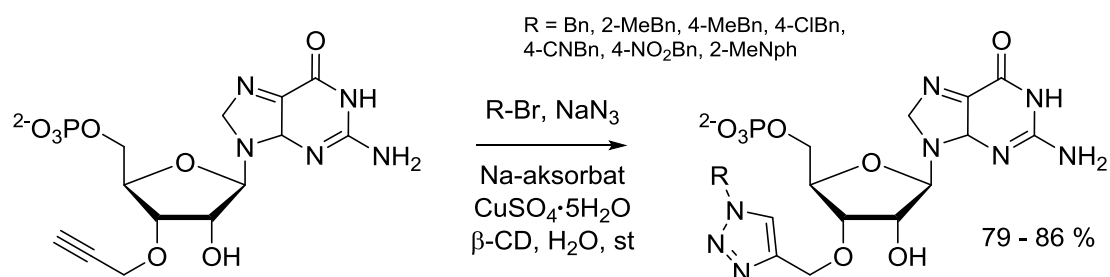
**Shema 19.** Ciklizacija propargilnog amino alkohola u supstituirani pirol.<sup>6</sup>

U radu iz 2014. opisana je slična pretvorba propargilnih amino alkohola, diola i triola, uz katalizu solima i kompleksima zlata. Upotreba micela omogućila je provedbu reakcija u blagim uvjetima, pri sobnoj temperaturi te bez potrebe za dehidratacijskim sredstvom. Amino alkoholi su pripremljeni otvaranjem odgovarajućeg epoksida aminima te zatim ciklizirani u pirole. Nadalje, ciklizacijom propargilnih spojeva s tri hidroksilne skupine dobiveni su spirociklički spojevi (shema 20).<sup>7</sup>



**Shema 20.** Zlatom katalizirana dehidrativna ciklizacija propargil-alkohola u micelama.<sup>7</sup>

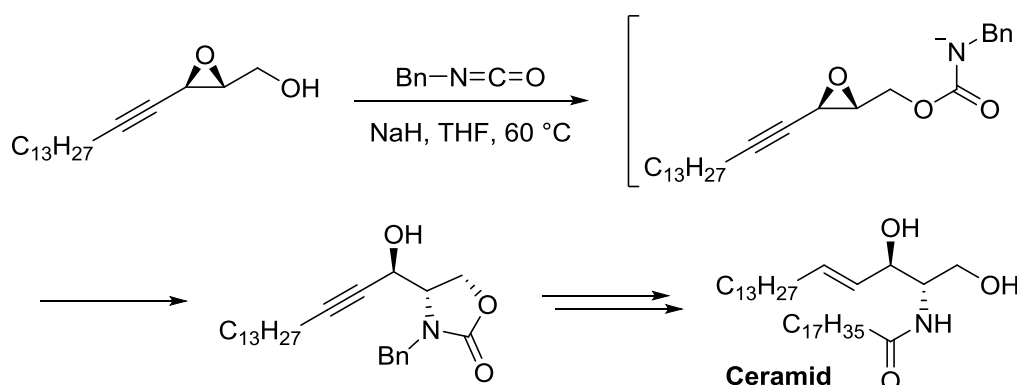
Ugljik-ugljik trostruka veza propargilnih spojeva podliježe i reakcijama *click*-kemije, konkretno nastanku supstituiranih triazola kroz 1,3-dipolarnu cikloadiciju organskih azida.<sup>8,9</sup> Propargilna skupina korisna je za derivatizaciju primjerice bioloških molekula, na koje se uvodi supstitucijskom reakcijom s propargil-halogenidima pri čemu nastaju propargil-eteri ili amini. U radu iz 2019. ova strategija upotrijebljena je za sintezu 3'-O-1,2,3-triazolil derivata gvanozin-5'-O-monofosfata (shema 21).<sup>67</sup> Derivati nukleotida važni su zbog svojih bioloških svojstava kao potencijalni terapeutici i biotehnoških primjena. Provedena je reakcija organskih azida generiranih *in situ* iz odgovarajućih bromida uz bakrov sulfat i natrijev askorbat kao katalizatore. Reakcija je provedena u vodi pri sobnoj temperaturi. Dodatak β-ciklodekstrina bio je bitan za povećanje iskorištenja te smanjenje trajanja reakcija.



**Shema 21.** Derivatizacija gvanozin monofosfata *click*-reakcijom preko propargil-etera.<sup>67</sup>

## 2.1.3. Primjena u organskoj sintezi

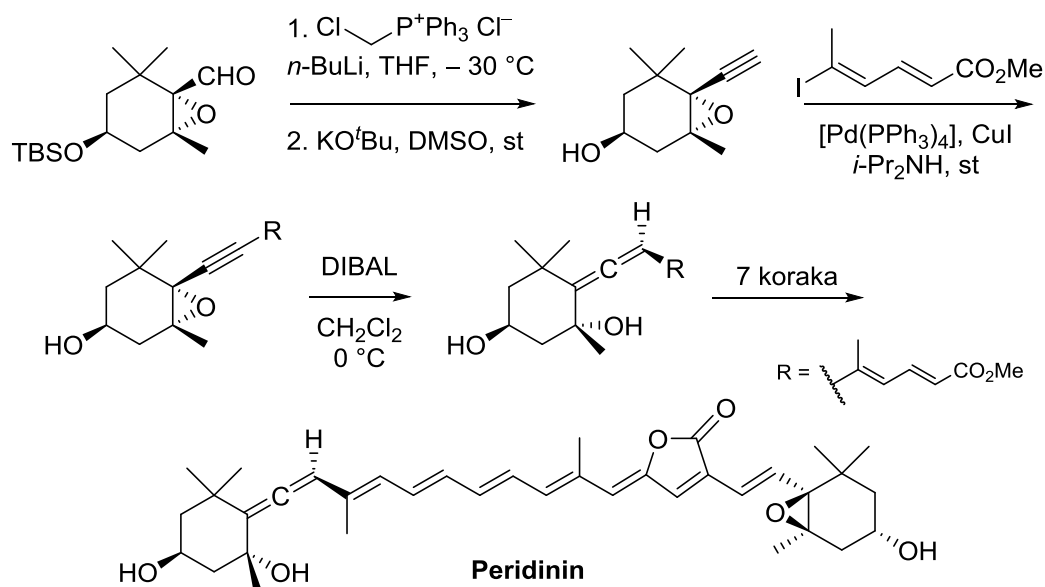
Zbog opisane reaktivnosti, (homo)propargil-epoksidi koriste se kao međuprodukti u pripravi farmaceutika i drugih biološki aktivnih spojeva.<sup>13,68</sup> Uobičajena upotreba, kao i kod ostalih epoksida, je uvođenje kiralnosti u molekulu asimetričnom epoksidacijom dvostruke veze Sharplessovom metodom, nakon čega se epoksidni prsten otvara napadom nukleofila čime se generiraju dva kiralna centra. Julina *et al.* primijenili su ovaj pristup u sintezi ceramida, jednog od glikosfingolipida, koji su glavna sastavnica stanične membrane gdje djeluju kao antigeni i receptori.<sup>69</sup> Nakon Sharplessove epoksidacije, provedena je reakcija dobivenog propargil-epoksi alkohola s benzil izocijanatom, pri čemu nastaje anion benzil karbamata koji nukleofilnim napadom otvara oksiranski prsten regio- te stereoselektivno (shema 22).



**Shema 22.** Regio- i stereoselektivno otvaranje epoksidnog prstena tijekom sinteze ceramida.

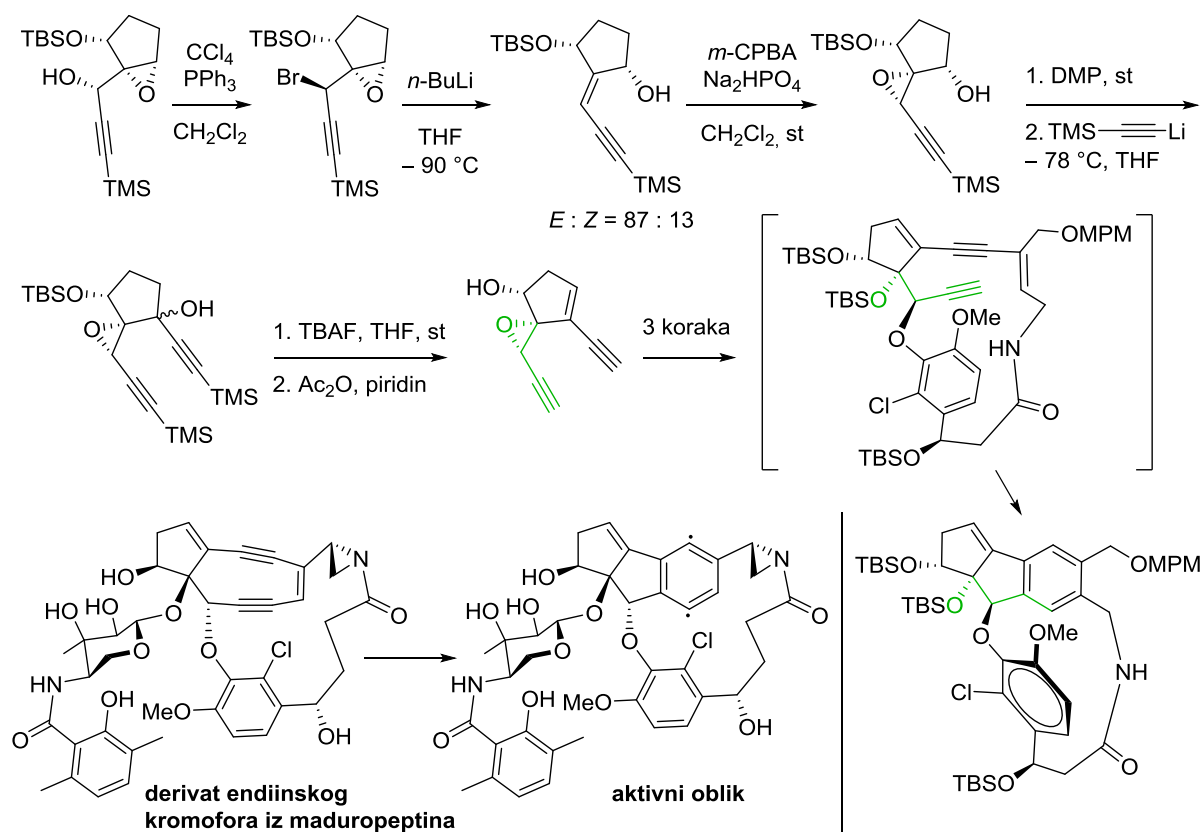
Mogućnost 1,4-adicije na propargil-epoksidge upotrijebljena je tijekom totalne sinteze peridinina, polifunkcionaliziranog karotenoida izoliranog iz dinoflagelata, planktonskih algi koje uzrokuju cvjetanje mora (shema 23).<sup>70</sup> Na krajevima konjugiranog polienskog lanca nalaze se alen i ilidenbutenolid na koje su povezani funkcionalizirani cikloheksanski prstenovi. Autori su stoga primijenili pristup konvergentne sinteze ciljne molekule, pri čemu su dva fragmenta pripravljena iz istog kiralnog epoksidaldehyda, dobivenog iz odgovarajućeg hidroksimetilcikloheksena Sharplessovom epoksidacijom te Swernovom oksidacijom. Prilikom sinteze jednog od fragmenata, aldehidna skupina prevedena je u kloralkensku Wittigovom reakcijom s klormetilfosfonijevom soli, iz koje je eliminacijom HCl dobiven terminalni alkin. Nastali propargil-epoksid podvrgnut je Sonogashirinoj reakciji kako bi se uveo esterski derivat polovice polienskog lanca te je zatim propargil-epoksidni motiv preveden u homoalenil-alkohol stereoselektivnom 1,4-adicijom hidrida pomoću diizobutilaluminijevog hidrida.





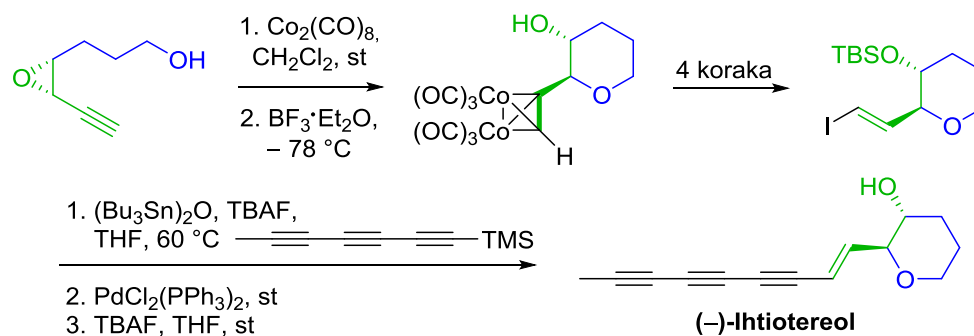
**Shema 23.** Stereoselektivna 1,4-adicija hidrida na propargil-epoksid u sintezi peridinina.

Slična strategija korištena je u konvergentnoj sintezi deveteročanog endiinskog kromofora koji pokazuje snažna antibakterijska i antitumorska svojstva kroz cijepanje DNA lanaca (shema 24).<sup>71</sup> Propargil-alkohol uveden je među prvim koracima sinteze jednog od fragmenata adicijom litijevog TMS-acetilida na alhidnu skupinu TBS zaštićenog derivata (*R*)-ciklopentenola, pri čemu su *s-cis* konformacija enala uslijed steričkog odbijanja karbonilnog kisika i TBS skupine te konfiguracija kiralnog centra odredili stereokemijski ishod reakcije. Potom je Sharplessovom asimetričnom epoksidacijom s (+)-DET dobiven homopropargil-epoksid, nakon čega je propargil-alkohol preveden u bromid Appelovom reakcijom uz potpunu inverziju konfiguracije. Time je omogućeno dijastereoselektivno otvaranje epoksidnog prstena 1,4-*anti*-eliminacijom u reakciji s *n*-butillitijem. Nastali enin je stereoselektivno epoksidiran reakcijom s *m*-CPBA uz usmjeravanje pomoću hidroksilne skupine čime je generiran propargil-epoksid. Hidroksilna skupina prevedena je u enin slijedom oksidacije do ketona, pretvorbe u TMS-zaštićeni propargil-alkohol, uklanjanja sililnih zaštitnih skupina i eliminacije. Dobiveni diinski prekursor povezan je s drugim fragmentom otvaranjem epoksidnog prstena fenoksidom i Sonogashirinom reakcijom u nestabilni endiinski međuprodukt analogan derivatu ciljne molekule. Ovaj spoj podliježe spontanoj cikloaromatizaciji sličnoj kakvom nastaje aktivni oblik ciljnog kromofora.



**Shema 24.** Propargilni i homopropargilni međuprodukti u sintezi analoga endiinskog kromofora iz maduropeptina.

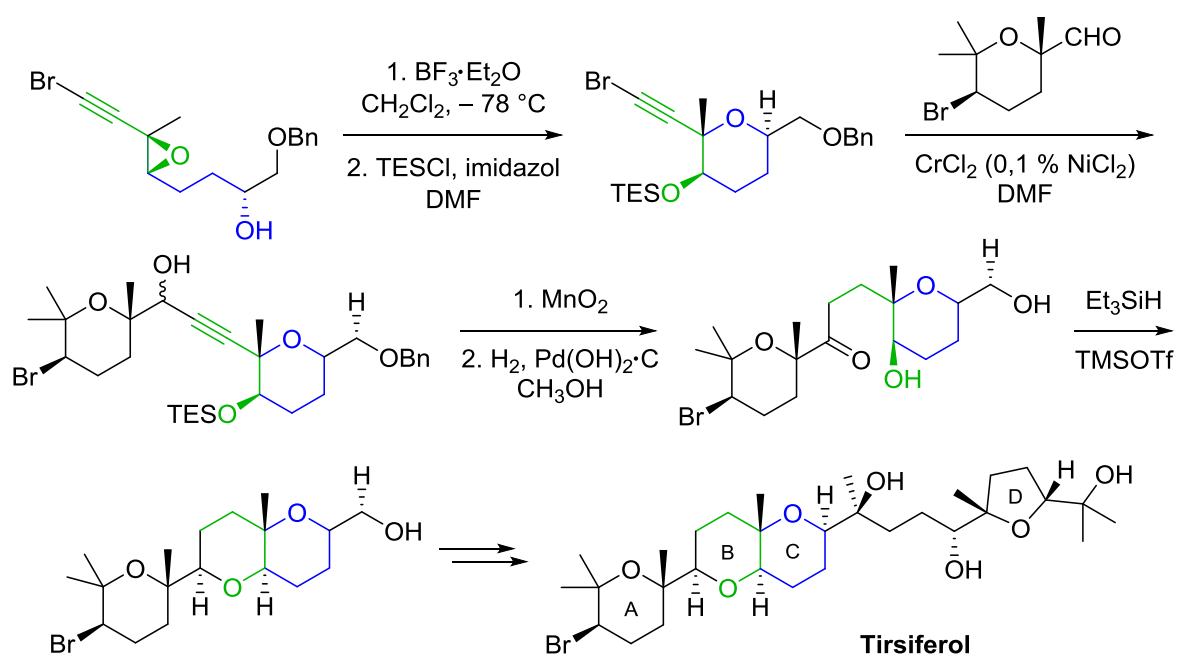
Propargil-epoksidi mogu se koristiti i za konstrukciju heterocikličkih prstenova. Jedan od primjera je sinteza spojeva s tetrahidropiranskim prstenom, koju su opisali Mukai *et al.*<sup>12</sup> Metoda se temelji na pripravi propargil-epoksi alkohola kao međuprodukta i njegovoj 6-*endo* ciklizaciji napadom hidroksilne skupine na propargilni položaj uz otvaranje oksiranskog prstena u prisustvu  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (shema 25). Nukleofilni napad na propargilni položaj olakšan je stabilizacijom propargilnog kationa kompleksiranjem trostruke veze kobaltom.<sup>12,72</sup>



**Shema 25.** Stvaranje tetrahidropiranskog prstena 6-*endo* ciklizacijom propargil-epoksi alkohola u sintezi (-)-lhtioteola.<sup>68</sup>

Ovaj pristup upotrijebljen je u pripravi (-)-ihtiotereola, toksičnog polialkaina izoliranog iz listova *Ichthyothere terminalis*. Navedena biljka rasprostranjena je na području Brazila i Gvajane te ju domoroci upotrebljavaju kao otrov za ribe.

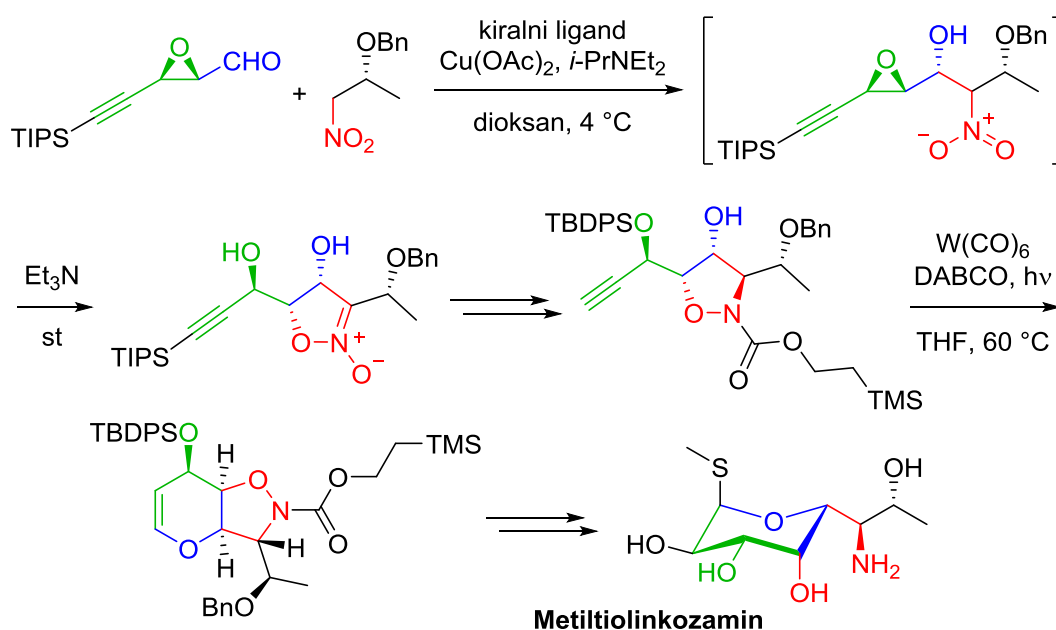
Ova ciklizacija može se provesti i bez kobaltovog kompleksa. Ovakvu strategiju koristila je druga skupina autora za konstrukciju prstena C prilikom sinteze tirsiferola, spoja izoliranog iz crvene morske alge *Laurencia sp.*, koji inhibira djelovanje proteina serin/treonin fosfataze 2A te pokazuje antileukemijska svojstva kroz indukciju stanične smrti (shema 26).<sup>11</sup> Autori su kao međuprodukt koristili halogenpropargil-epoksid, pri čemu je prsten A uveden reakcijom karbonilne skupine njegovog aldehidnog derivata s halogenalkinom uz metalokatalizu. Nastali propargil alkohol zatim je oksidiran do ketona i trostruka veza potpuno reducirana. Slijedeće je provedena reduktivna ciklizacija kroz reakciju hidroksilne skupine dobivene otvaranjem epoksidnog prstena i keto skupine uz trietilsilan i TMS-triflat, te je time iz propargil-epoksidnog motiva i ugljika karbonilne skupine konstruiran prsten B.



**Shema 26.** Propargil-epoksid kao međuprodukt u sintezi tirsiferola.<sup>68</sup>

U radu iz 2021. opisana je upotreba propargil-epoksi aldehida u sintezi metiltiolinkozamina, ugljikohidratne jedinice linkozamidnih antibiotika (shema 27).<sup>73</sup> Aldehid je korišten u reakciji nitro-aldolne kondenzacije kako bi se na piranozni prsten uveo bočni ogranak. Neočekivano, po nastanku alkohola došlo je do otvaranja oksiranskog prstena bazno kataliziranim napadom nitro skupine pri čemu nastaje izoksazolinski prsten.

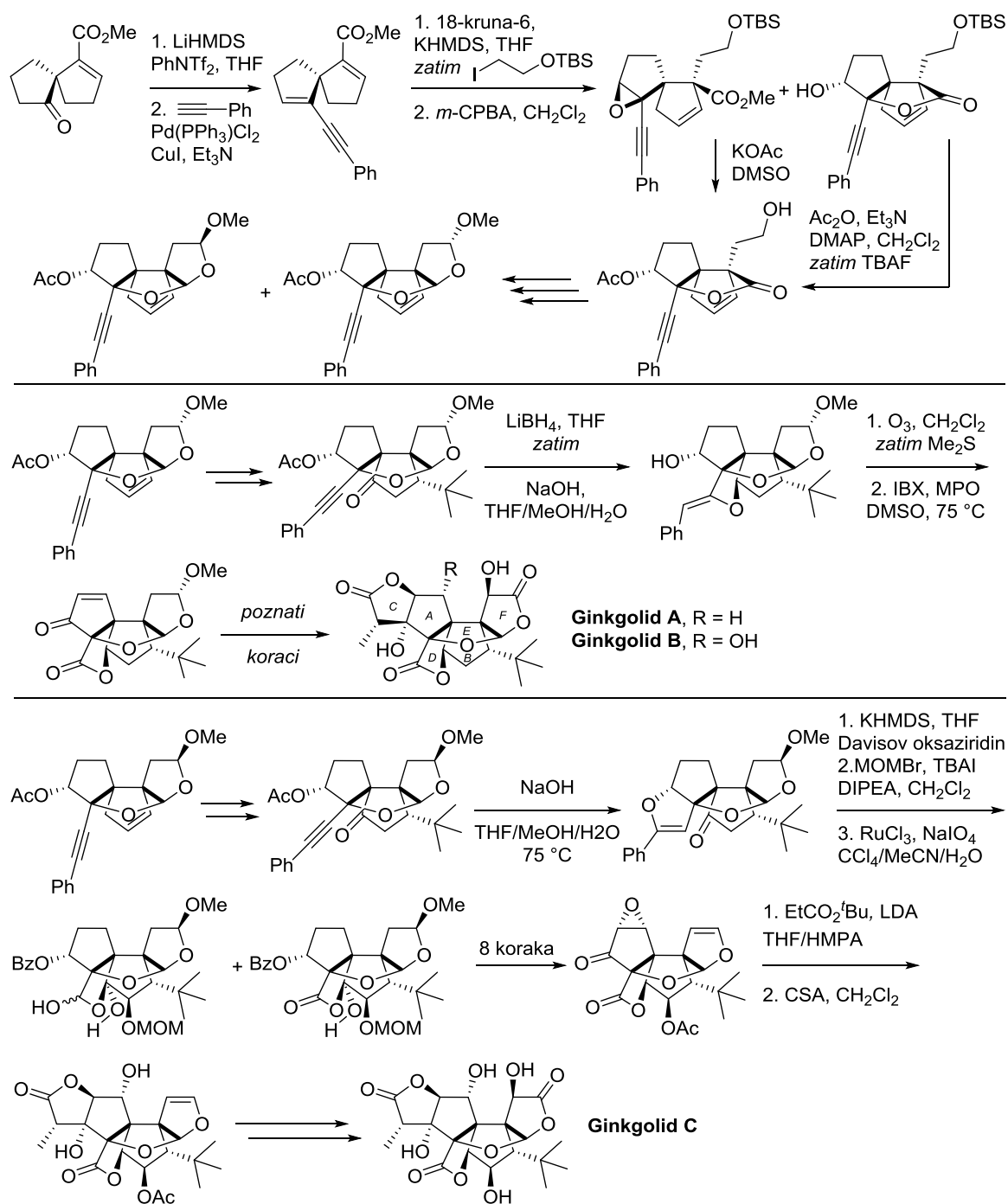
Dodatno, propargilni motiv kasnije je upotrijebljen za konstrukciju dihidropiranskog prstena u volframovim kompleksom kataliziranoj reakciji s nezaštićenom hidroksilnom skupinom poteklom od aldehida. Dobiveni biciklički spoj preveden je u ciljni produkt kroz epoksidaciju dvostruke veze i otvaranje epoksida metilsulfidom te cijepanjem N-O veze. Time su generirane amino skupina bočnog ogranka i dvije hidroksilne skupine piranoznog prstena, dok treća potječe od kisika propargil-epoksida. Ova strategija omogućila je sintezu različitih derivata metiltiolinkozamina variranjem polaznog nitro spoja te time pristup novim linkozamidnim antibioticima.



**Shema 27.** Konstrukcija dva heterociklička prstena iz propargil-epoksi aldehida prilikom sinteze glikonskog dijela linkozamidnih antibiotika.

Propargil-epoksidni motiv nedavno su Hébert *et al.* primijenili u sintezi ginkgolida, kompleksnih polioksigeniranih diterpenoida izoliranih iz listova i kore korijena stabla ginkgo biloba.<sup>74</sup> Ovi prirodni produkti pokazuju snažno djelovanje protiv upalnih procesa te bolesti centralnog živčanog sustava kao što su Alzheimerova i Parkinsonova bolest te multipla skleroza. Istaknuta obilježja molekularne arhitekture ovih spojeva su visoko oksigenirana heksaciklička struktura s dva susjedna kvarterna ugljikova atoma, prisutnost *tert*-butil skupine te do 12 susjednih ugljikovih stereogenih centara.

Opisana je formalna sinteza ginkgolida A i B te totalna sinteza ginkgolida C (shema 28). Propargilni motiv uveden je pri početku sinteze Sonogashirinom reakcijom fenilacetilena s alkenil-triflatom dobivenim enolizacijom spirocikličkog ketona.



**Shema 28.** Upotreba propargil-epoksi motiva za konstrukciju heterocikličkih prstenova tijekom sinteze ginkgolida A, B i C.

Na  $\alpha$ -položaj estera na susjednom prstenu zatim je uvedena TBS zaštićena hidroksietilna skupina, pri čemu je prethodno generirana kiralnost kvarternog ugljika diktirala stereokemijski ishod ovog i svih daljnjih koraka sinteze. Dvostruka veza generiranog enina potom je regio- i enantioselektivno oksidirana pomoću  $m\text{-CPBA}$ , čime je dobiven odgovarajući propargil-epoksid kao većinski produkt. Zanimljivo, kao manjinski produkt

dobiven je lakton nastao intramolekulskom ciklizacijom uslijed otvaranja epoksidnog prstena i nukleofilnog napada na estersku skupinu.

Djelovanjem kalijevog acetata postignuta je ista ciklizacija većinskog produkta, uz uklanjanje TBS skupine, dok je isti međuprodukt dobiven djelovanjem acetanhidrida na manjinski lakton, čime je konstruiran centralni tetrahidrofuranski prsten E. Ciklizacijom slobodnog hidroksietilnog fragmenta i laktona kroz nekoliko koraka konstruiran je drugi tetrahidrofuranski prsten F te su dobivena dva diastereomera tetracikličkog međuprodukta. Kod oba diastereomera oksidiran je položaj uz preostalu dvostruku vezu kako bi se dobila karbonilna skupina, što je omogućilo uvođenje *tert*-butil supstituenta Michaelovom adicijom.

(*R*)-derivat podvrgnut je redukciji keto skupine, nakon čega je bazno kataliziranom 5-*egzo-dig* reakcijom dobivene slobodne hidroksilne skupine s propargilnim motivom i ozonolizom nastale dvostruke veze konstruiran laktonski prsten D regioselektivno. Djelovanjem 2-jodoksibenzojeve kiseline (IBX) i 4-metoksipiridin *N*-oksida (MPO) slobodna hidroksilna skupina prevedena je u  $\alpha,\beta$ -nezasićeni keton, čime je dobiven spoj iz kojeg se poznatim slijedom reakcija mogu sintetizirati ginkgolidi A i B.

S druge strane, u slučaju (*S*)-derivata ista bazno katalizirana ciklizacija enola nije bila moguća, pretpostavljeno zbog nepovoljnog položaja fenilacetilena u odnosu na karbonilni kisik. Korak ciklizacije je stoga proveden bez prethodne redukcije keto skupine te je nastao dihidrofuranski prsten u reakciji s hidroksilnom skupinom na prstenu A. Reakcijom s  $\text{RuCl}_3$  i  $\text{NaIO}_4$  keton je preveden u diol te je prethodno dobiveni enol-eter oksidativno pocijepan, što je dovelo do nastanka prstena D intramolekulskom ciklizacijom dvaju motiva. Dodatno, kasnije u sintezi je hidroksilna skupina na prstenu A prevedena u  $\alpha,\beta$ -epoksi keton. Prsten C tada je zatvoren slijedom Claisenove kondenzacije s *tert*-butil-propanoatom i uklanjanja zaštitne skupine kamforsulfonskom kiselinom uz otvaranje epoksidnog prstena nukleofilnim napadom slobodne karboksilne kiseline. Oksidacijom dvostruke veze prstena F te hidrolizom acetatnog estera na prstenu B dobiven je ginkgolid C.

## 2.2. Metode stereoselektivne sinteze

Zbog izrazite važnosti kiralnih spojeva, postoji multidisciplinarna grana kemije koja se bavi izučavanjem prostornog rasporeda atoma u strukturi molekula – stereokemija. Glavni predmeti istraživanja su određivanje i opisivanje međudnosa stereoisomera te utjecaja tih međudnosa na fizikalna, kemijska i biološka svojstva molekula.<sup>75</sup> Utjecaj međudnosa

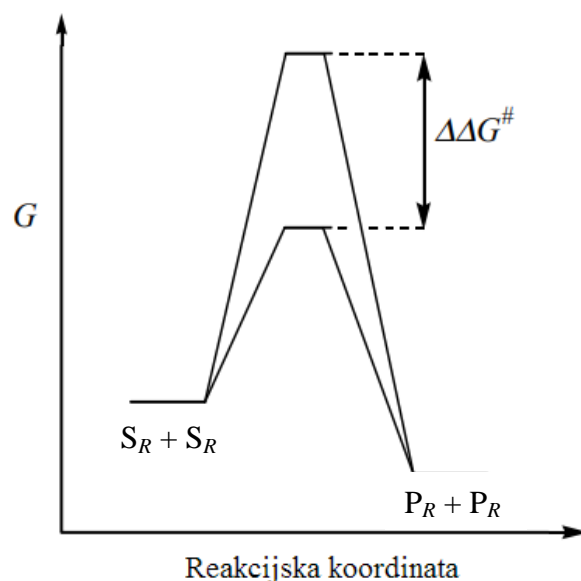
stereoizomera na fizikalna svojstva i reaktivnost molekula koristi se za dobivanje kiralnih spojeva metodama kiralne rezolucije te stereoselektivne sinteze.

Stereoselektivna ili asimetrična sinteza podrazumijeva kemijsku reakciju (ili niz reakcija) kojom se u molekulu uvodi jedan ili više novih elemenata kiralnosti, pri čemu nastaju stereoizomerni produkti u nejednakim količinama.<sup>76</sup> Drugim riječima, stereoselektivnom sintezom se iz akiralnih spojeva djelovanjem kiralnih, neracemičnih tvari dobivaju kiralni, neracemični produkti.<sup>77</sup> Neke od metoda asimetrične sinteze su: *enantioselektivna metalokataliza*, gdje se kao djelatne tvari upotrebljavaju kiralni organometalni kompleksi s kiralnim ligandima ili kiralnim metalnim centrom; *enantioselektivna organokataliza*, pri čemu su katalizatori kiralne organske molekule; upotreba *kiralnog spremnika* (engl. *chiral pool synthesis*), odnosno kiralnih spojeva (često prirodnih tvari) kao polaznog materijala; privremena pretvorba u diastereomere derivatizacijom pomoću *kiralnih pomoćnih sredstava*; te upotreba *kiralnih reagensa*.<sup>78,79</sup>

Uz stereoselektivnu sintezu, pojedini enantiomeri mogu se dobiti iz racemičnih smjesa metodama rezolucije. Prvu rezoluciju proveo je Pasteur 1848. kristalizacijom amonijevih soli vinske kiseline, pri čemu su pojedini kristali sadržavali jedan enantiomer uslijed procesa *spontane rezolucije* te ih je bilo moguće mehanički odvojiti pincetom pod mikroskopom. Moderne metode kiralne rezolucije temelje se na različitom ponašanju enantiomera u kiralnoj sredini ili pretvorbi u diastereomerne derivate različitih fizikalnih svojstava dodatkom kiralnog derivatizirajućeg sredstva. Navedeno omogućava odvajanje kromatografijom, destilacijom ili prekrizacijom (tzv. *frakcijska kristalizacija* diastereomernih soli). U slučaju kromatografije može se provesti rezolucija enantiomera na kiralnim nepokretnim fazama ili pretvorbom u diastereomerne derivate pomoću kiralnog derivatizirajućeg sredstva.<sup>78-80</sup>

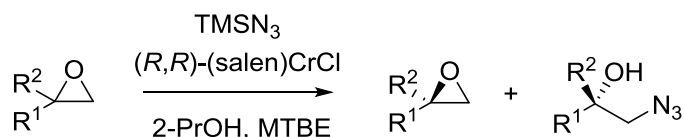
### 2.2.1. Kinetička rezolucija

Desetljeće nakon kristalizacije amonijevog tartarata, Pasteur je otkrio razliku u brzini razgradnje pojedinih enantiomera amonijevog tartarata djelovanjem plijesni *Penicillium glaucum*. Naime, brzina razgradnje D-tartarata bila je veća u odnosu na L-tartarat. Ovaj proces poznat je kao *kinetička rezolucija*. U prisustvu kiralnog katalizatora enantiomeri stvaraju komplekse koji se razlikuju u energiji prijelaznog stanja, što dovodi do različitih konstanti brzina reakcije. Kako je nastalo prijelazno stanje jednog od enantiomera stabilnije, reakcija je brža te se temeljem toga enantiomeri mogu odvojiti (slika 3).<sup>78,81,82</sup>



**Slika 3.** Energetski profil kinetičke rezolucije.<sup>82</sup>

Kao kiralni katalizatori mogu se upotrijebiti kemijski agensi ili biološki katalizatori – enzimi. Primjer kinetičke rezolucije kemijskim katalizatorom je asimetrično otvaranje prstena terminalnih epoksida pomoću TMS-azida katalizirano salen kompleksom kroma, koje su opisali Lebel i Jacobsen (shema 29).<sup>83</sup>



**Shema 29.** Primjer kinetičke rezolucije kemijskim agensom.<sup>83</sup>

U prošlosti, osnovna metoda određivanja optičke čistoće spojeva bila je polarimetrija, koja se temelji na svojstvu kiralnih spojeva da zakreću ravninu polarizirane svjetlosti. Mjera zakretanja pojedinog spoja, *specifična optička rotacija*, određuje se polarimetrom te je definirana jednadžbom:<sup>78,79</sup>

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{c \times l} \times 100 \quad (2.1)$$

gdje je  $\alpha$  kut zakretanja, izmjeren polarimetrom;  $c$  je masena koncentracija spoja u otopini, iz povijesnih i praktičnih razloga izražena u jedinici 10 mg/mL;  $l$  je duljina puta snopa svjetla kroz otopinu. Specifična optička rotacija osim o prirodi spoja također ovisi o valnoj duljini snopa svjetla (standardno se mjeri pri 589 nm, odnosno natrijevoj D-liniji), temperaturi mjerenja te otapalu u kojem je spoj otopljen, stoga se zapisuje u sljedećem obliku:<sup>78,79</sup>

$$[\alpha]_{\lambda}^t (c, \text{otapalo})$$



Optička čistoća se tada određuje usporedbom izmjerene specifične rotacije s literaturnom vrijednosti čistog enantiomera.

U današnje vrijeme, optička čistoća spojeva opisuje se enantiomernim viškom, odnosno udjelom čistog enantiomera u smjesi s njegovim racematom:<sup>78,79</sup>

$$\% ee = \frac{|E_1 - E_2|}{E_1 + E_2} \times 100 = |\%E_1 - \%E_2| \quad (2.2)$$

gdje su  $E_1$  odnosno  $E_2$  količine pojedinih enantiomera, a  $\%E_1$  tj.  $\%E_2$  njihovi udjeli u smjesi.

Enantiomerni višak spoja moguće je odrediti GC-om ili HPLC-om odvajanjem enantiomera na kolonama s kiralnim stacionarnim fazama ili odgovarajućih diastereomernih derivata akiralnim ili kiralnim sredstvima. Enantiomerna čistoća također se može izračunati iz NMR spektara upotrebom akiralnih ili kiralnih derivatizirajućih sredstava te kiralnih solvatorajućih agensa.<sup>78,79</sup>

Tijekom kinetičke rezolucije, enantiomerna čistoća ( $ee$ ) produkta i supstrata se mijenja, te se stoga  $ee$  mogu uspoređivati samo pri istom stupnju konverzije. U slučaju kada je kiralni katalizator enzim, govorimo o enzimskoj rezoluciji, odnosno biokatalitičkim reakcijama. Sukladno tome, omjer brzina reakcija dvaju enantiomera definiran je Michaelis-Menteničinom kinetikom:<sup>84,85</sup>

$$\frac{v_R}{v_S} = \frac{(k_{cat}/K_M)_R \times [R]}{(k_{cat}/K_M)_S \times [S]} \quad (2.3)$$

Pri tome se omjer parametara Michaelis-Menteničine kinetike za dva enantiomera naziva  $E$ -vrijednost te određuje i opisuje enantioselektivnost reakcije:<sup>84,85</sup>

$$E = \frac{(k_{cat}/K_M)_R}{(k_{cat}/K_M)_S} \quad (2.4)$$

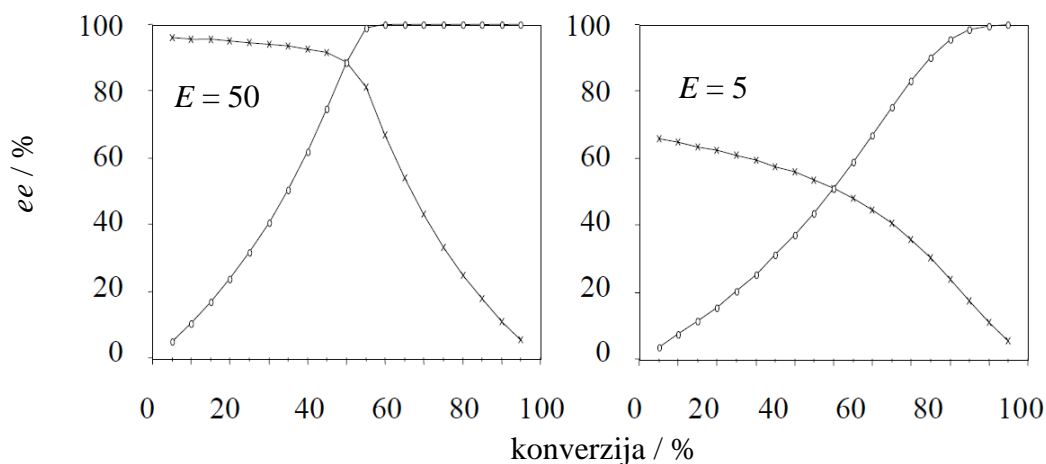
Uz poznate enantiomerne viškove supstrata i produkta te stupanj konverzije ( $c$ )  $E$ -vrijednost pojedinog stupnja ireverzibilne reakcije može se izračunati prema sljedećim jednadžbama:<sup>84,86,87</sup>

$$E = \frac{\ln[1 - c(1 + ee_p)]}{\ln[1 - c(1 - ee_p)]} \quad (2.5)$$

$$E = \frac{\ln[1 - c(1 - ee_s)]}{\ln[1 - c(1 + ee_s)]} \quad (2.6)$$

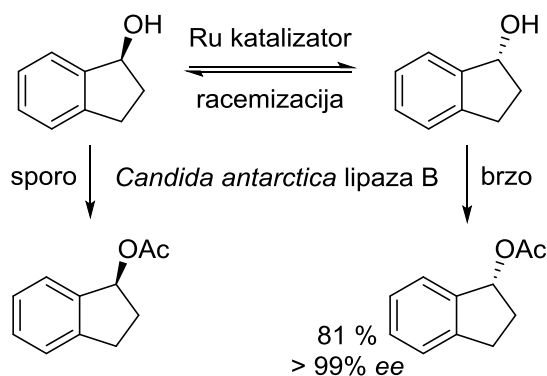
$$E = \frac{\ln\left[\frac{1 - ee_s}{1 + ee_s/ee_p}\right]}{\ln\left[\frac{1 + ee_s}{1 + ee_s/ee_p}\right]} \quad (2.7)$$

Uz poznatu  $E$ -vrijednost iz ovisnosti  $ee$  produkta i supstrata o konverziji može se odrediti u kojem stupnju reakciju treba prekinuti za optimalan rezultat rezolucije (slika 4). Prema empirijskom pravilu,  $E$ -vrijednosti niže od 15 smatraju se neprikladnim za praktičnu primjenu. Enantioselektivnost reakcije umjerena je za  $E$ -vrijednosti 15 do 30, dobra za  $E$ -vrijednosti do 50 te izvrsna iznad te  $E$ -vrijednosti. Ukoliko  $E$ -vrijednost prelazi 200, nastaju optički čisti produkti s  $ee$  iznad 99 %.<sup>88</sup>



**Slika 4.** Ovisnost enantiomernog viška supstrata ( $ee_s$ , označen križićima) i produkta ( $ee_p$ , označen kružićima) o konverziji ( $c$ ) tijekom ireverzibilne kinetičke rezolucije.<sup>82</sup>

Kako se kinetička rezolucija temelji na većoj brzini reakcije s jednim od enantiomera, maksimalno moguće iskorištenje reakcije je 50 %, budući da se na jednom enantiomeru vrši pretvorba, dok drugi ostaje nepromijenjen. Jedan od načina kojim se ovo ograničenje može izbjeći je racemizacija supstrata *in situ*. Kinetička rezolucija tada se ponavlja dok sav polazni racemični spoj bude preveden u jedan enantiomer produkta. Ovaj proces poznat je kao *dinamička kinetička rezolucija* (DKR). Racemizacija se u pravilu postiže dodatkom nekog reagensa, na primjer metalnog kompleksa (shema 30).<sup>22,89</sup>

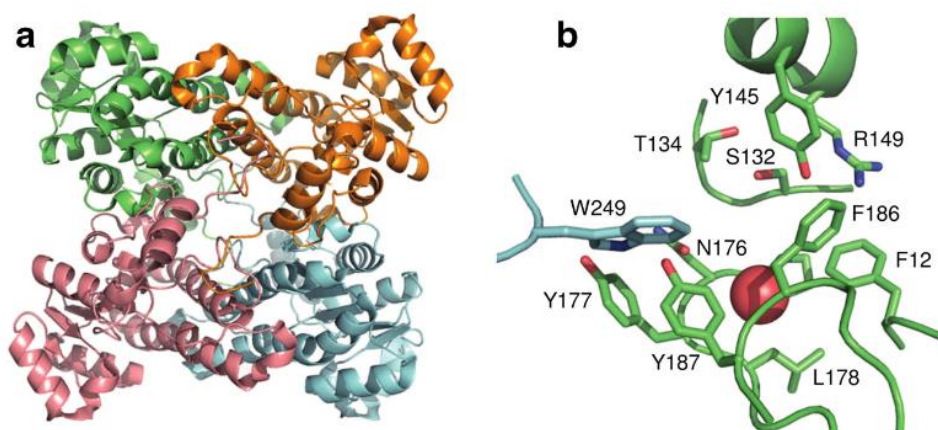


**Shema 30.** Kemoenzimatska dinamička kinetička rezolucija.<sup>90</sup>

### 2.3. Halogenhidrin-dehalogenaze (HHDH)

Halogenhidrin-dehalogenaze (HHDH) su skupina enzima koji provode pretvorbu halogenhidrina i epoksida u oba smjera.<sup>19</sup> Ovi enzimi iz skupine lijaza (EC 4.5.1.-) otkriveni su 1968. kao dio bakterijskog metabolizma halogeniranih spojeva kroz ciklizaciju vicinalnih halogenhidrina.<sup>91</sup> Nastali epoksidi su reaktivne vrste koje mogu predstavljati opasnost za bakteriju uslijed otvaranja prstena nukleofilima prisutnim u biološkim molekulama. Poznati su slučajevi gdje se HHDH nalaze u operonu s epoksid hidrolazom, koja ih prevodi u vicinalne diole čime se navedena opasnost uklanja.<sup>28,92,93</sup>

HHDH su homotetramerni proteini sastavljeni od dva dimera s po jednim aktivnim mjestom u svakom monomeru. Aktivno mjesto sadrži visoko očuvanu katalitičku trijadu Ser-Tyr-Arg (slika 5).<sup>94</sup>

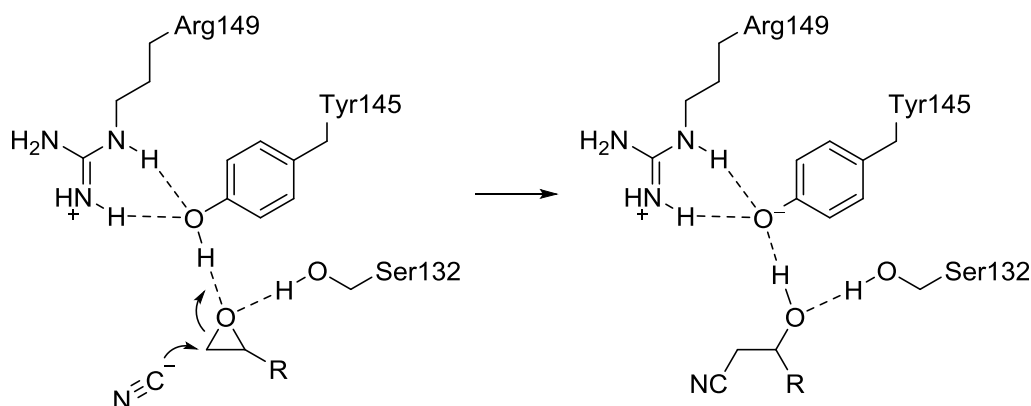


**Slika 5.** Stereo prikaz HheC: a) tetramerna struktura i b) aktivno mjesto s katalitičkom trijadom Ser-Tyr-Arg).<sup>95</sup>

Mehanistički, serin stvara vodikovu vezu s kisikom hidroksilne skupine te time pozicionira supstrat u blizini tirozina, koji služi kao baza te deprotonira njegovu hidroksilnu skupinu omogućavajući nukleofilni napad alkoksidnog iona na vicinalni ugljik. Epoksidni prsten se time zatvara uz izlazak halogenidnog iona koji je stabiliziran interakcijama u anionskom džepu. Uloga arginina je snižavanje  $pK_a$  hidroksilne skupine tirozina stvaranjem vodikove veze.<sup>94,95</sup>

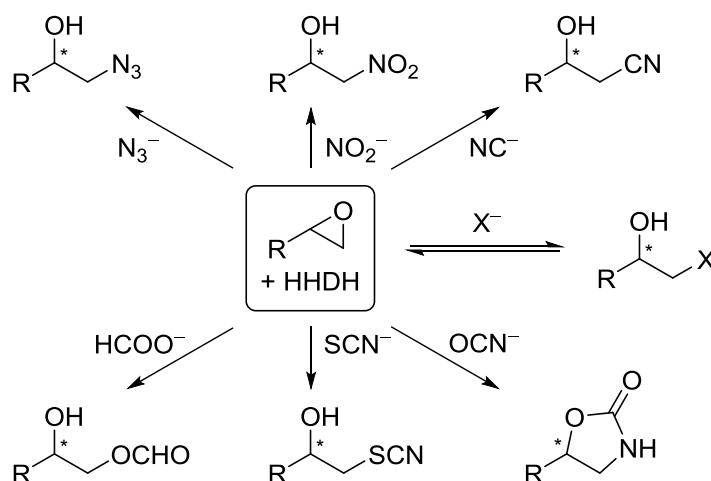
Široka upotreba ovih enzima počela je 1990ih nakon što je Nakamura prijavio da HHDH također mogu katalizirati reakciju u suprotnom smjeru, otvaranje epoksidnog prstena u prisustvu cijanidnog aniona.<sup>34</sup> Analogno mehanizmu zatvaranja prstena, epoksid se pozicionira u aktivno mjesto uslijed nastanka vodikove veze epoksidnog kisika s hidroksilnom skupinom serina, što omogućava napad nukleofila smještenog u anionskom

džepu. Alkoksidni ion tada deprotonira hidroksilnu skupinu tirozina, koja je stabilizirana vodikovim vezama s argininom (Shema 31).<sup>95</sup>



**Shema 31.** Mehanizam otvaranja epoksidnog prstena kod HDDH.<sup>95</sup>

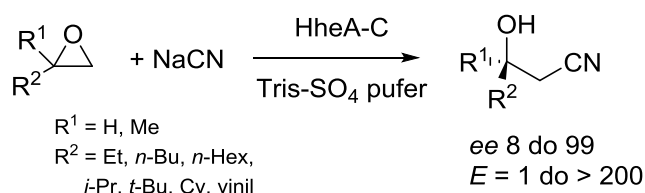
Istraživanja koja su proveli Janssen *et al.* pokazala su da HDDH mogu prihvatiti različite neprirodne nukleofile, kao što su azid, nitrit, cijanid, cijanat, tiocijanat i formijat, odnosno sposobni su katalizirati nastanak veze ugljik-ugljik, ugljik-dušik, ugljik-kisik, ugljik-sumpor te ugljik-halogen. Time je moguće pripraviti širok raspon industrijski važnih spojeva, kao što su optički čisti  $\beta$ -azido- i  $\beta$ -cijanoalkoholi, oksazolidinoni te njihovi derivati (shema 32).<sup>27,95</sup> Ovi nukleofili imaju različite kinetičke parametre, pri čemu azid pokazuje najveću aktivnost.<sup>19</sup>



**Shema 32.** HDDH katalizirane reakcije epoksida s različitim nukleofilima.<sup>27</sup>

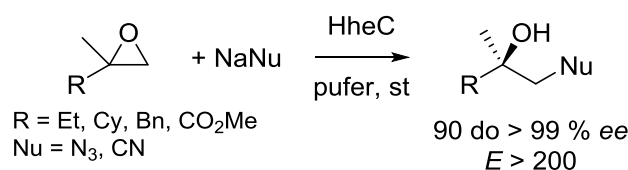
Što se selektivnosti tiče, u slučaju terminalnih epoksida većina tipova HDDH pokazuje visoku  $\beta$ -regioselektivnost, dok HheG pokazuje  $\alpha$ -regioselektivnost. Uz to, divlji tip HheC, te divlji tip HheB i mutanti HheB2 pokazuju visoku (*R*)-enantioselektivnost, dok HheA2 uz uvedenu mutaciju N178A pokazuje dobru (*S*)-enantioselektivnost.<sup>19,30,95</sup>

Od navedenih nukleofila, azid i cijanid su sintetski najzanimljiviji. Nastali  $\beta$ -azidoalkoholi dalje se mogu prevesti u  $\beta$ -amino alkohole te aziridine, dok se iz  $\beta$ -hidroksi-nitrila uz  $\gamma$ -amino alkohole mogu pripremiti  $\beta$ -hidroksi kiseline i  $\beta$ -keto alkoholi te njihovi derivati. Elenkov *et al.* istražili su utjecaj različitih alifatskih supstituenata na oksiranskom prstenu na prihvaćanje epoksida kao supstrata HHDH u reakcijama u prisustvu cijanidnih iona i njihovu enantioselektivnost (shema 33).<sup>96</sup> HheA i HheB su pokazivali nižu enantioselektivnost, no ona je rasla s porastom steričke zahtjevnosti supstituenata ( $\text{Et} > i\text{-Pr} > t\text{-Bu}$ ), iako uz pad aktivnosti. HheC se pokazao najselektivnijim od ispitanih enzima, uz umjerenu do visoku enantioselektivnost prema monosupstituiranim spojevima. Aktivnost enzima padala je s porastom duljine lanca ( $\text{Et} > n\text{-Bu} > n\text{-Hex}$ ) te također razgranatosti supstituenta ( $\text{Et} > i\text{-Pr} > t\text{-Bu}$ ). Kod 2,2-disupstituiranih spojeva koji imaju metilnu skupinu kao drugi supstituent dobiven je veliki porast enantioselektivnosti.



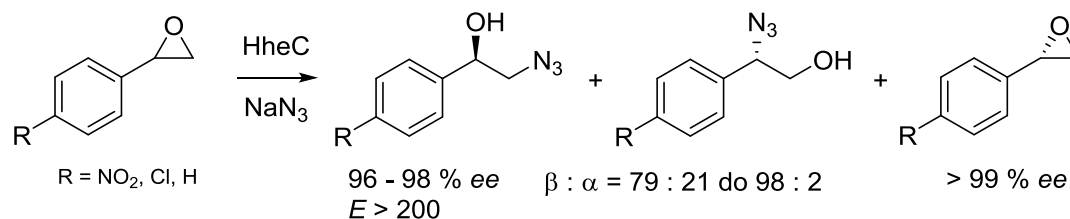
**Shema 33.** Regioselektivna pretvorba razno supstituiranih alifatskih epoksida u prisustvu cijanidnih iona katalizirana s HHDH tipovima A, B i C.

Nastavno na navedeno, u radu iz 2007. dobiveni su različiti terciarni  $\beta$ -azidoalkoholi i  $\beta$ -cijano alkoholi s visokom (*R*)-enantioselektivnošću upotrebom HheC u prisustvu azidnih odnosno cijanidnih iona (shema 34).<sup>97</sup>



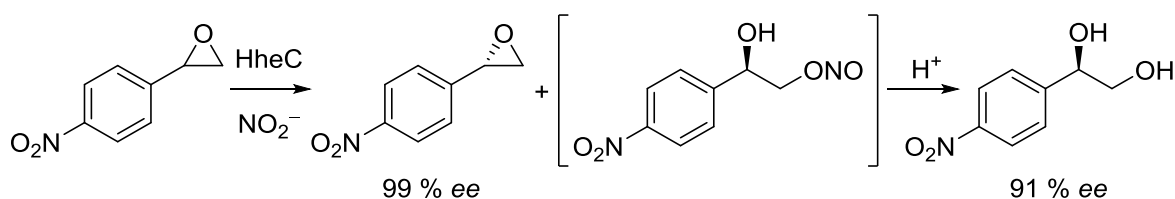
**Shema 34.** Priprava optički čistih alifatskih  $\beta$ -azidoalkohola i  $\beta$ -hidroksi-nitrila katalizirana s HheC.<sup>97</sup>

Osim alifatskih, Lutje Spelberg *et al.* pokazali su da ovi enzimi dobro prihvaćaju i različite aromatske epoksidge.<sup>98</sup> Odgovarajući  $\beta$ -azidoalkoholi dobiveni su s visokom enantio- i regioselektivnošću u reakcijama kataliziranim s HheC u prisustvu azida. Dodatno, preostali enantiomer epoksida dobiven je u optički čistom obliku (shema 35).



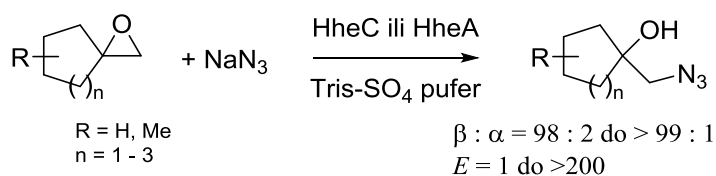
**Shema 35.** Enantio- i regioselektivna priprava aromatskih  $\beta$ -azidoalkohola upotrebom HheC.

Hasnaoui *et al.* proveli su reakcije kinetičke rezolucije derivata stiren-oksida u prisustvu nitritnih iona (shema 36).<sup>99</sup> Reakcije su katalizirane s HheC te su pokazale visoku  $\beta$ -regioselektivnost i visoku enantioselektivnost te su preostali epoksid, i produkti nukleofilnog napada dobiveni s visokim enantiomernim viškom. Dobiveni su produkti nukleofilnog napada preko kisika i dušika nitritnog aniona, uz 80 %-tnu regioselektivnost u korist kisika. No, nastali nitritni esteri su nestabilni te hidroliziraju u odgovarajuće diole, također uz visoku enantioselektivnost te se stoga ovaj sustav može koristiti kao alternativa epoksid hidrolazi.



**Shema 36.** Hidroliza stiren-oksida u prisustvu nitritnih iona katalizirana s HheC.<sup>99</sup>

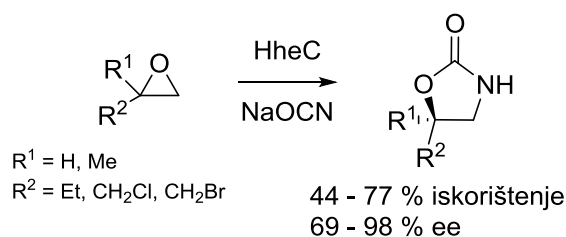
HHDH mogu katalizirati i rezoluciju spiroepoksida, objavljeno je u radu iz 2012. (shema 37).<sup>29</sup> HheA katalizirala je pretvorbu epoksida s 5-, 6- i 7-članim prstenom uz visoku  $\beta$ -regioselektivnost. Epoksid koji sadrži šestoročlani prsten imao je najveću regioselektivnost te su odgovarajući derivati korišteni u reakcijama kataliziranim s HheC. Reakcije su uz visoku regioselektivnost također pokazale umjerenu do visoku enantioselektivnost.



**Shema 37.** Kinetička rezolucija spiroepoksida katalizirana s HHDH.

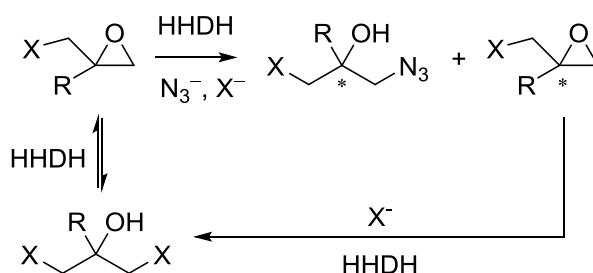
Nadalje, priprava enantiomerno obogaćenih 2-oksazolidinona iz epoksida katalizirana s HheC u prisustvu cijanidnih iona opisana je u radu iz 2008. (shema 38).<sup>100</sup> Reakcije su se odvijale uz visoku regioselektivnost te su dobiveni isključivo 5-supstituirani produkti. U slučaju disupstituiranih derivata produkti su također dobiveni s visokom enantioselektivnošću, uz *E*-

vrijednosti 85 do > 200 te enantiomerni višak 93-98 %. Sukladno prethodno navedenim svojstvima, selektivnost enzima prema monosupstituiranom spojevima bila je manja.



**Shema 38.** Sinteza optički čistih 2-oksazolidinona otvaranjem prstena epoksida cijanatnim ionima katalizirana s HheC.

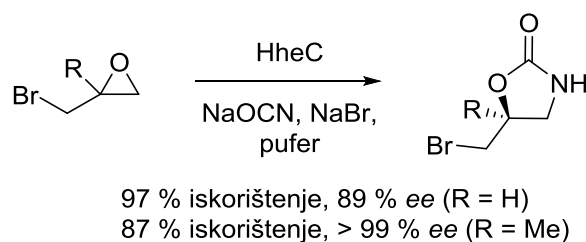
Budući da HHDH mogu katalizirati zatvaranje epoksidnog prstena iz halogenhidrina te otvaranje prstena u prisustvu halogenidnih te neprirodnih nukleofila, u slučaju halogenmetil derivata (tzv. epihalogenhidrini) opažena je racemizacija supstrata. Prisutnost halogenidnih iona u uzorku omogućila je HHDH katalizirano nukleofilno otvaranje prstena epoksida čime nastaje simetričan, prokiralni halogenhidrin, iz kojeg ciklizacijom, nativnom reakcijom HHDH nastaje racemični epoksid. Uslijed istovremenog odvijanja procesa kinetičke rezolucije i racemizacije supstrata, u ovom posebnom slučaju HHDH mogu katalizirati i reakcije dinamičke kinetičke rezolucije (shema 39),<sup>101,102</sup> stoga je iz racemičnog epiklorhidrina odgovarajući produkt dobiven u iskorištenju od 54 %, no enantiomerni višak iznosio je 69 %. S druge strane, produkt reakcije optički čistog (*S*)-epiklorhidrina dobiven je u iskorištenju od 76 % te uz enantiomerni višak od 96 %. Dodatno, kod disupstituiranih halogeniranih spojeva prisutnost cijanatnih iona inhibirala je racemizaciju, no DKR je omogućena dodatkom odgovarajućeg natrijevog halogenida.



**Shema 39.** Dinamička kinetička rezolucija halogenmetil epoksida katalizirana s HHDH.<sup>101</sup>

Sposobnost HHDH da provode reakcije DKR primijenili su Mikleušević *et al.* u HheC kataliziranom otvaranju prstena epibromhidrina u prisustvu NaOCN i NaBr.<sup>101</sup> Reakcijom monosupstituiranog odnosno disupstituiranog epoksida dobiveni su odgovarajući

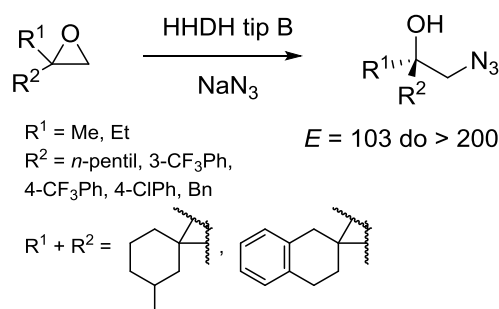
oksazolidinoni enantiomerne čistoće 89 % tj. > 99 % u iskorištenjima od 97 % odnosno 87 % (shema 40).



**Shema 40.** Dinamička kinetička rezolucija epibromhidrina katalizirana s HheC.<sup>101</sup>

Novi aspekti biokatalitičkih svojstava HDDH kontinuirano se istražuju. Razvojem mutanata metodama genetskog inženjeringa, kao što su modifikacije anionskog džepa, postižu se poboljšanja katalitičkih svojstava.<sup>103–107</sup> U svrhu maksimiziranja efikasnosti prilikom prevođenja enzimskih reakcija na industrijsku skalu ispituju se utjecaji reakcijskih uvjeta, kao što je utjecaj otapala.<sup>108</sup>

U radu iz 2022. istražena su katalitička svojstva HDDH skupine B (shema 41).<sup>30</sup> Provedeno je ispitivanje reakcija raznih mono- i disupstituiranih alifatskih te aromatskih epoksida u prisustvu niza nukleofila (svi poznati i dodatno nitrat) kataliziranih s nativnim HheB2, njenim mutantima i HheB. Od ispitanih nukleofila, u HheB2 kataliziranim reakcijama provedenim na benziloksiranu kao modelnom spoju u prisustvu formijata i nitrata nisu dobiveni produkti. Reakcije s ostalim nukleofilima davale su (*R*)-enantiomer produkta s slabom enantioselektivnošću ( $E = 1 - 2$ ). Pri tome je azid imao najveću brzinu reakcije, potom nitrit, a zatim su slijedili cijanat, tiocijanat i cijanid sa sličnim brzinama reakcije.



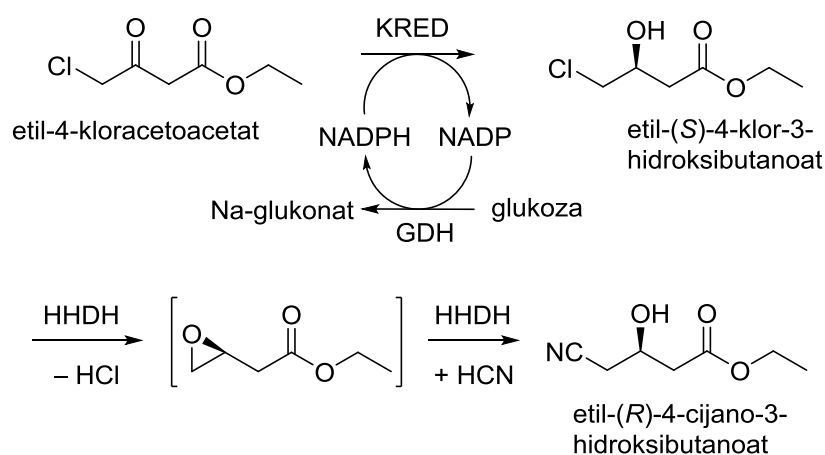
**Shema 41.** Upotreba HDDH skupine B u stereoselektivnoj sintezi sterički zahtjevnih tercijskih alkohola.

Nadalje, enantioselektivnosti reakcija monosupstituiranih spojeva bile su slabe do umjerene ( $E$ -vrijednosti 1 do 45). Uvođenjem drugog supstituenta enantioselektivnost značajno raste ( $E = 111$  do  $> 200$ ), pri čemu veličina supstituenta ima značajnu ulogu. U slučaju pretvorbe *n*-



pentilom supstituiranog oksirana katalizirane s HheB, promjena drugog supstituenta iz metila u etil dovodi do povećanja *E*-vrijednosti sa 157 na > 200, no daljnje povećanje u *n*-propil uzrokuje gubitak aktivnosti. U slučaju benziloksirana, uvođenjem metilnog ili etilnog supstituenta *E*-vrijednost raste sa 12 na > 200, no kod odgovarajućeg spiro - epoksitetrahidronaftalena dolazi do blagog pada *E*-vrijednosti na 103. HheB je pokazao visoku selektivnost i prema spiro-epoksidu s metilcikloheksanskim prstenom, dok sa cikloheksen-oksidom nije bilo aktivnosti. HDDH skupine B time su se pokazali kao dobri katalizatori za sintezu sterički zahtjevnih tercijarnih alkohola u enantiomerno čistom obliku.

Zbog svega gore navedenog, HDDH pronalaze sve veću primjenu u pripravi međuprodukata za sintezu farmaceutika, kao što je etil (*R*)-4-cijano-3-hidroksibutanoat koji se koristi u pripravi statina, lijekova koji snižavaju razinu kolesterola (shema 42),<sup>107</sup> te se istražuju i novi građevni blokovi kao što su fluorirani aromatski spojevi, zbog svojih poželjnih lipofilnih svojstava.<sup>109,110</sup>



**Shema 42.** Upotreba HDDH u sintezi međuprodukta za pripravu statinskih lijekova.<sup>19</sup>

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali i metode

Sve reakcije provedene su u atmosferi argona osim ako nije drugačije navedeno. Polazni materijali, reagensi i otapala dobiveni su iz komercijalnih izvora i nisu dodatno pročišćavani. THF, DMSO i Et<sub>2</sub>O sušeni su prema standardnim metodama.

Tankoslojna kromatografija (engl. *thin-layer chromatography*, TLC) napravljena je na pločicama silikagela na aluminiju (60 F254, Merck). Sintetizirani spojevi detektirani su UV svjetlom (254 nm) ili bojanjem fosfomolibdatnim reagensom ili kalijevim permanganatom. Sintetizirani spojevi pročišćeni su kromatografijom na stupcu silikagela (Silicagel 60, promjer čestica 0,070–0,230 nm ili 0,230–0,400 nm, Merck) uz eluiranje odgovarajućim otapalom.

<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektri snimljeni su na Bruker AV 300 i 600 spektrometrima u deuteriranom kloroformu (CDCl<sub>3</sub>). Kemijski pomaci ( $\delta$ ) izraženi su u ppm, u odnosu na tetrametilsilan (TMS) ili otapalo kao unutrašnji standard. Konstante sprezanja ( $J$ ) izražene su u Hz. Signali su označeni kao: s – singlet; d – dublet; t – triplet; q – kvartet; br s – široki singlet; m – multiplet.

Tijek enzimskih reakcija praćen je plinskom kromatografijom (engl. *gas chromatography*, GC) na Agilent 7820A instrumentu opremljenim FID (engl. *flame ionization detector*) detektorom (zagrijan na 300 °C) i *split* injektorom (zagrijan na 250 °C) uz N<sub>2</sub> kao plin nosač, te komercijalno dostupnom kolonom s akiralnom nepokretnom fazom HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m, Agilent). Optička čistoća produkata određena je kao enantiomerni višak (engl. *enantiomeric excess*, *ee*) GC-om ili tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC) metodama navedenim u tablici D1. GC analize provedene su na Agilent 8860 GC System instrumentu na GC kolonama s kiralnim nepokretnim fazama. HPLC analize provedene su na Agilent 1260 Infinity II instrumentu opremljenim DAD (engl. *diode array detector*) detektorom na kolonama s kiralnim nepokretnim fazama.

IR spektri (FTIR-ATR) snimljeni su na instrumentu Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflection PerkinElmer UATR Two Spectrometer (raspon 400-4000 cm<sup>-1</sup>). Optičko zakretanje izmjereno je automatskim polarimetrom Optical Activity LTD AA-10. Spektrometrija mase visoke razlučivosti (engl. *high resolution mass spectrometry*, HRMS)

napravljena je na instrumentu Agilent 6546 LC/Q-TOF povezanom s Agilent 1290 Infinity II HPLC (+ESI).

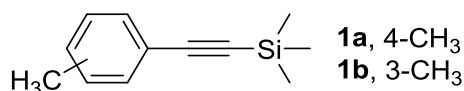
### Priprema enzima

Za reakcije kinetičke rezolucije provedene na analitičkoj skali, enzimi HheC, HheA2-N178A, HheB i HheB2-T120A pripremljeni su prekomjernom ekspresijom u bakterijskim stanicama *E. coli*, soj MC1061 prema literaturnom postupku i korišteni kao proteinski ekstrakt.<sup>29,101</sup> Masena koncentracija proteina određena Bradfordovom metodom<sup>111</sup> iznosila je 5,4 g dm<sup>-3</sup> za HheC, 2,8 g dm<sup>-3</sup> za HheA2-N178A, 3 g dm<sup>-3</sup> za HheB te 2,8 g dm<sup>-3</sup> za HheB2-T120A. Proteinski profil dobivenih ekstrakata analiziran je denaturirajućom diskontinuiranom gel-elektroforezom na poliakrilamidnom gelu (engl. *sodium dodecylsulfate-polyacrilamide gel electrophoresis*, SDS-PAGE). Procijenjena zastupljenost enzima u ukupnom proteinskom ekstraktu iznosila je otprilike 60 % za HheC te 30 % za HheA2-N178A.

Za reakcije kinetičke rezolucije na preparativnoj skali korištene su cijele bakterijske stanice *E. coli*, soj MC1061 koje su sadržavale prekomjerno eksprimirani HheC. Talog stanica pripremljen je prema prije navedenom postupku,<sup>101</sup> smrznut te zatim liofiliziran tijekom 24 sata i skladišten u obliku sirovog praha pri -20 °C.

## 3.2. Priprava propargil-epoksida i alkohola

### 3.2.1. Priprava trimetil[2-(n-metilfenil)etnil]silana, n = 3, 4 (**1a-b**)



[Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] (0,5 mol%), CuI (1,5 mol%) i odgovarajući jodmetilbenzen (1 ekv.) otopljeni su u diizopropil-aminu (0,5 mL na 1 mmol alkina) i THF-u (toliko da se dobije otopina množinske koncentracije 0,4 mol dm<sup>-3</sup> s obzirom na alkin) pod argonom. Dokapan je etinil(trimetil)silan (1 ekv.) te je nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi preko noći. Dodana je zasićena vodena otopina NH<sub>4</sub>Cl (100 mL) te je smjesa ekstrahirana s Et<sub>2</sub>O (4 × 50 mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran, te je otapalo upareno pri sniženom tlaku.

*Trimetil[2-(4-metilfenil)etnil]silan (1a)*. Spoj **1a** pripremljen je prema opisanom općem postupku 3.2.1., počevši od 4-jodmetilbenzena (9,6 g, 44 mmol). Dobiveni produkt korišten je u sljedećem koraku sinteze bez daljnjeg pročišćavanja.

U svrhu karakterizacije produkta, prema istom postupku uz pročišćavanje kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 100 kao eluens, dobiven je čisti spoj **1a** u obliku žutog ulja (98 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>112</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 0,27 (s, 9H), 2,36 (s, 3H), 7,12 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,38 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H).

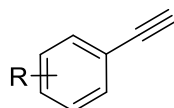
<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 0,1; 21,5; 93,2; 105,4; 120,1; 128,9; 131,9; 138,6.

*Trimetil[2-(3-metilfenil)etinil]silan (1b)*. Prema opisanom općem postupku 3.2.1., pripremljen je spoj **1b** počevši od 3-jodmetilbenzena (8,7 g, 40 mmol). Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 100 kao eluens dobiven je čisti spoj **1b** u obliku žutog ulja (7,3 g, 97 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>113</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 0,24 (s, 9H), 2,31 (s, 3H), 7,08 – 7,13 (m, 1H), 7,14 – 7,21 (m, 1H), 7,25 – 7,30 (m, 2H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 0,1; 21,3; 93,8; 105,4; 123,0; 128,2; 129,1; 129,5; 132,7; 138,0.

### 3.2.2. Priprava etinilarena (**2a-c**)



**2a**, R = 4-CH<sub>3</sub>  
**2b**, R = 3-CH<sub>3</sub>  
**2c**, R = H

**Opći postupak A.** U otopinu silana **1** (40 mmol, 1 ekv.) u MeOH (115 mL) dodana je vodena otopina KOH množinske koncentracije 2 mol dm<sup>-3</sup> (80 mL, 80 mmol, 2 ekv.) u atmosferi argona te je nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi 1,5 h. Dodana je zasićena otopina NH<sub>4</sub>Cl (100 mL) te je smjesa ekstrahirana s Et<sub>2</sub>O (3 × 50 mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i koncentriran pri sniženom tlaku (200 mbar, hladna kupelj). Dobiveni produkt korišten je u sljedećem koraku sinteze bez daljnjeg pročišćavanja.

**Opći postupak B.** Jodaren (4,2 mmol, 1 ekv.) i etinil(trimetil)silan (0,72 mL, 5,1 mmol, 1,2 ekv.) otopljeni su u diizopropil-aminu (1 mL) i suhom THF (5 mL) pod argonom. Smjesa je miješana pri sobnoj temperaturi 5 min, a potom su dodani [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] (150 mg, 0,13 mmol, 3 mol%) i CuCl (77 mg, 0,78 mmol, 18 mol%). Po završetku reakcije (1,25 sati prema HPLC) u smjesu je dodana otopina KOH (440 mg, 7,8 mmol, 1,9 ekv.) u vodi (3 mL) i MeOH (3,5 mL) te je smjesa miješana pri sobnoj temperaturi 20 h. Reakcijska smjesa dodana je u zasićenu

otopinu  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (60 mL) te je nastala smjesa ekstrahirana s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 50$  mL). Spojeni organski ekstrakt ispran je otopinom  $\text{HCl}$  množinske koncentracije  $2 \text{ mol dm}^{-3}$  (50 mL) i zasićenom otopinom  $\text{NaCl}$  (50 mL) te sušeni iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i ponovno profiltriran, nakon čega je otapalo upareno pri sniženom tlaku (240 mbar, hladna kupelj). Dobiveni ostatak korišten je u slijedećem koraku sinteze bez daljnjeg pročišćavanja.

*1-etinil-4-metilbenzen (2a)*. Spoj **2a** pripravljen je prema općem postupku 3.2.2.A polazeći od spoja **1a**. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>113</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,34 (s, 3H), 3,02 (s, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,38 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,0; 76,0; 83,4; 118,5; 128,6; 131,5; 138,5.

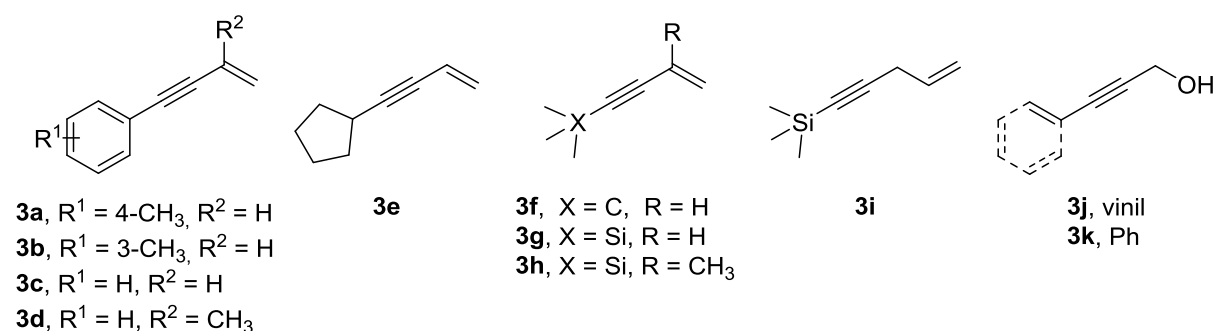
*1-etinil-3-metilbenzen (2b)*. Spoj **2b** pripravljen je prema općem postupku 3.2.2.A polazeći od spoja **2a** (7,3 g, 39 mmol). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>113</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,33 (s, 3H), 3,04 (s, 1H), 7,14 – 7,17 (m, 1H), 7,18 – 7,23 (m, 2H), 7,28 – 7,33 (m, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,2; 76,7; 83,8; 121,9; 128,2; 129,2; 129,7; 132,7; 138,0.

*Etinilbenzen (2c)*. Spoj **2c** pripravljen je prema općem postupku 3.2.2.B polazeći od jodbenzena (0,47 mL, 4,2 mmol).

### 3.2.3. Priprava enina (3a-k)



**Opći postupak A.**  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  (0,5 mol%) i  $\text{CuI}$  (1,5 mol%) otopljeni su u diizopropil-aminu (0,5 mL na 1 mmol alkina) pod argonom. Dodana je otopina vinil-bromida u THF-u množinske koncentracije  $1 \text{ mol dm}^{-3}$  (1,5 ekv.), a zatim je dokapan odgovarajući alkin (1 ekv.) te je nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi preko noći. Dodana je zasićena otopina  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 mL) i smjesa ekstrahirana s  $\text{Et}_2\text{O}$  ( $3 \times 20$  mL) ili  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20$  mL).

Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i koncentriran pri sniženom tlaku (200 mbar, hladna kupelj u slučaju *tert*-butil derivata zbog niskih vrelišta). Dobiveni produkti pročišćeni su kromatografijom na stupcu silikagela.

**Opći postupak B.** [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] (173 mg, 0,15 mmol, 3 mol%) i CuI (111 mg, 0,59 mmol, 9 mol%) otopljeni su u diizopropil-aminu (2,5 mL, 0,5 mL na 1 mmol alkina) pod argonom i nastala smjesa miješana je pri 0 °C. Dodana je otopina vinil-bromida u THF-u množinske koncentracije 1 mol dm<sup>-3</sup> (6,5 mL, 1,2 ekv.) te dokapan odgovarajući enin (5 mmol, 1 ekv.) i smjesa miješana 30 min pri 0 °C, a zatim pri sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije (3 sata prema TLC) smjesa je isprana vodom (30 mL), profiltrirana i ekstrahirana s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 20 mL). Spojeni organski ekstrakt ispran je otopinom HCl množinske koncentracije 1 mol dm<sup>-3</sup> (30 mL) i zasićenom otopinom NaCl (30 mL), osušen iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtriran i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiveni produkt korišten je u sljedećem sintetskom koraku bez daljnjeg pročišćavanja.

**Opći postupak C.** Otopini jodarena (1 ekv.) i [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] (5 mol%), u THF-u množinske koncentracije 0,4 mol dm<sup>-3</sup>, dokapana je otopina etinilmagnezijevog bromida u THF množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (1,2 ekv.) pod argonom. Nakon 1 sat miješanja pri sobnoj temperaturi dodan je kruti NH<sub>4</sub>Cl (0,3 ekv.) i nastala smjesa je miješana 5 min. Zatim su dodani diizopropil-amin (1,15 ekv.), otopina vinil-bromida u THF-u množinske koncentracije 1 mol dm<sup>-3</sup> (1,3 ekv.) i CuI (6 mol%) te je dobivena smjesa miješana 4 h. Dodana je zasićena otopina NaCl (10 mL) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL), slojevi su odijeljeni te je vodeni sloj ekstrahiran s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 × 10 mL). Spojeni organski ekstrakt ispran je zasićenom otopinom NaCl (20 mL), sušen iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Reakcijska smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu silikagela uz odgovarajući eluens.

**Opći postupak D.** K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 mmol, 1 ekv.), CuI (0,02 mmol, 2 mol%) i Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (0,5 mmol, 0,5 ekv.) suspendirani su u DMSO (1 mL) u inertnoj atmosferi argona. Dodani su DBU (1 kap), alil-halogenid (1,5 mmol, 1,5 ekv.) i etinil(trimetil)silan (1 mmol, 1 ekv.) te je smjesa miješana 5 sati pri 40 °C. Reakcija je zaustavljena dodatkom zasićene otopine NH<sub>4</sub>Cl (10 mL) i smjesa ekstrahirana s Et<sub>2</sub>O (3 × 10 mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i koncentriran pri sniženom tlaku (100 mbar, hladna kupelj). Produkt je pročišćavan kromatografijom na stupcu silikagela uz Et<sub>2</sub>O : *n*-pentan = 1 : 1 kao eluens.

*1-(but-3-en-1-in-1-il)-4-metilbenzen (3a)*. Polazeći od 4-jodmetilbenzena (9,6 g, 44 mmol), prema redosljediu općih postupaka 3.2.1., 3.2.2.A te izmijenjenom 3.2.3.A, koristeći 1,2 ekv. vinil-bromida, nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan kao eluens dobiven je spoj **3a** u obliku bezbojnog ulja (5,4 g, 85 % preko 3 koraka).

Polazeći od 4-jodmetilbenzena (906 mg, 4,16 mmol) prema općem postupku 3.2.3.C nakon kromatografije na stupcu silikagela uz heksan kao eluens dobiveno je 32 mg (5 %) spoja **3a** u obliku žutog ulja. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>114</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 2,34 (s, 3H), 5,51 (dd, *J* = 11,2 Hz, 1,7 Hz, 1H), 5,71 (dd, *J* = 17,5 Hz, 1,7 Hz, 1H), 6,01 (dd, *J* = 17,5 Hz, 11,2 Hz, 1H), 7,12 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 21,0; 87,0; 89,7; 116,8; 119,6; 126,0; 128,6; 131,0; 137,9.

*1-(but-3-en-1-in-1-il)-3-metilbenzen (3b)*. Spoj **3b** dobiven je prema općim postupcima 3.2.2.A i 3.2.3.A te pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-heksan kao eluens u obliku bezbojnog ulja (4,1 g, 69 % preko 2 koraka) polazeći od spoja **1b** (6,5 g, 40 mmol). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>115</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 2,32 (s, 3H), 5,53 (dd, *J* = 11,1 Hz, 2,1 Hz, 1H), 5,72 (dd, *J* = 17,5 Hz, 2,1 Hz, 1H), 6,01 (dd, *J* = 17,5 Hz, 11,1 Hz, 1H), 7,09 – 7,14 (m, 1H), 7,16 – 7,2 (m, 1H), 7,23 – 7,29 (m, 2H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 21,2; 87,8; 90,2; 117,2; 122,9; 126,7; 128,2; 128,7; 129,2; 132,2; 138,0.

*But-3-en-1-in-1-ilbenzen (3c)*. Spoj **3c** pripremljen je polazeći od etinilbenzena (1,7 mL, 15,6 mmol) prema izmijenjenom općem postupku 3.2.3.A, korištenjem 0,3 mol% [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] i 0,9 mol% CuI. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : *n*-heksan = 1 : 1 kao eluens dobiven je spoj **3c** u obliku bezbojnog ulja (1,95 g, 98 %).

Nadalje, prema postupku 3.2.2.B te izmijenjenom općem postupku 3.2.3.B, uz miješanje reakcije preko noći, nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 1 kao eluens dobiven je spoj **3c** u obliku smeđeg ulja (325 mg, 51 % kroz 3 koraka) polazeći od jodbenzena (0,47 mL, 4,24 mmol). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>116</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 5,54 (dd, *J* = 11,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 5,73 (dd, *J* = 18,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 6,02 (dd, *J* = 18,0 Hz, 11,0 Hz, 1H), 7,26 – 7,34 (m, 3H), 7,39 – 7,49 (m,

2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  88,1; 90,0; 117,2; 123,2; 126,9; 128,29; 128,31; 131,6.

(3-metil-but-3-en-1-in-1-il)benzen (**3d**). Spoj **3d** pripravljen je polazeći od etinilbenzena (1,46 mL, 13,3 mmol, 1 ekv.) i 2-brompropena (1,4 mL, 15,9 mmol, 1,2 ekv.) prema izmijenjenom općem postupku 3.2.3.A, koristeći 1,5 mol%  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i 4,5 mol% CuI te trietilamin uz zagrijavanje pri 55 °C u THF-u (60 mL). Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 100 kao eluens dobiven je spoj **3d** u obliku bezbojnog ulja (2,1 g, kvant.). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>117</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  1,98 – 1,99 (m, 3H), 5,29 – 5,30 (m, 1H), 5,39 – 5,40 (m, 1H), 7,28 – 7,32 (m, 3H), 7,42 – 7,46 (m, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  23,5; 88,4; 90,5; 121,9; 123,3; 126,8; 128,1; 128,2; 131,6.

But-3-en-1-in-1-ilciklopentan (**3e**). Polazeći od etinilciklopentana (1,16 mL, 10 mmol), uz izmjene općeg postupka 3.2.3.A, koristeći 0,3 mol%  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i 0,9 mol% CuI te 1,3 ekv. vinil-bromida, nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 1 kao eluens dobiven je spoj **3e** u obliku žutog ulja (922 mg, 76 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>118</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  1,45 – 1,68 (m, 4H), 1,68 – 1,81 (m, 2H), 1,84 – 2,01 (m, 2H), 2,60 – 2,80 (m, 1H), 5,36 (dd,  $J = 11,0$  Hz, 2,3 Hz, 1H), 5,53 (dd,  $J = 17,5$  Hz, 2,3 Hz, 1H), 5,79 (ddd,  $J = 17,5$  Hz, 11,0 Hz, 2,0 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  25,0; 30,7; 33,8; 78,8; 95,3; 117,7; 125,2.

5,5-dimetilheks-1-en-3-in (**3f**). Prema opisanom općem postupku 3.2.3.A, polazeći od 3,3-dimetilbut-1-ina (3,7 ml, 30 mmol), uz uparavanje otapala pri sniženom tlaku (200 mbar, hladna kupelj) te pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-pentan kao eluens dobiven je spoj **3f** u obliku žutog ulja (1,1 g, 34 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>119</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  1,24 (s, 9H), 5,35 (dd,  $J = 11,0$  Hz, 2,3 Hz, 1H), 5,53 (dd,  $J = 17,5$  Hz, 2,3 Hz, 1H), 5,79 (dd,  $J = 17,5$  Hz, 11,0 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  27,8; 30,9; 77,8; 99,2; 117,7; 125,2.

But-1-in-3-en-1-il(trimetil)silan (**3g**). Prema izmijenjenom općem postupku 3.2.3.A, koristeći 1 mol%  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i 3 mol% CuI te trietilamin pripravljen je spoj **3g** polazeći od



etinil(trimetil)silana (1,7 mL, 7,2 mmol, 1 ekv.). Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-pentan kao eluens dobiven je spoj **3g** u obliku žućkastog ulja (1 g, kvant.).

Spoj **3g** također je pripremljen istim postupkom polazeći od etinil(trimetil)silana (1,67 mL, 11,7 mmol) i korišten u sljedećem koraku sinteze kao ekstrakt, bez daljnjeg pročišćavanja. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>120</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 0,19 (s, 9H), 5,49 (dd, 1H; *J* = 10,8, 2,6 Hz), 5,68 (dd, 1H; *J* = 17,6, 2,6 Hz), 5,82 (dd, 1H; *J* = 17,6, 10,8 Hz).

*Trimetil(3-metilbut-1-in-3-en-1-il)silan (3h)*. Spoj **3h** pripremljen je prema izmijenjenom općem postupku 3.2.3.A, koristeći 1 mol% [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] i 3 mol% CuI, polazeći od etinil(trimetil)silana (1,51 mL, 10,6 mmol, 1 ekv.) i 2-brompropena (1,13 mL, 12,8 mmol, 1,2 ekv.). Dobiveni produkt korišten je u sljedećem sintetskom koraku kao ekstrakt, bez daljnjeg pročišćavanja. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>120</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 0,19 (s, 9H), 1,86 – 1,90 (m, 3H), 5,23 – 5,25 (m, 1H), 5,34 – 5,35 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** –0,06; 23,3; 92,9; 106,4; 122,8; 126,9.

*Trimetil(pent-4-en-1-in-1-il)silan (3i)*. Prema općem postupku 3.2.3.D, polazeći od etinil(trimetil)silana (140 μL, 1 mmol) i alil-jodida dobiven je spoj **3i** u obliku žućkastog ulja (39 mg, 28 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>121</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 0,17 (s, 9H), 3,01 (dt, *J* = 5,3, 1,8 Hz, 2H), 5,13 (dq, *J* = 10,0, 1,7 Hz, 1H), 5,33 (dq, *J* = 17,0, 1,8 Hz, 1H), 5,81 (ddt, *J* = 17,0, 10,0, 5,3 Hz, 1H).

*Pent-4-en-2-in-1-ol (3j)*. Polazeći od prop-2-in-1-ola (611 μL, 10 mmol), prema opisanom općem postupku 3.2.3.A, nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kao eluens dobiven je spoj **3j** u obliku žutog ulja (247 mg, 30 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>122</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 1,74 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 4,39 (d, *J* = 3,8 Hz, 2H), 5,50 (dd, *J* = 11,2 Hz, 2,0 Hz, 1H), 5,66 (dd, *J* = 17,6 Hz, 2,0 Hz, 1H), 5,82 (ddt, *J* = 17,6 Hz, 11,2 Hz, 1,9 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 51,5; 84,4; 87,8; 116,6; 127,5.

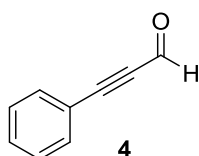
*3-fenilprop-2-in-1-ol (3k)*. Polazeći od jodbenzena (4,64 mL, 41,6 mmol, 1,1 ekv.) i prop-2-in-1-ola (2,31 mL, 37,8 mmol, 1 ekv.), prema izmijenjenom općem postupku 3.2.3.A, provođenjem reakcije u čistom diizopropil-aminu (50 mL) te pročišćavanjem

kromatografijom na stupcu silikagela uz MeOH : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 3 : 97 kao eluens dobiven je spoj **3k** u obliku žutog ulja (5,02 g, kvant.). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>123</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 1,78 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,50 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H), 7,28 – 7,34 (m, 3H), 7,42 – 7,46 (m, 2H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 51,6; 85,7; 87,2; 122,5; 128,3; 128,5; 131,7.

#### 3.2.4. Priprava 3-fenilprop-2-in-1-ala (**4**).



**Opći postupak A.** Otopini spoja **3k** (100 mg, 0,76 mmol, 1 ekv.) u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) dodan je kruti NaHCO<sub>3</sub> (2,27 mmol, 3 ekv.) a zatim nakon 10 min Dess-Martinov perjodinan (2,34 mmol, 3 ekv.) te je smjesa miješana pri sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije (otprilike 3 sata prema TLC) dodana je zasićena vodena otopina Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (15 mL), te je smjesa ekstrahirana s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kao eluens dobiven je spoj **4** u obliku žutog ulja (100 mg, kvant.).

**Opći postupak B.** Otopini spoja **3k** (200 mg, 1,51 mmol) u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) ohlađenoj na 0 °C dodan je SiO<sub>2</sub> (1,27 g, 1,3 ekv. mase PCC) pa PCC (979 mg, 4,54 mmol, 3 ekv.) te je nastala smjesa miješana 2 sata pri sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije (4,5 sati prema TLC), smjesa je nanesa izravno na stupac silikagela. Pročišćavanjem kromatografijom uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kao eluens dobiven je spoj **4** u obliku žutog ulja (118 mg, 59 %)

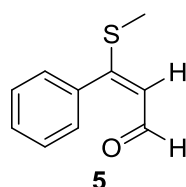
**Opći postupak C.** U trogrloj okrugloj tikvici opremljenoj termometrom za niske temperature i lijevkom za dokapavanje sa septumom otopina oksalil-klorida (0,71 mL, 8,33 mmol, 1,2 ekv.) u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (19 mL) ohlađena je na -78 °C u atmosferi argona. Temperatura smjese tijekom reakcije održavana je ispod -60 °C. Dokapan je suhi DMSO (1,19 mL, 16,7 mmol, 2,4 ekv.) kroz 20 min. Lijevak je ispran s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,5 mL) te je smjesa miješana 15 min, nakon čega je kroz 20 min dokapana otopina spoja **3k** (6,94 mmol) u CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL). Lijevak je ispran s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) i smjesa je miješana 15 min, a potom je kroz 40 min dokapan trietilamin (5,77 mL, 41,6 mmol, 6 ekv.). Smjesa je miješana još 15 min pri -78 °C, kupelj uklonjena i miješanje nastavljeno još 50 min do sobne temperature. Smjesa je zatim

ulivena u zasićenu otopinu  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL) i ekstrahirana s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20$  mL). Spojeni organski ekstrakt ispran je zasićenom otopinom  $\text{NaCl}$  (50 mL) te je vodeni sloj ponovno ekstrahiran s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL). Ukupni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , profiltriran i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  kao eluens dobiven je spoj **4** u obliku žutog ulja (756 mg, 84 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>124</sup>

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  7,40 – 7,42 (m, 2H), 7,48 – 7,51 (m, 1H), 7,60 – 7,62 (m, 2H), 9,43 (s, 1H).

**$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  88,4; 95,1; 119,0; 128,7; 131,3; 133,3; 176,8.

(E)-3-fenil-3-metiltioprop-2-en-1-al (**5**).

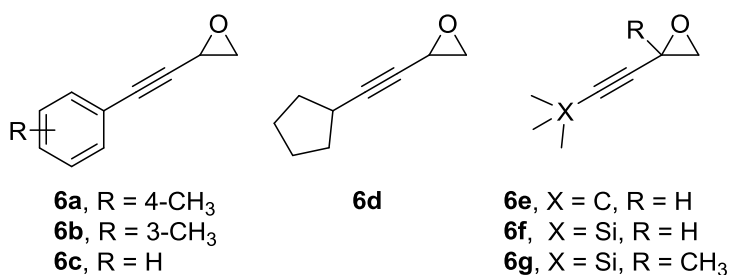


Spoj **5** pripremljen je polazeći od 593 mg (4,5 mmol) spoja **3k**, uz izmjene općeg postupka 3.2.4.C, koristeći 2 ekvivalenta oksalil-klorida, 4 ekvivalenta DMSO i 8 ekvivalenta trietilamina. Temperatura smjese pri dodavanju trietilamina dosegla je  $-40$  °C te je dobiven spoj **4** (117 mg, 20 %) u obliku tamnožutog ulja i spoj **5** u obliku narančastog ulja (448 mg, 56 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>125</sup>

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  2,42 (s, 3H), 6,02 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,42 – 7,48 (m, 5H), 9,30 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H).

**$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  16,1; 122,1; 128,5; 129,3; 130,2; 135,4; 168,7; 189,5.

### 3.2.5. Priprava derivata 2-etiniloksirana (**6a-g**)



**Opći postupak A.** Otopini enina **3** (1 ekv.) u  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  množinske koncentracije  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  pod atmosferom argona dodan je kruti  $\text{NaHCO}_3$  (1 ekv.). Nakon 10 min miješanja dodana je *m*-CPBA ( $w = 70 \%$ , 2 ekv.) te je nastala smjesa miješana preko noći pri sobnoj temperaturi. Dodana je zasićena otopina  $\text{NaHCO}_3$  (200 mL) te je smjesa miješana do prestanka razvijanja  $\text{CO}_2$ , slojevi su odijeljeni i vodeni sloj ekstrahiran s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 50 \text{ mL}$ ). Spojeni organski ekstrakt ispran je zasićenom otopinom  $\text{NaCl}$ , sušen iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , profiltriran te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela.

**Opći postupak B.** 3-fenilprop-2-in-1-al (**4**) (100 mg, 0,77 mmol, 1 ekv.) otopljen je u  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) pod argonom. Dodan je trimetilsulfonijev metansulfonat (155 mg, 0,81 mmol, 1,05 ekv.) i 50 %-tna vodena otopina  $\text{NaOH}$  (5 mL, 62,5 mmol, 81 ekv.) te je nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije (4 sata prema HPLC) dodana je voda (30 mL) i smjesa ekstrahirana s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , profiltriran i koncentriran pri sniženom tlaku. Produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela.

**Opći postupak C.** Trimetilsulfonijev jodid (380 mg, 1,9 mmol) otopljen je u suhom THF (40 mL) pri  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  u inertnim uvjetima. Dokapana je otopina *n*-butillitija množinske koncentracije  $1,6 \text{ mol dm}^{-3}$  u THF (3,5 mL, 5,5 mmol) kroz 15 min i nastala smjesa miješana 1 h. Potom je dokapana otopina aldehida **4** (200 mg, 1,54 mmol) u THF (10 mL) i reakcijska smjesa miješana 2 sata pri sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije dodana je zasićena otopina  $\text{NH}_4\text{Cl}$  te je smjesa ekstrahirana s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20 \text{ mL}$ ). Spojeni organski ekstrakt ispran je zasićenom otopinom  $\text{NaCl}$  (20 mL), sušen iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , profiltriran i koncentriran pri sniženom tlaku. Produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela.

**2-[2-(4-metilfenil)etiril]oksiran (6a).** Spoj **6a** pripravljen je prema općem postupku 3.2.5.A uz izmjene, koristeći 1,5 ekv. *m*-CPBA, polazeći od spoja **3a** (3,7 g, 26 mmol). Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 100 kao eluens dobiven je spoj **6a** u obliku bezbojnog ulja (2,0 g, 48 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>126</sup>

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  2,34 (s, 3H), 2,97 – 3,02 (m, 2H), 3,57 (t,  $J = 3,4 \text{ Hz}$ , 1H), 7,11 (d,  $J = 7,8 \text{ Hz}$ , 2H), 7,34 (d,  $J = 8,1 \text{ Hz}$ , 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,6; 40,4; 49,2; 83,7; 85,2; 119,0; 129,2; 132,0; 139,2.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}^+$ : 159,0810, određeno: 159,0811.

2-[2-(3-metilfenil)etinil]oksiran (**6b**). Prema izmijenjenom općem postupku 3.2.5.A, koristeći 1,1 ekv. *m*-CPBA, iz spoja **3b** (4,27 g, 30 mmol) pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 5 : 95 kao eluens dobiven je spoj **6b** u obliku bezbojnog ulja (1,9 g, 39 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>126</sup>

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,32 (s, 3H), 2,98 – 3,01 (m, 2H), 3,57 (dd,  $J = 3,7, 3,0$  Hz, 1H), 7,11 – 7,16 (m, 1H), 7,16 – 7,22 (m, 1H), 7,22 – 7,29 (m, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,3; 40,4; 49,2; 83,7; 85,5; 121,9; 128,4; 129,1; 129,8; 132,6; 138,2.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}^+$ : 159,0810, određeno: 159,0811.

2-(2-feniletinil)oksiran (**6c**). Polazeći od spoja **3c** (2,13 g, 16,6 mmol) prema opisanom općem postupku 3.2.5.A te pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiven je spoj **6c** u obliku bezbojnog ulja (1,4 g, 57 %).

Dodatno, uz izmjene općeg postupka 3.2.5.A, provođenjem reakcije bez krutog  $\text{NaHCO}_3$ , korištenjem 1,8 ekvivalenata *m*-CPBA, iz spoja **3c** (325 mg, 2,54 mmol) dobivenog u općem postupku 3.2.3.B pripremljen je spoj **6c** u obliku bezbojnog ulja (58 mg, 16 %).

Uz to, spoj **6c** je pripremljen prema općem postupku 3.2.5.B. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-heksan :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 5 : 95$  kao eluens dobiven je spoj **6c** (26 mg, 23 %) u obliku žutog ulja. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>40</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,98 – 3,04 (m, 2H), 3,59 (dd,  $J = 3,8, 2,9$  Hz, 1H), 7,28 – 7,36 (m, 3H), 7,42 – 7,46 (m, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  40,4; 49,2; 83,6; 85,9; 122,1; 128,5; 128,9; 132,1.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}^+$ : 145,0653, određeno: 145,0654.

2-(2-ciklopentiletinil)oksiran (**6d**). Prema izmijenjenom općem postupku 3.2.5.A, koristeći 1,2 ekv.  $\text{NaHCO}_3$  te 1,5 ekv. *m*-CPBA, polazeći od spoja **3d** (1,63 g, 13,6 mmol) nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiven je spoj **6d** u obliku bezbojnog ulja (0,93 g, 50 %).

Spoj **6d** također je dobiven prema općem postupku 3.2.3.B te izmijenjenom općem postupku 3.2.5.A, provođenjem reakcije bez krutog NaHCO<sub>3</sub> i korištenjem 1,5 ekvivalenata *m*-CPBA, u obliku žute tekućine (96 mg, 14 % kroz 2 koraka), polazeći od etinilciklopentana (0,58 mL, 5 mmol).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 1,48 – 1,65 (m, 4H), 1,66 – 1,75 (m, 2H), 1,82 – 1,98 (m, 2H), 2,56 – 2,66 (m, 1H) 2,83 (dd, *J* = 5,9, 2,6 Hz, 1H), 2,87 (dd, *J* = 5,9, 4,0 Hz, 1H), 3,34 – 3,36 (m, 1H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 25,1; 30,1; 33,7; 40,3; 49,0; 76,4; 89,0.

HRMS (ESI) *m/z*, ([M]+H<sup>+</sup>): izračunato za C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>O<sup>+</sup>: 137,0966, određeno: 137,0967.

2-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)oksiran (**6e**). Prema opisanom općem postupku 3.2.5.A polazeći od spoja **3e** (1,38 g, 12,8 mmol) nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kao eluens dobiven je spoj **6e** u obliku žutog ulja (1,2 g, 75 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 1,22 (s, 9H), 2,83 (dd, *J* = 5,9 Hz, 2,7 Hz, 1H), 2,88 (dd, *J* = 5,9 Hz, 4,0 Hz, 1H), 3,35 (dd, *J* = 4,0 Hz, 2,7 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 27,5; 30,9; 40,2; 49,1; 75,4; 92,8.

HRMS (ESI) *m/z*, ([M]+H<sup>+</sup>): izračunato za C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sup>+</sup>: 125,0966, određeno: 125,0965.

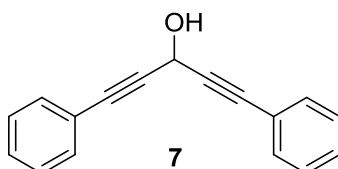
Trimetil(oksiran-2-iletinil)silan (**6f**). Prema izmijenjenom općem postupku 3.2.5.A, bez krutog NaHCO<sub>3</sub>, polazeći od ekstrakta koji sadrži spoj **3g** dobivenog u postupku 3.2.3., nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-pentan kao eluens dobivena je smjesa spojeva **3g** i **6f**. Smjesa je korištena u ponovljenom postupku uz dodatak NaHCO<sub>3</sub> (1 ekv.) te je dobiven spoj **6f** u obliku žućkastog ulja (721 mg, 44 % kroz 3 koraka), polazeći od etinil(trimetil)silana (1,67 mL, 11,7 mmol).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 0,18 (s, 9H), 2,90 (d, 2H; *J* = 3,4 Hz), 3,35 (t, 1H; *J* = 3,4 Hz).

Trimetil[(2-metiloksiran-2-il)etinil]silan (**6g**). Prema izmijenjenom općem postupku 3.2.5.A, bez krutog NaHCO<sub>3</sub>, polazeći od ekstrakta koji sadrži spoj **3h** dobivenog u postupku 3.2.3, nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-pentan kao eluens dobivena je smjesa spojeva **3h** i **6g**. Smjesa je korištena u ponovljenom postupku uz dodatak NaHCO<sub>3</sub> (1 ekv.) te je dobiven spoj **6g** u obliku žućkastog ulja (344 mg, 21 % kroz 3 koraka), polazeći od etinil(trimetil)silana (1,5 mL, 10,6 mmol). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>51</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  0,16 (s, 9H), 1,54 (s, 3H), 2,73 (d, 1H;  $J = 5,5$  Hz), 3,01 (d, 1H;  $J = 5,5$  Hz).

1,5-difenilpenta-2,4-diin-3-ol (**7**).

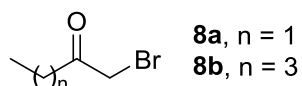


Polazeći od spoja **4** (200 mg, 1,5 mmol) prema opisanom općem postupku 3.2.5.C te pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-heksan :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 1 : 9$  kao eluens dobiven je spoj **6c** (5 mg, 2 %) u obliku žutog ulja i spoj **7** (82 mg, 46 %) u obliku narančastog ulja. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>127</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,49 (br s, 1H), 5,58 (s, 1H), 7,30 – 7,36 (m, 6H), 7,48 – 7,50 (m, 6H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  53,3; 84,6; 86,0; 122,0; 128,3; 128,9; 131,9.

### 3.2.6. Priprava 1-bromalkan-2-ona (**8a-b**)



U trogloj okrugloj tikvici od 250 mL s termometrom i lijevkom za dokapavanje otopljen je odgovarajući alkan-2-on (162 mmol, 1 ekv.) u metanolu (100 mL) pod inertnom atmosferom argona. U otopinu ohlađenu na  $-10$  °C (smjesa led/acetone) dodan je  $\text{Br}_2$  (162 mmol, 1 ekv.) u kontinuiranom mlazu, pazeći da temperatura smjese ne prijeđe  $10$  °C. Po nestanku boje broma (otprilike 2 h) dodana je voda (50 mL), a zatim je dokapavana 96 %-tna  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (40 mL, 4,4 ekv.) tako da temperatura smjese ne prijeđe  $30$  °C. Nastala smjesa je miješana preko noći te potom razrijeđena vodom (150 mL) i ekstrahirana s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 50$  mL). Spojeni organski ekstrakt ispran je s 10 %-tnom otopinom  $\text{K}_2\text{CO}_3$  ( $2 \times 100$  mL), sušen iznad bezvodnog  $\text{MgSO}_4$  i profiltriran te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiveni produkt pročišćen je destilacijom pri sniženom tlaku.

1-brombutan-2-on (**8a**). Spoj **8a** dobiven je prema opisanom općem postupku 3.2.6 polazeći od butan-2-ona (10 mL, 112 mmol) u obliku bezbojnog ulja u smjesi s 3-brom izomerom

(4,61 g, čistoća određena pomoću NMR iznosi oko 90 %, iskorištenje 25 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>128</sup>

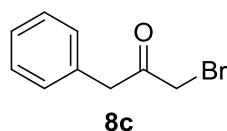
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 1,12 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H), 2,69 (q, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,90 (s, 2H).

*1-bromheksan-2-on (8b)*. Spoj **8b** dobiven je prema opisanom općem postupku 3.2.6 polazeći od heksan-2-ona (20 mL, 162 mmol) u obliku bezbojnog ulja u smjesi s 3-brom izomerom (14,2 g, čistoća određena pomoću NMR iznosi oko 80 %, iskorištenje 40 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>129</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 0,92 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,31 – 1,37 (m, 2H), 1,58 – 1,63 (m, 2H), 2,65 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 13,9; 22,3; 26,1; 34,4; 39,7; 202,3.

### 3.2.7. Priprava 3-brom-1-fenilpropan-2-ona (**8c**)



*1-fenilpropan-2-on (9)*. U suspenziju AlCl<sub>3</sub> (41 g, 0,31 mol, 2 ekv.) u benzenu (100 mL) zagrijanu na refluks, u inertnoj atmosferi argona dokapan je 1-klorpropan-2-on (12 mL, 0,15 mol, 1 ekv.) kroz 0,5 h. Smjesa je miješana uz refluks 5 h, a potom je u ohlađenu smjesu postepeno dodana voda (50 mL). Smjesa je ekstrahirana s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 50 mL) te je ukupni organski sloj ispran zasićenom otopinom NaCl (50 mL), sušen iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltriran te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiven je spoj **7** (11,5 g, 57 %) u obliku bezbojne tekućine. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>130</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 2,15 (s, 3H), 3,69 (s, 2H), 7,18 – 7,21 (m, 2H), 7,25 – 7,29 (m, 1H), 7,31 – 7,35 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 29,4; 51,1; 127,2; 128,9; 129,5; 134,4; 206,5.

*1-brom-3-fenilpropan-2-on (8c)*. Otopini spoja **9** (4,3 g, 32 mmol, 1 ekv.) u octenoj kiselini (10 mL) pod argonom dodana je 33 %-tna otopina HBr u octenoj kiselini (7,5 mL, 41,6 mmol, 1,3 ekv.), a zatim je dokapana otopina Br<sub>2</sub> (11,2 g, 70,4 mmol, 2,2 ekv.) u octenoj kiselini (15 mL) i nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi 4 sata (do nestanka početnog spoja prema HPLC). Potom je dodan aceton (50 mL) te je miješanje nastavljeno još 3 dana pri istoj

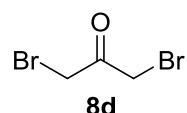


temperaturi, nakon čega je smjesa uparena pri sniženom tlaku. U ostatak je dodana zasićena otopina NaCl (100 mL) te je smjesa ekstrahirana s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 50 mL). Spojeni organski sloj sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiven je spoj **8c** (5,6 g, 82 %) u obliku smeđe tekućine. Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>131</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 3,91 (s, 2H), 3,95 (s, 2H), 7,21 – 7,25 (m, 2H), 7,27 – 7,31 (m, 1H), 7,33 – 7,37 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 33,6; 46,9; 127,6; 129,1; 129,6; 199,5; 133,3.

### 3.2.8. Priprava 1,3-dibrompropan-2-ona (**8d**)

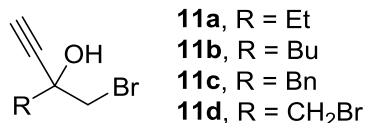


*1,3-diklorpropan-2-on* (**10**). Otopini 1,3-diklorpropan-2-ola (1,03 g, 7,80 mmol) u acetonu (30 mL) ohlađenoj na 0 °C dokapavan je Jonesov reagens do zadržavanja crvenkasto-smeđe boje. Nakon 30 min miješanja smjesa je profiltrirana preko celita, isprana acetonom i 2-propanolom te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kao eluens dobiven je spoj **10** u obliku bijelih igličastih kristala (525 mg, čistoća oko 80 % prema NMR, iskorištenje 44 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>132</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 4,33 (s, 4H).

*1,3-dibrompropan-2-on* (**8d**). Otopini spoja **10** (329 mg, 2,6 mmol, *w* = 0,8) u acetonu (15 mL) dodan je LiBr (2,25 g, 26 mmol, 10 ekv.) te je smjesa miješana pri sobnoj temperaturi. Nakon 90 sati dodana je još jedna porcija acetona (15 mL) i LiBr (1,13 g, 13 mmol, 5 ekv.). Nakon 24 sata otapalo je upareno, kruti ostatak otopljen u vodi (50 mL) i smjesa ekstrahirana s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 35 mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad MgSO<sub>4</sub>, profiltriran i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiven je spoj **8d** u obliku tamnožutog ulja (453 mg, čistoća oko 85 % prema NMR, iskorištenje 84 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>133</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm** 4,15 (s, 4H).

3.2.9. Priprava propargil-bromhidrina (**11a-d**)

Odgovarajući brommetil-ke-ton **8** (23,4 mmol, 1 ekv.) otopljen je u suhom Et<sub>2</sub>O (70 mL) u atmosferi argona pri 0 °C. Zatim je dokapana otopina etinilmagnezijevog bromida u THF množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (49 mL, 24,5 mmol, 1,2 ekv.) kroz 50 min te je nastala smjesa miješana još 2 sata pri sobnoj temperaturi. Reakcija je prekinuta dodatkom zasićene otopine NH<sub>4</sub>Cl (150 mL), slojevi su odijeljeni te je vodeni sloj ekstrahiran s Et<sub>2</sub>O (3 × 50 mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, profiltriran i koncentriran pri sniženom tlaku (400 mbar, hladna kupelj). Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela.

*3-(brommetil)pent-1-in-3-ol (11a)*. Prema opisanom općem postupku 3.2.9, polazeći od spoja **8a** (7,26 g, 48,1 mmol, *w* = 0,6), nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kao eluens dobiven je spoj **11a** u obliku žutog ulja (2,33 g, čistoća oko 70 % prema GC, 32 % iskorištenje).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 1,10 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,83 (qd, *J* = 7,4, 2,9 Hz, 2H), 2,34 (br s, 1H), 2,53 (s, 1H), 3,52 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,63 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H).

*3-(brommetil)hept-1-in-3-ol (11b)*. Prema opisanom općem postupku 3.2.9, polazeći od spoja **8b** (4,11 g, 23,4 mmol, *w* = 0,8) dobiven je spoj **11b** u obliku žutog ulja (4,15 g, čistoća oko 55 % prema GC, iskorištenje 58 %). Produkt je korišten u sljedećem koraku sinteze bez daljnjeg pročišćavanja.

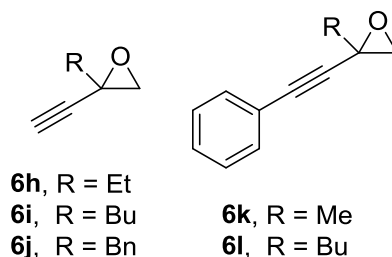
*2-benzil-1-brom-but-3-in-2-ol (11c)*. Prema opisanom općem postupku 3.2.9, iz spoja **8c** (1,82 g, 8,5 mmol), nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 2 : 8 kao eluens dobiven je spoj **11c** u obliku narančastog ulja (547 mg, 27 %).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 2,57 (br s, 1H), 2,59 (s, 1H), 3,14 (s, 2H), 3,52 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,57 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 7,32 – 7,38 (m, 5H).

*1-brom-2-(brommetil)but-3-in-2-ol (11d)*. Prema opisanom općem postupku 3.2.9, iz spoja **8d** (573 mg, 2,65 mmol, *w* = 0,85), nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu silikagela uz CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dobiven je spoj **11d** u smjesi s 1,3-dikloropropan-2-olom zaostalim iz prvog koraka (190 mg, čistoća oko 80 % prema NMR, iskorištenje 27 %).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,64 (s, 1H), 3,02 (br s, 1H), 3,72 (d,  $J = 3,4$  Hz, 4H).

### 3.2.10. Priprava 2-alkil-2-etiniloksirana (6h-j)



**Opći postupak A.** Otopina (trimetilsilil)metilmagnezijevog klorida u  $\text{Et}_2\text{O}$  množinske koncentracije  $1 \text{ mol dm}^{-3}$  (1,2 mL, 1,2 mmol, 0,2 ekv.) dodana je u prethodno osušenu smjesu bezvodnog LiCl (281 mg, 6,6 mmol, 1,1 ekv.) i bezvodnog  $\text{ZnCl}_2$  (88 mg, 0,66 mmol, 0,1 ekv.) u atmosferi argona pri sobnoj temperaturi. Nakon 15 min miješanja dodana je otopina etinilmagnezijevog bromida u THF-u množinske koncentracije  $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$  (13 mL, 6,6 mmol, 1,1 ekv.) te je nastala smjesa miješana 1 h. Zatim je u otopinu ohlađenu na  $0^\circ\text{C}$  dokapan odgovarajući spoj **8** (11,3 mmol, 1 ekv.) kroz 2 sata i nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi 20 h. Dodana je zasićena otopina  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (15 mL), slojevi su odijeljeni i vodeni je ekstrahiran s  $\text{Et}_2\text{O}$  ( $3 \times 30$  mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , profiltriran, koncentriran pri sniženom tlaku kako bi se uklonio  $\text{Et}_2\text{O}$  (300 mbar, hladna kupelj) i korišten u sljedećem koraku sinteze bez daljnjeg pročišćavanja. Dobivena otopina dokapana je pri  $0^\circ\text{C}$  u suspenziju KOH (729 mg, 13 mmol) u  $\text{Et}_2\text{O}$  (10 mL) i nastala smjesa miješana 2 sata pri istoj temperaturi, nakon čega je profiltrirana i sušena iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Dobiveni filtrat pročišćen je destilacijom pri atmosferskom tlaku ili kromatografijom na stupcu silikagela nakon koncentriranja pri sniženom tlaku (200 mbar, hladna kupelj).

**Opći postupak B.** Spoj **11** (11 mmol, 1 ekv.) dobiven u općem postupku 3.2.9 otopljen je u eteru (10 mL) te je dobivena otopina dokapana u suspenziju  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (22 mmol, 2 ekv.) i KI (1,1 mmol, 0,1 ekv.) u eteru (20 mL) pri  $0^\circ\text{C}$  u atmosferi argona kroz 25 min i nastala smjesa miješana pri istoj temperaturi. Po završetku reakcije (2 sata prema TLC) reakcijska smjesa je profiltrirana preko sinter lijevka pri sniženom tlaku, isprana eterom i koncentrirana uparavanjem pri sniženom tlaku (200 mbar, hladna kupelj). Produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*-pentan kao eluens i koncentriran pri sniženom tlaku.

**Opći postupak C.** Otopini etinilbenzena (1,84 mL, 16,4 mmol) u suhom THF-u (50 mL) ohlađenoj na  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (smjesa suhi led/acetone) pod inertnom atmosferom argona dokapana je otopina *n*-BuLi u heksanu množinske koncentracije  $1,6\text{ mol dm}^{-3}$  (11 mL, 17,7 mmol) kroz 60 min. Smjesa je zatim miješana 5 min pri  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te je odgovarajući halogenketon (16,5 mmol) dokapan kroz 15 min i reakcija ostavljena da postigne sobnu temperaturu kroz 24 h. Reakcija je zaustavljena dodatkom zasićene otopine  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (150 mL), slojevi su odijeljeni i vodeni je ekstrahiran s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $2 \times 100\text{ mL}$ ). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i profiltriran te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela.

*2-etil-2-etiniloksiran (6h)*. Polazeći od komercijalnog 1-brombutan-2-ona (1 g, 6,0 mmol,  $w = 0,9$ ) prema općem postupku 3.2.10.A pripremljen je spoj **6h**. Zbog niskog vrelišta produkt je pročišćen destilacijom pri atmosferskom tlaku, no dobiveni destilat sadržavao je THF zaostao u smjesi iz prve faze postupka. Uslijed bliskih vrelišta produkt i THF nije bilo moguće odvojiti te je spoj **6h** dobiven u obliku bistre, bezbojne otopine u THF-u množinske koncentracije  $19\text{ mol dm}^{-3}$  (1,42 mL, 2,7 mmol, 45 %).

Dodatno, polazeći od spoja **11a** (2,33 g, 9,6 mmol,  $w = 0,7$ ) dobivenog u općem postupku 3.2.9, pripremljen je spoj **6h** prema općem postupku 3.2.10.B uz izmjene, koristeći 1,5 ekv.  $\text{KO}^t\text{Bu}$ , u obliku žutog ulja (513 mg, 55 %).

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  1,10 (t,  $J = 7,5\text{ Hz}$ , 3H), 1,73 (q,  $J = 7,5\text{ Hz}$ , 2H), 2,30 (s, 1H), 2,76 (d,  $J = 5,5\text{ Hz}$ , 1H), 3,02 (d,  $J = 5,5\text{ Hz}$ , 1H),.

**$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  9,5; 29,4; 51,5; 54,2; 71,2; 82,3.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}] + \text{H}^+$ ):** izračunato za  $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}^+$ : 97,0653, određeno: 97,0652.

*2-butil-2-etiniloksiran (6i)*. Polazeći od spoja **8b** (2,47 g, 11,3 mmol,  $w = 0,8$ ) dobivenog u općem postupku 3.2.6 pripremljen je spoj **6i** uz izmjene općeg postupka 3.2.10.A. Spojeni organski ekstrakt dobiven u prvoj fazi koncentriran je pri sniženom tlaku (200 mbar, hladna kupelj), a potom otopljen u  $\text{Et}_2\text{O}$  (10 mL) te kao takav korišten u drugoj fazi. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz gradijent eluensa od *n*-pentan :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 9 : 1$  do čistog  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dobiven je spoj **6i** u obliku bezbojnog ulja (0,81 g, 58 %).

Spoj **6i** dobiven je i prema opisanom općem postupku 3.2.10.B, polazeći od spoja **11b** (4,11 g, 11 mmol,  $w = 0,55$ ) u obliku žutog ulja (1,20 g, 88 %).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  0,93 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H), 1,34 – 1,41 (m, 2H), 1,52 – 1,59 (m, 2H), 1,63 – 1,72 (m, 2H), 2,74 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 2,30 (s, 1H), 3,01 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  14,0; 22,5; 27,6; 35,8; 50,6; 54,4; 71,2; 82,5.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}^+$ : 125,0966, određeno: 125,0967.

2-benzil-2-etiniloksiran (**6j**). Polazeći od spoja **6c** (3,4 g, 15,9 mmol, 1 ekv.) dobivenog u postupku 3.2.7 pripremljen je spoj **6j** uz izmjenu općeg postupka 3.2.10.A, dokapavanje spoja **8c** kroz 4 h. Produkt prve faze postupka, smjesa **11c** i **6j** (2,9 g) korištena je izravno u slijedećem koraku sinteze bez daljnjeg pročišćavanja. Otopina smjese dobivene u prvoj fazi (2,9 g) u  $\text{Et}_2\text{O}$  (10 mL) dokapana je u suspenziju KOH (1,71 g, 30,5 mmol) u  $\text{Et}_2\text{O}$  (30 mL) pri 0 °C kroz 1,5 sati te je nastala smjesa miješana još 1h. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz  $\text{EtOAc} : n\text{-heksan} = 5 : 95$  kao eluens dobiven je spoj **6j** (1,23 g, 49 % kroz 2 koraka) u obliku bezbojnog ulja.

Nadalje, spoj **6j** pripremljen je prema izmijenjenom općem postupku 3.2.10.B iz spoja **11c** (715 mg, 3 mmol), uz bazu KOH (2,5 ekv.). Kruti ostatak nakon filtracije otopljen je u vodi i ekstrahiran s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 50$  mL). Organski ekstrakt i filtrat sušeni su iznad  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrirani i otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  kao eluens dobiven je spoj **6j** u obliku narančastog ulja (208 mg, 57 %).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,28 (s, 1H), 2,76 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H), 3,01 (d,  $J = 19,1$  Hz, 1H), 3,02 (s, 1H), 3,09 (d,  $J = 14,4$  Hz, 1H), 7,24 – 7,33 (m, 5H),.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  42,1; 50,6; 53,7; 72,0; 82,2; 127,2; 128,5; 129,9; 135,5. HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}^+$ : 159,0810, određeno: 159,0809.

2-(2-feniletinil)-2-metiloksiran (**6k**). Prema opisanom općem postupku 3.2.10.C, polazeći od 1-klorpropan-2-ona (1,4 mL, 16,5 mmol), nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu uz  $\text{EtOAc} : \text{heksan} = 1 : 9$  kao eluens dobiven je spoj **6k** u obliku žućkastog ulja (1,58 g, 61 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>59</sup>

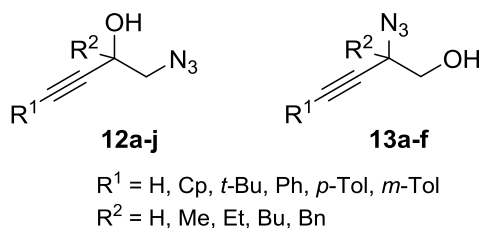
$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  1,65 (s, 3H), 2,85 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H), 3,12 – 3,13 (m, 1H), 7,28 – 7,34 (m, 3H), 7,42 – 7,44 (m, 2H).

2-butil-2-(2-feniletinil)oksiran (**6l**). Polazeći od spoja **8b** (1,75 mL, 10 mmol,  $w = 0,8$ ), prema izmijenjenom općem postupku 3.2.10.C, uz obradu vodom (50 mL) i ekstrakcijom s  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 25$  mL), nakon pročišćavanja kromatografijom na stupcu uz  $\text{EtOAc} : \text{heksan} = 5 : 95$  kao

eluens dobiven je spoj **6l** u obliku žućkastog ulja (1,51 g, čistoća oko 80 % prema GC, iskorištenje 60 %).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  0,94 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,36 – 1,48 (m, 2H), 1,60 – 1,65 (m, 2H), 1,74 – 1,81 (m, 2H), 2,84 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H), 3,11 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 7,28 – 7,33 (m, 3H), 7,41 – 7,46 (m, 2H).

### 3.2.11. Priprava racemičnih azidoalkohola (**12a-i**, **13a-f**)



Otopini propargil-epoksida **6** (1 mmol) u metanolu (15 mL) dodani su  $\text{NaN}_3$  (200 mg, 3,1 mmol, 3,1 ekv.) i  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (150 mg, 2,8 mmol, 2,8 ekv.). Nastala smjesa miješana je 3 sata pri 60 °C, a potom je dodana voda (20 mL). Metanol je uparen pri sniženom tlaku te je smjesa ekstrahirana s EtOAc ili  $\text{Et}_2\text{O}$  (4 × 20 mL). Spojeni organski ekstrakt sušen je iznad bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i profiltriran te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Produkti su pročišćeni kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : heksan = 1 : 9 kao eluens.

*1-azido-4-(4-metilfenil)but-3-in-2-ol* (**12a**) Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6a** dobiven je spoj **12a** u obliku bezbojnog ulja (22 mg, 11 %).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,34 (s, 1H), 2,35 (s, 3H), 3,50 (dd,  $J = 12,5, 4,3$  Hz, 1H), 3,55 (dd,  $J = 12,5, 6,4$  Hz, 1H), 4,72 – 4,76 (m, 1H), 7,12 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 7,34 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,6; 56,7; 62,7; 85,8; 86,9; 118,8; 129,3; 131,8; 139,3.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}+\text{H}^+]$ ): izračunato za  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}^+$ : 202,0980, određeno: 202,0978.

*2-azido-4-(4-metilfenil)but-3-in-1-ol* (**13a**) Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6a** dobiven je spoj **13a** u obliku bezbojnog ulja (88 mg, 44 %).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,06 (br s, 1H), 2,36 (s, 3H), 3,75 – 3,85 (m, 2H), 4,45 (dd,  $J = 6,6, 4,5$  Hz, 1H), 7,14 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 7,37 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,7; 55,7; 65,4; 80,7; 89,1; 118,5; 129,3; 132,1; 139,5.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_{11}H_{12}N_3O^+$ : 202,0980, određeno: 202,0983.

*1-azido-4-(3-metilfenil)but-3-in-2-ol (12b)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6b** dobiven je spoj **12b** u obliku bezbojnog ulja (48 mg, 24 %).

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  2,32 (s, 3H), 2,38 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 3,50 (dd,  $J = 12,5$ , 4,3 Hz, 1H), 3,55 (dd,  $J = 12,5$ , 6,4 Hz, 1H), 4,72 – 4,7, (m, 1H), 7,13 – 7,16 (m, 1H), 7,18 – 7,23 (m, 1H), 7,23 – 7,28 (m, 2H).

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (151 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  21,3; 56,6; 62,6; 86,1; 86,9; 121,7; 128,4; 129,0; 129,9; 132,5; 138,2.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_{11}H_{12}N_3O^+$ : 202,0980, određeno: 202,0978.

*2-azido-4-(3-metilfenil)but-3-in-1-ol (13b)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6b** dobiven je spoj **13b** u obliku žutog ulja (106 mg, 52 %).

**$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  2,07 (br s, 1H), 2,34 (s, 3H), 3,73 – 3,87 (m, 2H), 4,45 (dd,  $J = 6,4$ , 4,7 Hz, 1H), 7,13 – 7,34 (m, 4H).

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  21,3; 55,6; 65,4; 81,0; 89,1; 121,4; 128,5; 129,2; 130,2; 132,7; 138,3.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_{11}H_{12}N_3O^+$ : 202,0980, određeno: 202,0982.

*1-azido-4-fenilbut-3-in-2-ol (12c)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6c** dobiven je spoj **12c** u obliku bezbojnog ulja (36 mg, 19 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>134</sup>

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  2,36 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H), 3,52 (dd,  $J = 12,5$ , 4,3 Hz, 1H), 3,57 (dd,  $J = 12,5$ , 6,3 Hz, 1H), 4,76 (td,  $J = 6,1$ , 4,3 Hz, 1H), 7,30 – 7,35 (m, 3H), 7,43 – 7,46 (m, 2H).

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (151 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  56,6; 62,6; 86,5; 86,7; 121,9; 128,5; 129,1; 131,9.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_{10}H_{10}N_3O^+$ : 188,0824, određeno: 188,0826.

*2-azido-4-fenilbut-3-in-1-ol (13c)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6c** dobiven je spoj **13c** u obliku bezbojnog ulja (70 mg, 37 %).

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  2,24 (br s, 1H), 3,79 (dd,  $J = 11,4$ , 6,6 Hz, 1H), 3,83 (dd,  $J = 11,4$ , 4,5 Hz, 1H), 4,46 (dd,  $J = 6,7$ , 4,5 Hz, 1H), 7,30 – 7,37 (m, 3H), 7,46 – 7,50 (m, 2H).  **$^{13}C\{^1H\}$  NMR (151 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  55,6; 65,3; 81,4; 88,8; 121,6; 128,5; 129,2;

132,1.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_{10}H_{10}N_3O^+$ : 188,0824; određeno: 188,0825.

*1-azido-4-ciklopentilbut-3-in-2-ol (12d)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6d** (52 mg, 0,42 mmol) dobiven je spoj **12d** u obliku bezbojnog ulja (10 mg, 13 %).

**$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  1,49 – 1,75 (m, 6H), 1,84 – 1,98 (m, 2H), 2,16 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H), 2,57 – 2,70 (m, 1H), 3,33 – 3,46 (m, 2H), 4,47 – 4,55 (m, 1H),.

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (151 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  25,1; 30,1; 33,7; 56,9; 62,3; 77,4; 92,1.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_9H_{14}N_3O^+$ : 180,1137, određeno: 180,1138.

*2-azido-4-ciklopentilbut-3-in-1-ol (13d)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6d** (53 mg, 0,42 mmol) dobiven je spoj **13d** u obliku bezbojnog ulja (12 mg, 16 %).

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  1,55 – 1,66(m, 4H), 1,71 – 1,77 (m, 2H), 1,91 – 2,00 (m, 3H), 2,64 – 2,73 (m, 1H), 3,62 – 3,72 (m, 2H), 4,19 – 4,24 (m, 1H).

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (151 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  25,1; 30,1; 34,1; 34,2; 55,4; 65,5; 71,9; 94,8.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_9H_{14}N_3O^+$ : 180,1137, određeno: 180,1138.

*1-azido-5,5-dimetilheks-3-in-2-ol (12e)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6e** dobiven je spoj **12e** u obliku bezbojnog ulja (33 mg, 5 %).

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  1,22 (s, 9H), 2,13 (s, 1H), 3,36 (dd,  $J = 12,5, 4,4$  Hz, 1H), 3,41 (dd,  $J = 12,5, 6,4$  Hz, 1H), 4,47 – 4,53 (m, 1H).

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (151 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  27,5; 30,9; 56,9; 62,3; 76,4; 95,9.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_8H_{14}N_3O^+$ : 168,1137, određeno: 168,1138.

*2-azido-5,5-dimetilheks-3-in-1-ol (13e)* Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6e** dobiven je spoj **13e** u obliku žutog ulja (59 mg, 9 %).

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  1,26 (s, 9H), 1,98 (br s, 1H), 3,63 – 3,70 (m, 2H), 4,20 (dd,  $J = 6,7$  Hz, 4,6 Hz, 1H).

**$^{13}C\{^1H\}$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  27,7; 31,1; 55,3; 65,5; 70,8; 98,9.

**HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[M]+H^+$ ):** izračunato za  $C_8H_{14}N_3O^+$ : 168,1137, određeno: 168,1138.

*3-(azidometil)pent-1-in-3-ol (12f)*. Prema opisanom općem postupku u zatvorenoj Pyrex epruveti iz epoksida **6h** dobiven je spoj **12f** u obliku bezbojnog ulja (118 mg, 94 %).

**$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta/ppm$**  1,07 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H), 1,69-1,76 (m, 2H), 2,51 – 2,54 (m, 2H), 3,32 (d,  $J = 12,3$  Hz, 1H), 3,48 (d,  $J = 12,3$  Hz, 1H).



$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  8,4; 32,1; 59,9; 71,5; 74,2; 84,0.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}^+$ : 140,0824, određeno: 140,0825.

*3-(azidometil)hept-1-in-3-ol* (**12g**). Prema opisanom općem postupku u zatvorenoj Pyrex epruveti iz epoksida **6i** dobiven je spoj **12g** u obliku bezbojnog ulja (51 mg, 31 %).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  0,94 (t,  $J = 7,3$  Hz, 3H), 1,33 – 1,34 (m, 2H), 1,44 – 1,55 (m, 2H), 1,62 – 1,71 (m, 2H), 2,40 (s, 1H), 2,54 (s, 1H), 3,32 (d,  $J = 12,2$  Hz, 1H), 3,48 (d,  $J = 12,3$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  14,1; 22,9; 26,2; 38,8; 60,3; 71,1; 74,1; 84,3.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}^+$ : 168,1137, određeno: 168,1139.

*1-azido-2-benzilbut-3-in-2-ol* (**12h**). Prema opisanom općem postupku iz epoksida **6j** (103 mg, 0,65 mmol) dobiven je spoj **12h** (89 mg, 68 %). Postupno se raspada čak i na  $-18$  °C te se treba upotrijebiti odmah.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,47 (s, 1H), 2,56 (s, 1H), 3,01 (s, 2H), 3,34 (d,  $J = 12,4$  Hz, 1H), 3,45 (d,  $J = 12,4$  Hz, 1H), 7,27 – 7,37 (m, 5H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  45,0; 59,3; 70,9; 75,5; 83,9; 127,5; 128,4; 130,9; 134,8.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}^+$ : 202,0980, određeno: 202,0981.

*1-azido-4-fenil-2-metilbut-3-in-2-ol* (**12i**). Prema opisanom općem postupku iz spoja **6k** pripremljen je spoj **12i** u obliku žućkastog ulja (118 mg, 59 %). Dobiveni NMR spektri u skladu su s literaturnim podacima.<sup>135</sup>

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  1,60 (s, 3H), 2,62 (br s, 1H), 3,36 (d,  $J = 12,2$  Hz, 1H), 3,54 (d,  $J = 12,2$  Hz, 1H), 7,29 – 7,35 (m, 3H), 7,44 – 7,46 (m, 2H).

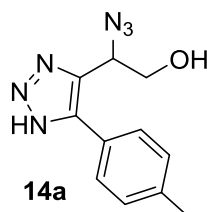
*2-azido-4-fenil-2-metilbut-3-in-1-ol* (**13f**). Prema opisanom općem postupku iz spoja **6k** pripremljen je spoj **13f** u obliku bezbojnog ulja (55 mg, 27 %).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  1,45 (s, 3H), 2,18 (br s, 1H), 3,93 (d,  $J = 11,6$  Hz, 1H), 4,05 (d,  $J = 11,6$  Hz, 1H), 7,41 – 7,45 (m, 3H), 7,58 – 7,62 (m, 2H).

*3-azidometil-1-fenilhept-1-in-3-ol* (**12j**). Prema opisanom općem postupku iz spoja **6l** pripremljen je spoj **12j** u obliku žutog ulja (90 mg, 37 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  0,95 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,34 – 1,46 (m, 2H), 1,51 – 1,63 (m, 2H), 1,74 – 1,80 (m, 2H), 2,52 (br s, 1H), 3,36 (d,  $J = 12,2$  Hz, 1H), 3,55 (d,  $J = 12,2$  Hz, 1H), 7,29 – 7,33 (m, 3H), 7,43 – 7,46 (m, 2H).

2-azido-2-(5-(4-metilfenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)etan-1-ol (**14a**).



Polazeći od spoja **6a** (350 mg, 2,1 mmol), proveden je izmijenjeni opći postupak 3.2.11, miješanjem reakcije 27 h. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz gradijent eluensa EtOAc : heksan = 1 : 9 do 2 : 3 dobiveni su **12a** (56 mg, 13 %), **13a** (64 mg, 15 %) te **14a** (170 mg, 33 %) u obliku bijele krutine.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 45 °C)  $\delta/\text{ppm}$  2,39 (s, 3H), 4,11 (dd,  $J = 11,7, 5,1$  Hz, 1H), 4,15 (dd,  $J = 11,7, 5,7$  Hz, 1H), 4,71 (t,  $J = 5,3$  Hz, 1H), 5,00 – 7,00 (br s, 2H), 7,26 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,52 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 45 °C)  $\delta/\text{ppm}$  21,4; 57,2; 64,6; 125,8; 128,1; 130,0; 139,6; 139,8; 144,5.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_6\text{O}^+$ : 245,1151, određeno: 245,1162.

IR (ATR)  $\nu/\text{cm}^{-3}$  3500-2500 (br, OH), 3386 (br, NH), 2123 (s,  $\text{N}_3$ ).  $t_f = 94 - 97$  °C.

### 3.3. Kinetička rezolucija propargil-epoksida

#### Analitičke metode

U svrhu praćenja tijeka enzimskih reakcija te određivanja enantiomernih viškova reaktanata i produkata, pripremljenim spojevima određene su metode analize GC-om i HPLC-om na kolonama s akiralnim odnosno kiralnim nepokretnim fazama. Odgovarajući uvjeti analize prikazani su u tablici D1.

#### Izračun enantioselektivnosti i enzimatske konverzije

$E$ -vrijednosti izračunate su iz  $ee_p$  i  $ee_s$  prema jednadžbi 2.7.

Enzimatske (intrinzične) konverzije izračunate su iz  $ee_p$  and  $ee_s$  prema jednadžbi:<sup>136</sup>

$$c = \frac{ee_s}{ee_s + ee_p} \quad (3.1)$$

### Određivanje apsolutne konfiguracije

Apsolutna konfiguracija određena je GC analizom na koloni s kiralnom nepokretnom fazom koristeći (*R*)-**6a** epoksid kao referentni spoj. Enantiomerno obogaćeni (*R*)-**6a** optičke čistoće 8 % (Betadex 225, 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min) pripremljen je (*R,R*)-(salen)CrCl kataliziranim otvaranjem prstena s azido(trimetil)silanom prema postupku koji su opisali Lebel i Jacobsen.<sup>82</sup> Apsolutne konfiguracije epoksida **6b-e,h-l** određene su usporedbom s **6a**, a apsolutne konfiguracije azidoalkohola analogijom prema epoksidima.

### Ispitivanje hidrolitičke stabilnosti propargil-epoksida

U Tris-SO<sub>4</sub> pufer množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (9,5 mL, pH 7,5) dodana je otopina epoksida **6** u DMSO-u (0,5 mL, konačna množinska koncentracija 2 mmol dm<sup>-3</sup>). Tijek reakcije praćen je uzimanjem alikvota (0,5 mL) reakcijske smjese nakon 1, 2 (2,33 za **6e**), 3, i 4 h. Uzorci su ekstrahirani s MTBE (1,0 mL) koji sadrži 0,05 % mesitilena ili PhCl kao unutarnji standard, sušeni iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> te analizirani GC-om na HP-5 koloni kako bi se utvrdila promjena koncentracije epoksida kroz vrijeme.

#### 3.3.1. Ispitivanje reakcija otvaranja prstena propargil-epoksida kataliziranih s HHDH na analitičkoj skali

U Tris-SO<sub>4</sub> pufer množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (8,8 mL, pH 7,5) pri sobnoj temperaturi dodano je 0,5 mL otopine nukleofila (N<sub>3</sub><sup>-</sup>, CN<sup>-</sup>, OCN<sup>-</sup>, SCN<sup>-</sup> ili HCOO<sup>-</sup>) u vodi (0,03 mmol, konačna množinska koncentracija 3 mmol dm<sup>-3</sup>) te 200 μL proteinskog ekstrakta enzima HheC ili HheA2-N178A u TEMG puferu (10 mmol dm<sup>-3</sup> Tris-SO<sub>4</sub>, 1 mmol dm<sup>-3</sup> EDTA, 1 mmol dm<sup>-3</sup> β-merkaptotanol, 10 % glicerol, pH 7,5). Reakcija je započeta dodatkom 0,5 mL otopine epoksida **6** u DMSO-u (0,02 mmol, konačna množinska koncentracija 2 mmol dm<sup>-3</sup>). Paralelno je provedena slijepa proba bez enzima kako bi se ispitala spontana reakcija azidolize, dodatkom otopine nukleofila (500 μL, 0,03 mmol), a zatim epoksida (500 μL, 0,02 mmol, konačna množinska koncentracija 2 mmol dm<sup>-3</sup>) u Tris-SO<sub>4</sub> pufer (9,0 mL). Tijek reakcije praćen je uzimanjem alikvota (0,5 mL) nakon 0,5, 1, 2, 3, i 4 h. Uzorci su ekstrahirani s MTBE (1,0 mL) koji sadrži 0,05 % mesitilena ili klorbenzena kao unutarnji standard i sušeni iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. GC analizom na HP-5 koloni određene su konverzije te omjeri regioizomera. Enantiomerni viškovi preostalog epoksida te

produkata određeni su GC analizom na kolonama s kiralnim nepokretnim fazama, prema metodama navedenim u tablici D1.

### 3.3.2. Optimizacija uvjeta reakcija otvaranja prstena propargil-epoksida kataliziranih s HHDH na uvećanoj skali

U tikvicu s *rac*-**6a-c** (0,03 ili 0,05 mmol, konačna množinska koncentracija 30 ili 50 mmol dm<sup>-3</sup>) dodan je Tris-SO<sub>4</sub> pufer množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (862 ili 770 μL, pH 7,5), a zatim temeljna otopina NaN<sub>3</sub> u vodi (0,018 ili 0,03 mmol, konačna množinska koncentracija 18 ili 30 mmol dm<sup>-3</sup>). Reakcija je započeta dodatkom proteinskog ekstrakta koji sadrži HheC ili HheA2-N178A (120 ili 200 μL) te je dobivena smjesa miješana pri 25 °C i 1000 rpm. Tijek reakcije praćen je uzimanjem alikvota (50 μL) reakcijske smjese nakon 1,2, 2, 3 i 4 sata odnosno 1, 2, 3,5 i 4,5 sati. Uzorci su ekstrahirani s MTBE (0,5 mL), sušeni iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i analizirani GC-om na kolonama s kiralnim punjenjem prema metodama navedenim u tablici D1, kako bi se odredila konverzija i enantiomerni višak preostalih epoksida i produkata.

### 3.3.3. Reakcije otvaranja prstena propargil-epoksida katalizirane s HHDH na preparativnoj skali

#### Sekvencijalna kinetička rezolucija epoksida **6a** na skali 3,0 mmol

Liofilizirane stanice *E. coli*, soj MC1061, koje sadrže prekomjerno eksprimirani HheC (300 mg, 5 g dm<sup>-3</sup> konačna masena koncentracija) rehidrirane su u Tris-SO<sub>4</sub> puferu množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (57 mL, pH 7,5). Dodan je *rac*-**6a** (510 mg, 3,0 mmol, čistoća 93 %, 50 mmol dm<sup>-3</sup> konačna množinska koncentracija) otopljen u DMSO (3 mL), te NaN<sub>3</sub> (195 mg, 3,0 mmol). Reakcijska smjesa miješana je 2 sata pri 25 °C i 1000 rpm (do konverzije od otprilike 45 %), a zatim ekstrahirana s EtOAc (4 × 60 mL). Spojeni organski slojevi sušeni su iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltrirani te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiveno je 198 mg (42 %) spoja (*S*)-**6a** enantiomerne čistoće 80 % (Betadex 225, 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min),  $[\alpha]_D^{25} = +36,3$  (*c* 1,46, aceton) te 270 mg (45 %) spoja (*R*)-**12a** enantiomerne čistoće > 99,5 % (Chiralpak IC-3, 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min),  $[\alpha]_D^{25} = -72,4$  (*c* 0,98, CHCl<sub>3</sub>).

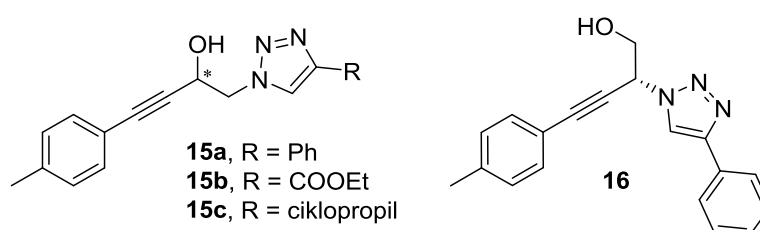
Enantiomerno obogaćeni epoksid (*S*)-**6a** optičke čistoće 80 % (198 mg, 1,25 mmol, 50 mmol dm<sup>-3</sup> konačna množinska koncentracija) dobiven u prethodnom sintetskom koraku otopljen je u DMSO-u (1,25 mL). Dodan je Tris-SO<sub>4</sub> pufer množinske koncentracije 0,5 mol

dm<sup>-3</sup> (17,5 mL, pH 7,5) te proteinski ekstrakt koji sadrži HheA2-N178A (6 mL, masena koncentracija 2,8 g dm<sup>-3</sup>) i NaN<sub>3</sub> (82 mg, 1,25 mmol). Nakon 30 min dodana je još jedna porcija HheA2-N178A (6 mL). Dobivena smjesa miješana je 2 sata pri 25 °C i 1000 rpm (do konverzije od otprilike 80 %) te ekstrahirana s EtOAc (4 × 40 mL). Spojeni organski slojevi sušeni su iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltrirani te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiveno je 80 mg (32 %) spoja (*S*)-**12a** enantiomerne čistoće > 99,5 % (Chiralpak IC-3, 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min),  $[\alpha]_D^{25} = +72,2$  (*c* 0,83, CHCl<sub>3</sub>) te 121 mg (48 %) spoja (*R*)-**13a** enantiomerne čistoće > 99,5 % (Chiralpak IC-3, 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min),  $[\alpha]_D^{25} = -166,1$  (*c* 1,15, CHCl<sub>3</sub>).

### Kinetička rezolucija epoksida **6i** na skali 1,0 mmol

Spoju *rac*-**6i** (124 mg, 1,0 mmol, 50 mmol dm<sup>-3</sup> konačna koncentracija) odvganom u tikvici dodane su liofilizirane stanice *E. coli*, soj MC1061, koje sadrže prekomjerno eksprimirani HheC (100 mg), prethodno rehidrirane u Tris-SO<sub>4</sub> puferu množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (20 mL, pH 7,5), a zatim NaN<sub>3</sub> (65 mg, 1,0 mmol). Dobivena smjesa miješana je 2 sata pri 25 °C i 1000 rpm (do konverzije od otprilike 50 %) nakon čega je ekstrahirana s Et<sub>2</sub>O (4 × 30 mL). Spojeni organski sloj sušen je iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltriran te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens dobiveno je 52 mg (42 %) spoja (*R*)-**6i** enantiomerne čistoće 95 % (Betadex 225, 40 °C, 1 °C/min do 75 °C, 2 °C/min do 165 °C),  $[\alpha]_D^{25} = -21,3$  (*c* 1,08, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) te 75 mg (45 %) spoja (*S*)-**12g** enantiomerne čistoće > 99 % (Betadex 225, 40 °C, 1 °C/min do 75 °C, 2 °C/min do 165 °C),  $[\alpha]_D^{25} = +3,0$  (*c* 3,3, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

#### 3.3.4. Postmodifikacijske reakcije



**Opći postupak za click reakcije.** U otopinu spoja **12a** optičke čistoće > 99 % (31 mg, 0,15 mmol, 1 ekv.) u DMSO (0,38 mL) i H<sub>2</sub>O (1,1 mL) dodana je vodena otopina CuSO<sub>4</sub> množinske koncentracije 0,1 mol dm<sup>-3</sup> (0,08 mL, 0,008 mmol, 5 mol%), a zatim vodena

otopina natrijevog L-(+)-askorbata množinske koncentracije 0,1 mol dm<sup>-3</sup> (0,37 mL, 0,037 mmol, 25 mol%) te odgovarajući alkin (0,31 mmol, 2 ekv.). Nastala smjesa miješana je 20 sati pri 25 °C, nakon čega je dodan EtOAc (1 mL) te je smjesa prenesena u lijevak za odjeljivanje s 10 mL EtOAc i 10 mL vode, slojevi su odijeljeni i vodeni sloj ekstrahiran s EtOAc (2 × 10 mL). Spojeni organski slojevi sušeni su iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltrirani te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 2 : 3 kao eluens dobiveni su čisti produkti.

*(R)*-4-(4-metilfenil)-1-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)but-3-in-2-ol (*(R)*-**15a**). Prema opisanom općem postupku iz spoja *(R)*-**12a** i etinilbenzena dobiven je spoj *(R)*-**15a** u obliku bijele krutine (45 mg, 98 %). Racemični spoj **15a** pripremljen je analogno.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 2,34 (s, 3H), 4,40 (br s, 1H), 4,54 (dd, *J* = 13,9, 7,8 Hz, 1H), 4,76 (dd, *J* = 14,0, 3,5 Hz, 1H), 5,13 – 5,19 (m, 1H), 7,10 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,27 – 7,31 (m, 3H), 7,32 – 7,35 (m, 2H), 7,65 – 7,66 (m, 2H), 7,86 (s, 1H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 21,6; 56,3; 62,0; 85,3; 87,2; 118,8; 121,5; 125,7; 128,3; 128,9; 129,3; 130,2; 131,8; 139,3; 147,4.

HRMS (ESI) *m/z*, ([M]+H<sup>+</sup>): izračunato za C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup>: 304,1450, određeno: 304,1452.

*t*<sub>r</sub> = 168 – 170 °C. [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -42,6 (*c* 0,98, CHCl<sub>3</sub>). *ee* > 99 % (Chiralpak IA, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min).

*(S)*-4-(4-metilfenil)-1-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)but-3-in-2-ol (*(S)*-**15a**). Prema opisanom općem postupku iz spoja *(S)*-**12a** (52 mg, 0,26 mmol) i etinilbenzena dobiven je spoj *(S)*-**15a** u obliku bijele krutine (77 mg, 98 %) enantiomerne čistoće > 99,5 % (Chiralpak IA, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +44,0 (*c* 1,02, CHCl<sub>3</sub>).

Etil-*(R)*-1-(2-hidroksi-4-(4-metilfenil)but-3-in-1-il)-1*H*-1,2,3-triazolil-4-karboksilat (*(R)*-**15b**). Prema opisanom općem postupku iz spoja *(R)*-**12a** i etil-prop-2-inoata dobiven je spoj *(R)*-**15b** u obliku bijele krutine (45 mg, 98 %).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 1,40 (t, *J* = 7,1 Hz), 2,35 (s, 3H), 3,58 (br s, 1H), 4,36 – 4,44 (m, 2H), 4,58 (dd, *J* = 13,9, 7,5 Hz, 1H), 4,80 (dd, *J* = 13,9, 3,6 Hz), 5,06 – 5,12 (m, 1H), 7,11 (d, *J* = 7,7 Hz), 7,29 (d, *J* = 8,1 Hz), 8,28 (s, 1H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm 14,4; 21,6; 56,1; 61,5; 61,7; 84,8; 87,6; 118,5; 129,2; 129,3; 131,8; 139,5; 140,0; 160,8.

HRMS (ESI) *m/z*, ([M]+H<sup>+</sup>): izračunato za C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>: 300,1348, određeno: 300,1325.

$t_t = 118 - 120$  °C.  $[\alpha]_D^{25} = -65,7$  ( $c$  1,15,  $\text{CHCl}_3$ ).

(*R*)-1-(4-ciklopropil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-4-(4-metilfenil)but-3-in-2-ol ((*R*)-**15c**). Prema opisanom općem postupku iz spoja (*R*)-**12a** (34 mg, 0,17 mmol) i etinilciklopropana dobiven je spoj (*R*)-**15c** u obliku bijele krutine (44 mg, 98 %).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  0,77 – 0,82 (m, 2H), 0,89 – 0,94 (m, 2H), 1,86 – 1,92 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 4,27 (br s, 1H), 4,45 (dd,  $J = 13,9, 7,7$  Hz, 1H), 4,66 (dd,  $J = 13,9, 3,6$  Hz, 1H), 5,07 (dd,  $J = 7,7, 3,6$  Hz, 1H), 7,11 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H), 7,29 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,40 (s, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  6,7; 7,7; 7,8; 21,6; 56,0; 61,9; 85,6; 86,9; 118,9; 121,8; 129,2; 131,8; 139,2; 149,8.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}^+$ : 268,1450, određeno: 268,1449.

$t_t = 139 - 141$  °C.  $[\alpha]_D^{25} = -40,0$  ( $c$  1,01  $\text{CHCl}_3$ )

(*R*)-4-(4-metilfenil)-2-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)but-3-in-1-ol (**16**). Prema opisanom općem postupku iz spoja (*R*)-**13a** (34 mg, 0,17 mmol) i etinilbenzena dobiven je spoj **16** u obliku bijele krutine (80 mg, 90 %). Racemični spoj **16** pripremljen je na isti način.

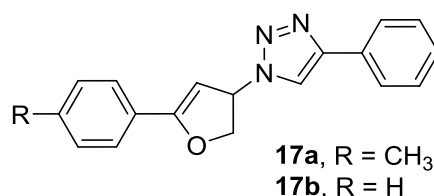
$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  2,37 (s, 3H), 3,63 (br s, 1H), 4,23 – 4,29 (m, 2H), 5,71 (dd,  $J = 6,0, 4,1$  Hz, 1H), 7,15 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 7,28 – 7,34 (m, 1H), 7,35 – 7,41 (m, 4H), 7,72 – 7,76 (m, 2H), 8,06 (s, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$  21,7; 56,1; 65,9; 88,5; 118,2; 119,9; 125,8; 128,4; 128,9; 129,4; 130,3; 132,1; 139,9; 147,5.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ( $[\text{M}]+\text{H}^+$ ): izračunato za  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}^+$ : 304,1450, određeno: 304,1445.

$t_t = 122 - 125$  °C.  $[\alpha]_D^{25} = +40,9$  ( $c$  2,1 EtOAc).  $ee > 99$  % (Chiralpak IA, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min).

### Priprava 1-(5-aril-2,3-dihidrofuran-3-il)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazola (**17a-b**).



**Opći postupak A.** U suspenziju CuI (14 mg, 0,08 mmol, 28 mol%) u MeOH (1 mL) dodana je vodena otopina NaOH množinske koncentracije  $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$  (0,72 mL, 0,36 mmol, 1,5

ekv.), a zatim otopina spoja **13** (50 mg, 0,25 mmol, 1 ekv.) u MeOH (2 mL) te etinilbenzen (60  $\mu$ L, 0,54 mmol, 2,2 ekv.). Nastala smjesa miješana je 24 sata pri 60 °C. Potom je dodana zasićena vodena otopina NH<sub>4</sub>Cl (25 mL) te je smjesa ekstrahirana s EtOAc (3  $\times$  10 mL). Spojeni organski slojevi sušeni su iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltrirani te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens.

**Opći postupak B.** U suspenziju CuI (4,3 mg, 0,023 mol, 12 mol %) u MeOH (1 mL) dodana je vodena otopina NaOH množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> (0,56 mL, 0,28 mmol, 1,5 ekv.) te otopina spoja **16** enantiomerne čistoće > 99,5 % (57 mg, 0,19 mmol, 1 ekv.) u MeOH (2 mL). Nastala smjesa miješana je 20 sati pri 60 °C, a zatim je dodana zasićena vodena otopina NH<sub>4</sub>Cl (25 mL) te je smjesa ekstrahirana s EtOAc (3  $\times$  10 mL). Spojeni organski slojevi sušeni su iznad bezvodnog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i profiltrirani te je otapalo upareno pri sniženom tlaku. Dobiveni produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz *n*- EtOAc : *n*-heksan = 1 : 9 kao eluens.

*1*-(5-(4-metilfenil)-2,3-dihidrofuran-3-il)-4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol (**17a**). Prema opisanom općem postupku A iz spoja (*R*)-**13a** enantiomerne čistoće > 99,5 % dobiveno je 36 mg (48 %) spoja **17a** u obliku bijele krutine enantiomerne čistoće 12 % (Chiralpak AD, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min). Racemični spoj **17a** pripremljen je na isti način.

Dodatno, prema opisanom općem postupku B dobiveno je 31 mg (54 %) spoja **17a** enantiomerne čistoće 12 % (Chiralpak AD, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min). Racemični spoj **17a** također je pripremljen na isti način.  $t_f = 182 - 185$  °C.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ /ppm 2,36 (s, 3H), 5,30 (ddd,  $J = 12,3, 3,9, 2,2$  Hz, 1H), 5,42 (ddd,  $J = 12,4, 5,9, 2,0$  Hz, 1H), 5,99 – 6,02 (m, 1H), 6,12 – 6,14 (m, 1H), 7,20 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H), 7,27 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,34 – 7,38 (m, 1H), 7,41 – 7,45 (m, 2H), 7,83 – 7,86 (m, 2H), 8,00 (s, 1H).

<sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ /ppm 21,3; 72,3; 87,5; 114,7; 117,6; 126,1; 126,6; 128,8; 129,1; 129,6; 129,8; 134,5; 137,7; 138,5; 148,4.

HRMS (ESI)  $m/z$ , ([M]+H<sup>+</sup>): izračunato za C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup>: 304,1450, određeno: 304,1468.

*4*-fenil-1-(5-fenil-2,3-dihidrofuran-3-il)-1*H*-1,2,3-triazol (**17b**). Prema izmijenjenom općem postupku A, korištenjem 14 mol% CuI, 26 mol% NaOH te 1,05 ekvivalent etinilbenzena,



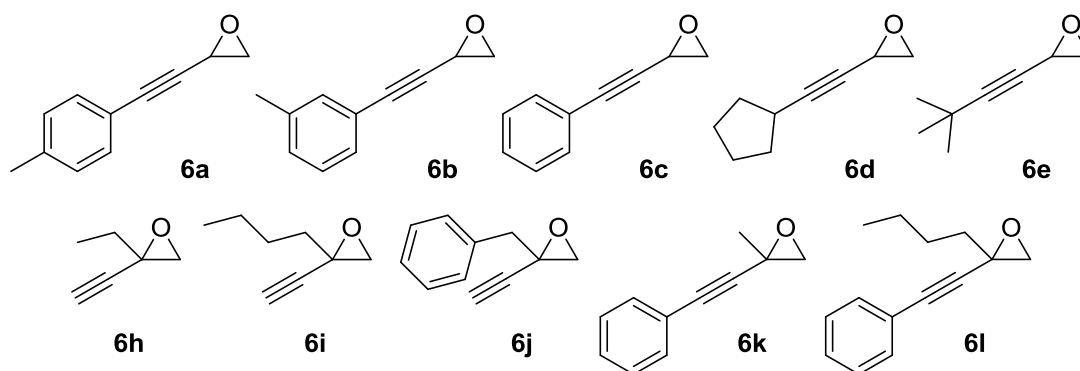
polazeći od spoja **13c** (100 mg, 0,53 mmol) dobiven je spoj **17b** u obliku bijele krutine (116 mg, 76 %).  $t_f = 193 - 196$  °C.

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  5,34 (ddd,  $J = 12,4; 3,9; 2,1$  Hz, 1H), 5,46 (ddd,  $J = 12,2, 5,8, 2,0$  Hz, 1H), 6,05 – 6,07 (m, 1H), 6,15 – 6,16 (m, 1H), 7,33 – 7,36 (m, 1H), 7,37 – 7,42 (m, 5H), 7,43 – 7,46 (m, 2H), 7,85 – 7,86 (m, 2H), 8,00 (s, 1H).

**$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$**  72,4; 87,5; 114,5; 117,4; 126,0; 126,4; 128,5; 128,7; 128,8; 129,0; 129,7; 134,4; 140,6; 148,3.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

Zbog prisutnosti ugljik-ugljik trostruke veze, propargil-epoksidi i alkoholi podliježu mnogim transformacijama,<sup>2,3,10</sup> zbog čega se koriste kao međuproducti u sintezi farmaceutika i drugih biološki aktivnih spojeva.<sup>12,13,137</sup> Iako su optički čisti spojevi često potrebni u takvim sintezama, poznatih metoda za stereoselektivnu pripravu propargil-epoksida relativno je malo.<sup>14</sup> Halogenhidrin-dehalogenaze (HHDH) su skupina enzima koji kataliziraju pretvorbu halogenhidrina i epoksida u oba smjera. U okviru ove doktorske disertacije sintetizirani su racemični terminalni propargil-epoksidi (**6a-e,h-l**) s različitim brojem, položajem i vrstom supstituenata (slika 6), na kojima su zatim provedena ispitivanja reakcija kinetičke rezolucije katalizirane s HHDH. Ispitane su reakcije u prisustvu različitih nukleofila (azid, cijanid, cijanat, tiocijanat i formijat) katalizirane s različitim tipovima HHDH (HheC, HheA2-N178A, HheB i HheB2-T120A). Reakcije su provedene prvo na analitičkoj skali, a zatim su najbolji supstrati (**6a** i **6i**) korišteni u reakcijama na preparativnoj skali u prisustvu azidnih iona kataliziranim s HheC i HheA2 mutantom. Nastali kiralni azidoalkoholi upotrijebljeni su u modelnim reakcijama postmodifikacija te su dobiveni spojevi s dihidrofuranyl-triazolnim motivom, koji se može naći u spojevima s poznatim biološkim aktivnostima. Dobiveni rezultati pokazuju da se propargil-epoksidi mogu koristiti kao supstrati HHDH.



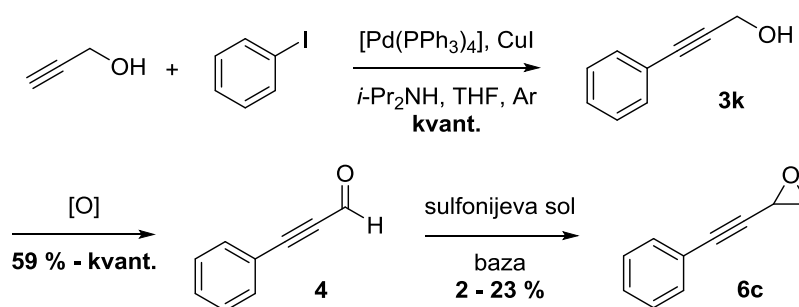
**Slika 6.** Sintetizirani propargil-epoksidi korišteni kao supstrati HHDH.

#### 4.1. Sinteza racemičnih propargilnih spojeva

Sintetizirane su dvije serije racemičnih propargil-epoksida, monosupstituirani (**6a-e**) te 2,2-disupstituirani derivati (**6h-l**). Ispitani su različiti pristupi sinteze obje serije, budući se pokazalo da priprava propargil-epoksida nije trivijalna. U slučaju monosupstituiranih epoksida, prvo je ispitan sintetski slijed koji se sastojao od Sonogashirine reakcije propargil-alkohola s jodbenzenom i oksidacije dobivenog produkta do odgovarajućeg aldehida **4** na nekoliko načina. Posljednji korak, Corey-Chaykovskyjeva reakcija kako bi se dobio konačni epoksid **6c** dao je slabe rezultate te je promijenjen pristup sintezi. Novi sintetski put temeljio se na uvođenju dvostruke veze na terminalne alkinne Sonogashirinom reakcijom te njenom epoksidacijom pomoću *m*-CPBA. Kod sinteze 2,2-disupstituiranih spojeva navedeni slijed nije bio pogodan, stoga su korišteni pristupi adicije magnezijevog (**6h-j**) odnosno litijevog organometalnog reagensa na  $\alpha$ -halogenketone (**6k-l**). U Grignardovoj reakciji korišten je *in situ* generiran katalitički cinkat(II) kompleks, što je značajno umanjilo razmjer sporednih reakcija. U reakcijama s litijevim acetilidom nisu uočeni problemi. Sintetizirani epoksidi zatim su korišteni za sintezu racemičnih azidoalkohola u svrhu određivanja metoda analize GC-om i HPLC-om prilikom praćenja tijeka enzimskih reakcija.

##### 4.1.1. Sinteza monosupstituiranih propargil-epoksida

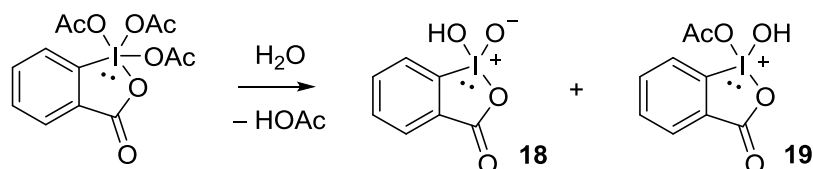
Inicijalni put sinteze monosupstituiranih propargil-epoksida prikazan je na shemi 43. Prvi korak sinteze bila je Sonogashirina reakcija jodbenzena i propargil-alkohola uz  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i CuI kao katalizatore. Reakcija je provedena u čistom diizopropil-aminu te je dobiven fenilpropinol **3k** u kvantitativnom iskorištenju.



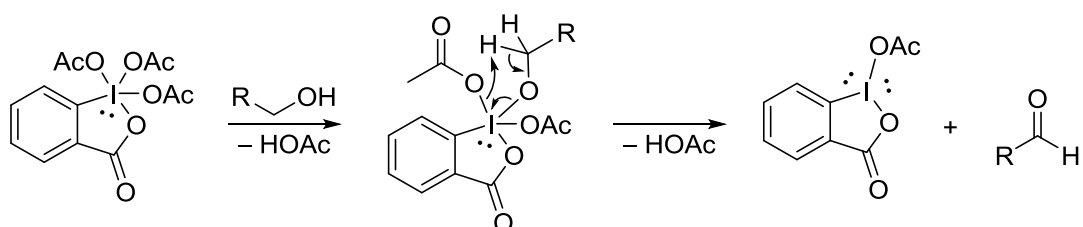
**Shema 43.** Inicijalni put sinteze monosupstituiranog propargil-epoksida **6c**.

Sljedeći korak bila je selektivna oksidacija dobivenog propargil-alkohola **3k** do odgovarajućeg aldehida **4**. Oksidacija je provedena na nekoliko načina: Dess-Martinovim perjodinanom (DMP), piridinijevim klorokromatom (PCC) te Swernovom oksidacijom. Reakcija spoja **3k** s DMP-om provedena je uz kruti NaHCO<sub>3</sub> kako bi se neutralizirala octena

kiselina koja nastaje hidrolizom reagensa (shema 44) te u reakciji (shema 45), budući da je produkt labilan u kiselim uvjetima uslijed podložnosti reakcijama polimerizacije. Po završetku reakcije suvišak DMP-a uklonjen je dodatkom zasićene otopine  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu dobiven je spoj **4** u kvantitativnom iskorištenju.



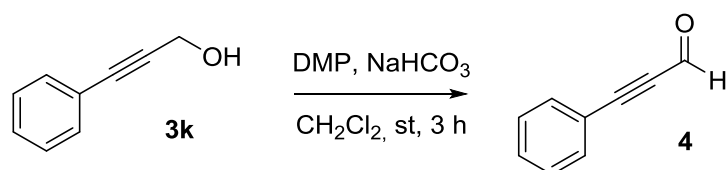
**Shema 44.** Hidroliza Dess-Martinovog perjodinana.



**Shema 45.** Mehanizam oksidacije alkohola pomoću Dess-Martinovog perjodinana.

Optimizacija uvjeta reakcije oksidacije DMP-om prikazana je u tablici 1. Na iskorištenje reakcije osim prisutnosti  $\text{NaHCO}_3$  primarno utječe količina DMP. Velika količina DMP potrebna je za kvantitativno iskorištenje budući da stajanjem dio reagensa hidrolizira u 2-jodoksibenzojevu kiselinu (IBX, **18**) i njen *O*-acetil derivat (**19**). No, kako je spoj **19** bolji oksidans od DMP, reakcija s takvim reagensom gotova je u 3 sata.

**Tablica 1.** Optimizacija sinteze spoja **4** pomoću Dess-Martinovog perjodinana (DMP).

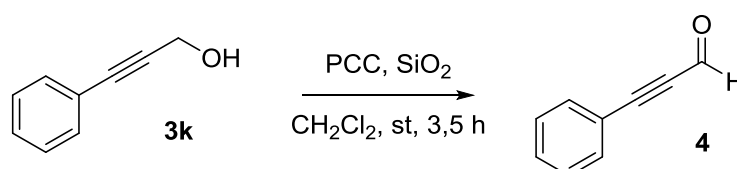


| Unos                 | $c$ <b>3k</b> / mol dm <sup>-3</sup> | DMP (ekv.) | $\text{NaHCO}_3$ (ekv.) | $t$ / °C  | vrijeme / h | $\eta$ <b>4</b> / % |
|----------------------|--------------------------------------|------------|-------------------------|-----------|-------------|---------------------|
| 1 <sup>a</sup>       | 0,5                                  | 1,10       | 0                       | 0         | 18          | 41                  |
| 2 <sup>b</sup>       | 0,08                                 | 1,5        | 3                       | 25        | 1           | 59                  |
| <b>3<sup>c</sup></b> | <b>0,08</b>                          | <b>3</b>   | <b>3</b>                | <b>25</b> | <b>3</b>    | <b>kv.</b>          |

<sup>a</sup> obrada s 1 mol dm<sup>-3</sup> otopinom  $\text{NaOH}$ ; <sup>b</sup> reakcija pod argonom, obrada s zasićenom otopinom  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5/\text{NaHSO}_3$ ; <sup>c</sup> obrada s zasićenom otopinom  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Spoj **3k** također je oksidiran pomoću PCC uz silikagel kao adsorbens. Dodatak adsorbensa olakšava uklanjanje soli kroma koje nastaju u reakciji. Po završetku reakcije, smjesa je nanosena izravno na stupac silikagela, te je pročišćavanjem kromatografijom dobiven spoj **4** u iskorištenju od 59 %. Optimizacija uvjeta reakcije prikazana je u tablici 2.

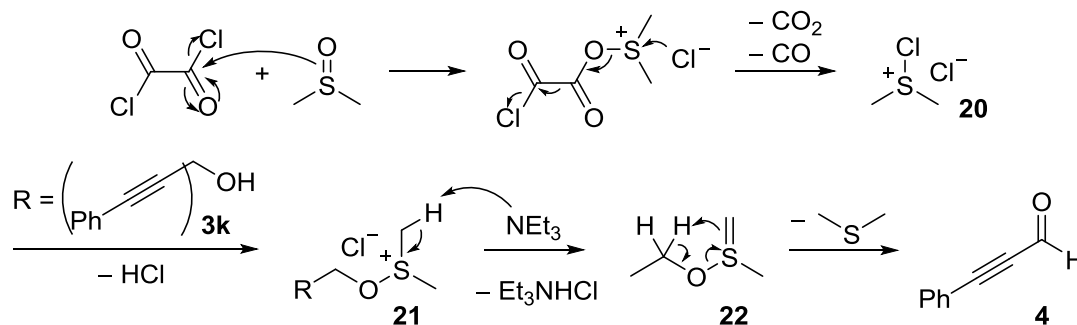
**Tablica 2.** Optimizacija sinteze spoja **4** pomoću piridinijevog klorokromata (PCC).



| Unos     | PCC (ekv.) | V <sup>a</sup> / mL | adsorb.                | ekv. m (PCC) | pufer (ekv.)             | t / °C                | vrijeme / h | η <b>4</b> / % |
|----------|------------|---------------------|------------------------|--------------|--------------------------|-----------------------|-------------|----------------|
| 1        | 1,5        | 10                  | SiO <sub>2</sub>       | 1,3          | -                        | 0                     | 5           | 20             |
| 2        | 2          | 5                   | SiO <sub>2</sub>       | 1,3          | -                        | 25 <sup>b</sup>       | 21          | 45             |
| <b>3</b> | <b>3</b>   | <b>6</b>            | <b>SiO<sub>2</sub></b> | <b>1,3</b>   | -                        | <b>25<sup>c</sup></b> | <b>3,5</b>  | <b>59</b>      |
| 4        | 3          | 15                  | SiO <sub>2</sub>       | 1,0          | -                        | 25 <sup>d</sup>       | 4           | 9              |
| 5        | 3          | 6                   | celit                  | 1,0          | -                        | 25 <sup>d</sup>       | 4,5         | 10             |
| 6        | 1,5        | 6                   | celit                  | 1,0          | NaOAc (1,5)              | 25                    | 3           | 16             |
| 7        | 2          | 11                  | -                      | -            | NaHCO <sub>3</sub> (4,0) | 25                    | 2           | 31             |

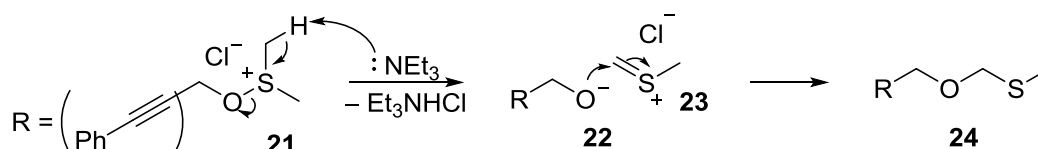
<sup>a</sup> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; <sup>b</sup> prvih 10 min pri 0 °C; <sup>c</sup> prvih 80 min pri 0 °C; <sup>d</sup> prva 2 sata pri 0 °C

Spoj **4** sintetiziran je i Swernovom oksidacijom (shema 46). Reakcijom oksalil-klorida s DMSO pri -78 °C u inertnim uvjetima pripravljen je reagens **20** *in situ*. Temperatura smjese održavana je ispod -60 °C kako bi se umanjile sporedne reakcije poput Pummererove pregradnje. Dodatkom spoja **3k** pripravljen je međuprodukt **21**, čijom je reakcijom s trietilaminom pripravljen spoj **4**. Po završetku reakcije, smjesa je obrađena dodatkom zasićene otopine NaHCO<sub>3</sub> te je dobiven je spoj **4** u iskorištenju od 84 %.



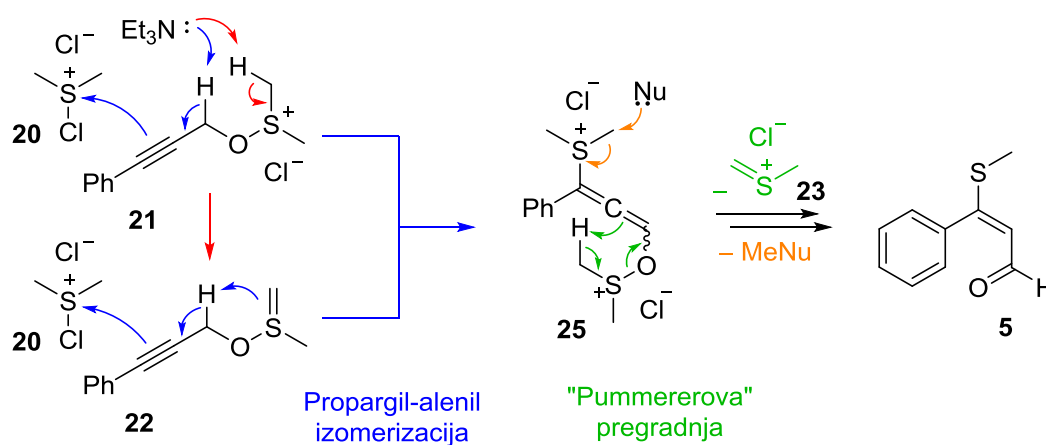
**Shema 46.** Mehanizam Swernove oksidacije.

Osim željenog spoja izoliran je i nusprodukt, koji je NMR spektroskopijom identificiran kao (*E*)-3-fenil-3-metiltioprop-2-en-1-al (**5**).<sup>125</sup> Njegov nastanak može se objasniti doprinosom triju faktora: prvi faktor je spomenuta Pummererova pregradnja. Radi se o eliminaciji alkoksida **22** s alkoksisulfonijevih kationa kao što je međuprodukt **21** pri čemu nastaje metilensulfonijev kation **23**. Alkoxid **22** tada nukleofilno napada metilidensku skupinu sulfonijevog kationa **23** te nastaje mješoviti tioacetal **24** (shema 47).<sup>138</sup>

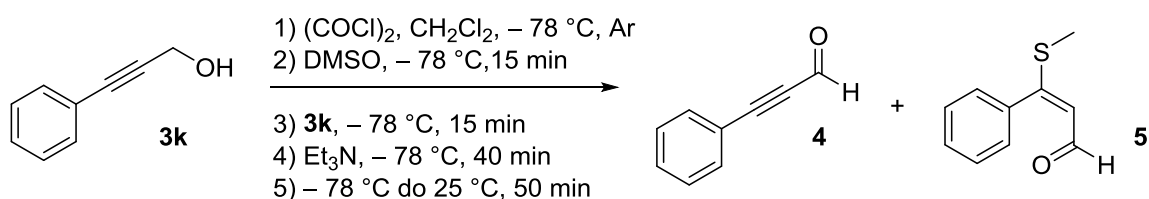


**Shema 47.** Primjer Pummererove pregradnje.

Drugi faktor je mogućnost izomerizacije propargilnih spojeva u alene.<sup>125</sup> Dodatak baze na međuprodukt **21** može (izravno ili preko međuprodukta **22**) dovesti do navedene izomerizacije, prilikom čega nukleofilnim napadom na klorosulfonijev kation **20** dolazi do supstitucije na  $\beta$ -položaju i nastanka međuprodukta **25** (shema 48). Time suvišak  $(\text{COCl})_2$  postaje treći faktor budući da uzrokuje suvišak klorosulfonijevog kationa **20** koji omogućuje navedenu supstituciju, što se može vidjeti iz pada iskorištenja reakcije prilikom povećanja ekvivalenata  $(\text{COCl})_2$  (tablica 3). Slijedom dviju eliminacija, eliminacijom alkoksida s alkoksisulfonijevog kationa analognoj Pummererovoj pregradnji (označena zeleno) te eliminacijom metila s alkenilsulfonijevog kationa na  $\beta$ -položaju (označena narančasto) nastaje nusprodukt **5**. Slični procesi poznati su u literaturi.<sup>125,139</sup>



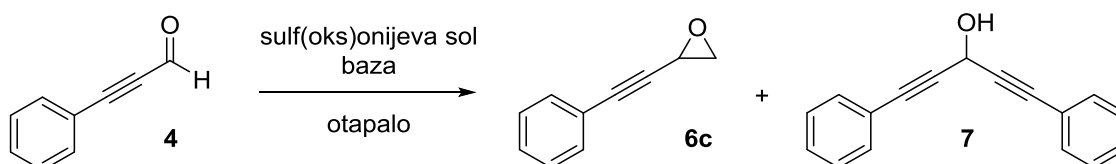
**Shema 48.** Predloženi mehanizam nastanka cinamaldehida **5** u uvjetima Swernove oksidacije fenilpropinola **3k**.

Tablica 3. Optimizacija sinteze spoja **4** Swernovom oksidacijom.

| Unos           | ekvivalenti         |            |                   | <i>t</i> / °C <sup>a</sup> | vrijeme / min <sup>a</sup> | η / %     |          |
|----------------|---------------------|------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|----------|
|                | (COCl) <sub>2</sub> | DMSO       | Et <sub>3</sub> N |                            |                            | <b>4</b>  | <b>5</b> |
| 1 <sup>b</sup> | 2                   | 4          | 8                 | – 40/25                    | 30/30                      | 20        | 56       |
| 2              | 2                   | 3          | 6                 | – 78/25                    | 30/60                      | 54        | 19       |
| 3 <sup>b</sup> | 1,5                 | 3          | 6                 | – 78/25                    | 30/30                      | 60        | 38       |
| 4 <sup>b</sup> | 1,2                 | 2,4        | 6                 | 25                         | 30                         | 34        | -        |
| <b>5</b>       | <b>1,2</b>          | <b>2,4</b> | <b>6</b>          | <b>– 78/25</b>             | <b>15/50</b>               | <b>84</b> | -        |
| 6              | 1                   | 2          | 3                 | – 78/25                    | 15/50                      | 79        | -        |

<sup>a</sup> nakon dodatka Et<sub>3</sub>N; <sup>b</sup> temperatura prelazila – 60 °C prilikom dodavanja reagensa

U posljednjem koraku istražena je sinteza epoksida **6c** Corey-Chaykovskyjevom reakcijom aldehida **4** s trimetilsulfonijevim ilidom u inertnim uvjetima. Ilid je pripravljen *in situ* reakcijom trimetilsulfonijevog metilsulfata s 50 %-tnom vodenom otopinom NaOH. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu dobiven je spoj **6c** u iskorištenju od 23 % (tablica 4).

Tablica 4. Sintaza spoja **5c** Corey-Chaykovskyjevom reakcijom.

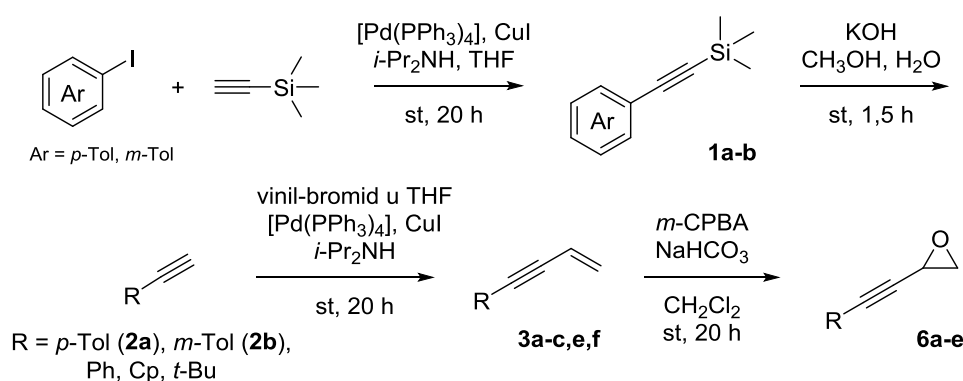
| Unos           | sol   | ekv.        | baza                           | ekv.                  | otapalo   | η / %          |          |
|----------------|---|-------------|--------------------------------|-----------------------|---|----------------|----------|
|                |   |             |                                |                       |   | <b>6c</b>      | <b>7</b> |
| 1              | Me <sub>3</sub> SO <sup>+</sup> I <sup>-</sup>                | 1,4         | NaH                            | 1,5                   | DMSO  | 7              | -        |
| 2              |   | 3           | KH                             | 3                     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                 | - <sup>a</sup> | -        |
| 3              |   | 3           | KO <sup>t</sup> Bu             | 3                     | THF   | - <sup>a</sup> | -        |
| <b>4</b>       | Me <sub>3</sub> S <sup>+</sup> MeSO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | <b>1,05</b> | <b>NaOH</b>                    | <b>81<sup>b</sup></b> | <b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O</b>             | <b>23</b>      | -        |
| 5 <sup>c</sup> |   | 1,5         | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 6                     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O <sup>d</sup> | - <sup>e</sup> | -        |
| 6 <sup>c</sup> |   | 1,5         | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 6                     | CH <sub>3</sub> CN, H <sub>2</sub> O <sup>f</sup>               | - <sup>g</sup> | -        |
| 7              |   | 3           | <i>n</i> -BuLi                 | 3                     | THF   | 9              | 28       |
| 8              | Me <sub>3</sub> S <sup>+</sup> I <sup>-</sup>                 | 1,2         | <i>n</i> -BuLi                 | 3,6                   | THF   | 2              | 45       |

<sup>a</sup> nije pročišćavano; <sup>b</sup> 50 %-tna vodena otopina; <sup>c</sup> bez argona; <sup>d</sup> 0,4 ekv. H<sub>2</sub>O zbog topljivosti baze; <sup>e</sup> nema reakcije; <sup>f</sup> 0,04 mol% zbog topljivosti baze; <sup>g</sup> nije nastao epoksid

Osim navedenog postupka, koji su opisali Mosset i Gree na nizu aromatskih, alifatskih i  $\alpha,\beta$ -nezasićenih aldehida i ketona,<sup>140</sup> ispitani su i drugi uvjeti reakcije, no kod svih su dobiveni slabi rezultati. Budući da reakcije propargil-aldehida **4** nisu provedene pri niskoj temperaturi, mogući uzrok slabijih rezultata je pojava neželjenih reakcija sličnih Pummererovoj pregradnji, kao što je prethodno opisani nastanak spoja **5**. U prilog tome, poznato je kako u reakcijama s 2 do 3 ekvivalenta ilida može doći do otvaranja epoksida i nastanka oksetana ili alil alkohola,<sup>139,141</sup> što je moguće doprinijelo ishodu unosa 2, 3 i 7.

U reakcijama s *n*-butillitijem (unosi 7 i 8) umjesto željenog produkta, kao glavni produkt izoliran je spoj koji je analizom <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektra identificiran kao 1,5-difenilpenta-2,4-diin-3-ol (**7**). Može se zaključiti da je njegov nastanak uzrokovan suviškom baze, budući da povećanjem suviška baze raste prinos spoja **7**. Opažena je slaba topljivost sulfonijevih soli u diklormetanu i tetrahidrofuranu što dodatno doprinosi lošem ishodu reakcija.

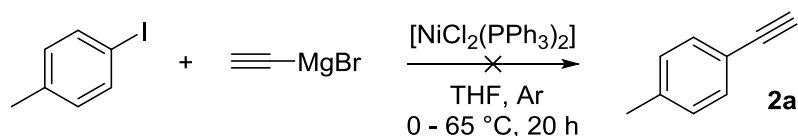
Kako je gore opisani put sinteze spoja **6c** dao slabe rezultate, promijenjen je pristup sintezi. Novi sintetski slijed temeljio se na uvođenju dvostruke veze na terminalne alkinne **2** Sonogashirinom reakcijom te njenom epoksidacijom pomoću *m*-CPBA. Ispitano je nekoliko načina sinteze terminalnih alkina **2** i odgovarajućih enina **3**, koji su uz Sonogashirinu uključivali i Kumadinu reakciju. Pristupi s Kumadinom reakcijom za sintezu terminalnog acetilena davali su loše rezultate, dok je Sonogashirina reakcija dala zadovoljavajuće rezultate pri sintezi zaštićenih acetilena. Od ispitanih zaštitnih skupina, uklanjanje sililne zaštite pokazalo je zadovoljavajuće rezultate. Optimizirani sintetski slijed prikazan je na shemi 49.



**Shema 49.** Optimizirana sinteza monosupstituiranih propargil-epoksida **6a-e**.

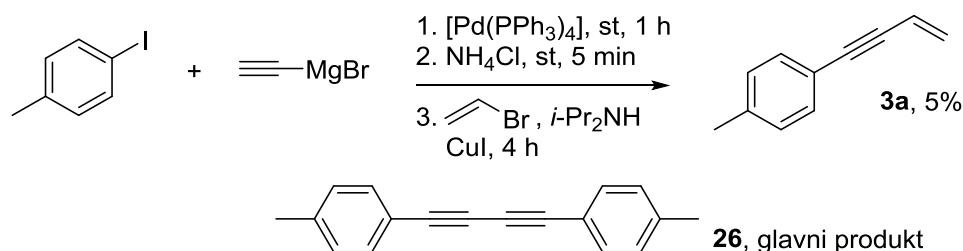
Prilikom optimizacije novog sintetskog puta, prvo su ispitani načini sinteze terminalnih acetilena **2** i enina **3**. Sintaza spoja **2a** Kumadinom reakcijom *p*-jodtoluena s etinilmagnezijevim bromidom uz [NiCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] kao katalizator, provedena u inertnim uvjetima uz refluks nije bila uspješna (shema 50).





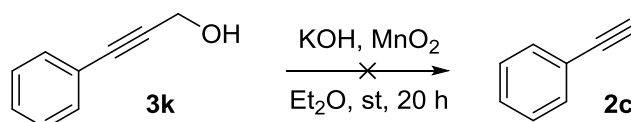
**Shema 50.** Pokušaj sinteze spoja **2a** Kumadinom reakcijom.

Dodatno, pokušana je priprava spoja **3a** *one-pot* Kumada-Sonogashirinim slijedom reakcija (shema 51). Reakcijom *p*-jodtoluena s etinilmagnezijevim bromidom uz  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  kao katalizator u inertnim uvjetima pripravljen je alkin **2a**. Dodatkom  $\text{NH}_4\text{Cl}$  uklonjen je neizreagirani etinilmagnezijev bromid, a zatim je dodatkom diizopropil-amina, vinil-bromida te  $\text{CuI}$  dobiven spoj **3a** u iskorištenju od 5 %. Reakcija je također pokušana uz katalizator  $[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$ . U oba slučaja umjesto željenog produkta većinom nastaje 1,4-bis(4-metilfenil)buta-1,3-diin (**26**), iz čega se može zaključiti da spoj **2a** po nastanku dimerizira.



**Shema 51.** Sinteza spoja **3a** *one-pot* Kumada-Sonogashira slijedom reakcija.

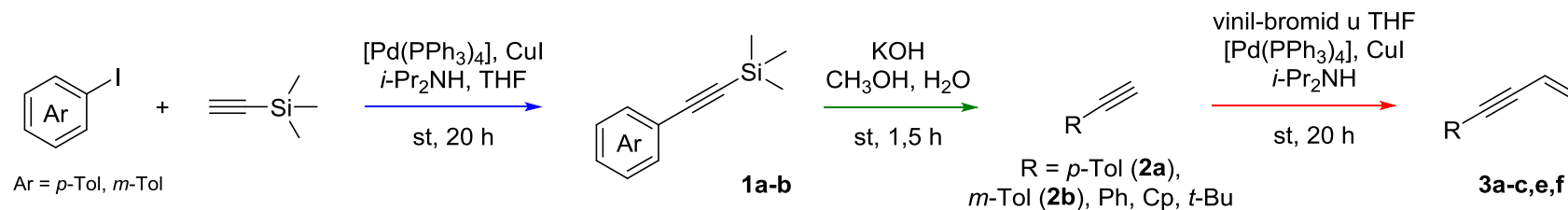
Budući da izravna sinteza terminalnih acetilena nije bila uspješna, slijedeće je ispitan pristup sinteze zaštićenih acetilena, iz kojih bi se uklanjanjem zaštitne skupine dobili odgovarajući terminalni acetileni. Prvo je pokušana sinteza spoja **2c** iz propargil-alkohola **3k**, pripravljenog Sonogashirinom reakcijom prema prethodno navedenom postupku, pri čemu hidroksimetil služi kao zaštitna skupina. Reakcija spoja **3k** s  $\text{MnO}_2$  i  $\text{KOH}$  pri različitim uvjetima (ekvivalenti  $\text{KOH}$ , granulirani ili usitnjeni  $\text{KOH}$ , osušeni ili neosušeni  $\text{MnO}_2$ ) kako bi se uklonila hidroksimetilna skupina te dobio spoj **2c** nije dala rezultat (shema 52).



**Shema 52.** Pokušaj sinteze spoja **2c** iz spoja **3k**.

Konačno, provedena je sinteza TMS zaštićenih acetilena **1** Sonogashirinom reakcijom odgovarajućeg jodtoluena s TMS-acetilenom (tablica 5).

Tablica 5. Optimizacija uvjeta sinteze enina 3.



| Unos            | spoj<br>R                  | TMS-alkin 1 |          |                              |            |                 | terminalni alkin 2 |                     | enin 3     |                              |            |            |              | η / %     |           |                       |                  |
|-----------------|----------------------------|-------------|----------|------------------------------|------------|-----------------|--------------------|---------------------|------------|------------------------------|------------|------------|--------------|-----------|-----------|-----------------------|------------------|
|                 |                            | ekv.        |          |                              | mol%       |                 | KOH<br>(ekv.)      | <i>t</i> / h        | ekv.       |                              | mol%       |            |              | 1         | 2         | 3                     | uk. <sup>a</sup> |
|                 |                            | R-I         | TMS      | <i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NH | Pd         | Cu              |                    |                     | vinil-Br   | <i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NH | Pd         | Cu         | <i>t</i> / h |           |           |                       |                  |
| 1               |                            | 3           | 1        | 51 <sup>b</sup>              | 1,5        | 4               | 2                  | 16                  | 1,5        | 9                            | 0,5        | 1,5        | 20           | 95        | 35        | 44                    | 14               |
| 2               |                            | 1,05        | 1        | 18 <sup>b</sup>              | 0,5        | 1,5             | 1,3 <sup>c</sup>   | 2                   | 1,5        | 3,5                          | 0,5        | 1,5        | 66           | 99        | 41        | 77                    | 31               |
| 3               | <b>3a</b>                  | 1           | 1,05     | 3,5                          | 0,5        | 1,5             | 2 <sup>d</sup>     | 3                   | -          | -                            | -          | -          | -            | kv.       | 14        | np                    | -                |
| 4               | <i>p</i> -Tol              | 1           | 1,05     | 3,5                          | 0,5        | 1,5             | 2                  | 1,5                 | 1,5        | 7                            | 0,5        | 1,5        | 16           | kv.       | sp        | 67 <sup>e</sup>       | 67               |
| 5               |                            | 1           | 1        | 3,5                          | 0,5        | 1,5             | 2                  | 1,5                 | 1,5        | 3,5                          | 0,5        | 1,5        | 24           | 99        | sp        | 57 <sup>e</sup>       | 56               |
| <b>6</b>        |                            | <b>1</b>    | <b>1</b> | <b>3,5</b>                   | <b>0,4</b> | <b>1,4</b>      | <b>2</b>           | <b>1,3</b>          | <b>1,2</b> | <b>2,5</b>                   | <b>0,4</b> | <b>1,1</b> | <b>16</b>    | <b>sp</b> | <b>sp</b> | <b>85<sup>f</sup></b> | <b>85</b>        |
| 7               | <b>3b</b><br><i>m</i> -Tol | 1           | 1        | 3,5                          | 0,5        | 1,5             | 2                  | 2                   | 1,2        | 3,5                          | 0,5        | 1,5        | 16           | 97        | sp        | 69 <sup>e</sup>       | 67               |
| 8               | <b>3c</b>                  | 1           | 1,2      | 1,7                          | 3          | 18 <sup>g</sup> | 2                  | 2,5+20 <sup>h</sup> | 1,2        | 1,7                          | 3          | 9          | 16           | sp        | sp        | 20 <sup>f</sup>       | 20               |
| 9               | Ph                         | -           | -        | -                            | -          | -               | -                  | -                   | <b>1,5</b> | <b>3,5</b>                   | <b>0,4</b> | <b>1</b>   | <b>21</b>    | <b>np</b> | <b>np</b> | <b>98</b>             | -                |
| 10 <sup>i</sup> | <b>3e</b>                  | -           | -        | -                            | -          | -               | -                  | -                   | 1,3        | 3,5                          | 3          | 9          | 3            | np        | np        | sp                    | -                |
| 11              | Cp                         | -           | -        | -                            | -          | -               | -                  | -                   | <b>1,5</b> | <b>35</b>                    | <b>0,3</b> | <b>0,9</b> | <b>20</b>    | <b>np</b> | <b>np</b> | <b>76</b>             | -                |
| 12              | <b>3f</b><br><i>t</i> -Bu  | -           | -        | -                            | -          | -               | -                  | -                   | 1,5        | 3,5                          | 0,5        | 1,5        | 16           | np        | np        | 34                    | -                |

<sup>a</sup> iskorištenje preko tri koraka; <sup>b</sup> reakcija u čistom *i*-Pr<sub>2</sub>NH; <sup>c</sup> kruta baza dodana u otopinu spoja 1 u smjesi MeOH : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 1 : 4; <sup>d</sup> 20 %-tna vodena otopina; <sup>e</sup> iskorištenje preko 2 koraka, bez izolacije spoja 2; <sup>f</sup> iskorištenje preko 3 koraka, bez izolacije spojeva 1 i 2; <sup>g</sup> CuCl umjesto CuI; <sup>h</sup> *one-pot* Sonogashira + hidroliza; <sup>i</sup> pri 0 °C; np – reakcija nije provedena; sp – sirovi produkt korišten u idućem koraku

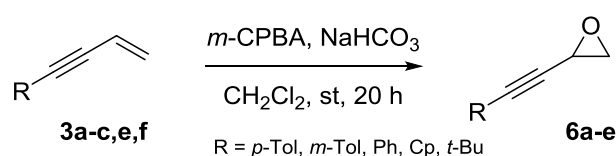
Reakcije su provedene u inertnim uvjetima uz  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i  $\text{CuI}$  kao katalizatore te diizopropil-amin kao bazu. Po završetku reakcije smjese su obrađene ekstrakcijom u blago kiselim uvjetima, uz zasićenu otopinu  $\text{NH}_4\text{Cl}$  te su dobiveni silani **1**. *p*-Tolil derivat **1a** korišten je u sljedećem sintetskom koraku kao sirovi produkt, dok je *m*-tolil derivat **1b** izoliran u iskorištenju od 97 %. Dobiveni silani zatim su podvrgnuti reakcijama hidrolize uz  $\text{KOH}$  u smjesi metanola i vode kako bi se uklonila zaštitna skupina te su dobiveni terminalni alkini **2**. Po završetku reakcije smjese su obrađene ekstrakcijom u blago kiselim uvjetima, uz zasićenu otopinu  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Otapalo je djelomično upareno te su sirove smjese korištene izravno u sljedećem koraku sinteze kako bi se umanjili gubitci uslijed hlapivosti terminalnih acetilena. Na produkte je zatim uvedena dvostruka veza Sonogashirinom reakcijom s vinil-bromidom. Reakcije su provedene pod istim uvjetima kao i prva Sonogashirina reakcija te su dobiveni enini **3a** odnosno **3b** u iskorištenju od 85 % tj. 69 %. Istom reakcijom, polazeći od odgovarajućih komercijalno dostupnih alkina dobiveni su spojevi **3c** (98 %), **3e** (76 %) te **3f** (34 %).

Optimizacija uvjeta prva tri koraka sinteze prikazana je u tablici 5. Najbolji rezultati dobiveni su bez pročišćavanja međuprodukata između reakcija (unos 4 – 7). Slabija iskorištenja dobivena u slučajevima izolacije spoja **2**, ukoliko su reakcije hidrolize ostavljene preko noći (unos 1, 2, 8) ili korištenjem 20 %-tne vodene otopine  $\text{KOH}$  (unos 3) mogu se pripisati hlapivosti produkata, mogućim sporednim reakcijama uslijed deprotoniranja kiselog acetilenskog protona suviškom baze te adiciji vode na trostruku vezu. Navedene poteškoće izbjegnute su kod sinteze enina iz komercijalnih alkina (unos 9 – 12). Od ostalih faktora koji su mogli utjecati na ishod reakcija mogu se istaknuti niža vrelišta alifatskih derivata u odnosu na aromatske, što je otežavalo izolaciju i uzrokovalo gubitak produkata, te razlike u reaktivnosti alkina uslijed utjecaja elektronske prirode pojedinog supstituenta na kiselost odnosno nukleofilnost acetilenskog protona tj. ugljika.

U zadnjem koraku sinteze, konačni spojevi dobiveni su epoksidacijom enina **3** s 3-klorperoksibenzojevom kiselinom (*m*-CPBA) uz kruti  $\text{NaHCO}_3$  (tablica 6).  $\text{NaHCO}_3$  ima ulogu puferirajućeg sredstva kako bi se umanjili gubitci produkta osjetljivog na kisele uvjete, budući da su epoksidi podložni reakcijama otvaranja prstena. Iako peroksikiseline podliježu intermolekulskoj samo-redukciji u bazičnim uvjetima, u prisutnosti alkena nastaje kompleks peroksikiselina – baza – alken, koji sprječava navedeni proces te u slučaju  $\text{NaHCO}_3$  također ubrzava reakciju epoksidacije (shema 53).<sup>142</sup> Po završetku reakcije smjesa je obrađena

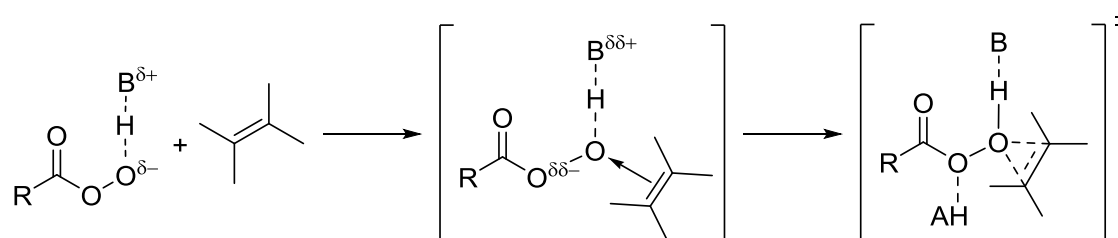
zasićenom otopinom  $\text{NaHCO}_3$  kako bi se nastala 3-klorbenzojeva kiselina uklonila iz reakcijske smjese. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu dobiveni su monosupstituirani propargil-epoksidi **6a** (48 %), **6b** (39 %), **6c** (60 %), **6d** (50 %) i **6e** (75 %). Optimizacija uvjeta reakcije epoksidacije prikazana je u tablici 6.

**Tablica 6.** Optimizacija uvjeta sinteze epoksida **6a-e** epoksidacijom enina **3**.



| Unos              | enin      | epoks.    | R             | <i>m</i> -CPBA (ekv.) | <i>c</i> / mol dm <sup>-3</sup> | NaHCO <sub>3</sub> (ekv.) | η <b>6</b> / %             |
|-------------------|-----------|-----------|---------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 1                 | <b>3a</b> | <b>6a</b> | <i>p</i> -Tol | 1,5                   | 0,3                             | 1                         | 48                         |
| 2                 | <b>3b</b> | <b>6b</b> | <i>m</i> -Tol | 1,1                   | 0,1                             | 1                         | 39                         |
| 3 <sup>a</sup>    |           |           |               | 1,8                   | 0,3                             | -                         | 19                         |
| 4 <sup>b,c</sup>  |           |           |               | 2                     | 0,2                             | -                         | 35                         |
| 5                 |           |           |               | 2                     | 0,9 – 0,1                       | 2                         | 52                         |
| <b>6</b>          | <b>3c</b> | <b>6c</b> | Ph            | <b>2</b>              | <b>0,1</b>                      | <b>1,0</b>                | <b>60</b>                  |
| 7                 |           |           |               | 2                     | 0,2                             | 1,25                      | 57                         |
| 8 <sup>c</sup>    |           |           |               | 2                     | 0,4                             | 0,8                       | 59                         |
| 9 <sup>d,e</sup>  |           |           |               | 1,1                   | 0,1                             | 9,2 <sup>f</sup>          | 16                         |
| 10 <sup>g,h</sup> |           |           |               | 2                     | 0,3                             | -                         | 14 <sup>i</sup>            |
| <b>11</b>         | <b>3e</b> | <b>6d</b> | Cp            | <b>1,5</b>            | <b>0,3</b>                      | <b>1,2</b>                | <b>50 (38)<sup>i</sup></b> |
| 12                | <b>3f</b> | <b>6e</b> | <i>t</i> -Bu  | 2                     | 0,3                             | 1                         | 75                         |

<sup>a</sup> *m*-CPBA dodana pri 0 °C; <sup>b</sup> prva 3 sata pri 0°C; <sup>c</sup> obrada zasićenom vodenom otopinom NaHCO<sub>3</sub>; <sup>d</sup> obrada zasićenom vodenom otopinom Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; <sup>e</sup> 5 sati umjesto preko noći; <sup>f</sup> zasićena vodena otopina; <sup>g</sup> korišten sirovi enin; <sup>h</sup> prvih 30 min pri 0 °C; <sup>i</sup> iskorištenje epoksidacije preko dva koraka iz ciklopentilacetilena



**Shema 53.** Nastanak kompleksa peroksikiselina – baza – alken te odgovarajućeg prijelaznog stanja u epoksidaciji alkena peroksikiselinama.<sup>142</sup>

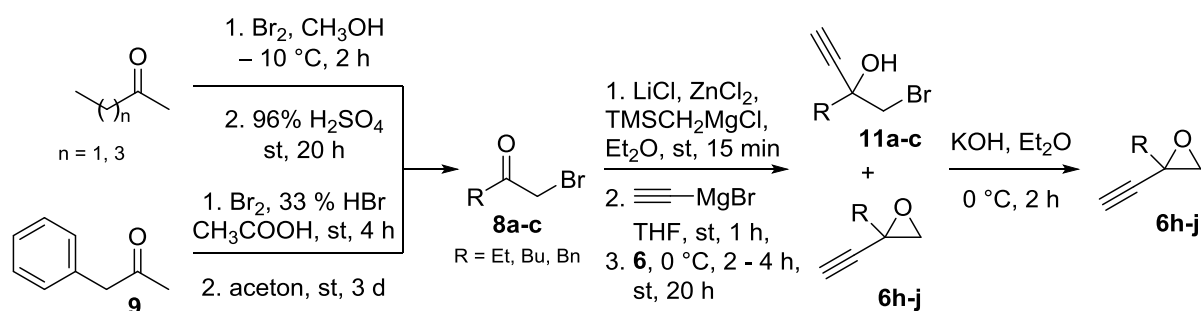
Najbolji rezultati dobiveni su korištenjem dva ekvivalenta *m*-CPBA i otprilike jedan ekvivalent krutog NaHCO<sub>3</sub> (unosi 6 – 8 te 12), što je u skladu s mehanizmom preko navedenog kompleksa. Budući su u reakcijama bez NaHCO<sub>3</sub> dobivena slabija iskorištenja (unosi 3, 4 i 10) njegov dodatak pokazao se ključnim za ishod reakcije sukladno mehanizmu.

Upotreba manjeg broja ekvivalenata *m*-CPBA (unos 1, 2 i 11) također dovodi do slabijih iskorištenja, iako se ne može isključiti utjecaj elektronske prirode supstituenata. Faktor koji utječe na ishod reakcija je i količina otapala, budući da koncentracija *m*-CPBA utječe na kinetiku reakcije.<sup>142</sup> Uz to, 3-klorbenzojeva kiselina koja nastaje u reakciji netopiva je u diklormetanu te taloži, što je pri većim koncentracijama onemogućavalo dobro miješanje reakcijske smjese. Dodatno, ispitana je i upotreba H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kao oksidansa uz različite uvjete reakcije, Et<sub>3</sub>N ili NaOH kao bazu, ekvivalente baze tj. oksidansa, no nije dala pozitivne rezultate.

#### 4.1.2. Sinteza 2,2-disupstituiranih propargil-epoksida

Za sintezu 2,2-disupstituiranih propargil-epoksida primijenjeni su pristupi adicije organometalnih reagensa na halogenmetil-ketone i ciklizacije nastalih halogenhidrina reakcijom Williamsonovog tipa. Kod spojeva s terminalnom trostrukom vezom (**6h-j**) korištena je cinkat(II) kompleksom katalizirana Grignardova reakcija, budući da su klasičnom reakcijom dobivena slabija iskorištenja. Razmjer sporednih reakcija uslijed izražene enolizabilnosti korištenih halogenketona te slabije nukleofilnosti i jake bazičnosti Grignardovog reagensa značajno je umanjen dodatkom aditiva LiCl, ZnCl<sub>2</sub> i TMSCH<sub>2</sub>MgCl. Nadalje, prilikom sinteze 2,2-disupstituiranih propargil-epoksida s internom trostrukom vezom (**6k-l**) slijed Sonogashirine reakcije u svrhu uvođenja dvostruke veze na terminalni alkin i njene epoksidacije nije dao željeni rezultat, stoga je primijenjen pristup adicije litijevog acetilida na halogenmetil-ketone.

Prvi korak u sintezi 2,2-disupstituiranih spojeva s terminalnom trostrukom vezom (**6h-j**), prikazanoj na shemi 54, bila je sinteza brommetil-ketona **8a-c**. Reakcijom alifatskih metil-ketona s bromom u metanolu pripremljeni su odgovarajući bromirani acetali. Po nestanku boje broma nastali acetali hidrolizirani su dodatkom 96 %-tne H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

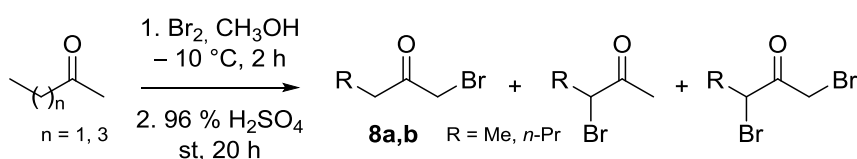


**Shema 54.** Optimizirani slijed sinteze 2,2-disupstituiranih propargil-epoksida s terminalnom trostrukom vezom **6h-j**.

Dobivene sirove smjese sadržavale su 1-brom, 3-brom i 1,3-dibromketon kao glavne produkte, u sastavu 65 : 33 : 2 odnosno 72 : 26 : 2 za spoj **8a** tj. **8b**. Smjese su pročišćavane kromatografijom, destilacijom pri sniženom tlaku ili kombinacijom dviju metoda (tablica 7). Zbog sličnih  $R_f$  vrijednosti produkte nije bilo moguće odvojiti kromatografijom. Destilacijom pri sniženom tlaku dobiveni su brommetil-keton **8a** čistoće oko 90 % prema NMR, u iskorištenju od 25 %, odnosno **8b** čistoće oko 80 % prema NMR, u iskorištenju od 40 %. Zbog sličnih vrelišta produkte nije bilo moguće dalje odvojiti.

Kiselinom katalizirano halogeniranje ketona može se odvijati preko odgovarajućeg enola ili enol-etera ovisno o otapalu.<sup>143</sup> Budući da uslijed steričkih interakcija navedeni enol odnosno enol-eter nastaje kao Zajcevljev tj. Hofmannov produkt,<sup>144,145</sup> izbor otapala (te dodatak broma u brzom i kontinuiranom mlazu) određuje regio- i stereoselektivnost procesa.<sup>146–148</sup> Reakcije u prisustvu protičnih organskih otapala kao što je metanol odvijaju se preferencijalno preko enol-etera, dakle nukleofilni napad odvija se s manje sterički ometanog položaja te selektivno nastaju manje supstituirani brommetil-ketoni.<sup>144–146</sup>

**Tablica 7.** Sinteza spojeva **8a** i **8b** selektivnim bromiranjem ketona u metanolu.

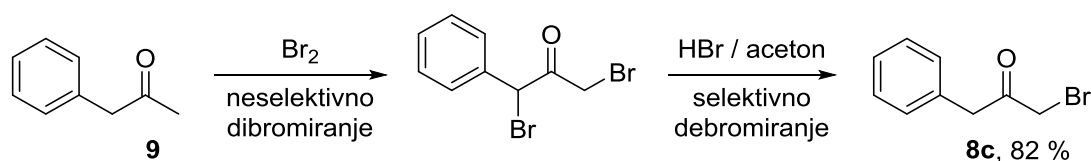


| Unos | spoj      | R-metil-keton | $H_2SO_4$ (ekv.) | $t / h$ | 1-Br : 3-Br : 1,3-Br | $\eta$ <b>8</b> / % |             |
|------|-----------|---------------|------------------|---------|----------------------|---------------------|-------------|
|      |           |               |                  |         |                      | kromatografija      | destilacija |
| 1    | <b>8a</b> | Et            | 5                | 2 + 65  | 91 : 7 : 2           | 50                  | 25          |
| 2    |           |               | 3,3              | 2 + 18  | 63 : 33 : 2          | 36                  | -           |
| 3    | <b>8b</b> | Bu            | 4,4              | 2 + 16  | 82 : 13 : 2          | -                   | 40          |

Sinteza aromatom supstituiranog ketona **8c** započela je Friedel-Craftsovim alkiliranjem benzena s kloracetonom uz  $AlCl_3$  kao Lewisovom kiselinom.<sup>149</sup> Načinjene su modifikacije ovog postupka u odnosu na izvorni propis: ekstrakcija s  $CH_2Cl_2$  umjesto benzenom te uparavanje otapala i pročišćavanje kromatografijom umjesto niza destilacija i pretvorbe u bisulfitni adukt, čime je dobiven fenilaceton **9** u gotovo dvostruko boljem iskorištenju od 57 % (u odnosu na izvornih 32 %).

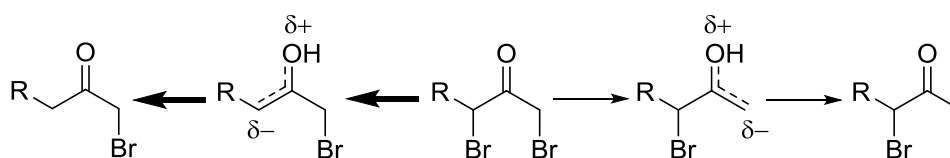
Spoj **8c** zatim je sintetiziran iz spoja **9** koristeći pristup neselektivnog  $\alpha, \alpha'$ -dibromiranja reakcijom s bromom te selektivnog debromiranja pomoću HBr uz aceton kao „sakupljač“ broma u iskorištenju od 82 % (shema 55).<sup>131</sup> Neselektivno  $\alpha, \alpha'$ -dibromiranje postignuto je

sporim dokapavanjem otopine broma u ledenoj octenoj kiselini u otopinu ketona i HBr u octenoj kiselini.



**Shema 55.** Sinteza spoja **6c** pristupom neselektivnog dibromiranja te selektivnog debromiranja.<sup>131</sup>

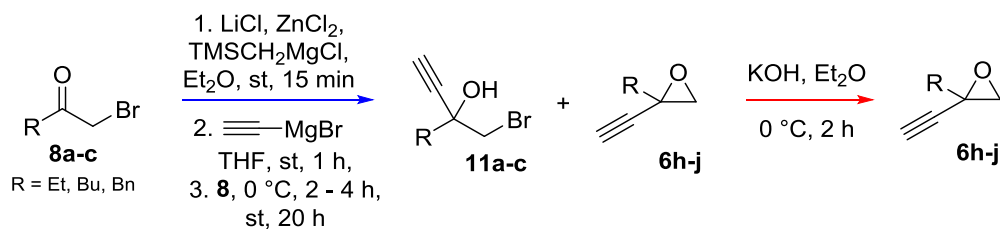
Selektivnost koraka debromiranja temelji se na većoj reaktivnosti više supstituiranog benzilnog položaja. Nukleofilni napad prisutnih bromidnih iona stoga se odvija pretežno na tom položaju, budući da nastaje stabilniji, više supstituirani te konjugirani enol, koji tautomerizira u manje supstituirani brommetil-ke-ton. Nastali brom uklanja se iz smjese reakcijom s acetonom što omogućuje ireverzibilno debromiranje (shema 56).<sup>131,150</sup> Pojednostavljenim načinom pročišćavanja u odnosu na izvorni propis<sup>131</sup> (uparavanje uz toluen umjesto 10-satnog uparavanja, kromatografija na stupcu bez prethodne filtracije preko silikagela) uz iste uvjete reakcije postignuto je povećanje iskorištenja. Dodatno povećanje iskorištenja postignuto je upotrebom koncentrirane otopine HBr u octenoj kiselini umjesto u vodi (82 – 84 %).



**Shema 56.** Ireverzibilno debromiranje uz „sakupljač“ broma.<sup>131</sup>

Konačni spojevi **6h-j** zatim su sintetizirani iz dobivenih brommetil-ke-tona **8a-c** kroz slijed Grignardove reakcije te ciklizacije Williamsonovog tipa (tablica 8). Prvo je provedena klasična Grignardova reakcija ketona **8a-c** s etinilmagnezijevim bromidom, no na ovaj način dobivena su slabija iskorištenja, posebno za spoj **6j**. Reakcija je zatim provedena uz katalitički cinkat(II) kompleks kako bi se umanjio razmjer sporednih reakcija.

Navedena Grignardova reakcija komercijalnog ketona **8a** odnosno prethodno dobivenih ketona **8b** i **8c** s etinilmagnezijevim bromidom, provedena uz dodatak LiCl i katalitičku količinu ZnCl<sub>2</sub> i TMSCH<sub>2</sub>MgCl bila je centralni korak ovog sintetskog slijeda. U ovakvom sustavu, litijev klorid razlaže polimerne agregate Grignardovog reagensa i prevodi ga u [RMgX][LiCl], čineći ga reaktivnijim.<sup>151</sup>

**Tablica 8.** Optimizacija sinteze epoksida **6h-j** iz brommetil-ketona **8a-c**.

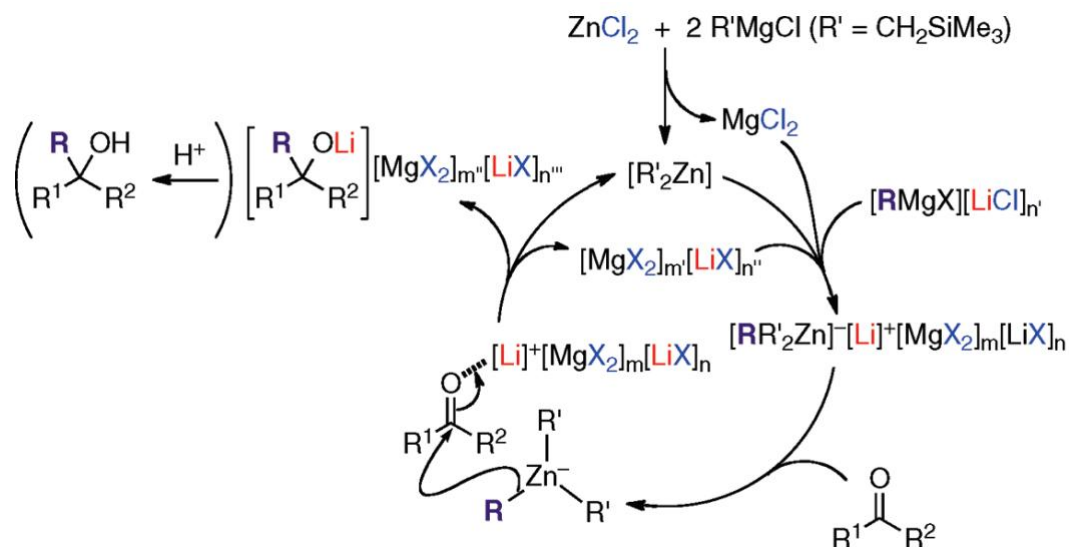
| Unos                 | <b>8</b>  | <b>6</b>  | R  | ekvivalenti            |                    |            |        | η / % |                         |                       |                  |
|----------------------|-----------|-----------|----|------------------------|--------------------|------------|--------|-------|-------------------------|-----------------------|------------------|
|                      |           |           |    | HC≡CMgBr               | baza               |            | aditiv |       | <b>11</b>               | <b>6</b>              | uk. <sup>a</sup> |
| 1                    |           |           |    | 1                      | NaH                | 1,1        | NaI    | 0,6   | sp                      | 7 <sup>a</sup>        | 7                |
| 2                    |           |           |    | 1,2                    | NaH                | 1,7        | NaI    | 0,1   | sp                      | 8 <sup>a</sup>        | 8                |
| 3                    | <b>8a</b> | <b>6h</b> | Et | 1,2                    | KO <sup>t</sup> Bu | 1,5        | KI     | 0,1   | sp                      | 36 <sup>a</sup>       | 36               |
| 4                    |           |           |    | 1,2                    | KO <sup>t</sup> Bu | 1,5        | KI     | 0,1   | 32                      | 55                    | 18               |
| <b>5<sup>b</sup></b> |           |           |    | <b>1,1<sup>c</sup></b> | <b>KOH</b>         | <b>2,2</b> | -      | -     | <b>sp</b>               | <b>46<sup>a</sup></b> | <b>46</b>        |
| 6                    |           |           |    | 1,05                   | KO <sup>t</sup> Bu | 2          | -      | -     | sp                      | 88                    | 51               |
| <b>7</b>             | <b>8b</b> | <b>6i</b> | Bu | <b>1,1<sup>c</sup></b> | <b>KOH</b>         | <b>2</b>   | -      | -     | <b>sp</b>               | <b>58<sup>a</sup></b> | <b>58</b>        |
| 8                    |           |           |    | 1,1                    | KO <sup>t</sup> Bu | 2          | KI     | 0,1   | sp                      | 2,5 <sup>a</sup>      | 2,5              |
| 9                    |           |           |    | 1,1                    | KOH                | 2,5        | KI     | 0,1   | 27                      | 57                    | 15               |
| 10                   | <b>8c</b> | <b>6j</b> | Bn | 1,1 <sup>c</sup>       | KOH                | 2,5        | -      | -     | 32 (+ 17 <sup>d</sup> ) | 87                    | 45               |
| <b>11</b>            |           |           |    | <b>1,1<sup>c</sup></b> | <b>KOH</b>         | <b>2,5</b> | -      | -     | <b>sp</b>               | <b>50<sup>a</sup></b> | <b>50</b>        |

<sup>a</sup> iskorištenje preko dva koraka; <sup>b</sup> komercijalni **6a**; <sup>c</sup> uz ZnCl<sub>2</sub> (0,1 ekv.), TMSCH<sub>2</sub>MgCl (0,2 ekv.) i LiCl (1,1 ekv.); <sup>d</sup> spoj **6**; sp – sirovi produkt korišten u sljedećem koraku

Reakcijom ZnCl<sub>2</sub> i TMSCH<sub>2</sub>MgCl nastaje dialkilcink(II) vrsta, iz koje je dodatkom Grignardovog reagensa *in situ* pripremljen katalitički litijev organocinkat(II) kompleks. Njegov kationski dio, [Li]<sup>+</sup>[MgX<sub>2</sub>][LiX], bolja je Lewisova kiselina, što dovodi do jače aktivacije karbonilne skupine, dok je anionski dio, [RZn(CH<sub>2</sub>TMS)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, jači nukleofil u odnosu na polazni Grignardov reagens (shema 57). Zajednički učinak dviju vrsta pospješuje nukleofilni napad na karbonilnu skupinu te značajno umanjuje razmjer sporednih reakcija uslijed slabije nukleofilnosti, odnosno jake bazičnosti Grignardovih reagensa: redukcije prijenosom β-hidrida te enolizacije i aldolne kondenzacije.<sup>152-155</sup> Ovo je bitno budući da su korišteni bromketoni lako enolizabilni, posebno na vrlo reaktivnom benzilnom položaju u susjedstvu karbonilne skupine u slučaju epoksida **6j** (pK<sub>a</sub> fenilacetona u DMSO iznosi 19,8,<sup>156</sup> u odnosu na pK<sub>a</sub> acetona koji iznosi 26,5<sup>157</sup>). Drugi važan faktor slabija je nukleofilnost acetilenskog *sp*-hibridiziranog ugljika u odnosu na one drugih hibridizacija.<sup>158</sup>

Reakcijom ketona **8** s opisanim etinilcinkat(II) kompleksom dobivena je smjesa tercijarnog propargil-bromhidrina **11** i odgovarajućeg epoksida **6**, nastalog ciklizacijom uslijed prisutnosti litijevog kationskog kompleksa.





**Shema 57.** Katalitički ciklus Grignardove reakcije uz cinkat(II) kompleks.<sup>152</sup>

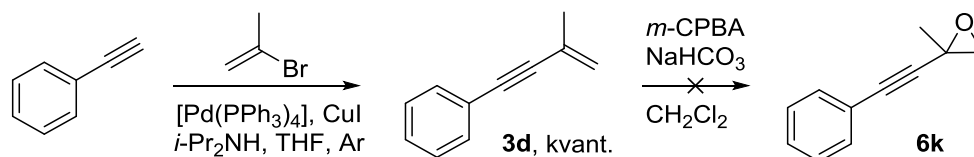
Tretiranjem sirove smjese s KOH nastali bromhidrini ciklizirani su u reakciji Williamsonovog tipa čime su dobiveni 2,2-disupstituirani propargil-epoksidi **6h**, **6i** te **6j** u iskorištenjima od 46 %, 58 %, odnosno 50 %. Iako su reakcije 1,4-adicije feniletinilmagnezijevog bromida na polinezasićene estere pomoću slične metode poznate u literaturi,<sup>159</sup> cinkat(II) kompleksom katalizirana Grignardova reakcija nesupstituiranog etinilmagnezijevog bromida s halogenketonima, pri čemu nastaju propargil-halogenhidrini i odgovarajući epoksidi, do sada nije prijavljena.

Optimizacija uvjeta sinteze spojeva **6h-j** iz bromketona **8a-c** prikazana je u tablici 8. Sukladno prethodnom tekstu, provedbom reakcija uz katalitički cinkat(II) kompleks (unos 5, 7, 10 i 11) dobiveno je poboljšanje iskorištenja u odnosu na optimizirane uvjete nekatalizirane reakcije (unos 3, 6 i 9). Dodatno povećanje postignuto je ukoliko se korak ciklizacije provodi bez prethodne izolacije halogenhidrina iz reakcijske smjese. Nadalje, uočeno je da baza ima bitan utjecaj na ishod reakcije. Ispitane su baze KOH, NaH i KOtBu, pri čemu se KOH pokazao kao optimalna baza za ciklizaciju kod sva tri supstrata, vjerojatno zbog  $pK_a$  vrijednosti čime su minimizirane moguće sporedne reakcije. Uz to, ispitan je dodatak jodida kao aditiva u Williamsonovoj reakciji. Njegova uloga je zamjena halogena u alkoholu atomom joda kao boljom izlaznom skupinom, čime se olakšava nukleofilni napad alkoksida, međutim poboljšanje nije uočeno.

Dodatno, spoj **6h** je jako hlapiv i ima nisko vrelište, što je otežavalo izolaciju. Kako bi se gubitci produkta umanjili, reakcije su provedene u Et<sub>2</sub>O i THF te je tijekom izolacije produkt koncentriran pri sniženom tlaku (400 mbar) u hladnoj kupelji ili destiliran iz reakcijske smjese

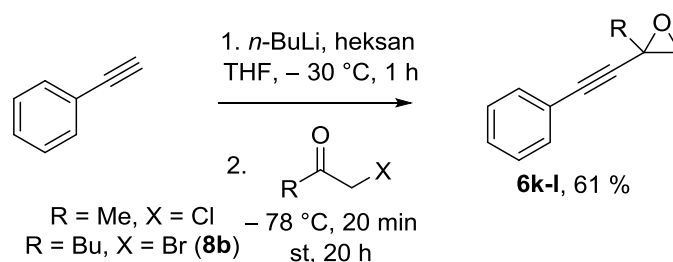
i dobiven kao otopina u smjesi THF i Et<sub>2</sub>O. Dalje je pokušano pročišćavanje kromatografijom u smjesi Et<sub>2</sub>O : pentan uz koncentriranje pri sniženom tlaku u hladnoj kupelji, pri čemu je dobiveni produkt sadržavao 20 % smjese Et<sub>2</sub>O/pentan prema NMR. Od daljnjeg pročišćavanja se odustalo i spoj je kao takav korišten u reakcijama biokatalize.

Kod disupstituiranih spojeva s internom trostrukom vezom prvo je pokušana sinteza slijedom Sonogashirine reakcije i epoksidacije s *m*-CPBA na primjeru spoja **6k** (shema 58). Reakcijom fenilacetilena i 2-brompropena uz katalizatore [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] i bazu diizopropil-amin pri temperaturi od 55 °C dobiven je spoj **3d** u kvantitativnom iskorištenju. Za razliku od reakcija s vinil-bromidom, Sonogashirinu reakciju s 2-brompropenom bilo je potrebno provesti uz zagrijavanje, u protivnom prevladava reakcija dimerizacije alkina, pretpostavljeno zbog manje elektrofilnosti tercijarnog ugljika 2-brompropena u odnosu na sekundarni ugljik vinil-bromida. Kako bi se sintetizirao konačni produkt provedene su reakcije spoja **3d** s *m*-CPBA uz NaHCO<sub>3</sub>, koje nisu dale željeni rezultat. Dobivene su smjese u čijim su <sup>1</sup>H NMR spektrima uočeni kompleksni signali koji ukazuju na produkte pregradnje. Među ostalim, uočeni su signali koji odgovaraju pregradnji epoksida u odgovarajući aldehid. Analogni proces kiselinom katalizirane pregradnje aromatskih epoksida u aldehide poznat je u literaturi.<sup>142</sup>



**Shema 58.** Pokušaj sinteze epoksida **6k**.

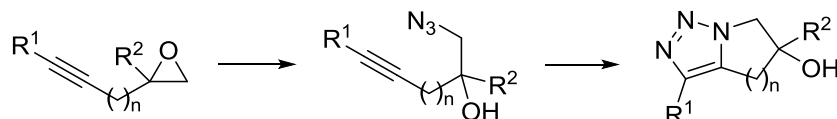
Zatim je promijenjen pristup te su spojevi **6k-l** sintetizirani reakcijom kloracetona odnosno 1-brom-2-butanona (**8b**) s litijevim fenilacetilidom, generiranim *in situ* reakcijom fenilacetilena s *n*-butillitijem. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu dobiveni su epoksidi **6k** odnosno **6l**, u iskorištenjima od 61 % (shema 59).



**Shema 59.** Sinteza 2,2-disupstituiranih propagil-epoksida s internom trostrukom vezom **6k-l**.

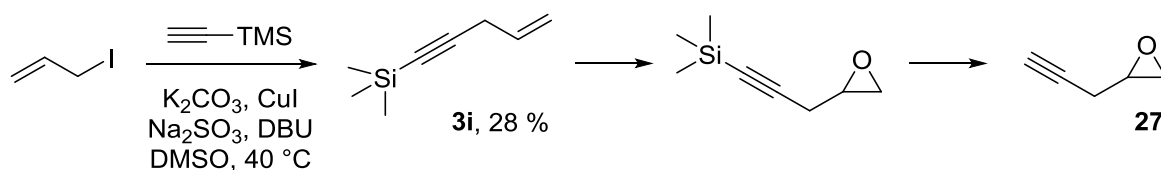
## 4.1.3. Sinteza homopropargil-epoksida i halogeniranih propargil-epoksida

U svrhu sinteze biciklo triazola iz odgovarajućih azidoalkohola intramolekulskom *click*-reakcijom (shema 60), provedene su reakcije u smjeru sinteze homopropargil-epoksida.



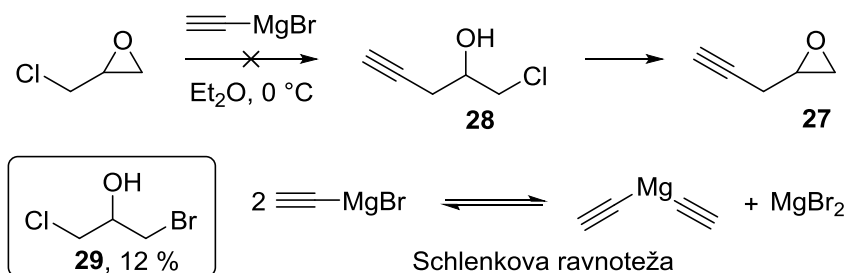
**Shema 60.** Plan sinteze biciklo triazola iz homopropargil-epoksida.

Ispitana je sinteza homopropargil-epoksida **27** polazeći od alil-halogenida (shema 61). Reakcijom alil-halogenida s TMS-acetilenom uz CuI kao katalizator, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i DBU kao baze te Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> kao aditiv sintetiziran je spoj **3i** u iskorištenju od 28 %. Ispitani su različiti uvjeti, upotreba alil-bromida umjesto jodida te zagrijavanje na 30 umjesto 40 °C, no dobiveni su lošiji rezultati (iskorištenja 5 – 18 %). Zbog slabih iskorištenja planirana sinteza nije dalje provedena, no uključivala bi epoksidaciju dvostruke veze te uklanjanje sililne zaštitne skupine.



**Shema 61.** Pokušaj sinteze homopropargil-epoksida **27** iz alil-halogenida.

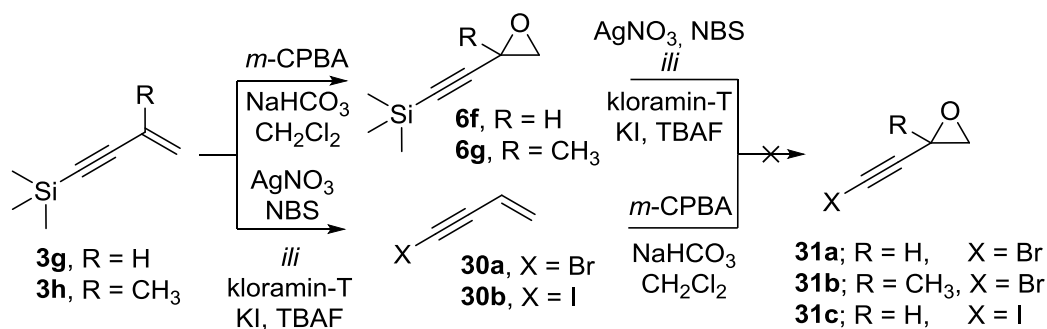
Potom je ispitan pristup otvaranja epoksidnog prstena epiklorhidrina etinilmagnezijevim bromidom kako bi se dobio odgovarajući homopropargil-klorhidrin **28**, koji bi se ciklizacijom Williamsonovog tipa preveo u homopropargil-epoksid **27**. No, uslijed prethodno spomenute slabije nukleofilnosti acetilenskog Grignardovog reagensa u odnosu na npr. propargilne analoge te halogenidne ione nastale Schlenkovom ravnotežom,<sup>158</sup> umjesto spoja **28** izoliran je 1-brom-3-klor-propan-2-ol **29** u iskorištenju od 12 % (shema 62).



**Shema 62.** Pokušaj sinteze homopropargil-epoksida **27** reakcijom epiklorhidrina s etinilmagnezijevim bromidom pri čemu nastaje spoj **29** uslijed Schlenkove ravnoteže.

Provedena su preliminarna istraživanja sinteze halogeniranih propargil-epoksida, budući da bi prisutnost halogena proširila mogućnosti daljnje modifikacije, kao što su priprema halogeniranih heterocikličkih spojeva i reakcije ugljik-ugljik unakrsnog povezivanja. Također, omogućila bi provedbu reakcija dinamičke kinetičke rezolucije, čineći ove derivate potencijalno vrlo zanimljivim građevnim blokovima.

Prvi korak u sintetskom slijedu prema halogenpropargil-epoksidima **31**, prikazanom na shemi 63, bila je sinteza TMS-zaštićenih enina **3g** i **3h**. Enini su sintetizirani Sonogashirinom reakcijom TMS-acetilena i odgovarajućeg alkenil-halogenida. Reakcije su provedene u inertnim uvjetima uz  $[Pd(PPh_3)_4]$  i CuI kao katalizatore te  $Et_3N$  odnosno  $i-Pr_2NH$  kao bazu. Pročišćavanjem spoja **3g** se pokazalo da reakcije idu uz kvantitativno iskorištenje i da se spojevi **3g** tj. **3h** mogu koristiti u slijedećem koraku sinteze bez pročišćavanja.



**Shema 63.** Pokušaj sinteze halogenpropargil-epoksida **31**

Sintetizirani TMS-zaštićeni enini zatim su korišteni u dva reakcijska puta kako bi se dobili konačni produkti: epoksidacijom do spojeva **6f** tj. **6g** i zamjenom TMS skupine halogenom, ili obrnutim slijedom preko halogen-enina **30**. U prvom nizu reakcija, enini **3g** i **3h** podvrgnuti su reakcijama epoksidacije s  $m$ -CPBA. Pokazalo se da je dodatak  $NaHCO_3$  ključan za ishod reakcije. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu dobiveni su TMS-zaštićeni propargil-epoksidi **6f** tj. **6g** u iskorištenjima od 44 % odnosno 21 %.

Sintetizirani epoksidi **6f** i **6g** zatim su podvrgnuti reakcijama zamjene TMS skupine halogenom kako bi se dobili konačni halogenpropargil-epoksidi. U tu svrhu, provedene su reakcije spojeva **6f** tj. **6g** s NBS i  $AgNO_3$ . Dobivene smjese pročišćene su kromatografijom na stupcu silikagela.

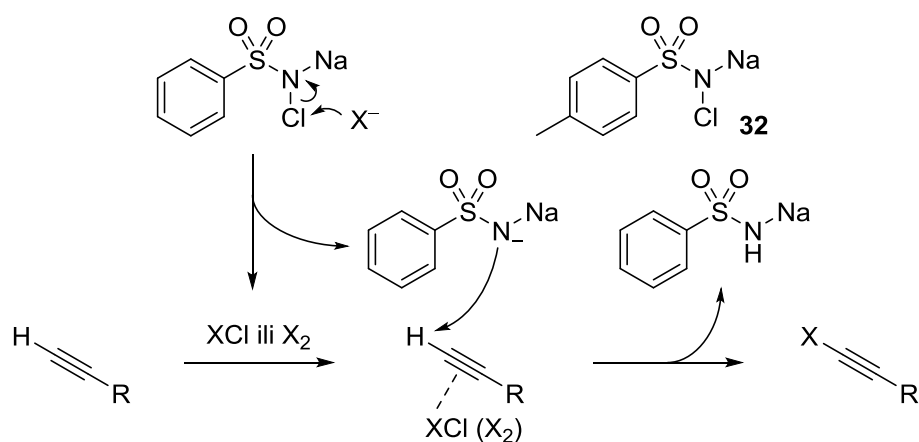
U slučaju spoja **6f** dobivena je kompleksna smjesa u čijem je  $^1H$  NMR spektru uočeno smanjenje signala TMS skupine te odsjajanje signala epoksidnih protona, što bi odgovaralo nastanku spoja **31a**, no smjesu nije bilo moguće dalje pročistiti. U slučaju spoja **6g** dobivena

je kompleksna reakcijska smjesa u kojoj spoj **31b** nije detektiran. Dodatno, provedena je reakcija spoja **6f** s TBAF, kloraminom-T<sup>160</sup> i KI, no dobiven je isti rezultat za ciljani **31c**.

Drugi niz reakcija započeo je sintezom halogen-enina **30**. Provedena je reakcija spoja **3g** s NBS i AgNO<sub>3</sub>. Dobivena je kompleksna smjesa u čijem je <sup>1</sup>H NMR spektru uočen izostanak signala TMS skupine te odsjajenje signala vinilne skupine, što bi odgovaralo nastanku spoja **30a**, no koju nije bilo moguće pročistiti te reakcijski slijed nije nastavljen.

Također, provedena je reakcija spoja **3g** s TBAF, KI i kloraminom-T. U <sup>1</sup>H NMR spektru sirove reakcijske smjese uočen je izostanak signala TMS skupine te odsjajenje signala vinilne skupine, što je u skladu s nastankom spoja **30b**. Nakon kromatografije uz prethodno navedene uočeni su i dodatni novi signali u <sup>1</sup>H NMR spektru, odsjajeniji i manjeg intenziteta, što je pripisano nepoznatom derivatu spoja **30b**, no dobivenu smjesu nije bilo moguće dalje odvojiti te je kao takva korištena u slijedećem koraku. Reakcijom navedene smjese s *m*-CPBA uz NaHCO<sub>3</sub> dobivena je kompleksna reakcijska smjesa u čijem je <sup>1</sup>H NMR spektru uočen izostanak signala vinilne skupine te pojava signala koji bi odgovarali epoksidnim protonima, što bi odgovaralo nastanku spoja **31c**, no kojeg nije bilo moguće izolirati.

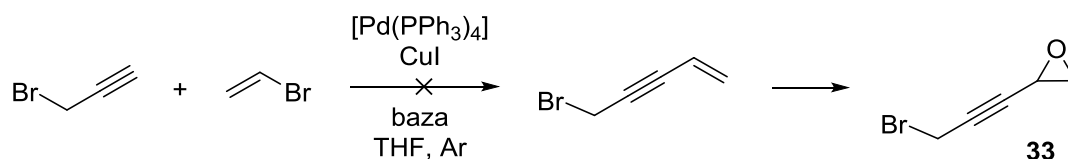
Reakcijom terminalnih ili sililom zaštićenih acetilena s AgNO<sub>3</sub> nastaju odgovarajući acetilidi srebra, koji homolitičkim cijepanjem i daljnjom radikalskom reakcijom s bromom iz NBS daju halogenalkine.<sup>161</sup> Reakcijom kloramina-T (**32**) i halogenidnog aniona generira se *in situ* reaktivna vrsta XCl. Nastali tosilsulfonamidni anion tada deprotonira terminalni alkin, iz kojeg zatim napadom na XCl nastaje halogenalkin. Proces s analognim reagensom, kloraminom-B, prikazan je na shemi 64.



**Shema 64.** Supstitucija acetilenskog protona halogenom djelovanjem kloramina-B, analoga kloramina-T (**32**).<sup>161</sup>

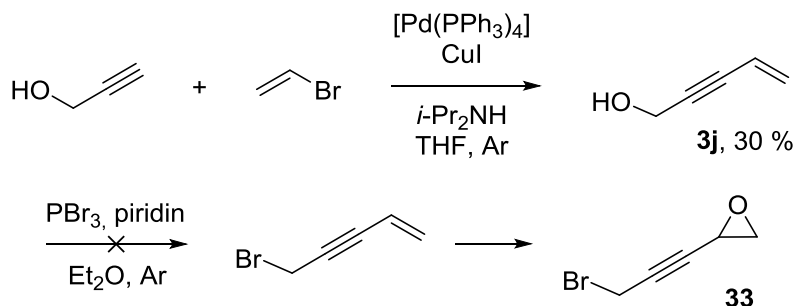
Ova reakcija poznata je u literaturi, no ograničena je na nezaštićene terminalne alkine.<sup>162</sup> Analogne reakcije pokušane su na TMS-zaštićenim eninima i epoksidima uz *in situ* uklanjanje sililne skupine dodatkom tetrabutilamonijevog fluorida čime nastaju reaktivni acetilidni anioni. No, 4-halogenbut-3-en-1-ini vrlo su reaktivni spojevi koji u prisustvu elementarnog kisika tvore eksplozivne polimere,<sup>163,164</sup> dok su (but-3-en-1-in-1-il)silani podložni anionskoj<sup>165</sup> te radikalskoj polimerizaciji,<sup>166,167</sup> stoga bi slični procesi tijekom reakcija zbog nastanka sličnih reaktivnih vrsta mogli objasniti dobivene rezultate.

Nadalje, provedene su reakcije u smjeru sinteze 2-(3-bromprop-1-in-1-il)oksirana **33**. Prvi sintetski slijed pratio je pristup Sonogashirine reakcije i epoksidacije polazeći iz propargil-bromida (shema 65). Sonogashirina reakcija s propargil-bromidom provedena je u prethodno navedenim uvjetima, no nije dobiven odgovarajući enin. Unatoč upotrebi dviju različitih ne-nukleofilnih baza, diizopropil-amina te diizpropiletilamina, dobiveni su produkti nukleofilne supstitucije alkil-halogenida.



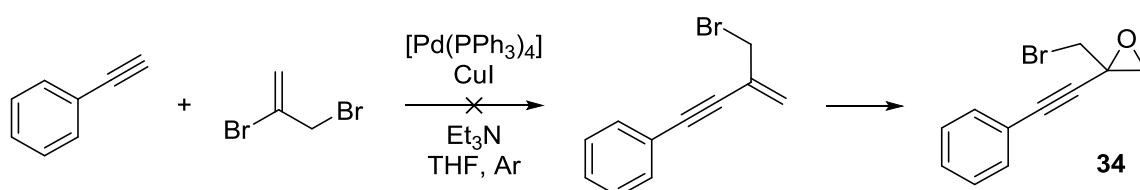
**Shema 65.** Pokušaj sinteze epoksida **33** iz propargil-bromida.

Drugi sintetski slijed, prikazan na shemi 66, započeo je sintezom alkohola **3j** Sonogashirinom reakcijom propargil-alkohola s vinil-bromidom. Reakcija je provedena u prethodno navedenim uvjetima te je dobiven spoj **3j** u iskorištenju od 30 %. Sintetizirani alkohol zatim je podvrgnut reakciji supstitucije hidroksida halogenidom s  $PBr_3$  kao reagensom uz piridin kao bazu. S obzirom da je izolirano 57 % polaznog alkohola te bromid nije detektiran, posljednji korak sinteze, epoksidacija s *m*-CPBA, nije proveden.



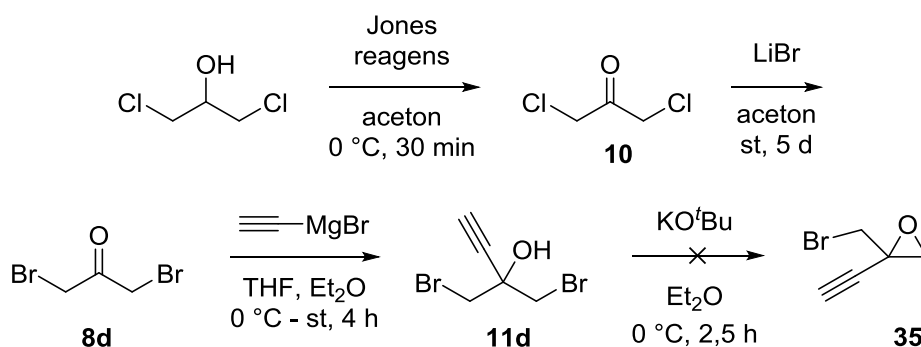
**Shema 66.** Pokušaj sinteze epoksida **33** iz propargil-alkohola.

U svrhu ispitivanja reakcija DKR propargil-epoksida, provedena su ispitivanja sinteze brommetil derivata propargil-epoksida. Prvo je ispitana sinteza 2-brommetil-2-(feniletinil)oksirana (**34**) Sonogashirinom reakcijom fenilacetilena i 2,3-dibrompropena (shema 67). Reakcija je provedena uz bazu trietilamin pri sobnoj temperaturi, no umjesto odgovarajućeg enina dobiveni su produkt dimerizacije alkina i alkilni derivati trietilamina nastali supstitucijskom reakcijom amina i alkil-halogenida te stoga korak epoksidacije nije proveden.



**Shema 67.** Pokušaj sinteze halogenmetil epoksida **34**

Zatim je provedeno preliminarno ispitivanje sinteze 2-brommetil-2-etiniloksirana (**35**) slijedom prikazanim na shemi 68. Sinteza je započela oksidacijom 1,3-diklorpropan-2-ola upotrebom Jonesovog reagensa. Reakcija je provedena u acetonu uz hlađenje i dokapavanje reagensa do zadržavanja crveno smeđe boje koja ukazuje na suvišak oksidansa i završetak reakcije. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela dobiven je odgovarajući keton **10** u iskorištenju od 44 %. Diklorketon zatim je podvrgnut reakciji s LiBr u acetonu. Filtracijom smjese po završetku reakcije i uparavanjem otapala dobiven je dibromketon **8d** u iskorištenju od 84 %. Spoj **8d** preveden je u odgovarajući propargil-halogenhidrin reakcijom s etinilmagnezijevim bromidom. Po završetku reakcije smjesa je obrađena ekstrakcijom u blago kiselim uvjetima, uz zasićenu otopinu NH<sub>4</sub>Cl. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu dobiven je spoj **11d** u smjesi s polaznim alkoholom zaostalim kroz cijeli reakcijski slijed, čistoće oko 80 % prema NMR, u iskorištenju od 27 %.



**Shema 68.** Pokušaj sinteze 2-brommetil-2-etiniloksirana **35**

Smjesu nije bilo moguće dalje pročitati te je kao takva korištena u reakciji Williamsonovog tipa s KO<sup>t</sup>Bu kao bazom, no konačni epoksid nije dobiven.

#### 4.1.4. Sinteza racemičnih azidoalkohola

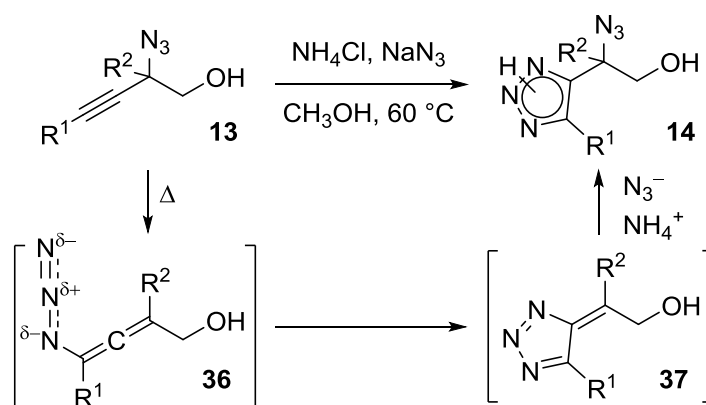
U svrhu praćenja enzimskih reakcija sintetizirani su odgovarajući racemični azidoalkoholi **10a-j** i **11a-f**, koji su korišteni kao standardi za analizu GC-om i HPLC-om. Racemični azidoalkoholi sintetizirani su reakcijom epoksida **6a-e,h-l** s NaN<sub>3</sub> i NH<sub>4</sub>Cl (tablica 9). Reakcija je provedena uz reflux u metanolu. Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu silikagela dobiveni su β-azidoalkoholi **12a-j** te α-azidoalkoholi **13a-f** u iskorištenjima od 5 – 94 % tj. 9 – 52 %. Produktima su određene metode analize GC-om i/ili HPLC-om te odgovarajuća retencijska vremena (tablica D1). U reakcijama monosupstituiranih epoksida **6a-e** izolirani su pretežno α-azidoalkoholi **11a-e**, dakle nukleofilni napad se odvija na više supstituiranom ugljiku, što se može pripisati većem utjecaju stabilizacije parcijalnih naboja prijelaznog stanja induktivnim efektom te efektom delokalizacije u konjugirani sustav. S druge strane, u reakcijama disupstituiranih epoksida **6h-l** izolirani su gotovo isključivo β-azidoalkoholi, osim u slučaju epoksida **6k** gdje su izolirana oba iako pretežno β-azidoalkohol, dakle napad se odvija na manje supstituiranom ugljiku uslijed većeg utjecaja steričkog efekta supstituenata koji ometaju napad na tercijarni ugljikov atom.

**Tablica 9.** Sinteza racemičnih propargilnih azidoalkohola.

| <b>6</b>       | <b>a</b>      | <b>b</b>      | <b>c</b> | <b>d</b> | <b>e</b>     | <b>h</b> | <b>i</b> | <b>j</b> | <b>k</b> | <b>l</b> |
|----------------|---------------|---------------|----------|----------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| R <sup>1</sup> | <i>p</i> -Tol | <i>m</i> -Tol | Ph       | Cp       | <i>t</i> -Bu | H        | H        | H        | Ph       | Ph       |
| R <sup>2</sup> | H             | H             | H        | H        | H            | Et       | Bu       | Bn       | Me       | Bu       |
| <b>12</b>      | <b>a</b>      | <b>b</b>      | <b>c</b> | <b>d</b> | <b>e</b>     | <b>f</b> | <b>g</b> | <b>h</b> | <b>i</b> | <b>j</b> |
| η / %          | 11            | 24            | 19       | 13       | 5            | 94       | 31       | 68       | 59       | 37       |
| <b>13</b>      | <b>a</b>      | <b>b</b>      | <b>c</b> | <b>d</b> | <b>e</b>     | -        | -        | -        | <b>f</b> | -        |
|                | 44            | 52            | 37       | 16       | 9            | -        | -        | -        | 27       | -        |

Osim ciljanih propargil-alkohola u reakcijama azidolize opažen je nastanak nepoznatog spoja. Provođenjem reakcije epoksida **6a** u istim uvjetima no duljem vremenskom periodu od 27 sati dobivena je veća količina ovog spoja. Analizom NMR, IR i MS spektara nepoznati spoj identificiran je kao triazol **14a** (shema 69).





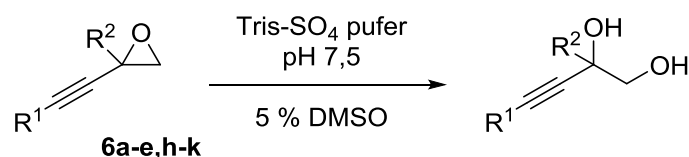
**Shema 69.** Nastanak triazola **14** iz propargilnog  $\alpha$ -azidoalkohola **13** tijekom azidolize propargil-epoksida (**6a**:  $R^1 = p$ -tolil,  $R^2 = H$ )

Nastanak triazola sličnih spoju **14** iz propargil-azida kao što je spoj **13** u ovim uvjetima poznat je u literaturi kao Banertova kaskada. Proces započinje nominalnim [1,3]-pomakom azida pri čemu nastaje produkt propargil-alenil izomerizacije **36**. Intramolekulskom cikloadicijom azida i  $\pi$ -veze alena tada nastaje triazafulven **37**, koji nukleofilnim napadom azidnog aniona prelazi u triazol **14**.<sup>168–170</sup> Do sličnih pretvorbi kroz intermolekulske reakcije, pri čemu nastaju polimerni triazoli, može doći i u čistim propargil-azidima, i njihovim otopinama, čak i pri niskim temperaturama,<sup>168</sup> stoga se propargilne azidoalkohole (pogotovo  $\alpha$ -azido) ne može skladištiti kroz duži vremenski period te je potrebno provjeriti čistoću prije upotrebe.

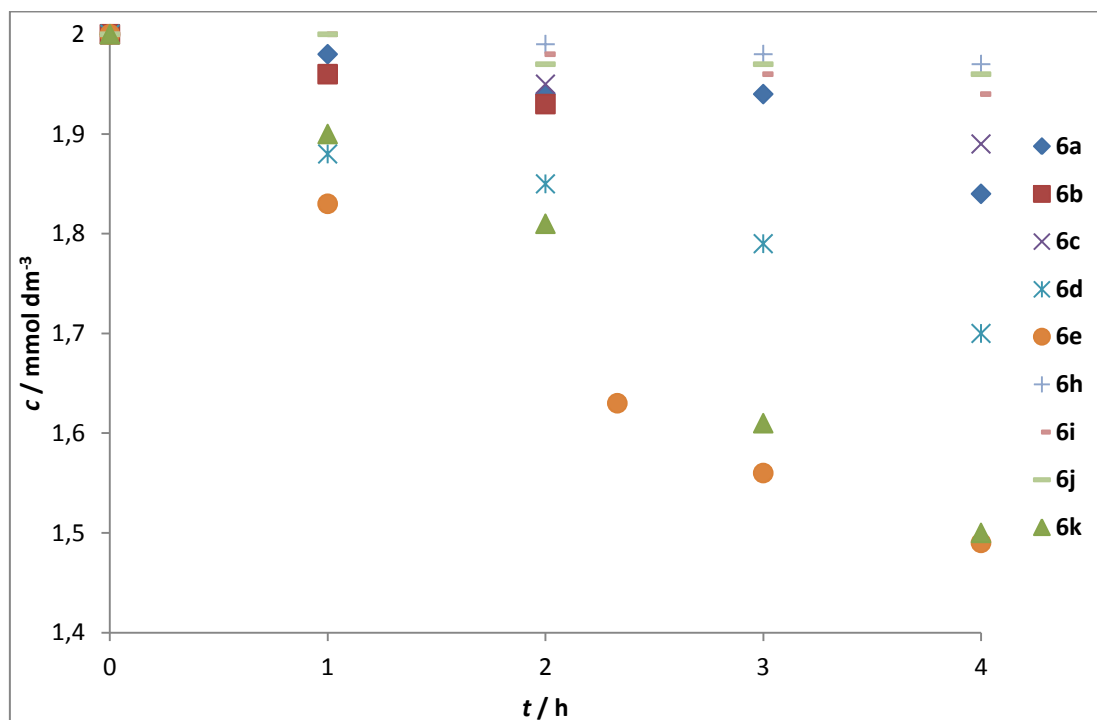
## 4.2. Enzimske reakcije

Sintetizirani propargil-epoksidi **6a-e,h-k** korišteni su u reakcijama kinetičke rezolucije kataliziranim s HHDH. U reakcijama na analitičkoj skali korišteni su enzimi HheC, HheA2-N178A, HheB te HheB2-T120A, pripremljeni prekomjernom ekspresijom u bakterijskim stanicama *E. coli*, soj MC1061, u obliku proteinskih ekstrakata, dok su kod reakcija na preparativnoj skali korištene cijele bakterijske stanice *E. coli*, soj MC1061 koje su sadržavale prekomjerno eksprimirani HheC.

S obzirom da se reakcije provode u vodenom mediju, bilo je potrebno prethodno ispitati stabilnost epoksida prema spontanoj hidrolizi (shema 70). U tu svrhu, otopine propargil-epoksida **6a-e,h-k** u DMSO dodane su u Tris-SO<sub>4</sub> pufer, u uvjetima enzimskih reakcija provedenim na analitičkoj skali (konačna množinska koncentracija iznosila je 2 mmol dm<sup>-3</sup>). Reakcije su analizirane GC-om kako bi se utvrdila promjena koncentracije epoksida kroz vrijeme (slika 7).



**Shema 70.** Hidroliza propargil epoksida **6a-e,h-k** u Tris-SO<sub>4</sub> puferu koji sadrži 5 % DMSO



**Slika 7.** Hidrolitička stabilnost propargil-epoksida **6a-e,h-k** (konačna koncentracija 2 mmol dm<sup>-3</sup>) u Tris-SO<sub>4</sub> puferu koji sadrži 5 % DMSO

2,2-disupstituirani epoksidi s terminalnom trostrukom vezom **6h**, **6i** te **6j** pokazali su se izrazito stabilnima prema hidrolizi, s utrošcima od 1,5 %, 3 % odnosno 2 % unutar 4 sata. Nadalje, aromatski propargil-epoksidi također su bili hidrolitički stabilni, s utrošcima od 8 % odnosno 5,5 % u slučaju spojeva **6a** tj. **6c**. S druge strane, alifatima monosupstituirani epoksidi **6d**, **6e** te disupstituirani epoksid s internom trostrukom vezom **6k** izrazito su podložni hidrolizi, s utrošcima od 15 %, 25,5 % tj. 25 % u istom vremenskom periodu.

#### 4.2.1. Reakcije kinetičke rezolucije na analitičkoj skali

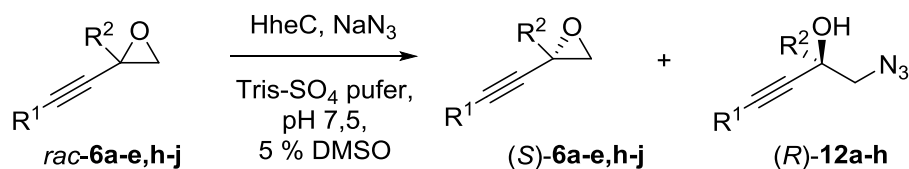
Ispitivanja kinetičke rezolucije propargil-epoksida katalizirane s HHDH započela su reakcijama na analitičkoj skali u prisustvu azidnih iona, pri konačnoj množinskoj koncentraciji epoksida od 2 mmol dm<sup>-3</sup>. Tijek reakcija praćen je GC-om te HPLC-om kroz konverziju epoksida (opažena, koja sadrži doprinose enzimskih i ne-enzimskih reakcija), optičke čistoće supstrata ( $ee_s$ ) i produkata ( $ee_p$ ), te omjer regioizomera azidoalkohola. Iz  $ee_s$  i

$ee_p$  izračunate su enzimatske konverzije prema jednadžbi 3.1. Enantioselektivnost reakcija izražena je preko  $E$ -vrijednosti, izračunatih prema jednadžbi 2.7.

Apsolutna konfiguracija dobivenih spojeva određena je GC analizom koristeći ( $R$ )-**6a** kao referentni spoj. Enantiomerno obogaćeni spoj ( $R$ )-**6a** pripremljen je metodom ( $R,R$ )-(salen)CrCl kataliziranog otvaranja epoksidnog prstena pomoću TMS-azida.<sup>82</sup> Enantiomerni višak određen GC-om iznosio je 8 %. Apsolutne konfiguracije ostalih epoksida određene su usporedbom s **6a**, a apsolutne konfiguracije azidoalkohola analogijom prema epoksidima.

Prvo su provedene reakcije otvaranja prstena propargil-epoksida **6a-e,h-j** azidnim ionima katalizirane s dvije stereokomplementarne HHDH, ( $R$ )-selektivnom HheC te ( $S$ )-selektivnom HheA2-N178A. Kinetičkom rezolucijom u prisustvu HheC, prikazanom u tablici 10, odgovarajući  $\beta$ -azidoalkoholi **12a-e** nastaju u visokom enantiomernom suvišku (98 do > 99 %), što ukazuje na visoku enantioselektivnost ( $E$ -vrijednosti > 200) i  $\beta$ -regioselektivnost enzima (96 : 4 do 99 : 1, tablica D3). Dodatno, enzim je pokazao dobru aktivnost prema spojevima **6a**, **6c** i **6i**, dosežući potpunu konverziju u 2 do 3 sata (unos 1, 3 i 7).

**Tablica 10.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida u prisustvu  $\text{NaN}_3$  katalizirana s HheC na analitičkoj skali<sup>a</sup>.



| Unos | Epoksid                | $R^1, R^2$       | $t / h$ | konverzija / % <sup>b,c</sup> | $ee / \%$ <sup>d</sup> |                    | $E^e$ |
|------|------------------------|------------------|---------|-------------------------------|------------------------|--------------------|-------|
|      |                        |                  |         |                               | ( $S$ )- <b>6</b>      | ( $R$ )- <b>12</b> |       |
| 1    | <b>6a</b>              | <i>p</i> -Tol, H | 2       | 47                            | 88                     | > 99               | > 200 |
| 2    | <b>6b</b>              | <i>m</i> -Tol, H | 3       | 23                            | 29                     | > 99               | > 200 |
| 3    | <b>6c</b>              | Ph, H            | 3       | 45                            | 80                     | 98                 | > 200 |
| 4    | <b>6d</b>              | Cp, H            | 3       | 32                            | 47                     | > 99               | > 200 |
| 5    | <b>6e</b> <sup>e</sup> | <i>t</i> -Bu, H  | 4       | 10                            | 11                     | > 99               | > 200 |
| 6    | <b>6h</b>              | H, Et            | 5       | 48                            | 86                     | 93                 | 77    |
| 7    | <b>6i</b>              | H, Bu            | 3       | 44                            | 77                     | > 99               | > 200 |
| 8    | <b>6j</b>              | H, Bn            | 4       | 0                             | -                      | -                  | -     |

<sup>a</sup> Uvjeti reakcije: 2 mmol  $\text{dm}^{-3}$  epoksid (0,5 mL, 40 mmol  $\text{dm}^{-3}$ , DMSO), 8,8 mL Tris- $\text{SO}_4$  (pH 7,5, 50 mmol  $\text{dm}^{-3}$ ), 3 mmol  $\text{dm}^{-3}$   $\text{NaN}_3$  (0,5 mL, 60 mmol  $\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 200  $\mu\text{L}$  enzim (proteinski ekstrakt, masena koncentracija 5,6 mg/mL), konačni volumen 10 mL; <sup>b</sup> enzimatska konverzija; <sup>c</sup> izračunato iz  $ee$  **6** i  $ee$  **12**; <sup>d</sup> određeno GC-om; <sup>e</sup> dvostruka količina enzima

S druge strane, prema spojevima **6b**, **6d** i **6e** enzim je pokazao slabu aktivnost, što se može vidjeti iz nižih konverzija, čak i uz upotrebu dvostruke količine enzima u slučaju spoja **6e** (unos 2, 4 i 5). Može se pretpostaviti da spoj **6b** ne pristaje dobro u aktivno mjesto HheC, budući da je *m*-tolil skupina sterički zahtjevnija od fenilne te čak i *p*-tolilne. Spojevi **6d** i **6e** uz niske enzimatske konverzije također su imali značajan utrošak u ne-enzimskim reakcijama, kemijskoj azidolizi i prethodno opisanoj hidrolizi (slika 6), koji se očituje u značajno većim opaženim konverzijama (tablica D3). Razmjer kemijske azidolize, koja se odvija s visokom regioselektivnošću na  $\alpha$ -položaju pri čemu nastaje  $\alpha$ -azidoalkohol, vidljiv je iz konverzija slijepih proba: 14 % u 3 sata u slučaju **6d** odnosno 29 % u 4 sata u slučaju **6e** (tablica D6). Nadalje, u rezoluciji disupstituiranih propargil-epoksida **6h** i **6i** kao i u sintezi racemičnih standarda (tablica 9) nisu detektirani  $\alpha$ -azidoalkoholi, dakle  $\beta$ -azidoalkoholi nastaju regiospecifično (tablica D3). Također, enzim je pokazao visoku enantioselektivnost za spoj **5i** ( $E > 200$ , unos 7) te vrlo dobru za spoj **6h** ( $E$ -vrijednost 77, unos 6).

U reakcijama u prisustvu HheA2-N178A alkoholi **12a-e** nastaju u visokom enantiomernom suvišku ali uz nižu regioselektivnost (tablica 11), što je u skladu sa svojstvima HheA2-N178A.<sup>31</sup> Enzim je pokazao dobru aktivnost prema aromatski monosupstituiranim epoksidima **6a-c** (unos 1 – 3), ali je davao smjese  $\beta$ -azidoalkohola (**12a-c**,  $> 99\%$  *ee*) i  $\alpha$ -azidoalkohola (**13a-c**,  $\sim 80\%$  *ee*). Za razliku od HheC, konverzija reakcije spoja **6b** katalizirana s HheA2-N178A bila je usporediva s konverzijama **6a** i **6c**. Alkilima monosupstituirani spojevi **6d** i **6e** imali su slabe enzimatske konverzije i značajan utrošak u ne-enzimskim reakcijama (tablica D4), kroz prethodno navedenu hidrolitičku nestabilnost (slika 7) te zamjetan stupanj kemijske azidolize u slijepim probama, kojom nastaju  $\alpha$ -azidoalkoholi s visokom regioselektivnošću (tablica D11). Prema 2,2-disupstituiranim propargil-epoksidima **6h** te **6i** HheA2 mutant imao je slabu do nikakvu aktivnost (unos 6 i 7). Unatoč tome, kao i kod HheC  $\beta$ -azidoalkohol **12g** nastaje regiospecifično. Kod oba enzima preostali epoksidi **6a-c, h, i** bili su u pravilu dobre enantiomerne čistoće (*ee* 77 – 88 %), dok su enantiomerni viškovi epoksida **6d** i **6e** bili manji od 50 %. Iznimke su *m*-tolilom supstituirani epoksid kod HheC (*ee* 29 %) te butilom supstituirani epoksid **6i** kod HheA2 mutanta (*ee* 7 %).

**Tablica 11.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida u prisustvu  $\text{NaN}_3$  katalizirana s HheA2-N178A na analitičkoj skali<sup>a</sup>.

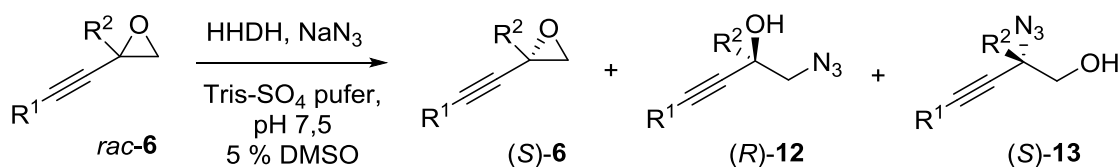
| Unos | Epoksid                | $R^1, R^2$       | $t / \text{h}$ | konverzija<br>/ % <sup>b,c</sup> | $ee / \%$ <sup>d</sup> |                |                | <b>12 : 13</b> <sup>d</sup> | $E^c$ |
|------|------------------------|------------------|----------------|----------------------------------|------------------------|----------------|----------------|-----------------------------|-------|
|      |                        |                  |                |                                  | (R)- <b>6</b>          | (S)- <b>12</b> | (R)- <b>13</b> |                             |       |
| 1    | <b>6a</b>              | <i>p</i> -Tol, H | 2              | 47                               | 88                     | > 99           | 82             | 54 : 46                     | > 200 |
| 2    | <b>6b</b>              | <i>m</i> -Tol, H | 3              | 44                               | 78                     | > 99           | 80             | 71 : 29                     | > 200 |
| 3    | <b>6c</b>              | Ph, H            | 4              | 44                               | 79                     | > 99           | 80             | 66 : 34                     | > 200 |
| 4    | <b>6d</b>              | Cp, H            | 3              | 7                                | 7                      | > 99           | -              | 70 : 30                     | > 200 |
| 5    | <b>6e</b> <sup>e</sup> | <i>t</i> -Bu, H  | 4              | 5                                | 5                      | > 99           | -              | 90 : 10                     | > 200 |
| 6    | <b>6h</b>              | H, Et            | 4              | 8                                | -                      | -              | -              | -                           | -     |
| 7    | <b>6i</b>              | H, Bu            | 4              | 9                                | 7                      | 71             | -              | > 99 : 1                    | 6     |
| 8    | <b>6j</b>              | H, Bn            | 4              | 0                                | -                      | -              | -              | -                           | -     |

<sup>a</sup> *Uvjeti reakcije:* 2 mmol  $\text{dm}^{-3}$  epoksid (0,5 mL, 40 mmol  $\text{dm}^{-3}$ , DMSO), 8,8 mL Tris- $\text{SO}_4$  (pH 7,5, 50 mmol  $\text{dm}^{-3}$ ), 3 mmol  $\text{dm}^{-3}$   $\text{NaN}_3$  (0,5 mL, 60 mmol  $\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 200  $\mu\text{L}$  enzim (proteinski ekstrakt, masena koncentracija 5,6 mg/mL), konačni volumen 10 mL; <sup>b</sup> enzimatska konverzija; <sup>c</sup> izračunato iz  $ee$  **6** i  $ee$  **12**; <sup>d</sup> određeno GC-om ili HPLC-om; <sup>e</sup> dvostruka količina enzima

Epoksid **6j** nije bio prihvaćen kao supstrat ovih enzima, budući da se vjerojatno uslijed steričke zahtjevnosti nije mogao uklopiti u aktivno mjesto HheC ili HheA2-N178A. No, nedavno je opisana visoka enantioselektivnost HHDH skupine B prema 2,2-disupstituiranim epoksidima, pri čemu  $\beta$ -regioselektivnim napadom nastaju sterički zahtjevni tercijarni alkoholi.<sup>30</sup> Sukladno tome, provedena su ispitivanja reakcija propargil-epoksida u prisustvu HheB i HheB2-T120 mutanta (tablica 12). Za supstrate su odabrani predstavnici svake od strukturnih skupina, aromatom monosupstituirani **6c**, alifatom monosupstituirani **6d** i disupstituirani **6i**, te sterički zahtjevni **6j**. U reakciji benzilom supstituiranog epoksida **6j** enzim HheB pokazao je odličnu enantioselektivnost ( $E$ -vrijednost 151) te regiospecifičnost no nešto slabiju aktivnost, vidljivu iz konverzije od 38 % kroz 6 sati (unos 4). S druge strane, spoj **6j** nije bio prihvaćen kao supstrat mutanta HheB2-T120A (unos 5). Prema spojevima **6c** i **6d** enzim HheB pokazao je slabu aktivnost te reakcije nisu bile enantioselektivne (unosi 1 i 2). Zanimljivo je da kod spoja **6c**  $\beta$ -azidoalkohol nastaje s visokom regioselektivnošću. Budući da je u istom radu kod različitih supstrata prijavljeno povećanje enantioselektivnosti prilikom uvođenja metila ili etila kao druge skupine u odnosu na monosupstituirane spojeve,<sup>30</sup>

reakcija je provedena na spoju **6k** te je enzim pokazao visoku enantioselektivnost i povećanje regioselektivnosti, no uz značajan pad aktivnosti (unos 6). Spoj **6i** nije bio prihvaćen kao supstrat HheB (unos 3).

**Tablica 12.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida u prisustvu  $\text{NaN}_3$  katalizirana s HDDH B-skupine na analitičkoj skali<sup>a</sup>.



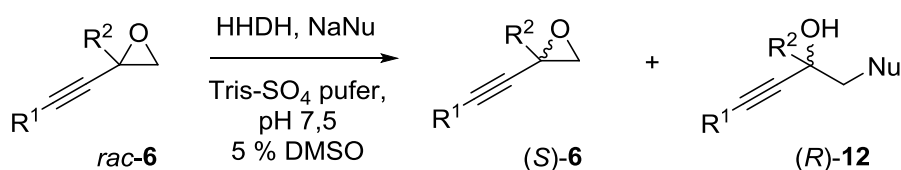
| Unos | Epoksid   | $R^1, R^2$ | HDDH            | $t / \text{h}$ | Konverzija<br>/ % <sup>b,c</sup> | $ee / \%$ <sup>d</sup> |                | <b>12 : 13</b> <sup>d</sup> | $E^c$ |
|------|-----------|------------|-----------------|----------------|----------------------------------|------------------------|----------------|-----------------------------|-------|
|      |           |            |                 |                |                                  | (S)- <b>6</b>          | (R)- <b>12</b> |                             |       |
| 1    | <b>6c</b> | Ph, H      | HheB            | 3,75           | 20                               | 13                     | 53             | 93 : 7                      | 4     |
| 2    | <b>6d</b> | Cp, H      | HheB            | 3              | 22                               | 19                     | 69             | 80 : 20                     | 7     |
| 3    | <b>6i</b> | H, Bu      | HheB            | 3,75           | -                                | -                      | -              | -                           | -     |
| 4    | <b>6j</b> | H, Bn      | HheB            | 6              | 38                               | 59                     | 98             | > 99 : 1                    | 151   |
| 5    | <b>6j</b> | H, Bn      | HheB2-<br>T120A | 4              | -                                | -                      | -              | -                           | -     |
| 6    | <b>6k</b> | Ph, Me     | HheB            | 5              | 6                                | 6                      | > 99           | 98 : 2                      | > 200 |

<sup>a</sup> *Uvjeti reakcije:* 2 mmol  $\text{dm}^{-3}$  epoksid (0,5 mL, 40 mmol  $\text{dm}^{-3}$ , DMSO), 8,8 mL Tris- $\text{SO}_4$  (pH 7,5, 50 mmol  $\text{dm}^{-3}$ ), 3 mmol  $\text{dm}^{-3}$   $\text{NaNu}$  (0,5 mL, 60 mmol  $\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 200  $\mu\text{L}$  enzim (proteinski ekstrakt, masena koncentracija 5,6 mg/mL), konačni volumen 10 mL;

<sup>b</sup> enzimatska konverzija; <sup>c</sup> izračunato iz  $ee$  **6** i  $ee$  **12**; <sup>d</sup> određeno GC-om

S obzirom da HDDH enzimi osim azidnih i nativnih halogenidnih iona prihvaćaju i druge neprirodne nukleofile ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{OCN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$  te  $\text{HCOO}^-$ ) čime se dobivaju odgovarajući sintetski značajni  $\beta$ -supstituirani alkoholi te oksazolidinoni, provedena su ispitivanja reakcija otvaranja prstena propargil-epoksida u prisustvu navedenih nukleofila. Reakcije su provedene na spojevima **6c**, **6d** i **6i** u prisutnosti HheC te **6j** u prisutnosti HheB, sukladno rezultatima prethodno navedenih ispitivanja (tablica 13). Enzimi su prema propargil-epoksidima pokazali zadovoljavajuću aktivnost te potpunu konverziju jedino u prisustvu nitritnih iona u reakcijama kataliziranim s HheC te cijanidnih iona u reakciji kataliziranoj s HheB.

**Tablica 13.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida katalizirana s HDDH u prisustvu različitih nukleofila na analitičkoj skali<sup>a</sup>.



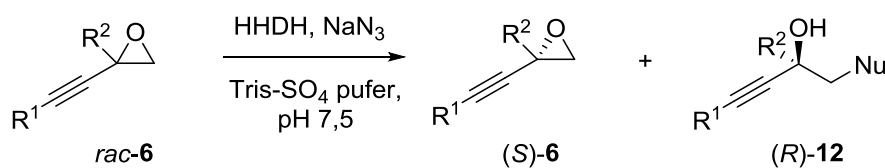
| Unos | Epoksid   | HDDH | <i>t</i> / h | Konverzija / % <sup>b</sup>  |                 |                  |                  |                   |
|------|-----------|------|--------------|------------------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|
|      |           |      |              | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | CN <sup>-</sup> | OCN <sup>-</sup> | SCN <sup>-</sup> | HCOO <sup>-</sup> |
| 1    | <b>6c</b> | HheC | 3            | 38                           | 11              | 14               | 21               | 17                |
| 2    | <b>6d</b> | HheC | 4            | 45                           | 17              | 0                | 10               | 4                 |
| 3    | <b>6i</b> | HheC | 4            | 46                           | 8               | 12               | 8                | 0                 |
| 4    | <b>6j</b> | HheB | 24           | 24                           | 45              | 5                | 15               | -                 |

<sup>a</sup> *Uvjeti reakcije:* 2 mmol dm<sup>-3</sup> epoksid (0,5 mL, 40 mmol dm<sup>-3</sup>, DMSO), 8,8 mL Tris-SO<sub>4</sub> pufer (pH 7,5, 50 mmol dm<sup>-3</sup>), 3 mmol dm<sup>-3</sup> NaNu (0,5 mL, 60 mmol dm<sup>-3</sup>, H<sub>2</sub>O), 200 μL enzim (proteinski ekstrakt, masena koncentracija 5,6 mg/mL), konačni volumen 10 mL;

<sup>b</sup> određeno GC-om na koloni s akiralnom stacionarnom fazom

#### 4.2.2. Reakcije kinetičke rezolucije na preparativnoj skali

U svjetlu rezultata dobivenih na analitičkoj skali, daljnja ispitivanja provedena su na enzimima HheC i HheA2-N178A u prisustvu azidnih iona. U svrhu prevođenja reakcija na preparativnu skalu, provedene su reakcije aromatskih propargil-epoksida **6a-c** u prisustvu proteinskih ekstrakata oba enzima pri konačnoj koncentraciji supstrata od 50 mmol dm<sup>-3</sup> (tablica 14). U reakcijama provedenim u prisustvu HheA2-N178, enzim je zadržao visoku aktivnost i enantioselektivnost pokazanu na analitičkoj skali (unos 3, 6 i 9). S druge strane, reakcije u prisustvu HheC zadržale su visoku enantioselektivnost no enzim je imao nezadovoljavajuću aktivnost (unos 2, 5 i 8). Reakcije su također provedene pri konačnoj koncentraciji epoksida od 30 mmol dm<sup>-3</sup> kako bi se umanjio mogući efekt inhibicije supstratom,<sup>109,110</sup> no dobiveni su slični rezultati (unos 1, 4 i 7). Stoga, u slučaju HheC reakcije na preparativnoj skali provedene su koristeći cijele bakterijske stanice koje sadrže prekomjerno eksprimirani enzim, budući da se ovaj pristup pokazao vrlo učinkovitim u stabilizaciji enzima i zaštiti od uvjeta reakcije, što često dovodi do poboljšanja rezultata.<sup>171</sup> Na spojevima **6a** i **6i** koji su u ispitivanjima kinetičke rezolucije na analitičkoj skali pokazali najbolje rezultate sukladno navedenom provedene su reakcije na preparativnoj skali.

**Tablica 14.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida u prisutnosti azidnih iona katalizirana s HDDH na preparativnoj skali<sup>a</sup>.

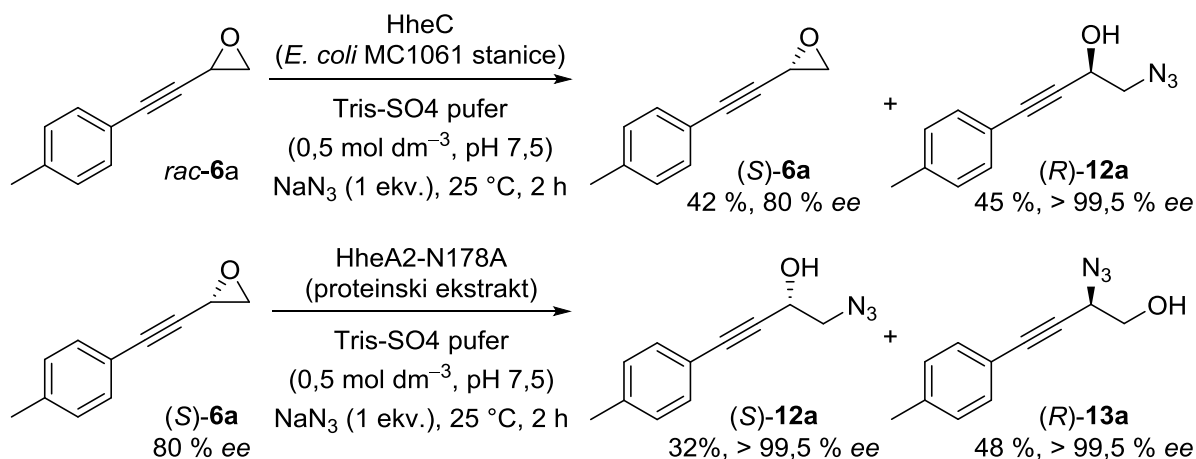
| Unos | epoksid   | konačna<br>koncentracija<br>/ mmol dm <sup>-3</sup> | HDDH            | t / h | Konverzija<br>/ % <sup>b,c</sup> | ee / % <sup>d</sup> |        | E <sup>c</sup> |
|------|-----------|---|-----------------|-------|----------------------------------|---------------------|--------|----------------|
|      |           |   |                 |       |                                  | (S)-6               | (R)-12 |                |
| 1    | <b>6a</b> | 30  | HheC            | 4     | 19                               | 23                  | > 99   | > 200          |
| 2    |           | 50  | HheC            | 4     | 19                               | 24                  | > 99   | > 200          |
| 3    |           | 50  | HheA2-<br>N178A | 4,5   | 40                               | 66                  | > 99   | > 200          |
| 4    | <b>6b</b> | 30  | HheC            | 4     | 9                                | 10                  | > 99   | > 200          |
| 5    |           | 50  | HheC            | 4     | 5                                | 5                   | > 99   | > 200          |
| 6    |           | 50  | HheA2-<br>N178A | 4,5   | 31                               | 45                  | > 99   | > 200          |
| 7    | <b>6c</b> | 30  | HheC            | 4     | 15                               | 18                  | > 99   | > 200          |
| 8    |           | 50  | HheC            | 4     | 9                                | 10                  | > 99   | > 200          |
| 9    |           | 50  | HheA2-<br>N178A | 4,5   | 38                               | 62                  | > 99   | > 200          |

<sup>a</sup> Uvjeti reakcije: 2 mmol dm<sup>-3</sup> epoksid (0,5 mL, 40 mmol dm<sup>-3</sup>, DMSO), 8,8 mL Tris-SO<sub>4</sub> (pH 7,5, 50 mmol dm<sup>-3</sup>), 3 mmol dm<sup>-3</sup> NaN<sub>3</sub> (0,5 mL, 60 mmol dm<sup>-3</sup>, H<sub>2</sub>O), 200 μL enzim (proteinski ekstrakt, masena koncentracija 5,6 mg/mL), konačni volumen 10 mL; <sup>b</sup> enzimska konverzija; <sup>c</sup> izračunato iz ee **6** i ee **12**; <sup>d</sup> određeno GC-om

Kombinirajući navedene spoznaje s načelom dobre ekonomije atoma, na epoksidu **6a** proveden je slijed dviju enzimskih reakcija upotrebom oba enzima kako bi se maksimalno iskoristio polazni materijal (shema 71). Prvi korak bila je reakcija otvaranja epoksidnog prstena racemičnog **6a** azidnim ionima na skali od 3 mmol (konačna množinska koncentracija 50 mmol dm<sup>-3</sup>) u prisustvu stanica *E. coli* MC1061 koje sadrže HheC. Pročišćavanjem kromatografijom izolirani su optički čisti β-azidoalkohol (*R*)-**12a** te propargil-epoksid (*S*)-**6a** u iskorištenju od 45 % odnosno 42 %. Enantiomerne čistoće određene HPLC-om odnosno GC-om iznosile su > 99 % tj. 80 %. Izolirani enantiomerno obogaćeni (*S*)-**6a** zatim je u prisustvu proteinskog ekstrakta HheA2-N178A i azidnih iona preveden u smjesu (*S*)-**12a** i (*R*)-**13a**. Smjesa je pročišćena kromatografijom te su izolirani optički čisti β-azidoalkohol (*S*)-**12a** odnosno α-azidoalkohol (*R*)-**13a** u iskorištenjima od 32 % tj. 48 %. Enantiomerne čistoće određene HPLC-om iznosile su > 99 % za oba spoja. Na ovaj način, provođenjem dvije

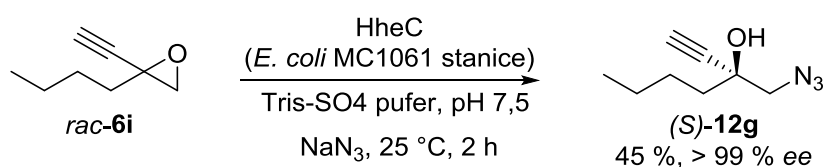


zasebne enzimске reakcije katalizirane s dvije stereokomplementarne HHDH izolirana su tri sintetski vrijedna, optički čista propargilna azidoalkohola: oba enantiomera  $\beta$ -azidoalkohola te (*R*)-enantiomer  $\alpha$ -azidoalkohola, kroz potpunu konverziju jednog racemičnog supstrata, u ukupnom iskorištenju od 79 % polazeći od *rac*-**6a**.



**Shema 71.** Slijed enzimatskih reakcija epoksida *rac*-**6a** na skali od 3 mmol (konačna množinska koncentracija 50 mmol dm<sup>-3</sup>).

Nadalje, provedena je kinetička rezolucija epoksida **6i** u prisustvu azidnih iona i stanica *E. coli* MC1606 koje sadrže HheC, pri čemu je regiospecifično nastao azidoalkohol (*S*)-**12g** (shema 72). Pročišćavanjem kromatografijom na stupcu izoliran je optički čisti tercijarni propargilni azidoalkohol (*R*)-**12g** u iskorištenju od 45 %. Enantiomerna čistoća određena GC-om iznosila je > 99 %.

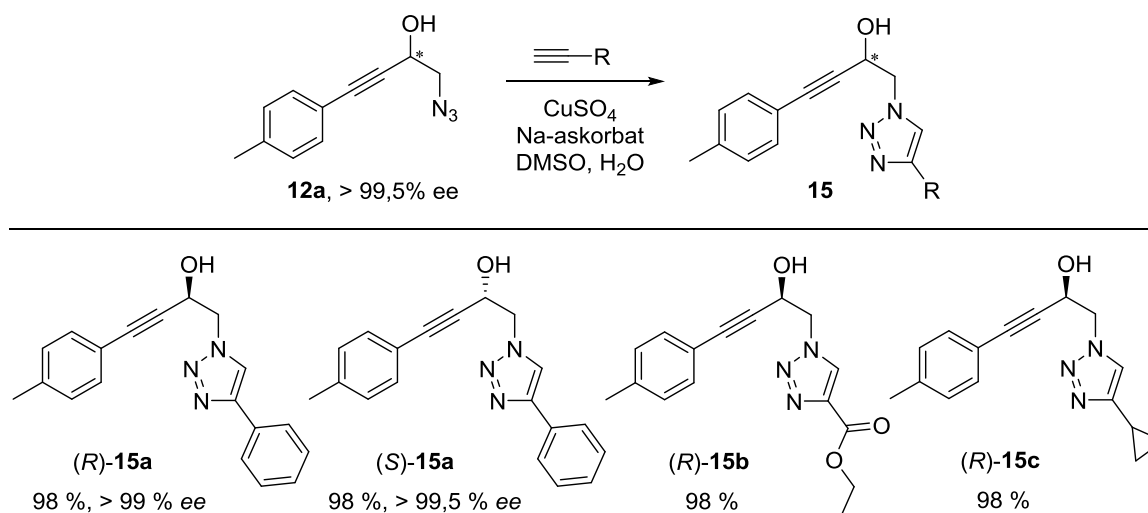


**Shema 72.** Kinetička rezolucija epoksida *rac*-**6i** na skali od 1 mmol (konačna množinska koncentracija 50 mmol dm<sup>-3</sup>).

### 4.3. Postmodifikacijske reakcije

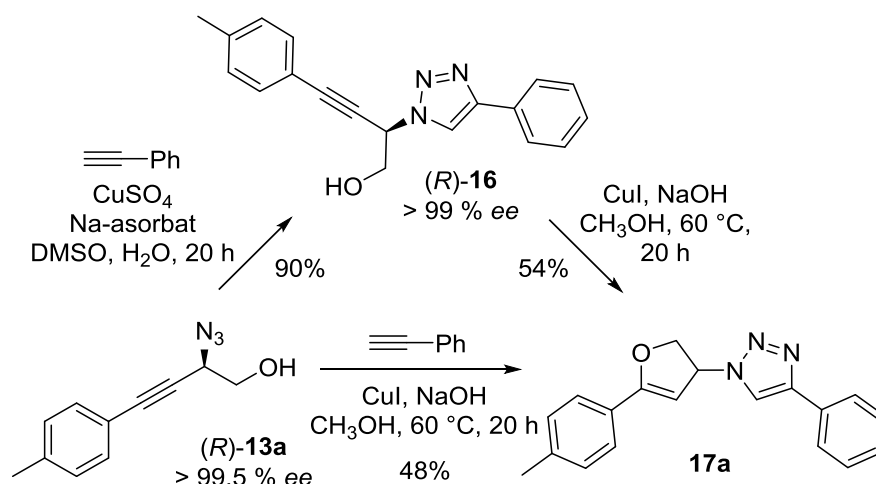
Kako bi se pokazala primjenjivost razvijene metode, na dobivenim optički čistim azidoalkoholima provedene su reakcije postmodifikacija. Na  $\beta$ -azidoalkoholima (*R*)- i (*S*)-**12a** provedene su *click*-reakcije s terminalnim acetilenima (shema 73). Reakcije su provedene uz CuSO<sub>4</sub> kao katalizator i natrijev L-askorbat kao reducens pri sobnoj temperaturi te su dobiveni odgovarajući optički čisti  $\beta$ -triazol propargil-alkoholi **15** u iskorištenju od 98 %. Preko

odabranih terminalnih acetilena u produkte su uvedene fenil (**15a**), etil-ester (**15b**) odnosno ciklopropil (**15c**) skupine, koje omogućavaju daljnje transformacije. Enantiomerne čistoće određene HPLC-om za spojeve (*R*)- odnosno (*S*)-**15a** iznosile su > 99 % tj. > 99,5 %. Za spojeve **15b** i **15c** pretpostavljeno je očuvanje optičke čistoće temeljem rezultata spoja **15a**.



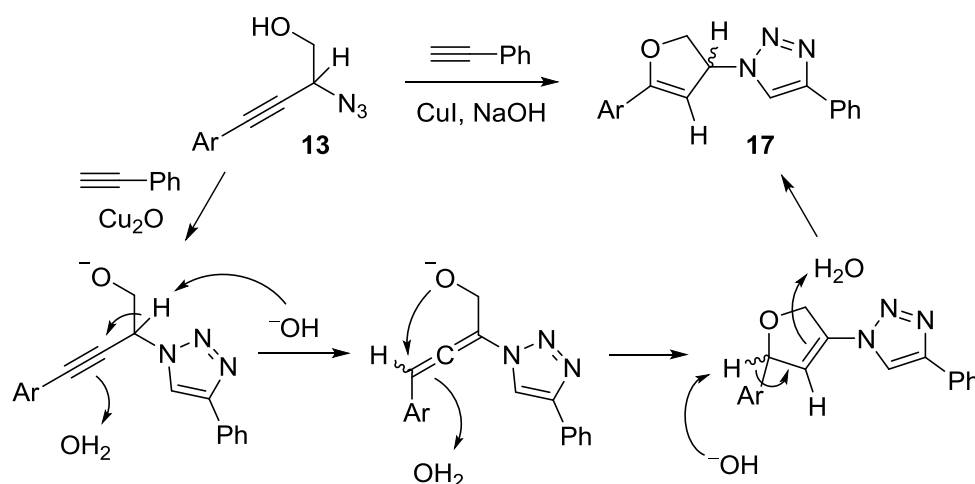
**Shema 73.** Click-reakcije optički čistih propargilnih β-azidoalkohola (*R*)- i (*S*)-**12a**.

Click-reakcije s fenilacetilenom također su provedene na α-azidoalkoholu (*R*)-**13a** (shema 74). Osim u uvjetima prethodno navedenim kod β-azidoalkohola, reakcije su također provedene u uvjetima uz reflux, koristeći CuI kao katalizator te vodenu otopinu NaOH množinske koncentracije 0,5 mol dm<sup>-3</sup> kao bazu. Ovisno o primijenjenim uvjetima reakcije dobiveni su različiti produkti. Reakcijom provedenom uz CuSO<sub>4</sub> i natrijev askorbat dobiven je odgovarajući β-triazol homopropargil-alkohol (*R*)-**16** u iskorištenju od 90 %. Enantiomerna čistoća određena HPLC-om iznosila je > 99 %.



**Shema 74.** Click-reakcija homopropargil-alkohola (*R*)-**13a** praćena 5-*endo-dig* ciklizacijom.

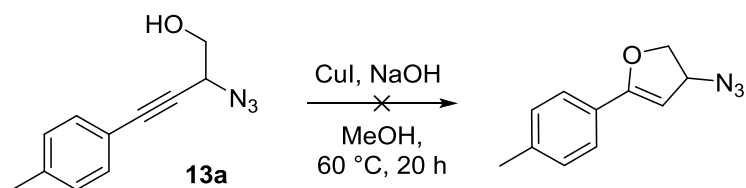
U reakciji provedenoj uz CuI i NaOH nastanak triazola pratila je *5-endo-dig* ciklizacija homopropargil motiva u dihidrofuranski prsten te je dobiven dihidrofuranil-triazol **17a** u iskorištenju od 48 %. HPLC analizom utvrđena je gotovo potpuna racemizacija produkta, do enantiomernog viška od 12 %. Do navedenog dolazi zbog prisustva NaOH, budući da proces započinje bazno kataliziranom izomerizacijom propargil motiva u alen, a zatim napadom alkoksida dolazi do ciklizacije u furan, te konačni produkt nastaje pomakom dvostruke veze u položaj konjugiran s aromatskim prstenom (shema 75).<sup>66</sup> Geometrija dvaju koraka izomerizacije uzrok je racemizaciji produkta.



**Shema 75.** Pretpostavljeni mehanizam nastanka dihidrofuranil-triazola **17**

Reakcijom spoja **16** u istim uvjetima također dolazi do ciklizacije te je produkt **17a** dobiven s istim stupnjem racemizacije u iskorištenju od 54 %. Reakcija provedena u CH<sub>3</sub>CN uz KO<sup>t</sup>Bu kao bazu nije dala rezultat. Također, iz racemičnog fenilom supstituiranog alkohola **13c** uz katalitičku količinu NaOH sintetiziran je odgovarajući spoj **17b** u iskorištenju od 76 %. Dobiveni spojevi zanimljivi su budući da se dihidrofuranil-triazol motiv koji sadrže također nalazi u naftokinoidalnim triazolima, spojevima koji pokazuju biološke aktivnosti kao što su antiparazitska, antibakterijska i antitumorska svojstva.<sup>172,173</sup>

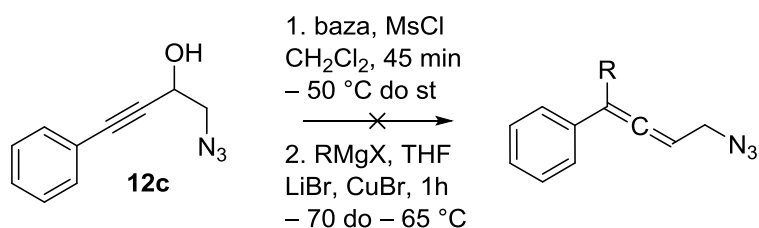
Provedena je i reakcija spoja **13a** s NaOH uz katalizator CuI, ali bez fenilacetilena kako bi se sintetizirao produkt *5-endo-dig* ciklizacije bez *click*-reakcije (shema 76). Produkt nije detektiran, što je u skladu s očekivanjima, budući da bez *click*-reakcije azido skupina ostaje slobodna sudjelovati u već opisanoj pregradnji u polimerni triazol.



**Shema 76.** Pokušaj sinteze azido dihidrofurana.

Konačno, pokušana je sinteza alena iz propargilnog  $\beta$ -azidoalkohola. Provedene su reakcije alkohola **12c** s mesil-kloridom uz  $\text{Et}_3\text{N}$  ili  $n\text{-BuLi}$  kao bazu kako bi se dobio odgovarajući mesilat. Mesilat je korišten u reakcijama s organobakrovim reagensom pripremljenom reakcijom smjese  $\text{CuBr}$  i  $\text{LiBr}$  s etinil- ili izopropilmagnezijevim bromidom kako bi se dobio ciljani alen (shema 77). Reakcije su provedene u različitim uvjetima količine baze, redosljeda dodavanja reagensa, uz ili bez izolacije mesilata te trajanja pojedinih koraka.

Mesilat pripremljen uz  $\text{Et}_3\text{N}$  je nakon obrade bez daljnjeg pročišćavanja dodan u izopropil-bakrov reagens te je dobiveno 51 % polaznog alkohola i produkt čiji bi  $^1\text{H}$  NMR spektar odgovarao nastanku alena no uz nepoznati aromatski signal. Reakcijom **12c** s  $\text{MsCl}$  uz  $\text{Et}_3\text{N}$  nastaje mesilat, no dodatkom sirovog mesilata u smjesu  $\text{LiBr}$ ,  $\text{CuBr}$  i etinilmagnezijevog bromida nije dobiven alen. Dodatkom izopropil-bakrovog reagensa u smjesu **12c** i  $n\text{-BuLi}$  nije dobiven alen.



**Shema 77.** Pokušaj sinteze homoalil-azida iz  $\beta$ -azidoalkohola.

Ovdje opisani razvoj novih sintetskih metoda omogućava pristup novim propargil-epoksidima te novom načinu pretvorbe propargil-epoksida u kiralne propargilne spojeve kao metodi pripreme građevnih blokova za upotrebu u stereoselektivnoj organskoj sintezi. Preliminarna istraživanja sinteze spojeva sintetski zanimljivih strukturnih obilježja, kao što su homopropargil- te halogenpropargil-epoksidi, otvaraju put daljnjem razvoju novih supstrata, no za to potrebna istraživanja prelaze okvire ove doktorske disertacije.

## § 5. ZAKLJUČAK

Ovim istraživanjem razrađena je i opisana sinteza šest novih propargil-epoksida: 2-(2-ciklopentiletinil)oksidirana (**6d**), 2-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)oksidirana (**6e**), 2-etil-2-etiniloksidirana (**6h**), 2-butil-2-etiniloksidirana (**6i**), 2-benzil-2-etiniloksidirana (**6j**) i 2-butil-2-(2-feniletinil)oksidirana (**6l**). Dobiveni rezultati pokazuju da se epoksidi supstituirani ugljik-ugljik trostrukom vezom mogu koristiti kao supstrati halogenhidrin-dehalogenaza (HHDH). Time je razvijena kemoenzimatska metoda pripreme optički čistih propargilnih azidoalkohola i njihovih derivata.

Sintetizirani spojevi razlikuju se u broju, položaju i vrsti supstituenata. Za sintezu monosupstituiranih spojeva primijenjen je pristup Sonogashirine reakcije i epoksidacije te su na ovaj način uz tri poznata spoja s aromatskim supstituentima pripravljena i dva nova alifatima supstituirana spoja. Za sintezu disupstituiranih spojeva razvijeni su pristupi adicije organometalnih reagensa na  $\alpha$ -halogenketone. Tri nova disupstituirana spoja s terminalnom trostrukom vezom sintetizirana su Grignardovom reakcijom kataliziranom cinkat(II) kompleksom. U ovoj metodi do sada nije bio korišten nesupstituirani acetilenski Grignardov reagens te metoda nije bila primijenjena na reakcije halogenketona. Jedan poznati i jedan novi disupstituirani spoj s internom trostrukom vezom sintetizirani su adicijom litijevog acetilida na halogenketone.

Reakcije kinetičke rezolucije provedene su s halogenhidrin-dehalogenazama HheC, HheB te HheA2 mutantom N178A uz azid kao nukleofil. Osim uz azid, HheC je također pokazao aktivnost u prisustvu nitrita, te je HheB pokazao aktivnost u prisustvu cijanida. Aromatima monosupstituirani spojevi u pravilu su dobri supstrati za HheC i HheA2 mutant, uz iznimku *m*-tolil derivata kod HheC, no loši za HheB. Alifatima monosupstituirani spojevi loši su supstrati za sva tri enzima. Disupstituirani spojevi u pravilu su dobri supstrati za HheC, ali loši ili nikakvi za HheA2 i HheB, uz iznimku benzilom supstituiranog spoja koji je dobar supstrat jedino za HheB. Reakcije kinetičke rezolucije propargil-epoksida s HHDH do sada nisu bile poznate.

Reakcije s azidom pokazale su se enantioselektivnima (*E*-vrijednost > 200) te su  $\beta$ -azidoalkoholi nastajali s visokom optičkom čistoćom (*ee* 93 % do > 99 %). Optička čistoća preostalog epoksida bila je nešto niža (*ee* 5 % do 88 %). U reakcijama u prisustvu HheC  $\beta$ -

azidoalkoholi nastajali su s visokom regioselektivnošću dok su u prisustvu HHeA2 mutanta dobivene slabe regioselektivnosti. U reakcijama disupstituiranih spojeva produkti su nastajali regiospecifično. Alifatima monosupstituirani spojevi su pokazali veliku nestabilnost prema kemijskoj hidrolizi i azidolizi.

Najbolji supstrati upotrijebljeni su u reakcijama na preparativnoj skali. Slijedom od dvije enzimске reakcije katalizirane s HheC i HheA2 mutantom provedenim na *p*-tolilom monosupstituiranom spoju dobivena su oba enantiomera  $\beta$ -azidoalkohola te (*R*)-enantiomer  $\alpha$ -azidoalkohola kao optički čisti spojevi potpunom konverzijom jednog racemičnog supstrata. Rezolucijom butilom supstituiranog epoksida s terminalnom trostrukom vezom kataliziranom s HheC dobiven je odgovarajući optički čisti tercijarni ( $\beta$ -azido) alkohol regioselektivno.

Optički čisti *p*-tolilom supstituirani propargilni azidoalkoholi prevedeni su u odgovarajuće triazole *click*-reakcijom. U slučaju  $\alpha$ -azidoalkohola ovisno o uvjetima uz *click*-reakciju dobiven je produkt ciklizacije homopropargil-alkohola. Dobiveni produkt sadrži dihidrofuranyl-triazolni motiv koji se nalazi u naftokinoidalnim triazolima, spojevima koji imaju antiparazitska, antibakterijska te antitumorska svojstva.

Istraživanja provedena u okviru ove doktorske disertacije pokazuju da se propargil-epoksidi mogu koristiti kao supstrati u reakcijama kinetičke rezolucije katalizirane s HDDH. Razvoj novih sintetskih metoda omogućava pristup novim propargilnim spojevima, a preliminarna istraživanja sinteze homopropargil- i halogeniranih propargil-epoksida potiču daljnja ispitivanja ovih supstrata. Rezultati ovih istraživanja proširuju raspon poznatih strukturnih obilježja epoksida na kojima se mogu vršiti pretvorbe pomoću HDDH te time broj kiralnih građevnih blokova koji se ovom metodom mogu pripremiti. Kombinacija raznovrsne reaktivnosti propargilnih spojeva i iznimnih katalitičkih svojstava HDDH omogućila je razvoj kemoenzimatske metode koja proširuje izbor mogućih alata za pripravu heterocikličkih spojeva s potencijalnim biološkim aktivnostima, što bi moglo dovesti do primjene u stereoselektivnoj sintezi prirodnih spojeva i farmaceutika.

## § 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ, SIMBOLÂ I KEMIJSKIH FORMULÂ

Ac – acetil

Ac<sub>2</sub>O – acetanhidrid

AgNO<sub>3</sub> – srebrov nitrat

AgOTf – srebrov trifluormetansulfonat

AlCl<sub>3</sub> – aluminijev klorid

Ar – aril

Arg – arginin

AuBr<sub>3</sub> – zlatov(III) bromid

AuCl<sub>3</sub> – zlatov(III) klorid

BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O – borov trifluorid-dietil-eterat

Bn - benzil

Br<sub>2</sub> – elementarni brom

br s – široki singlet

Bu – butil

*t*-Bu – *tert*-butil

*n*-BuLi – *n*-butilitij

*t*-Bu<sub>3</sub>Ga – tri(*tert*-butil)galij(0)

(Bu<sub>3</sub>Sn)<sub>2</sub>O – bis[tributilkositrov(IV)]oksid

*i*-Bu<sub>2</sub>Te – di(izobutil)telurid

Bz – benzoil

CCl<sub>4</sub> – tetraklorugljik

β-CD – beta-ciklodekstrin

CDCl<sub>3</sub> – deuterirani kloroform

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – diklormetan

CH<sub>3</sub>COOH – octena kiselina

CO – ugljikov(II) oksid

CO<sub>2</sub> – ugljikov(IV) oksid

(COCl)<sub>2</sub> – oksalil-klorid

$\text{Co}_2(\text{CO})_8$  – dikobaltov oktakarbonil

Cp – ciklopentil

*m*-CPBA – *meta*-klorperoksibenzojeva kiselina

CuBr – bakrov(I) bromid

CuCl – bakrov(I) klorid

CuI – bakrov(I) jodid

$\text{Cu}_2\text{O}$  – bakrov(I) oksid

$\text{Cu}(\text{OAc})_2$  – bakrov(II) acetat

$\text{CuSO}_4$  – bakrov(II) sulfat

Cy – cikloheksil

d – dublet

DABCO – 1,4-diazabiciklo[2.2.2]oktan

DAD – detektor s nizom dioda (engl. *diode array detector*)

Davisov oksaziridin – 2-(benzensulfonil)-3-feniloksaziridin

DBU – 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-en

DET – dietil-tartarat

DIBAL – diizobutilaluminijev hidrid

DKR – dinamička kinetička rezolucija

DMAP – 4-(dimetilamino)piridin

DMDPP – *N,N,N',N'*-tetrametil-*N''*-[tris(dimetilamino)fosforaniliden]fosforov triamid

DMP – Dess-Martinov perjodinan

DMSO – dimetil-sulfoksid

*E. coli* – *Escherichia coli*

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

*ee* – enantiomerni višak

ekv. – ekvivalent

Et – etil

$\text{EtCO}_2^t\text{Bu}$  – *tert*-butil-propanoat

$\text{Et}_3\text{N}$  – trietilamin

$\text{Et}_3\text{NHCl}$  – trietilamonijev klorid

$\text{Et}_3\text{N}:\text{Mo}(\text{CO})_5$  – pentakarbonil(trietilamino)molibden(0)

$\text{Et}_2\text{O}$  – dietil-eter



EtOAc – etil-acetat

EtOH - etanol

[Fe(acac)<sub>3</sub>] – željezo(III) acetilacetonat

FID – plameno-ionizacijski detektor (engl. *flame ionization detector*)

FTIR-ATR – infracrvena spektroskopija prigušene totalne refleksije s Fourierovom transformacijom (engl. *attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy*)

GDH – glukoza-dehidrogenaza

GC – plinska kromatografija (engl. *gas chromatography*)

Hal – halogen

HBr – bromovodik

HCl – klorovodik

HCN – cijanovodik

HCOO<sup>-</sup> - formijatni anion

*n*-Hex – *n*-heksil

HgCl<sub>2</sub> – živin(I) klorid

HHDH – halogenhidrin-dehalogenaza

HheA-G – halogenhidrin-dehalogenaza tip A – G

HMPA – heksametilfosforamid

HO<sup>-</sup> – hidroksidni anion

H<sub>2</sub>O – voda

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – vodikov peroksid

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *high-performance liquid chromatography*)

HRMS – spektroskopija mase visoke razlučivosti (engl. *high-resolution mass spectrometry*)

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – sumporna kiselina

I<sub>2</sub> – elementarni jod

IBX – 2-jodoksibenzojeva kiselina

IR – infracrveno (engl. *infrared*)

*k*<sub>cat</sub> – obrtni broj

K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – kalijev karbonat

KH – kalijev hidrid

KHMDS – kalijev heksametildisilazid

KHSO<sub>4</sub> – kalijev hidrogensulfat  
KHSO<sub>5</sub> – kalijev peroksisulfat  
KI – kalijev jodid  
K<sub>M</sub> – Michaelis-Menteničina konstanta  
KOH – kalijev hidroksid  
KOAc – kalijev acetat  
KO<sup>t</sup>Bu – kalijev *tert*-butoksid  
KRED – ketoreduktaza  
K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – kalijev sulfat  
kv./kvant. – kvantitativno  
LiBH<sub>4</sub> – litijev borhidrid  
LiBr – litijev bromid  
LiCl – litijev klorid  
LDA – litijev diizopropilamid  
LiHMDS – litijev heksametildisilazid  
LiTMP – litijev tetrametilpiperidid  
m – multiplet  
Me – metil  
MeCN – acetonitril  
MeO – metoksi  
MeOH – metanol  
Me<sub>2</sub>S – dimetil-sulfid  
Me<sub>3</sub>S<sup>+</sup> Γ - trimetilsulfonijev jodid  
Me<sub>3</sub>S<sup>+</sup> MeSO<sub>3</sub><sup>-</sup> - trimetilsulfonijev metilsulfat  
Me<sub>3</sub>SO<sup>+</sup> Γ - trimetilsulfoksonijev jodid  
MgBr<sub>2</sub> – magnezijev bromid  
MgSO<sub>4</sub> – magnezijev sulfat  
MnO<sub>2</sub> – manganov(IV) oksid  
MOM – metoksimetil  
MPM – metoksibenzil  
MPO – 4-metoksipiridin *N*-oksid  
MS – masena spektroskopija

MsCl – mesil-klorid

MTBE – *tert*-butil-metil-eter

$\text{N}_3^-$  – azidni anion

NaBr – natrijev bromid

NaCl – natrijev klorid

NaCN – natrijev cijanid

NADP/NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NaH – natrijev hidrid

$\text{NaHCO}_3$  – natrijev hidrogenkarbonat

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – natrijev hidrogenfosfat

$\text{NaHSO}_3$  – natrijev hidrogensulfit

NaI – natrijev jodid

$\text{NaIO}_4$  – natrijev perjodat

$\text{NaN}_3$  – natrijev azid

NaOAc – natrijev acetat

NaOCN – natrijev cijanat

NaOH – natrijev hidroksid

$\text{Na}_2\text{SO}_3$  – natrijev sulfit

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  – natrijev tiosulfat

$\text{Na}_2\text{SO}_4$  – natrijev sulfat

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  – natrijev metabisulfit

NBS – *N*-bromsukcinimid

$\text{NC}^-$  – cijanidni anion

$\text{NH}_4\text{Cl}$  – amonijev klorid

$[\text{NiCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$  – bis(trifenilfosino)niklov(II) klorid

NMR – spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije (engl. *nuclear magnetic resonance spectroscopy*)

$\text{NO}_2^-$  – nitritni anion

NOESY – spektroskopija nuklearnog Overhauser efekta (engl. *nuclear Overhauser effect spectroscopy*)

Nph – naftil

$\text{O}_3$  – ozon

OCN – cijanatni anion

PBr<sub>3</sub> – fosforov(III) bromid

PCC – piridnjev klorokromat

PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> – bis(trifenilfosfino)paladijev(II) klorid

[Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] – tetrakis(trifenilfosfino)paladij(0)

pH – kiselost otopine

Ph – fenil

PhCl – klorbenzen

PhNTf<sub>2</sub> – bis(trifluormetansulfonil)anilin

pK<sub>a</sub> – konstanta disocijacije kiseline

PPh<sub>3</sub> –trifenilfosfin

*i*-Pr – izo-propil

*i*-PrMgCl – izo-propilmagnezijev klorid

*i*-PrNEt<sub>2</sub> – *N,N*-diizopropiletilamin

*i*-Pr<sub>2</sub>NH – diizopropil-amin

1-PrOH – 1-propanol

2-PrOH – 2-propanol

*rac* – racemični

RuCl<sub>3</sub> – rutenijev(III) klorid

q – kvartet

s – singlet

salen – 6,6'-((1*E*,1'*E*)-(((1*R*,2*R*)-cikloheksan-1,2-dii)bis(azanililiden))bis(metanililiden))bis(2,4-di-*tert*-butilfenol)

SCN<sup>-</sup> – tiocijanatni anion

SDS-PAGE – denaturirajuća diskontinuirana elektroforeza na poliakrilamidnom gelu

Ser – serin

SiO<sub>2</sub> – silika-gel, silicijev(IV) oksid

*m*-Tol – *meta*-tolil

*p*-Tol – *para*-tolil

t – triplet

TBAF – tetrabutilamonijev fluorid

TBAI – tetrabutilamonijev jodid

TBD – 1,5,7-triazabiciklo[4.4.0]dec-5-en  
TBDPS – *tert*-butil(difenil)silil  
TBS – *tert*-butil(dimetil)silil  
TEMG – Tris-SO<sub>4</sub>, EDTA, β-merkptoetanol, glicerol  
TES – trietilsilil  
THF – tetrahidrofuran  
TIPS – triizopropilsilil  
TLC – tankoslojna kromatografija  
TMS – tetrametilsilan, trimetilsilil  
TMSCH<sub>2</sub>MgCl – (trimetilsilil)metilmagnezijev klorid  
TMSN<sub>3</sub> – trimetilsilil-azid  
TMSOTf – trimetilsilil-triflat  
Tris-SO<sub>4</sub> – tris(hidroksimetil)aminometan sulfat  
Tyr – tirozin  
UV – ultraljubičasto (engl. *ultraviolet*)  
*w* – maseni udio  
W(CO)<sub>6</sub> – heksakarbonilvolfram(0)  
X / X<sup>-</sup> – halogen / halogenidni anion  
ZnCl<sub>2</sub> – cinkov klorid

## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. G. Sienel, R. Rieth, K. T. Rowbottom, u C. Ley (ur.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2012, str. 139–154.
2. W. Jia-Jie, Y. Zhu, Z.-P. Zhan, *Asian J. Org. Chem.* **1** (2012) 108–129.
3. M. Bandini, *Chem. Soc. Rev.* **40** (2011) 1358–1367.
4. A. S. K. Hashmi, P. Sinha, *Adv. Synth. Catal.* **346** (2004) 432–438.
5. F. E. McDonald, C. C. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **116** (1994) 9363–9364.
6. É. S. Voskanyan, M. V. Mavrov, V. F. Kucherov, *Russ. Chem. Bull.* **17** (1968) 1736–1740.
7. S. R. K. Minkler, N. A. Isley, D. J. Lippincott, N. Krause, B. H. Lipshutz, *Org. Lett.* **16** (2014) 724–726.
8. A. Sethiya, N. Sahiba, S. Agarwal, A. Sethiya, N. Sahiba, S. Agarwal, u T. Akitsu (ur.) *Current Topics in Chirality - From Chemistry to Biology*, IntechOpen, 2021, DOI: 10.5772/intechopen.96146
9. D. P. Vala, R. M. Vala, H. M. Patel, *ACS Omega* **7** (2022) 36945–36987.
10. Y. Xing, Y. Wei, H. Zhou, *Curr. Org. Chem.* **16** (2012) 1594–1608.
11. I. C. González, C. J. Forsyth, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 9099–9108.
12. C. Mukai, N. Miyakoshi, M. Hanaoka, *J. Org. Chem.* **66** (2001) 5875–5880.
13. F. Moschona, I. Savvopoulou, M. Tsitopoulou, D. Tataraki, G. Rassias, *Catalysts* **10** (2020) 1117–1172.
14. R. Abonia, D. Insuasty, K. K. Laali, *Molecules* **28** (2023) 3379–3440.
15. Z. Zhou, Y. Huang, L. Shi, J. Hu, *J. Org. Chem.* **57** (1992) 6598–6603.
16. Y. Nishimura, T. Shiraishi, M. Yamaguchi, *Tetrahedron Lett.* **49** (2008) 3492–3495.
17. C. P. Burke, Y. Shi, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 4093–4097.
18. E. L. Bell, W. Finnigan, S. P. France, A. P. Green, M. A. Hayes, L. J. Hepworth, S. L. Lovelock, H. Niikura, S. Osuna, E. Romero, K. S. Ryan, N. J. Turner, S. L. Flitsch, *Nat Rev Methods Primers* **1** (2021) 1–21.
19. Z. Findrik Blažević, N. Milčić, M. Sudar, M. Majerić Elenkov, *Adv. Synth. Catal.* **363** (2021) 388–410.
20. J. H. Lutje Spelberg, E. J. de Vries, u K. Drauz, H. Gröger, O. May (ur.), *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2012, 3. izdanje, Vol. 1, str. 363–416.
21. M. Schallmey, R. J. Floor, W. Szymański, D. B. Janssen, u E. M. Carreira, H. Yamamoto (ur.), *Comprehensive chirality*, Elsevier, Amsterdam, 2012, str. 143–155.

22. M. Majerić Elenkov, W. Szymański, D. B. Janssen, u K. Faber, W.-D. Fessner, N. Turner (ur.), *Science of synthesis. Biocatalysis in organic synthesis 2*, 1. izdanje, Vol. 2, Thieme, Stuttgart, 2015, str. 507–527.
23. J. Deregnacourt, A. Archelas, F. Barbirato, J.-M. Paris, R. Furstoss, *Adv. Synth. Catal.* **349** (2007) 1405–1417.
24. A. Steinreiber, I. Osprian, S. F. Mayer, R. V. A. Orru, K. Faber, *Eur. J. Org. Chem.* **2000** (2000) 3703–3711.
25. A. L. Botes, C. A. G. M. Weijers, P. J. Botes, M. S. van Dyk, *Tetrahedron: Asymmetry* **10** (1999) 3327–3336.
26. M. T. Reetz, C. Torre, A. Eipper, R. Lohmer, M. Hermes, B. Brunner, A. Maichele, M. Bocola, M. Arand, A. Cronin, Y. Genzel, A. Archelas, R. Furstoss, *Org. Lett.* **6** (2004) 177–180.
27. G. Hasnaoui-Dijoux, M. Majerić Elenkov, J. H. Lutje Spelberg, B. Hauer, D. B. Janssen, *Chembiochem* **9** (2008) 1048–1051.
28. M. Schallmey, J. Koopmeiners, E. Wells, R. Wardenga, A. Schallmey, *Appl. Environ. Microbiol.* **80** (2014) 7303–7315.
29. M. M. Elenkov, I. Primožič, T. Hrenar, A. Smolko, I. Dokli, B. Salopek-Sondi, L. Tang, *Org. Biomol. Chem.* **10** (2012) 5063–5072.
30. E. Mehić, L. Hok, Q. Wang, I. Dokli, M. S. Miklenić, Z. F. Blažević, L. Tang, R. Vianello, M. M. Elenkov, *Adv. Synth. Catal.* **364** (2022) 2576–2588.
31. A. Mikleušević, I. Primožič, T. Hrenar, B. Salopek-Sondi, L. Tang, M. M. Elenkov, *Tetrahedron: Asymmetry* **27** (2016) 930–935.
32. J. Wessel, G. Petrillo, M. Estevez-Gay, S. Bosch, M. Seeger, W. P. Dijkman, J. Iglesias-Fernández, A. Hidalgo, I. Uson, S. Osuna, A. Schallmey, *FEBS J.* **288** (2021) 4683–4701.
33. L. G. Wade, J. W. Simek, *Organic Chemistry*, 9. izdanje, Pearson, 2017, str. 393–398.
34. H. K. Sheikh, T. Arshad, M. Merajoddin, Z. S. Mohammad, R. Usman, M. M. Hasan, *Pak. J. Pharm. Sci.* **33** (2020) 2017–2021.
35. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, *Organic Chemistry*, 2. izdanje, Oxford University Press, New York, 2012, str. 671.
36. F. Ferreira, A. Denichoux, F. Chemla, J. Bejjani, *Synlett.* **12** (2004) 2051–2065.
37. M.-R. Qiu, H.-X. Zheng, J.-J. Ye, B.-X. Yan, C.-Q. Zhao, Q. Li, *Org. Biomol. Chem.* **18** (2020) 3017–3021.
38. P. Li, J. Yang, Y. Wei, M. Shi, *ChemistryOpen* **6** (2016) 21–24.
39. V. L. Mamedova, G. Z. Khikmatova, D. E. Korshin, S. V. K. Mamedova, E. L. Gavrilova, V. A. O. Mamedov, *Russ. Chem. Rev.* **91** (2022) RCR5049.
40. L. Wang, M. L. Maddess, M. Lautens, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 1822–1825.

41. W. B. Austin, N. Bilow, W. J. Kelleghan, K. S. Y. Lau, *J. Org. Chem.* **46** (1981) 2280–2286.
42. D. Miller, *J. Chem. Soc. C* (1969) 12–15.
43. X. Li, C. Han, Y. Huang, H. Yao, A. Lin, *Org. Chem. Front.* **6** (2019) 245–248.
44. G. Hattori, A. Yoshida, Y. Miyake, Y. Nishibayashi, *J. Org. Chem.* **74** (2009) 7603–7607.
45. M. Shimizu, T. Fujimoto, H. Minezaki, T. Hata, T. Hiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 6947–6948.
46. M. Shimizu, T. Fujimoto, X. Liu, H. Minezaki, T. Hata, T. Hiyama, *Tetrahedron* **59** (2003) 9811–9823.
47. G. A. Russell, F. Ros, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 7349–7351.
48. P. A. Allegretti, E. M. Ferreira, *Org. Lett.* **13** (2011) 5924–5927.
49. A.-H. Li, L.-X. Dai, V. K. Aggarwal, *Chem. Rev.* **97** (1997) 2341–2372.
50. T. Kawashima, R. Okazaki, *Synlett* **1996** (2000) 600–608.
51. C. Z. Rotsides, C. Hu, K. A. Woerpel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **52** (2013) 13033–13036.
52. G. A. Guerrero-Vásquez, N. Chinchilla, J. M. G. Molinillo, F. A. Macías, *J. Nat. Prod.* **77** (2014) 2029–2036.
53. S. Li, P. Li, J. Xu, *Helv. Chim. Acta* **102** (2019) e1900164.
54. T. Katsuki, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **102** (1980) 5974–5976.
55. V. K. Aggarwal, I. Bae, H.-Y. Lee, J. Richardson, D. T. Williams, *Angew. Chem. Int. Ed.* **42** (2003) 3274–3278.
56. V. K. Aggarwal, J. Richardson, *Chem. Commun.* **21** (2003) 2644–2651.
57. R. A. Stockman, u A. Charette, J. Bode, T. Rovis, R. Shenvi (ur.) *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, doi: 10.1002/047084289X.rn00822
58. E. Alfonzo, F. S. Alfonso, A. B. Beeler, *Org. Lett.* **19** (2017) 2989–2992.
59. S. E. Drewes, D. Douglass, D. G. S. Malissar, G. H. P. Roos, P. T. Kaye, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1** (1990) 1507–1511.
60. A. Mengel, O. Reiser, *Chem. Rev.* **99** (1999) 1191–1224.
61. L. Huang, S.-C. Zheng, B. Tan, X.-Y. Liu, *Chem. Eur. J.* **21** (2015) 6718–6722.
62. J. Y. Kang, B. T. Connell, *J. Org. Chem.* **76** (2011) 2379–2383.
63. C. J. Elsevier, P. Vermeer, *J. Org. Chem.* **54** (1989) 3726–3730.
64. A. Fürstner, M. Méndez, *Angew. Chem. Int. Ed.* **42** (2003) 5355–5357.
65. Y.-X. Xie, X.-Y. Liu, L.-Y. Wu, Y. Han, L.-B. Zhao, M.-J. Fan, Y.-M. Liang, *Eur. J. Org. Chem.* **2008** (2008) 1013–1018.
66. P. J. Boniface, R. C. Cambie, C. Higgs, P. S. Rutledge, P. D. Woodgate, *Aust. J. Chem.* **48** (1995) 1089–1106.



67. A. Senthilvelan, M. Shanmugasundaram, A. R. Kore, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **38** (2019) 418–427.
68. J. I. Bowen, L. Wang, M. P. Crump, C. L. Willis, *Org. Biomol. Chem.* **20** (2022) 1150–1175.
69. R. Julina, T. Herzig, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **69** (1986) 368–373.
70. N. Furuichi, H. Hara, T. Osaki, H. Mori, S. Katsumura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **41** (2002) 1023–1026.
71. N. Kato, S. Shimamura, S. Khan, F. Takeda, Y. Kikai, M. Hirama, *Tetrahedron* **60** (2004) 3161–3172.
72. C. Chin, E. R. H. Jones, V. Thaller, R. T. Aplin, L. J. Durham, S. C. Cascon, W. B. Mors, B. M. Tursch, *Chem. Commun. (London)* (1965) 152–154.
73. M. J. Mitcheltree, J. W. Stevenson, A. Pisipati, A. G. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* **143** (2021) 6829–6835.
74. M. Hébert, G. Bellavance, L. Barriault, *J. Am. Chem. Soc.* **144** (2022) 17792–17796.
75. F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry, Part A: Structure and Mechanisms*, Springer, 5. izdanje. New York, 2007, str. 119–253.
76. G. P. Moss, *Pure Appl. Chem.* **68** (1996) 2193–2222.
77. G. Helmchen, *Chirality* **35** (2023) 469–476.
78. R. A. Aitken, S. N. Kilényi (ur.), *Asymmetric Synthesis*, Springer, Dordrecht, 1992, str. 33–192.
79. R. E. Gowley, J. Aubé, *Principles of Asymmetric Synthesis*, 2. izdanje, Elsevier, Oxford, 2012, str. 1–95.
80. T. J. Ward, K. D. Ward, *Anal. Chem.* **84** (2012) 626–635.
81. R. D. McKelvey, *J. Chem. Educ.* **73** (1996) A174.
82. D. Rotticci, *Understanding and engineering the enantioselectivity of Candida Antarctica lipase B towards sec-alcohols*, doktorski rad, 2000, str. 8–10.
83. H. Lebel, E. N. Jacobsen, *Tetrahedron Lett.* **40** (1999) 7303–7306.
84. C. S. Chen, Y. Fujimoto, G. Girdaukas, C. J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 7294–7299.
85. C. S. Chen, S. H. Wu, G. Girdaukas, C. J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 2812–2817.
86. K. Faber, S. Riva, *Synthesis* **1992** (2002) 895–910.
87. J. L. L. Rakels, A. J. J. Straathof, J. J. Heijnen, *Enzyme Microb. Technol.* **15** (1993) 1051–1056.
88. K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2011.
89. H. Stecher, K. Faber, *Synthesis* **1997** (2000) 1–16.
90. A. L. E. Larsson, B. A. Persson, J.-E. Bäckvall, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **36** (1997) 1211–1212.
91. C. E. Castro, E. W. Bartnicki, *Biochemistry* **7** (1968) 3213–3218.

92. R. Rink, M. Fennema, M. Smids, U. Dehmel, D. B. Janssen, *J. Biol. Chem.* **272** (1997) 14650–14657.
93. T. Nakamura, T. Nagasawa, Y. Fujio, I. Watanabe, H. Yamada, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **180** (1991) 124–130.
94. R. M. de Jong, J. J. W. Tiesinga, H. J. Rozeboom, K. H. Kalk, L. Tang, D. B. Janssen, B. W. Dijkstra, *EMBO J.* **22** (2003) 4933–4944.
95. A. Schallmey, M. Schallmey, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100** (2016) 7827–7839.
96. M. M. Elenkov, B. Hauer, D. B. Janssen, *Adv. Synth. Catal.* **348** (2006) 579–585.
97. M. M. Elenkov, H. W. Hoeffken, L. Tang, B. Hauer, D. B. Janssen, *Adv. Synth. Catal.* **349** (2007) 2279–2285.
98. J. H. Lutje Spelberg, J. E. T. van Hylckama Vlieg, L. Tang, D. B. Janssen, R. M. Kellogg, *Org. Lett.* **3** (2001) 41–43.
99. G. Hasnaoui, J. H. Lutje Spelberg, E. de Vries, L. Tang, B. Hauer, D. B. Janssen, *Tetrahedron: Asymmetry* **16** (2005) 1685–1692.
100. M. M. Elenkov, L. Tang, A. Meetsma, B. Hauer, D. B. Janssen, *Org. Lett.* **10** (2008) 2417–2420.
101. A. Mikleušević, Z. Hameršak, B. Salopek-Sondi, L. Tang, D. B. Janssen, M. Majerić Elenkov, *Adv. Synth. Catal.* **357** (2015) 1709–1714.
102. J. H. Lutje Spelberg, L. Tang, R. M. Kellogg, D. B. Janssen, *Tetrahedron: Asymmetry* **15** (2004) 1095–1102.
103. L. Tang, D. E. Torres Pazmiño, M. W. Fraaije, R. M. de Jong, B. W. Dijkstra, D. B. Janssen, *Biochemistry* **44** (2005) 6609–6618.
104. L. Tang, A. E. J. van Merode, J. H. Lutje Spelberg, M. W. Fraaije, D. B. Janssen, *Biochemistry* **42** (2003) 14057–14065.
105. M. Majerić Elenkov, L. Tang, B. Hauer, D. B. Janssen, *Org. Lett.* **8** (2006) 4227–4229.
106. L. Tang, X. Zhu, H. Zheng, R. Jiang, M. Majerić Elenkov, *Appl. Environ. Microbiol.* **78** (2012) 2631–2637.
107. R. J. Fox, S. C. Davis, E. C. Mundorff, L. M. Newman, V. Gavrilovic, S. K. Ma, L. M. Chung, C. Ching, S. Tam, S. Muley, J. Grate, J. Gruber, J. C. Whitman, R. A. Sheldon, G. W. Huisman, *Nat. Biotechnol.* **25** (2007) 338–344.
108. N. Milčić, P. Švaco, M. Sudar, L. Tang, Z. Findrik Blažević, M. Majerić Elenkov, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **107** (2023) 2351–2361.
109. N. Milčić, M. Sudar, I. Dokli, M. M. Elenkov, Z. F. Blažević, *React. Chem. Eng.* **8** (2023) 673–686.

110. N. Milčić, M. Sudar, A.-K. Marić, K. Kos, M. Majerić Elenkov, Z. Findrik Blažević, *Ind. Eng. Chem. Res.* **63** (2024) 7051–7063.
111. M. M. Bradford, *Anal Biochem* **72** (1976) 248–254.
112. I. Pérez, J. P. Sestelo, L. A. Sarandeses, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 4155–4160.
113. Y. Wang, B. Huang, S. Sheng, M. Cai, *J. Chem. Res.* **2007** (2007) 728–732.
114. B. Morandi, J. Cheang, E. M. Carreira, *Org Lett* **13** (2011) 3080–3081.
115. Y. Zhang, B. Yu, B. Gao, T. Zhang, H. Huang, *Org Lett* **21** (2019) 535–539.
116. B. Kang, D. H. Kim, Y. Do, S. Chang, *Org. Lett.* **5** (2003) 3041–3043.
117. T. Hatakeyama, Y. Yoshimoto, T. Gabriel, M. Nakamura, *Org. Lett.* **10** (2008) 5341–5344.
118. J.-K. Cheng, T.-P. Loh, *J. Am. Chem. Soc.* **137** (2015) 42–45.
119. K. M. Miller, T. Luanphaisarnnont, C. Molinaro, T. F. Jamison, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 4130–4131.
120. J. Waser, J. C. González-Gómez, H. Nambu, P. Huber, E. M. Carreira, *Org. Lett.* **7** (2005) 4249–4252.
121. A. Le Flohic, C. Meyer, J. Cossy, *Tetrahedron* **62** (2006) 9017–9037.
122. A. Hamze, O. Provot, J.-D. Brion, M. Alami, *J. Org. Chem.* **72** (2007) 3868–3874.
123. A. B. Charette, C. Molinaro, C. Brochu, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 12168–12175.
124. P. Wessig, G. Müller, R. Herre, A. Kühn, *Helv. Chim. Acta* **89** (2006) 2694–2719.
125. D. Chen, G. Xing, J. Yao, H. Zhou, *RSC Advances* **6** (2016) 103320–103323.
126. X.-H. Chang, Z.-L. Liu, Y.-C. Luo, C. Yang, X.-W. Liu, B.-C. Da, J.-J. Li, T. Ahmad, T.-P. Loh, Y.-H. Xu, *Chem. Commun.* **53** (2017) 9344–9347.
127. E. Öberg, B. Schäfer, X.-L. Geng, J. Pettersson, Q. Hu, M. Kritikos, T. Rasmussen, S. Ott, *J. Org. Chem.* **74** (2009) 9265–9273.
128. P. Weyerstahl, J. Brendel, *Liebigs Ann.* **1992** (1992) 669–678.
129. M. D. Bartberger, W. R. Dolbier, J. Luszyk, K. U. Ingold, *Tetrahedron* **53** (1997) 9857–9880.
130. J. F. Hayes, M. Shipman, H. Twin, *J. Org. Chem.* **67** (2002) 935–942.
131. H. Y. Choi, D. Y. Chi, *Org Lett* **5** (2003) 411–414.
132. D. O’Hagan, J. White, D. A. Jones, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **34** (1994) 871–880.
133. M.-L. Chen, Y.-Q. Huang, J.-Q. Liu, B.-F. Yuan, Y.-Q. Feng, *J. Chromatogr. B* **879** (2011) 938–944.
134. C.-X. Xia, Z. Li, R. Ye, Z.-J. Wu, Y. Ren, K. Wang, L.-G. Meng, *Org. Lett.* **26** (2024) 3530–3535.
135. X. Sun, X. Li, S. Song, Y. Zhu, Y.-F. Liang, N. Jiao, *J. Am. Chem. Soc.* **137** (2015) 6059–6066.
136. <http://biocatalysis.uni-graz.at/biocatalysis-tools/enantio>
137. I. C. González, C. J. Forsyth, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 9099–9108.

138. O. de Lucchi, U. Miotti, G. Modena, u L. E. Overman (ur.), *Organic Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, 2004, str. 157–405.
139. J. J. Harnett, L. Alcaraz, C. Mioskowski, J. P. Martel, T. Le Gall, D.-S. Shin, J. R. Falck, *Tetrahedron Lett.* **35** (1994) 2009–2012.
140. P. Mosset, R. Grée, *Synth, Commun.* **15** (1985) 749–757.
141. S. C. Welch, A. S. C. P. Rao, *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979) 6135–6136.
142. V. G. Dryuk, *Tetrahedron* **32** (1976) 2855–2866.
143. J. Toullec, M. El-Alaoui, *J. Org. Chem.* **51** (1986) 4054–4061.
144. R. R. Gallucci, R. Going, *J. Org. Chem.* **46** (1981) 2532–2538.
145. E. W. Jr. Garbisch, *J. Org. Chem.* **30** (1965) 2109–2120.
146. J. Toullec, J. E. Dubois, *J. Am. Chem. Soc.* **98** (1976) 5518–5524.
147. M. Bettahar, M. Charpentier, *J. Chem. Soc. D* (1970) 629–630.
148. *Org. Synth.* **55** (1976) 24.
149. J. P. Mason, L. I. Terry, *J. Am. Chem. Soc.* **62** (1940) 1622–1622.
150. H. Y. Choi, D. Y. Chi, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 9202–9203.
151. A. Krasovskiy, P. Knochel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43** (2004) 3333–3336.
152. M. Hatano, O. Ito, S. Suzuki, K. Ishihara, *J. Org. Chem.* **75** (2010) 5008–5016.
153. M. Hatano, O. Ito, S. Suzuki, K. Ishihara, *Chem. Commun.* **46** (2010) 2674–2676.
154. M. Hatano, S. Suzuki, K. Ishihara, *Synlett* **2010** (2010) 321–324.
155. M. Hatano, S. Suzuki, K. Ishihara, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 9998–9999.
156. F. G. Bordwell, *Acc. Chem. Res.* **21** (1988) 456–463.
157. F. G. Bordwell, J. A. Harrelson Jr, *Can. J. Chem.* **68** (1990) 1714–1718.
158. L. L. Dmitrieva, L. P. Nikitina, A. I. Albanov, N. A. Nedolya, *Russ. J. Org. Chem.* **41** (2005) 1583–1593.
159. M. Hatano, M. Mizuno, K. Ishihara, *Org. Lett.* **18** (2016) 4462 – 4465.
160. M. M. Campbell, Graham. Johnson, *Chem. Rev.* **78** (1978) 65–79.
161. T. Nishikawa, S. Shibuya, S. Hosokawa, M. Isobe, *Synlett* **1994** (1994) 485–486.
162. X. Liu, G. Chen, C. Li, P. Liu, *Synlett* **29** (2018) 2051–2055.
163. R. A. Jacobson, W. H. Carothers, *J. Am. Chem. Soc.* **55** (1933) 4667–4669.
164. T. H. Vaughn, J. A. Nieuwland, *J. Chem. Soc.* (1933) 741–743.
165. T. Omata, K. Sunada, H. Takeshita, K. Takenaka, T. Shiomi, *KOBUNSHI RONBUNSHU* **64** (2007) 697–704, <https://doi.org/10.1295/koron.64.697>
166. L.-J. Wang, S. Liao, L.-Y. Wang, *Bull. Kor. Chem. Soc.* **32** (2011) 1471–1474.
167. J. Kappler, S. V. Klostermann, P. L. Lange, M. Dyballa, L. Veith, T. Schleid, T. Weil, J. Kästner, M. R. Buchmeiser, *Batter. Supercaps* **6** (2023) e202200522.

- 
168. K. Banert, *Chem. Ber.* **122** (1989) 911–918.
169. K. Banert, *Chem. Ber.* **122** (1989) 1963–1967.
170. G. L'abbé, M. Mahy, M. Bollyn, G. Germain, G. Scheefer, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **92** (1983) 881–891.
171. B. Lin, Y. Tao, *Microb. Cell Fact.* **16** (2017) 106.
172. E. N. da Silva, R. F. S. Menna-Barreto, M. do C. F. R. Pinto, R. S. F. Silva, D. V. Teixeira, M. C. B. V. de Souza, C. A. De Simone, S. L. De Castro, V. F. Ferreira, A. V. Pinto, *Eur. J. Med. Chem.* **43** (2008) 1774–1780.
173. S. B. B. Bahia, W. J. Reis, G. A. M. Jardim, F. T. Souto, C. A. de Simone, C. C. Gatto, R. F. S. Menna-Barreto, S. L. de Castro, B. C. Cavalcanti, C. Pessoa, M. H. Araujo, E. N. da S. Júnior, *Med. Chem. Commun.* **7** (2016) 1555–1563.

## § 8. DODACI

### 8.1. Tablice

**Tablica D1.1.** Analiza propargil-spojeva GC-om i HPLC-om. Korištene kolone: HP-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m, Agilent) za akiralne analize; Beta-DEX 225 (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m, Supelco), CP-Chirasil-Dex CB (25 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m, Varian), Hydrodex g-DiMOM (25 m x 0.25 mm, Macherey-Nagel) te Chiralpak IC-3 (3  $\mu$ m, 4.6 mm x 250 mm) za kiralne analize.

|            | Metoda | Kolona       | Uvjeti                                  | $t_R$ / min         |
|------------|--------|--------------|---|---------------------|
| <b>6a</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 8,8                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 14,9 (S) / 15,2 (R) |
| <b>12a</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 11,3                |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 28,0 (S) / 28,2 (R) |
|            | HPLC   | IC-3         | 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min  | 21,1 (S) / 22,3 (R) |
| <b>13a</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 13,0                |
|            | HPLC   | IC-3         | 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min  | 15,9 (R) / 17,0 (S) |
| <b>6b</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 8,7                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 14,1 (S) / 14,3 (R) |
| <b>12b</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 11,2                |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 27,6 (S) / 27,9 (R) |
| <b>13b</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 12,9                |
|            | HPLC   | IC-3         | 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min  | 14,7 (R) / 16,1 (S) |
| <b>6c</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 7,7                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 10,9 (S) / 11,1 (R) |
| <b>12c</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 10,4                |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 24,8 (S) / 25,1 (R) |
| <b>13c</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 12,1                |
|            | HPLC   | IC-3         | 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min  | 14,9 (R) / 16,0 (S) |
| <b>6d</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 6,3                 |
|            | GC     | Chirasil-dex | 80 °C 2 min 3 °C/min do 150 °C, 5 min   | 13,9 (R) / 14,2 (S) |
| <b>12d</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 9,0                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min | 16,4 (S) / 16,8 (R) |
| <b>13d</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 10,7                |
| <b>6e</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min | 2,9                 |

Tablica D1.1. (nastavak)

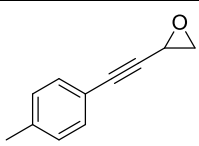
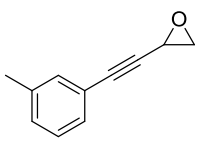
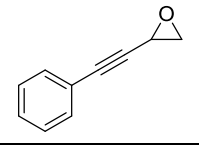
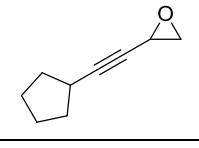
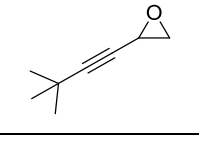
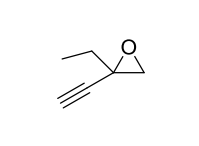
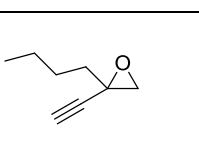
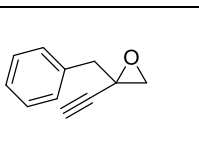
|            | Metoda | Kolona       | Uvjeti   | $t_R$ / min         |
|------------|--------|--------------|--|---------------------|
| <b>6e</b>  | GC     | Chirasil-dex | 60 °C 2 min 3 °C/min do 200 °C, 5 min                        | 8,1 (R) / 8,6 (S)   |
| <b>12e</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 6,2                 |
| <b>12e</b> | GC     | Betadex 225  | 120 °C 2 min, 3 °C/min 200 °C, 2 min                         | 6,9 (S) / 7,4 (R)   |
| <b>13e</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 8,7                 |
| <b>6h</b>  | GC     | HP5          | 40 °C 2 min, 10 °C/min do 200 °C, 5 min                      | 1,2                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 40 °C, 1 °C/min do 110 °C, 15 °C/min do 200 °C               | 21,1 (R) / 21,7 (S) |
| <b>12f</b> | GC     | HP5          | 40 °C 2 min, 10 °C/min do 200 °C, 5 min                      | 5,3                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 40 °C, 1 °C/min do 110 °C, 15 °C/min do 200 °C               | 66,1 (S) / 68,6 (R) |
| <b>6i</b>  | GC     | HP5          | 40 °C 2 min, 10 °C/min do 200 °C, 5 min                      | 3,4                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 40 °C, 1 °C/min do 75 °C, 2 °C/min do 165 °C                 | 29,3 (R) / 30,8 (S) |
| <b>12g</b> | GC     | HP5          | 40 °C 2 min, 10 °C/min do 200 °C, 5 min                      | 8,4                 |
|            | GC     | Betadex 225  | 40 °C, 1 °C/min do 75 °C, 2 °C/min do 165 °C                 | 62,7 (S) / 63,9 (R) |
| <b>6j</b>  | GC     | HP5          | 40 °C 2 min, 10 °C/min do 200 °C, 5 min                      | 9,3                 |
|            | GC     | Hydrodex     | 60 °C, 2 min, 3 °C/min do 130 °C, 15 °C/min do 200 °C, 5 min | 21,1 (R) / 21,7 (S) |
| <b>12h</b> | GC     | HP5          | 40 °C 2 min, 10 °C/min do 200 °C, 5 min                      | 13,0                |
|            | GC     | Betadex 225  | 40 °C, 2 min, 3 °C/min do 175 °C                             | 39,7 (R) / 40,5 (S) |
| <b>6h</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 8,1                 |
|            | GC     | Chirasil-dex | 80 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min                       | 21,0 (S) / 21,7 (R) |
| <b>12i</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 10,0                |
|            | GC     | Chirasil-dex | 80 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min                       | 32,8 (S) / 33,0 (R) |
| <b>13f</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 12,3                |
| <b>6k</b>  | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 10,2                |
|            | GC     | Betadex 225  | 80 °C 2 min, 3 °C/min do 200 °C, 2 min                       | 31,3 (S) / 31,9 (R) |
| <b>12j</b> | GC     | HP5          | 50 °C 2 min, 15 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 12,1                |
|            | GC     | Chirasil-dex | 140 °C 2 min, 1 °C/min do 200 °C, 2 min                      | 34,6 (S) / 35,0 (R) |

Tablica D1.2. Kemijska hidroliza propargil-epoksida

| $t$ / h | $c$ / mmol dm <sup>-3</sup> |           |           |           |                   |           |           |           |           |
|---------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|         | <b>6a</b>                   | <b>6b</b> | <b>6c</b> | <b>6d</b> | <b>6e</b>         | <b>6h</b> | <b>6i</b> | <b>6j</b> | <b>6k</b> |
| 0       | 2,00                        | 2,00      | 2,00      | 2,00      | 2,00              | 2,00      | 2,00      | 2,00      | 2,00      |
| 1       | 1,98                        | 1,96      | 2,08      | 1,88      | 1,83              | 2,04      | 2,00      | 2,00      | 1,90      |
| 2       | 1,94                        | 1,93      | 1,95      | 1,85      | 1,63 <sup>a</sup> | 1,99      | 1,98      | 1,97      | 1,81      |
| 3       | 1,94                        | 2,13      | 2,00      | 1,79      | 1,56              | 1,98      | 1,96      | 1,97      | 1,61      |
| 4       | 1,84                        | 2,08      | 1,89      | 1,70      | 1,49              | 1,97      | 1,94      | 1,96      | 1,50      |

<sup>a</sup> na 2,33 h

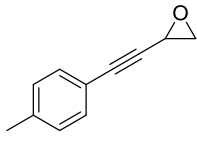
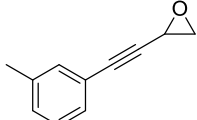
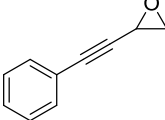
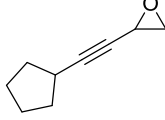
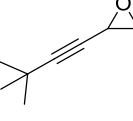
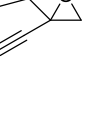
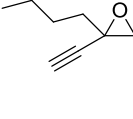
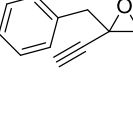
**Tablica D1.3.** Kinetička rezolucija spojeva **6a-e,h-j** (2 mM) u prisutnosti  $\text{NaN}_3$  katalizirana halogenhidrin-dehalogenazom HheC

| epoksid   | <i>t</i> / h          | Konverzija<br>/ % <sup>a,b,c</sup> | <i>ee</i> / % <sup>d</sup> |                 | 12 / 13 <sup>a,e</sup> | <i>E</i> <sup>c</sup> |       |
|---|-----------------------|------------------------------------|----------------------------|-----------------|------------------------|-----------------------|-------|
|   |                       |                                    | ( <i>S</i> )-6             | ( <i>R</i> )-12 |                        |                       |       |
|    | <b>6a</b>             | 0,5                                | 37 (37)                    | 57              | > 99                   | 98 : 2                | > 200 |
|   |                       | 1                                  | 45 (44)                    | 79              | > 99                   | 98 : 2                | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 53 (47)                    | 88              | > 99                   | 98 : 2                | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 52 (47)                    | 88              | > 99                   | 98 : 2                | > 200 |
|    | <b>6b</b>             | 0,5                                | 0                          | -               | -                      | -                     | -     |
|   |                       | 1                                  | 8 (10)                     | 11              | > 99                   | 97 : 3                | -     |
|   |                       | 2                                  | 19 (17)                    | 21              | > 99                   | 98 : 2                | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 29 (23)                    | 29              | > 99                   | 97 : 3                | > 200 |
|    | <b>6c</b>             | 1                                  | 31 (30)                    | 42              | > 99                   | 98 : 2                | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 44 (41)                    | 67              | 98                     | 99 : 1                | 199   |
|   |                       | 3                                  | 51 (45)                    | 80              | 98                     | 99 : 1                | > 200 |
|   |                       | 4                                  | 53 (47)                    | 88              | 98                     | 99 : 1                | > 200 |
|   | <b>6d</b>             | 0,5                                | 17 (11)                    | 12              | > 99                   | 95 : 5                | -     |
|   |                       | 1                                  | 25 (19)                    | 23              | > 99                   | 96 : 4                | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 37 (28)                    | 38              | > 99                   | 96 : 4                | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 45 (32)                    | 47              | > 99                   | 96 : 4                | > 200 |
|  | <b>6e<sup>f</sup></b> | 1                                  | 16 (-)                     | -               | -                      | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 26 (5)                     | 6               | > 99                   | 88 : 12               | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 33 (10)                    | 12              | > 99                   | 93 : 7                | > 200 |
|   |                       | 4                                  | 40 (10)                    | 11              | > 99                   | 96 : 4                | > 200 |
|  | <b>6h</b>             | 1                                  | 12 (36)                    | 34              | 59                     | > 99 : 1              | 5     |
|   |                       | 2                                  | 28 (37)                    | 52              | 88                     | > 99 : 1              | 25    |
|   |                       | 3                                  | 37 (43)                    | 64              | 85                     | > 99 : 1              | 24    |
|   |                       | 4                                  | 36 (46)                    | 78              | 91                     | > 99 : 1              | 49    |
|   |                       | 5                                  | 45 (48)                    | 86              | 91                     | > 99 : 1              | 60    |
|  | <b>6i</b>             | 1                                  | 32 (30)                    | 42              | > 99                   | > 99 : 1              | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 41 (39)                    | 64              | > 99                   | > 99 : 1              | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 46 (44)                    | 77              | > 99                   | > 99 : 1              | > 200 |
|   |                       | 4                                  | 48 (46)                    | 83              | > 99                   | > 99 : 1              | > 200 |
|  | <b>6j</b>             | 1                                  | 4 (-)                      | -               | -                      | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 3 (-)                      | -               | -                      | -                     | -     |
|   |                       | 3                                  | 3 (-)                      | -               | -                      | -                     | -     |
|   |                       | 4                                  | 10 (-)                     | -               | -                      | -                     | -     |

<sup>a</sup> određeno GC analizom na akiralnoj koloni; <sup>b</sup> enzimatska konverzija u zagradama, <sup>c</sup> izračunato iz *ee<sub>s</sub>* i *ee<sub>p</sub>*; <sup>d</sup> određeno GC analizom na kiralnim kolonama; <sup>e</sup> spojevi **13** nisu detektirani na kiralnim GC kolonama; <sup>f</sup> dvostruka količina enzima

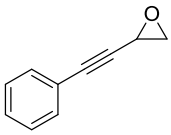
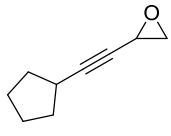
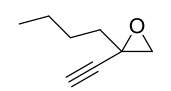
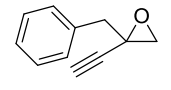
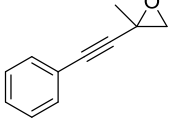


**Tablica D1.4.** Kinetička rezolucija spojeva **6a-e,h-j** (2 mM) u prisutnosti  $\text{NaN}_3$  katalizirana halogenhidrin-dehalogenazom HheA-N178A

| epoksid   | <i>t</i> / h          | Konverzija<br>/ % <sup>a,b,c</sup> | <i>ee</i> / % <sup>d</sup> |                         |                         | <b>12</b> / <b>13</b> <sup>a,e</sup> | <i>E</i> <sup>c</sup> |       |
|---|-----------------------|------------------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-------|
|   |                       |                                    | ( <i>R</i> )- <b>6</b>     | ( <i>S</i> )- <b>12</b> | ( <i>R</i> )- <b>13</b> |                                      |                       |       |
|    | <b>6a</b>             | 0,5                                | 33 (34)                    | 50                      | > 99                    | -                                    | 54 : 46               | > 200 |
|   |                       | 1                                  | 45 (43)                    | 76                      | > 99                    | -                                    | 55 : 45               | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 51 (47)                    | 88                      | > 99                    | 82                                   | 54 : 46               | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 52 (47)                    | 89                      | > 99                    | -                                    | 54 : 46               | > 200 |
|    | <b>6b</b>             | 0,5                                | 18 (-)                     | -                       | -                       | -                                    | 69 : 31               | -     |
|   |                       | 1                                  | 28 (27)                    | 37                      | > 99                    | -                                    | 72 : 28               | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 44 (40)                    | 65                      | > 99                    | -                                    | 72 : 28               | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 51 (44)                    | 78                      | > 99                    | 80                                   | 71 : 29               | > 200 |
|    | <b>6c</b>             | 1                                  | 31 (23)                    | 30                      | > 99                    | -                                    | 68 : 32               | > 200 |
|   |                       | 2                                  | 42 (35)                    | 52                      | > 98                    | -                                    | 67 : 33               | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 46 (41)                    | 68                      | > 98                    | -                                    | 66 : 34               | > 200 |
|   |                       | 4                                  | 54 (44)                    | 79                      | > 98                    | 80                                   | 66 : 34               | > 200 |
|   | <b>6d</b>             | 0,5                                | 6 (3)                      | 3                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 1                                  | 9 (4)                      | 4                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 15 (6)                     | 6                       | > 99                    | -                                    | 67 : 33               | > 200 |
|   |                       | 3                                  | 26 (7)                     | 7                       | > 99                    | -                                    | 70 : 30               | > 200 |
|  | <b>6e<sup>f</sup></b> | 1                                  | 13 (-)                     | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 23 (3)                     | 3                       | > 99                    | -                                    | 52 : 48               | -     |
|   |                       | 3                                  | 28 (9)                     | 10                      | > 99                    | -                                    | 74 : 26               | -     |
|   |                       | 4                                  | 33 (5)                     | 5                       | > 99                    | -                                    | 90 : 10               | > 200 |
|  | <b>6h</b>             | 1                                  | 0                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 2                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 3                                  | 6                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 4                                  | 8                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 5                                  | 3                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|  | <b>6i</b>             | 1                                  | 0                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 3                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 3                                  | 7 (11)                     | 6                       | 45                      | -                                    | > 99 : 1              | 3     |
|   |                       | 4                                  | 9 (9)                      | 7                       | 71                      | -                                    | > 99 : 1              | 6     |
|  | <b>6j</b>             | 1                                  | 1                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 2                                  | 0                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 3                                  | 0                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |
|   |                       | 4                                  | 0                          | -                       | -                       | -                                    | -                     | -     |

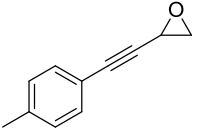
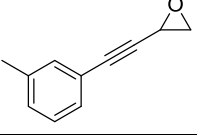
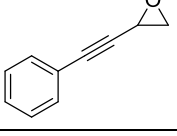
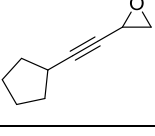
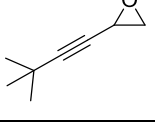
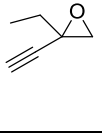
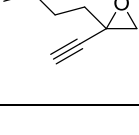
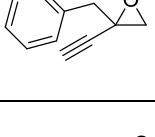
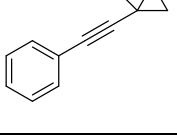
<sup>a</sup> određeno GC analizom na akiralnoj koloni; <sup>b</sup> enzimatska konverzija u zagradama; <sup>c</sup> izračunata iz *ee*<sub>s</sub> i *ee*<sub>p</sub>; <sup>d</sup> određeno GC analizom na kiralnim kolonama; <sup>e</sup> spojevi **13** nisu detektirani na kiralnim GC kolonama; <sup>f</sup> dvostruka količina enzima

**Tablica D1.5.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida (2 mM) u prisutnosti  $\text{NaN}_3$  katalizirana halogenhidrin-dehalogenazama B tipa

| epoksid   | HHDH        | <i>t</i> / h | Konverzija<br>/ % <sup>a,b,c</sup> | <i>ee</i> / % <sup>d</sup> |                         | <b>12 / 13</b> <sup>a,e</sup> | <i>E</i> <sup>c</sup> |       |
|---|-------------|--------------|------------------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------------|-----------------------|-------|
|   |             |              |                                    | ( <i>S</i> )- <b>6</b>     | ( <i>R</i> )- <b>12</b> |                               |                       |       |
|    | <b>6c</b>   | HheB         | 0,5                                | 12 (5)                     | 2                       | 37                            | 95 : 5                | 2     |
|   |             |              | 1,33                               | 22 (6)                     | 4                       | 63                            | 94 : 6                | 5     |
|   |             |              | 2                                  | 30 (10)                    | 5                       | 45                            | 94 : 6                | 3     |
|   |             |              | 3                                  | 42 (12)                    | 7                       | 52                            | 93 : 7                | 3     |
|   |             |              | 3,75                               | 43 (20)                    | 13                      | 53                            | 93 : 7                | 4     |
|    | <b>6d</b>   | HheB         | 0,5                                | 25                         | -                       | 64                            | 78 : 22               | -     |
|   |             |              | 1,33                               | 48 (9)                     | 7                       | 68                            | 80 : 20               | 6     |
|   |             |              | 2                                  | 60                         | -                       | 70                            | 80 : 20               | -     |
|   |             |              | 3                                  | 74 (22)                    | 19                      | 69                            | 80 : 20               | 7     |
|   |             |              | 3,75                               | 78                         | -                       | 65                            | 80 : 20               | -     |
|    | <b>6i</b>   | HheB         | 0,5                                | 0                          | -                       | -                             | -                     | -     |
|   |             |              | 1,33                               | 2                          | -                       | -                             | -                     | -     |
|   |             |              | 2                                  | 3                          | -                       | -                             | -                     | -     |
|   |             |              | 3                                  | 4                          | -                       | -                             | -                     | -     |
|   |             |              | 3,75                               | 5                          | -                       | -                             | -                     | -     |
|  | <b>6j</b>   | HheB         | 0,5                                | 8 (-)                      | -                       | -                             | -                     | -     |
|   |             |              | 1                                  | 13 (-)                     | -                       | -                             | -                     | -     |
|   |             |              | 2,25                               | 25 (21)                    | 26                      | 95                            | > 99 : 1              | 50    |
|   |             |              | 3                                  | 30 (26)                    | 34                      | 97                            | > 99 : 1              | 98    |
|   |             |              | 4                                  | 36 (32)                    | 45                      | 97                            | > 99 : 1              | 91    |
|   |             |              | 5                                  | 38 (35)                    | 53                      | 97                            | > 99 : 1              | 119   |
|   | 6           | 39 (38)      | 59                                 | 98                         | > 99 : 1                | 151                           |                       |       |
|   | HheB2-T120A | 1            | 2                                  | -                          | -                       | -                             | -                     |       |
|   |             | 2            | 1                                  | -                          | -                       | -                             | -                     |       |
|   |             | 3            | 1                                  | -                          | -                       | -                             | -                     |       |
| 4   |             | 1            | -                                  | -                          | -                       | -                             |                       |       |
|  | <b>6k</b>   | HheB         | 1                                  | 10 (-)                     | -                       | -                             | 95 : 5                | -     |
|   |             |              | 2                                  | 19 (4)                     | 4                       | >99                           | > 99 : 1              | > 200 |
|   |             |              | 3                                  | 28 (4)                     | 4                       | >99                           | > 99 : 1              | > 200 |
|   |             |              | 4                                  | 36 (3)                     | 4                       | >99                           | > 99 : 1              | > 200 |
|   |             |              | 5                                  | 35 (6)                     | 6                       | >99                           | 98 : 2                | > 200 |

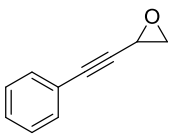
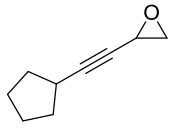
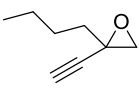
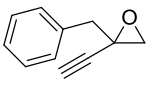
<sup>a</sup> određeno GC analizom na akiralnoj koloni; <sup>b</sup> enzimatska konverzija u zagradama; <sup>c</sup> izračunata iz *ee*<sub>s</sub> i *ee*<sub>p</sub>; <sup>d</sup> određeno GC analizom na kiralnim kolonama; <sup>e</sup> spojevi **13** nisu detektirani na kiralnim GC kolonama;

Tablica D1.6. Kemijska azidoliza spojeva **6a-e,h-k** (2 mM)

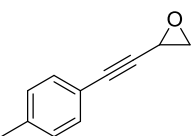
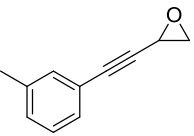
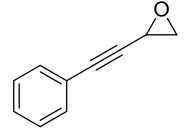
| epoksid   | <i>t</i> / h | Konverzija / % <sup>a</sup> | 12 / 13 <sup>a</sup> |          |
|---|--------------|-----------------------------|----------------------|----------|
|    | <b>6a</b>    | 0,5                         | 3                    | < 1 : 99 |
|   |              | 1                           | 3                    | < 1 : 99 |
|   |              | 2                           | 4                    | 15 : 85  |
|   |              | 3                           | 8                    | 14 : 86  |
|    | <b>6b</b>    | 0,5                         | 0                    | -        |
|   |              | 1                           | 0                    | -        |
|   |              | 2                           | 0                    | -        |
|   |              | 3                           | 6                    | < 1 : 99 |
|    | <b>6c</b>    | 1                           | 0                    | -        |
|   |              | 2                           | 6                    | 14 : 86  |
|   |              | 3                           | 12                   | 15 : 85  |
|   |              | 4                           | 7                    | 15 : 85  |
|    | <b>6d</b>    | 0,5                         | 2                    | < 1 : 99 |
|   |              | 1                           | 4                    | < 1 : 99 |
|   |              | 2                           | 9                    | < 1 : 99 |
|   |              | 3                           | 14                   | < 1 : 99 |
|   | <b>6e</b>    | 1                           | 9                    | < 1 : 99 |
|   |              | 2                           | 17                   | < 1 : 99 |
|   |              | 3                           | 23                   | < 1 : 99 |
|   |              | 4                           | 29                   | < 1 : 99 |
|  | <b>6h</b>    | 1                           | 0                    | -        |
|   |              | 2                           | 0                    | -        |
|   |              | 3                           | 0                    | -        |
|   |              | 4                           | 0                    | -        |
|   |              | 5                           | 0                    | -        |
|  | <b>6i</b>    | 1                           | 1                    | -        |
|   |              | 2                           | 1                    | -        |
|   |              | 3                           | 3                    | -        |
|   |              | 4                           | 3                    | -        |
|  | <b>6j</b>    | 1                           | 0                    | -        |
|   |              | 2                           | 0                    | -        |
|   |              | 3                           | 0                    | -        |
|   |              | 4                           | 0                    | -        |
|  | <b>6k</b>    | 1                           | 0                    | 22 : 78  |
|   |              | 2                           | 16                   | 19 : 81  |
|   |              | 3                           | 20                   | 21 : 79  |
|   |              | 4                           | 29                   | 19 : 81  |
|   |              | 5                           | 37                   | 29 : 71  |

<sup>a</sup> određeno GC analizom na akiralnoj koloni

**Tablica D1.7.** Kinetička rezolucija propargil epoksida (2 mM) u prisustvu različitih nukleofila katalizirana s HHDH

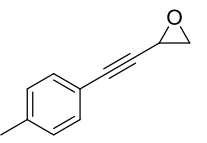
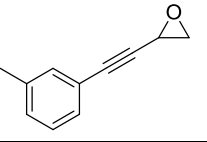
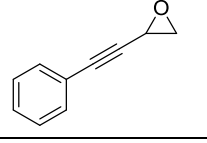
| Epoksid  | HHDH      | <i>t</i> / h | Konverzija / % <sup>a</sup>  |                 |                  |                  |                   |    |
|--|-----------|--------------|------------------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|----|
|  |           |              | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | CN <sup>-</sup> | OCN <sup>-</sup> | SCN <sup>-</sup> | HCOO <sup>-</sup> |    |
|   | <b>6c</b> | HheC         | 1                            | 18              | 0                | 0                | 0                 | 17 |
|  |           |              | 2                            | 22              | 10               | 14               | 17                | 15 |
|  |           |              | 3                            | 38              | 11               | 14               | 21                | 17 |
|  |           |              | 4                            | -               | 12               | 15               | 21                | 18 |
|   | <b>6d</b> | HheC         | 1                            | 28              | 6                | 0                | 3                 | 0  |
|  |           |              | 2                            | 40              | 10               | 3                | 8                 | 4  |
|  |           |              | 3                            | 45              | 19               | 0                | 11                | 3  |
|  |           |              | 4                            | 45              | 17               | 0                | 10                | 4  |
|   | <b>6i</b> | HheC         | 1                            | 27              | 6                | 2                | 5                 | 1  |
|  |           |              | 2                            | 38              | 8                | 6                | 10                | 4  |
|  |           |              | 3                            | 44              | 10               | 6                | 16                | 3  |
|  |           |              | 4                            | 46              | 8                | 12               | 8                 | 0  |
|  | <b>6j</b> | HheB         | 0,5                          | 3               | 5                | 0                | 1                 | -  |
|  |           |              | 1                            | 32              | 10               | 1                | 0                 | -  |
|  |           |              | 2                            | 39              | 36               | 36               | 0                 | -  |
|  |           |              | 4                            | 17              | 22               | 3                | 1                 | -  |
|  |           |              | 6                            | 14              | 26               | 2                | 4                 | -  |
|  |           |              | 8                            | 15              | 30               | 3                | 6                 | -  |
|  |           |              | 24                           | 24              | 45               | 5                | 15                | -  |

<sup>a</sup> prema GC na akiralnoj koloni**Tablica D1.8.** Kinetička rezolucija propargilnih epoksida (50 mmol dm<sup>-3</sup>) u prisutnosti azidnih iona katalizirana s HheC

| epoksid   | <i>t</i> / h | Konverzija / % <sup>a</sup> | <i>ee</i> / % <sup>b</sup> |                         | <i>E</i> |       |
|---|--------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|----------|-------|
|   |              |                             | ( <i>S</i> )- <b>6</b>     | ( <i>R</i> )- <b>12</b> |          |       |
|  | <b>6a</b>    | 1                           | 11                         | 12                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 15                         | 18                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 3                           | 18                         | 22                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 4                           | 19                         | 24                      | > 99     | > 200 |
|  | <b>6b</b>    | 1                           | 1                          | 1                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 3                          | 3                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 3                           | 4                          | 4                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 4                           | 5                          | 5                       | > 99     | > 200 |
|  | <b>6c</b>    | 1                           | 4                          | 4                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 6                          | 7                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 3                           | 8                          | 9                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 4                           | 9                          | 10                      | > 99     | > 200 |

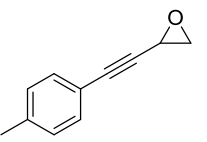
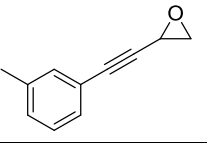
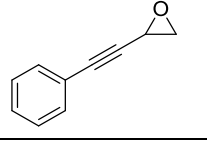
<sup>a</sup> Enzimatska konverzija, izračunata iz *ee<sub>s</sub>* i *ee<sub>p</sub>*; <sup>b</sup> određeno GC analizom na kiralnim kolonama

**Tablica D1.9.** Kinetička rezolucija propargilnih epoksida ( $30 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) u prisutnosti azidnih iona katalizirana s HheC

| epoksid   | <i>t</i> / h | Konverzija / % <sup>a</sup> | <i>ee</i> / % <sup>b</sup> |                         | <i>E</i> |       |
|---|--------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|----------|-------|
|   |              |                             | ( <i>S</i> )- <b>6</b>     | ( <i>R</i> )- <b>12</b> |          |       |
|  | <b>6a</b>    | 1,2                         | 12                         | 13                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 14                         | 17                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 3                           | 16                         | 18                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 4                           | 19                         | 23                      | > 99     | > 200 |
|  | <b>6b</b>    | 1,2                         | 5                          | 6                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 7                          | 7                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 3                           | 7                          | 7                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 4                           | 9                          | 10                      | > 99     | > 200 |
|  | <b>6c</b>    | 1,2                         | 8                          | 8                       | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 11                         | 12                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 3                           | 14                         | 16                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 4                           | 15                         | 18                      | > 99     | > 200 |

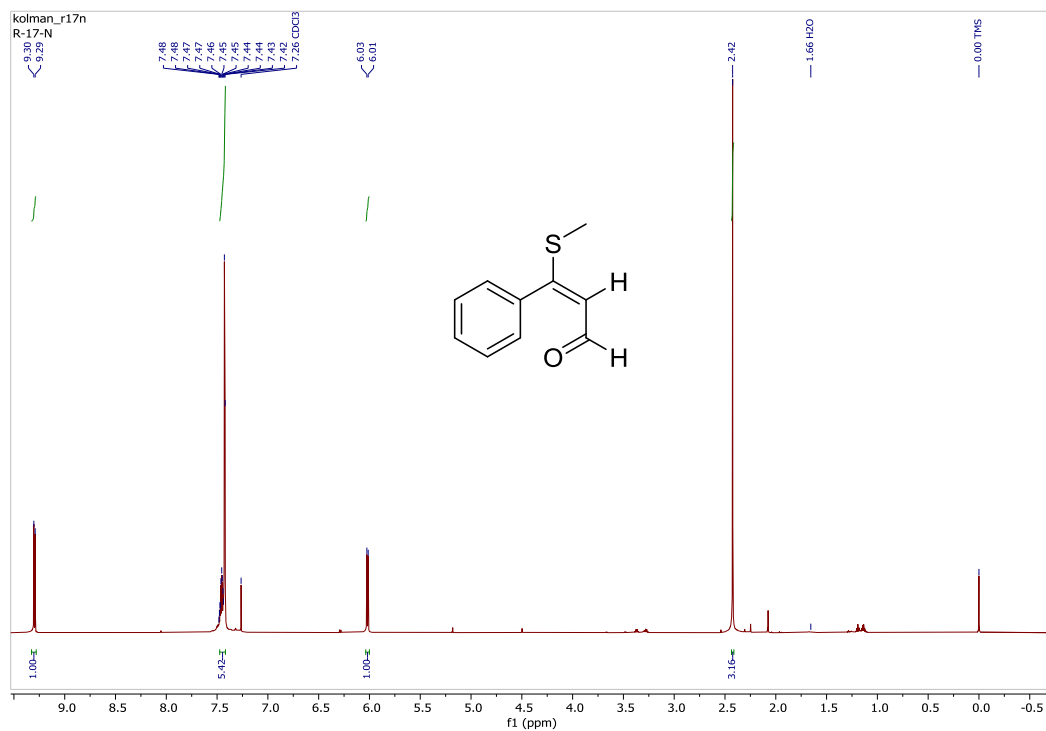
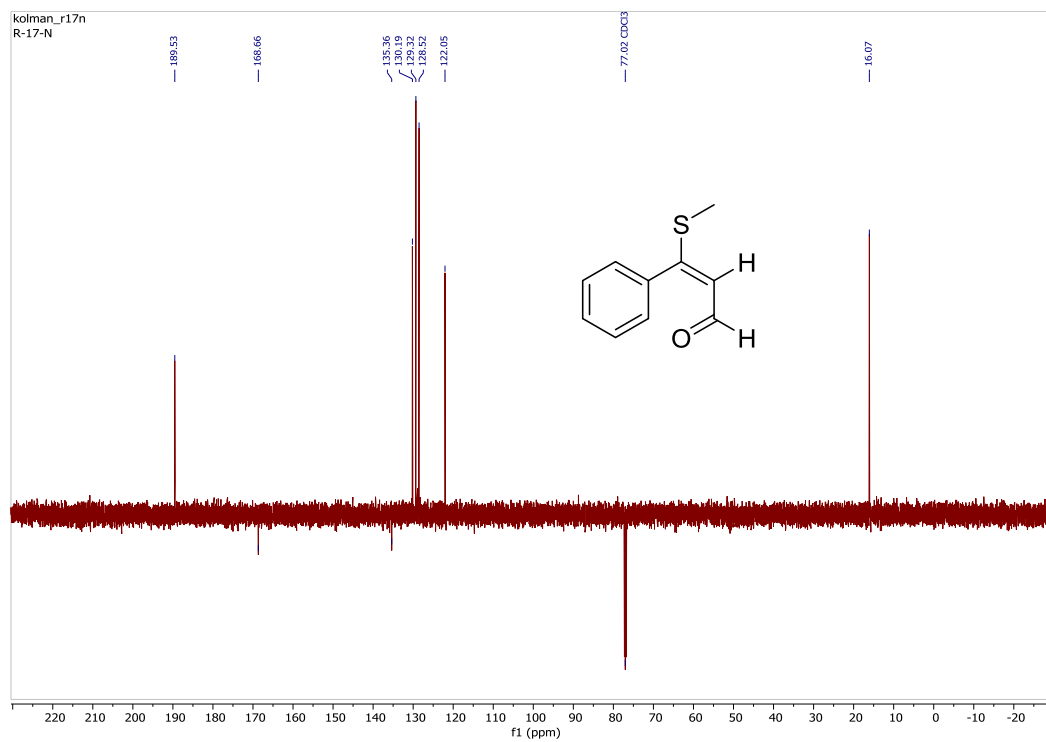
<sup>a</sup> Enzimatska konverzija, izračunata iz  $ee_s$  i  $ee_p$ ; <sup>b</sup> određeno GC analizom na kiralnim kolonama

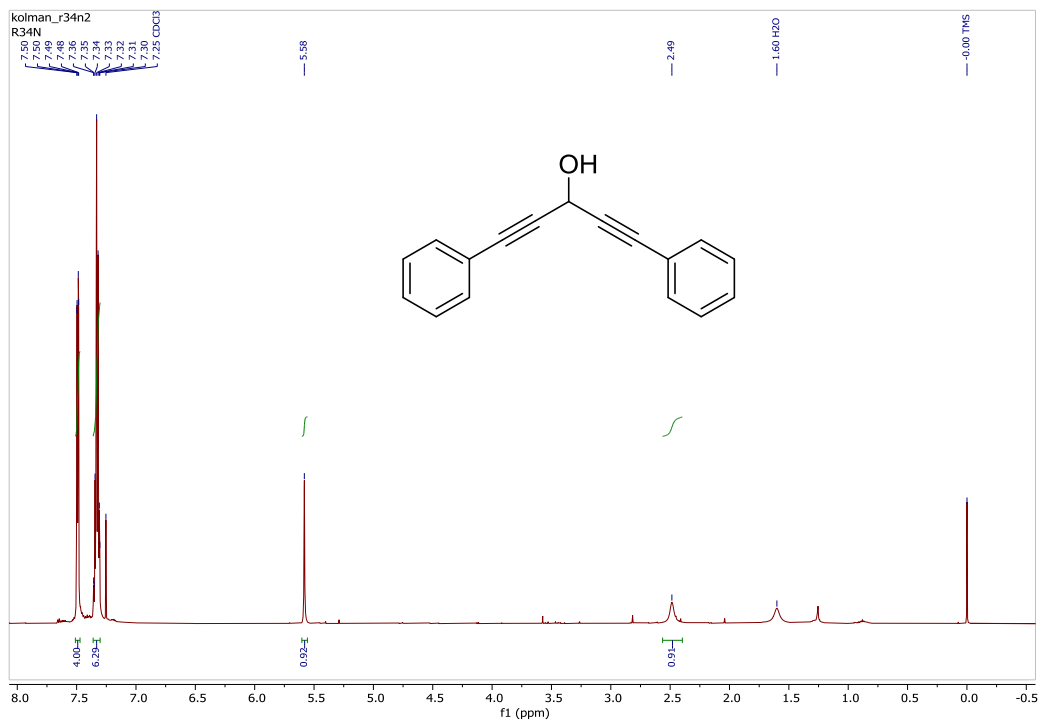
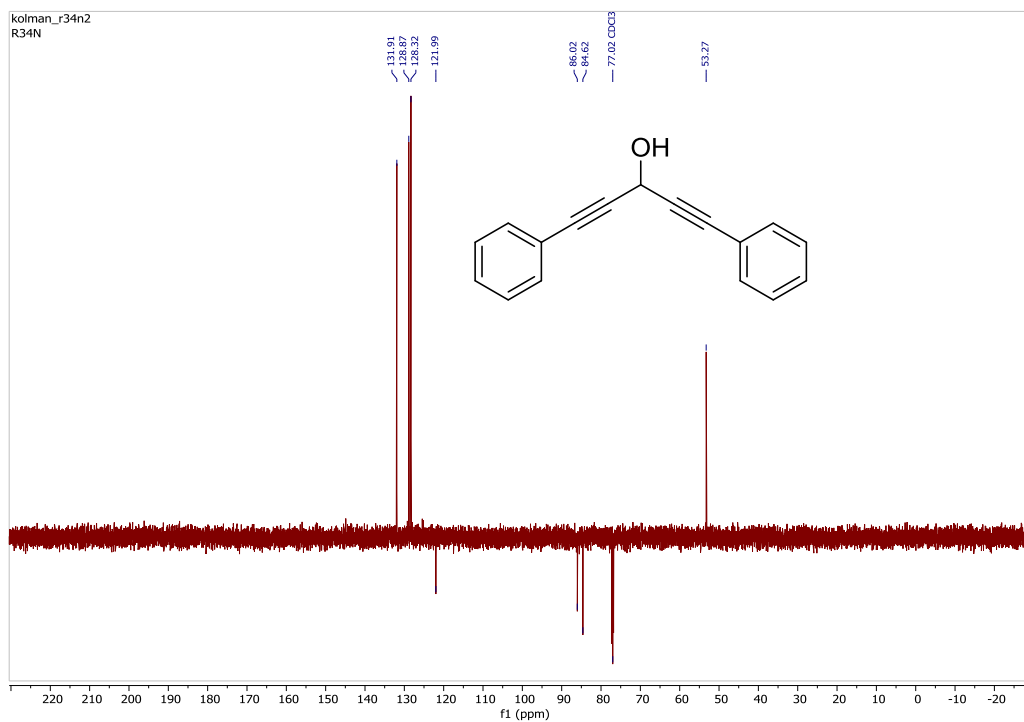
**Tablica D1.10.** Kinetička rezolucija propargil-epoksida ( $50 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) u prisutnosti azidnih iona katalizirana s HheA

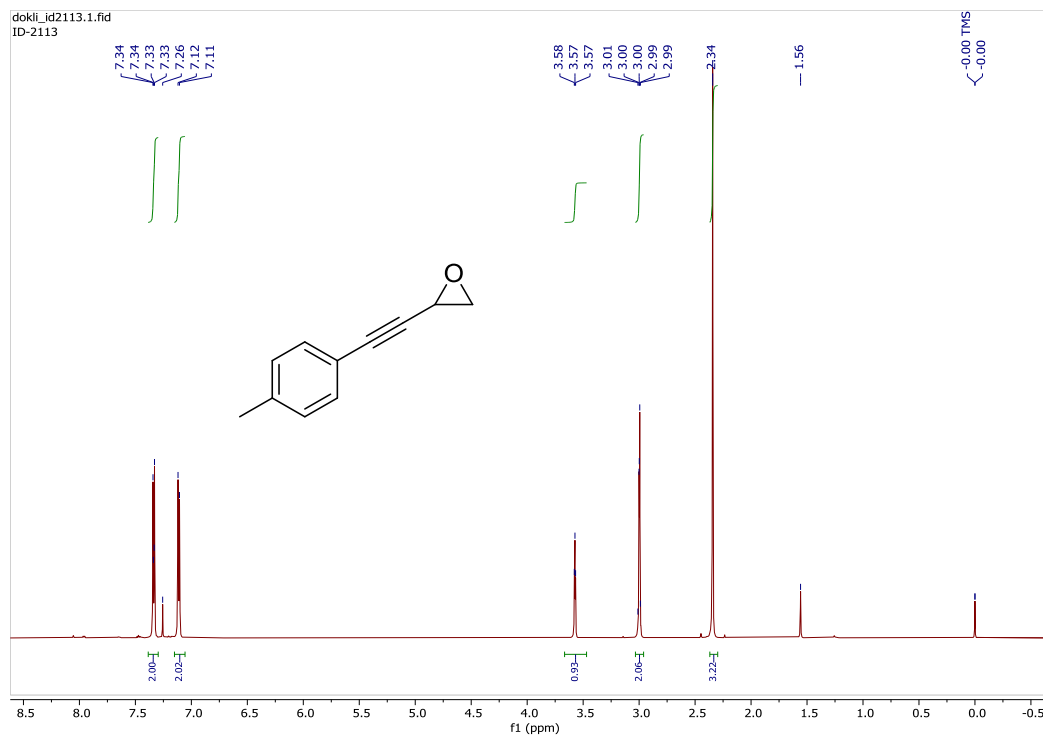
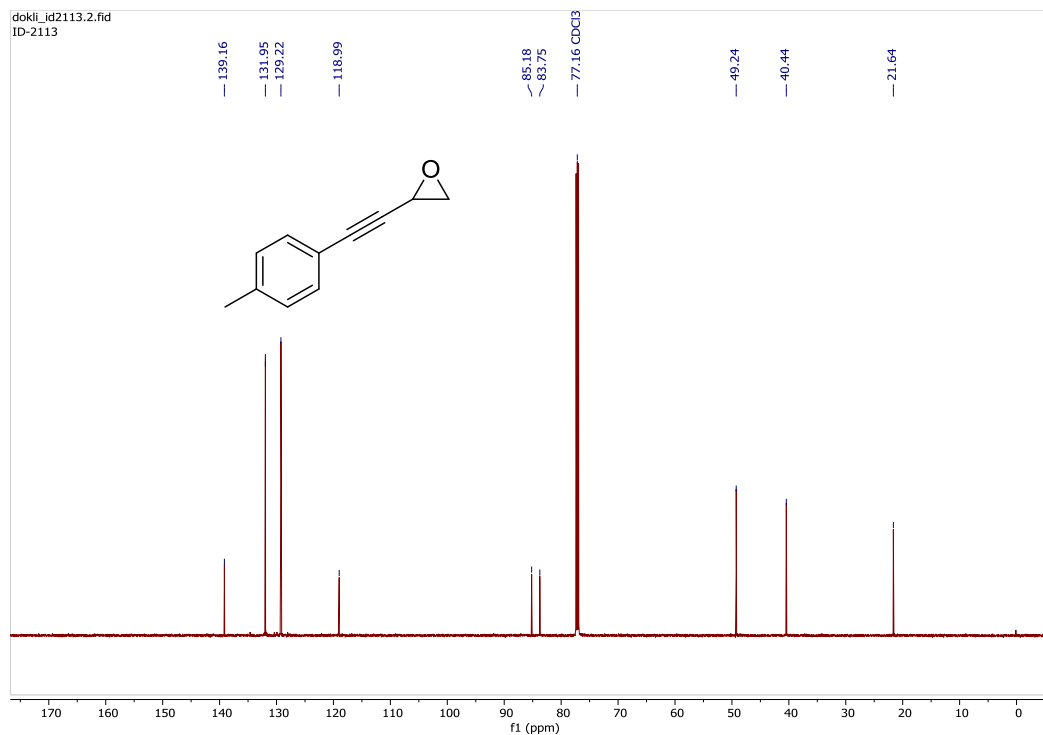
| epoksid   | <i>t</i> / h | Konverzija / % <sup>a</sup> | <i>ee</i> / % <sup>b</sup> |                         | <i>E</i> |       |
|---|--------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|----------|-------|
|   |              |                             | ( <i>S</i> )- <b>6</b>     | ( <i>R</i> )- <b>12</b> |          |       |
|  | <b>6a</b>    | 1                           | 25                         | 33                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 37                         | 58                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 3,5                         | 39                         | 63                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 4,5                         | 40                         | 66                      | > 99     | > 200 |
|  | <b>6b</b>    | 1                           | 18                         | 22                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 26                         | 34                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 3,5                         | 31                         | 45                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 4,5                         | 31                         | 45                      | > 99     | > 200 |
|  | <b>6c</b>    | 1                           | 22                         | 28                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 2                           | 30                         | 43                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 3,5                         | 36                         | 56                      | > 99     | > 200 |
|   |              | 4,5                         | 38                         | 62                      | > 99     | > 200 |

<sup>a</sup> Enzimatska konverzija, izračunata iz  $ee_s$  i  $ee_p$ ; <sup>b</sup> određeno GC analizom na kiralnim kolonama

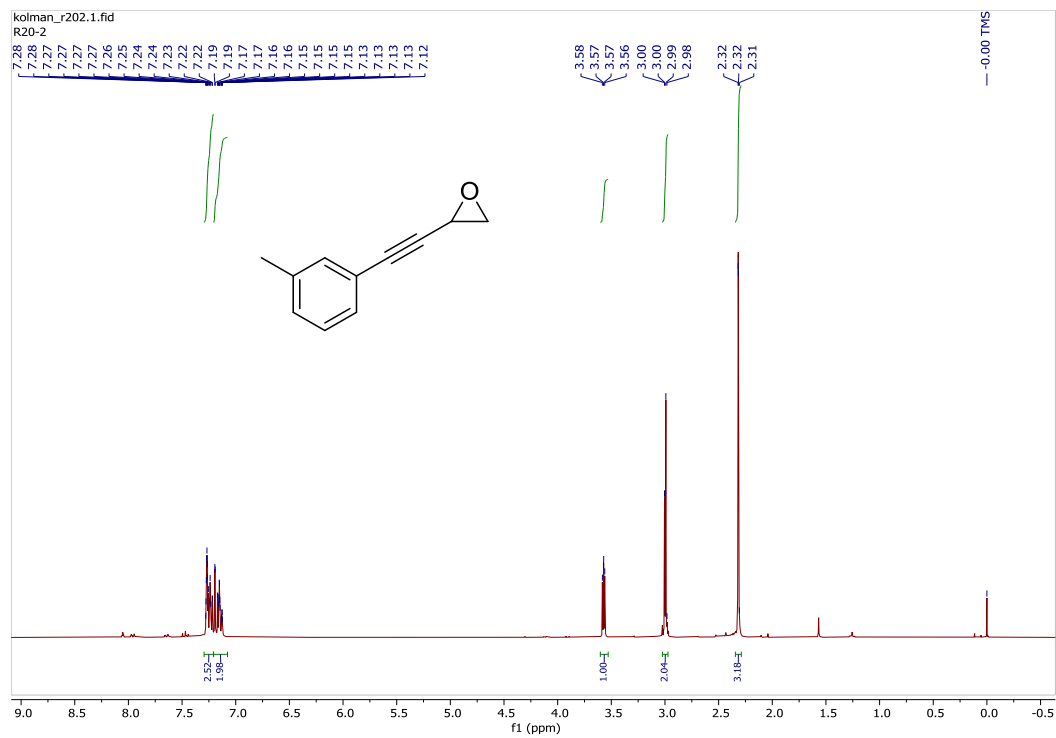
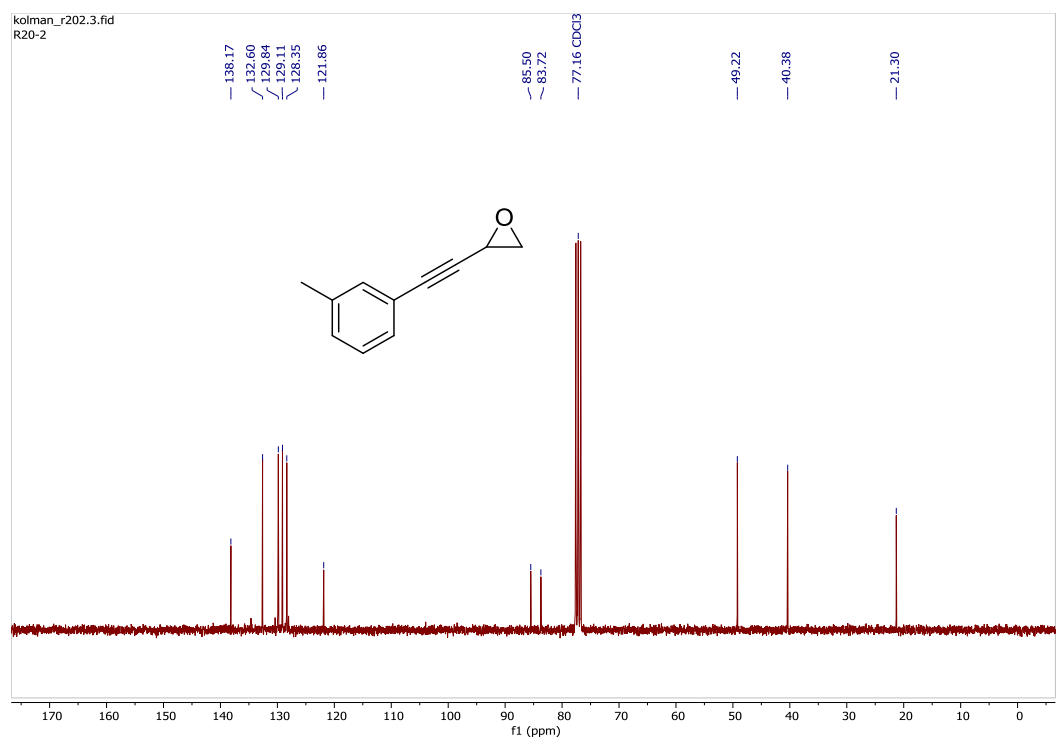
## 8.2. NMR / IR spektri

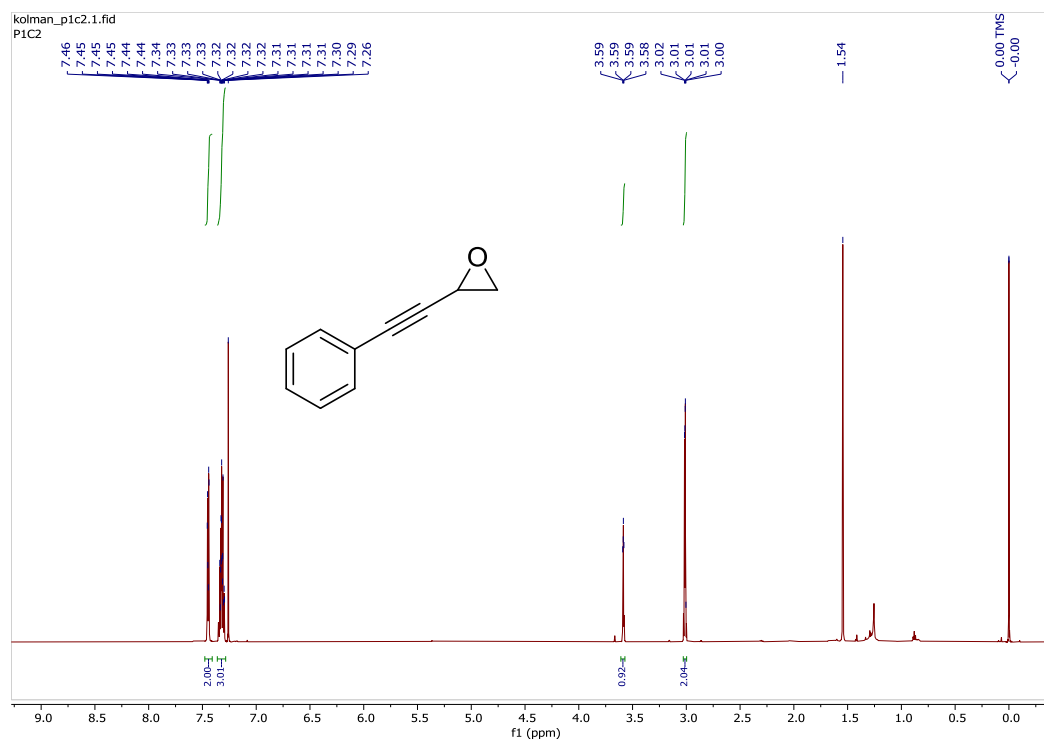
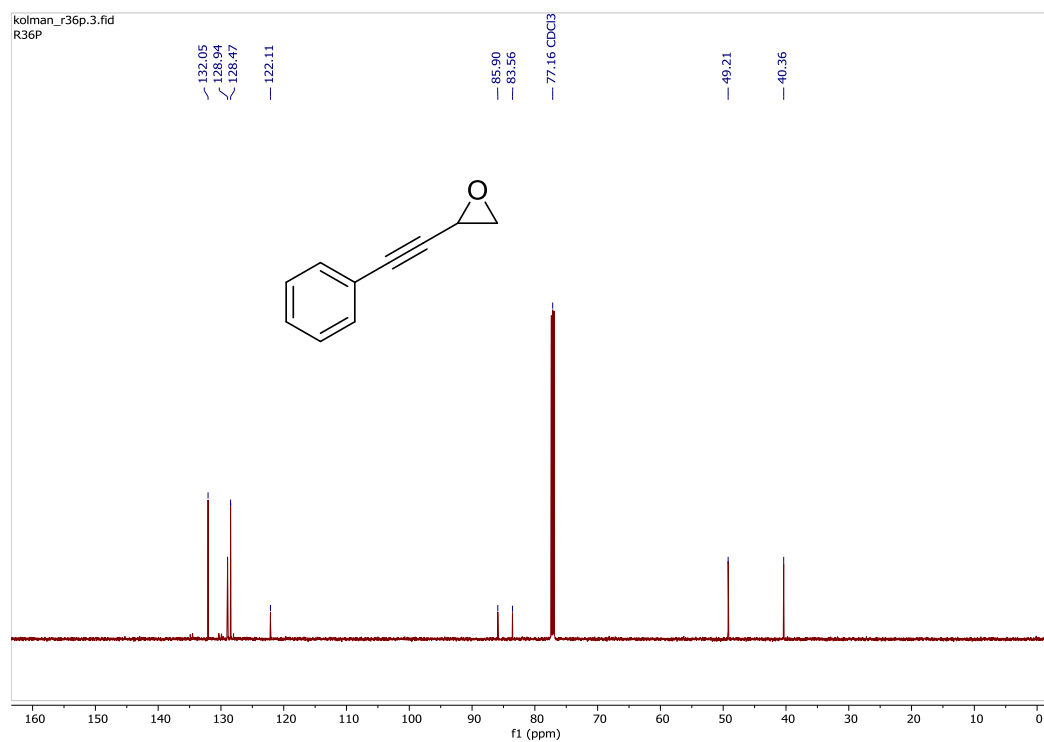
D2.1. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 5.D2.2. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 5.

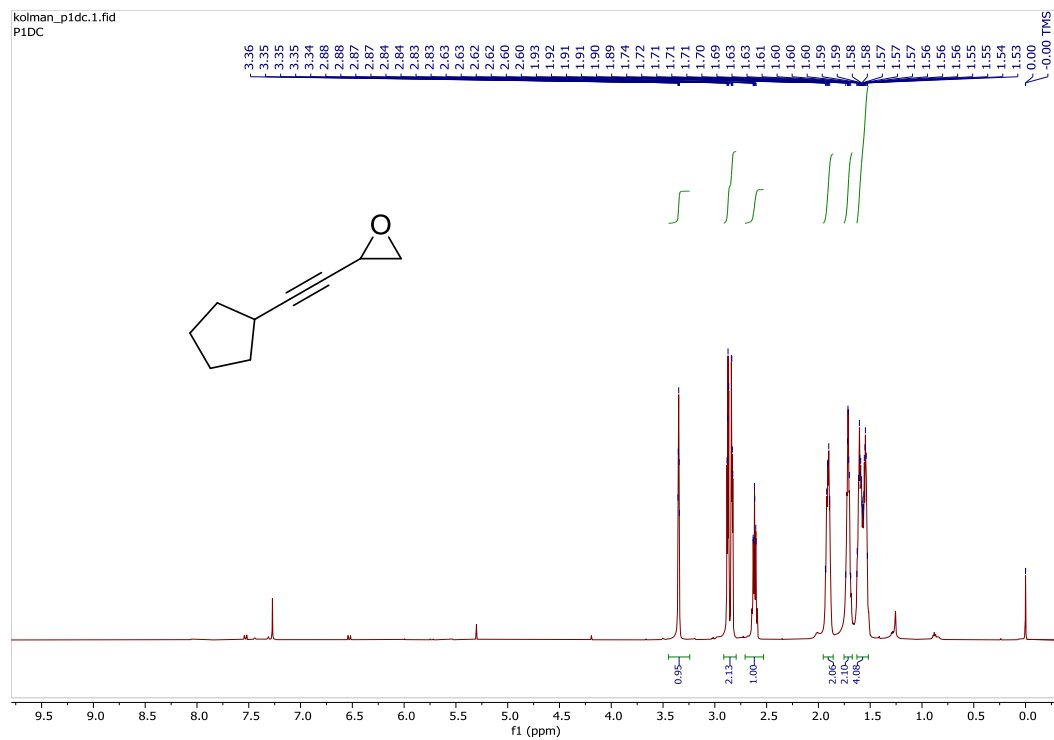
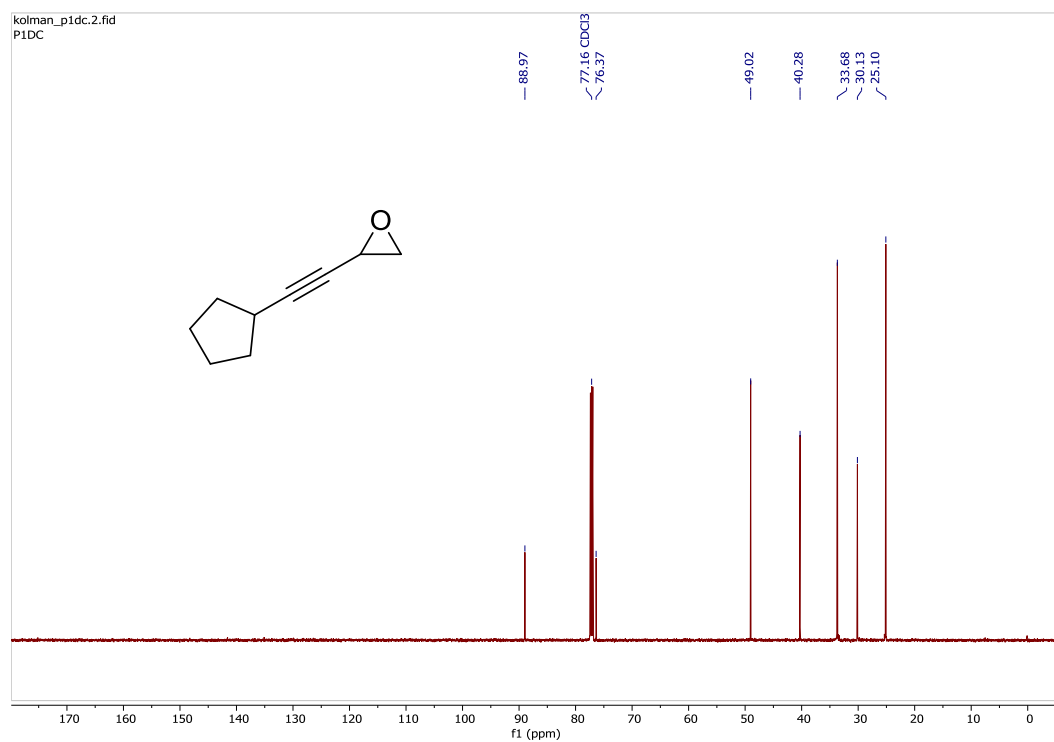
D2.3. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 7.D2.4. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 7.

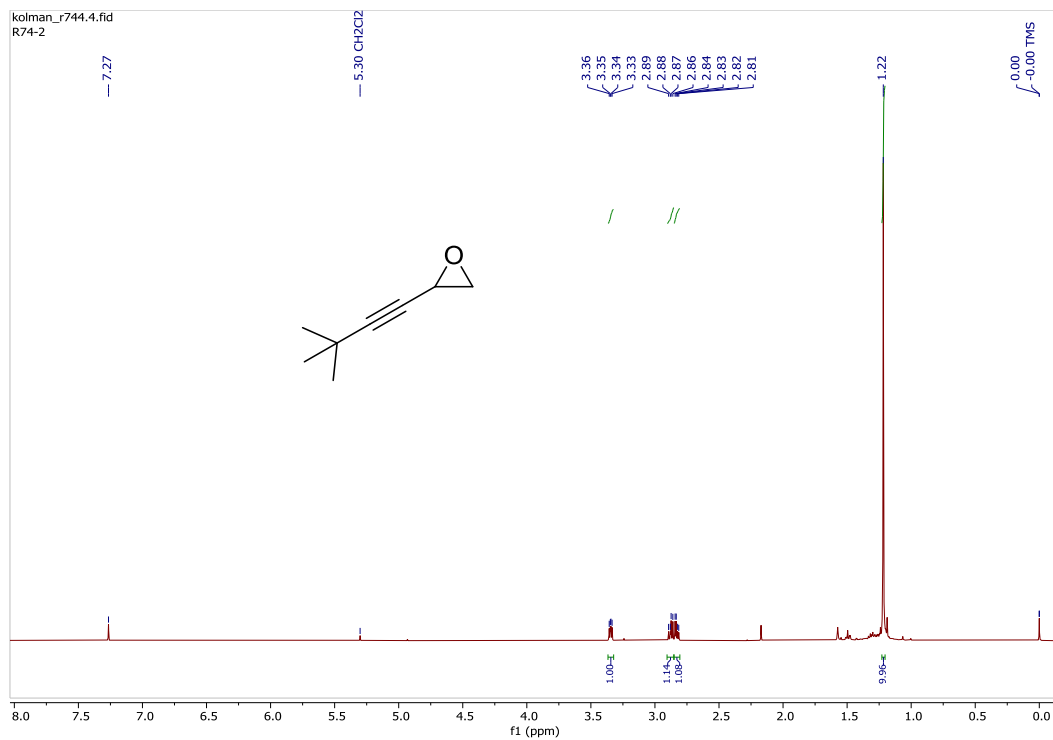
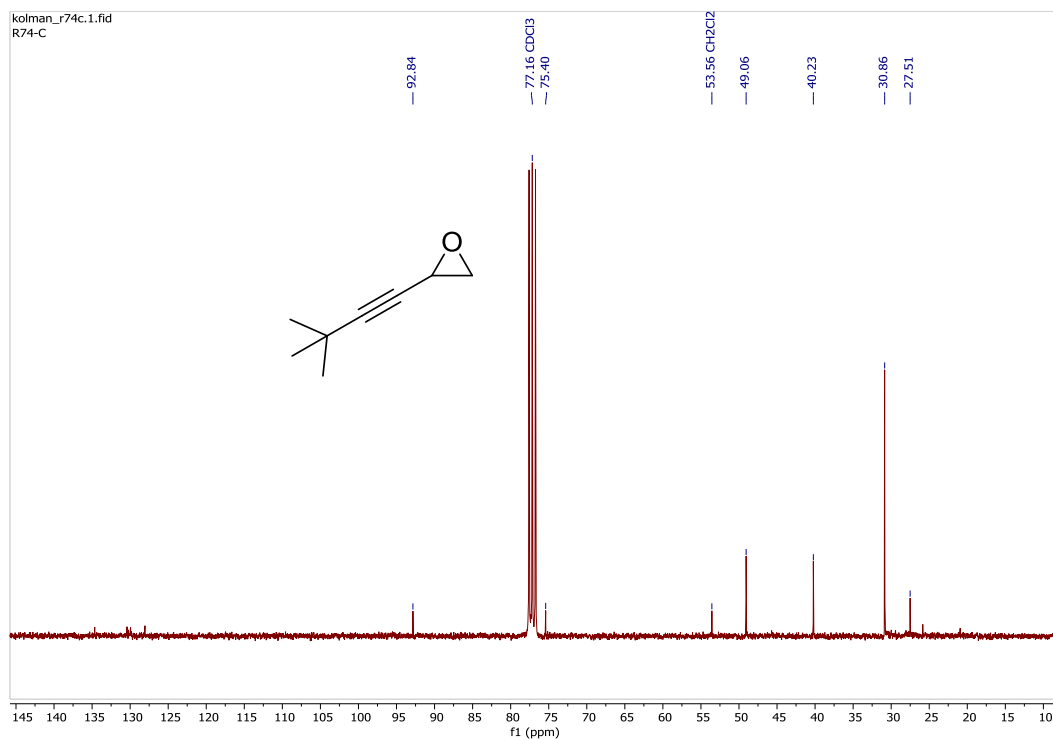
D2.5.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6a**.D2.6.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **6a**.

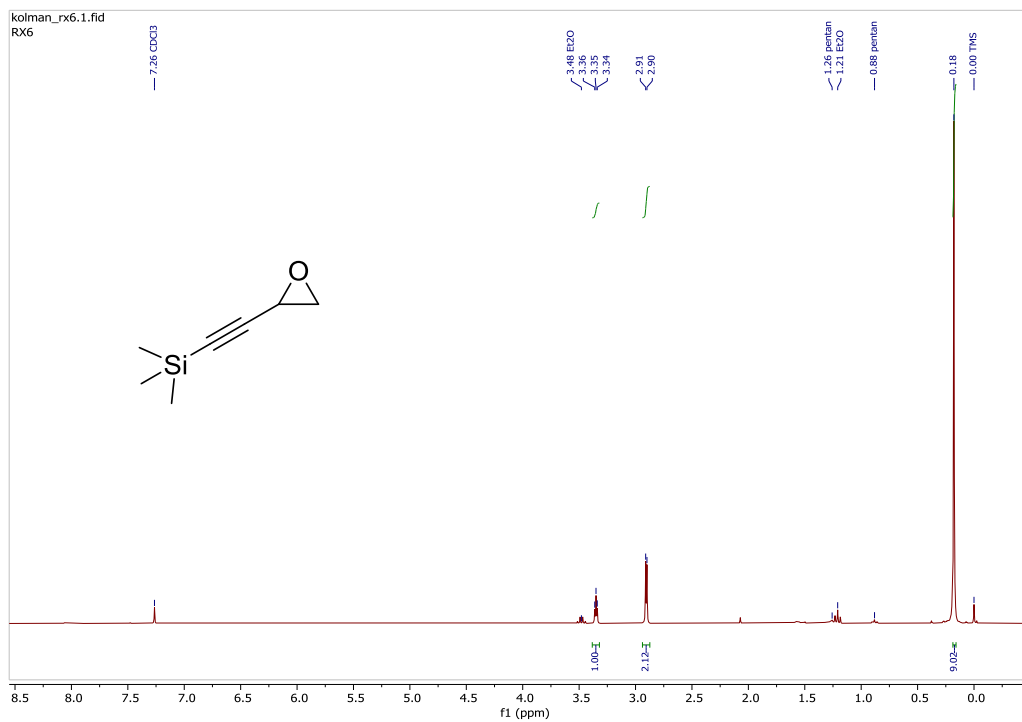
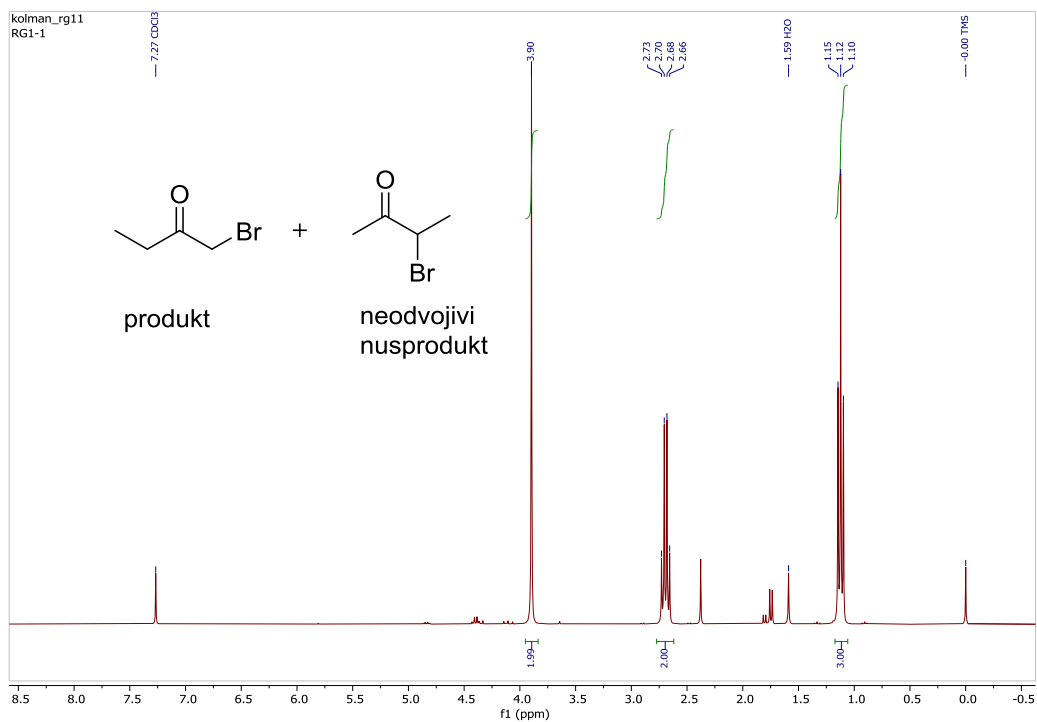


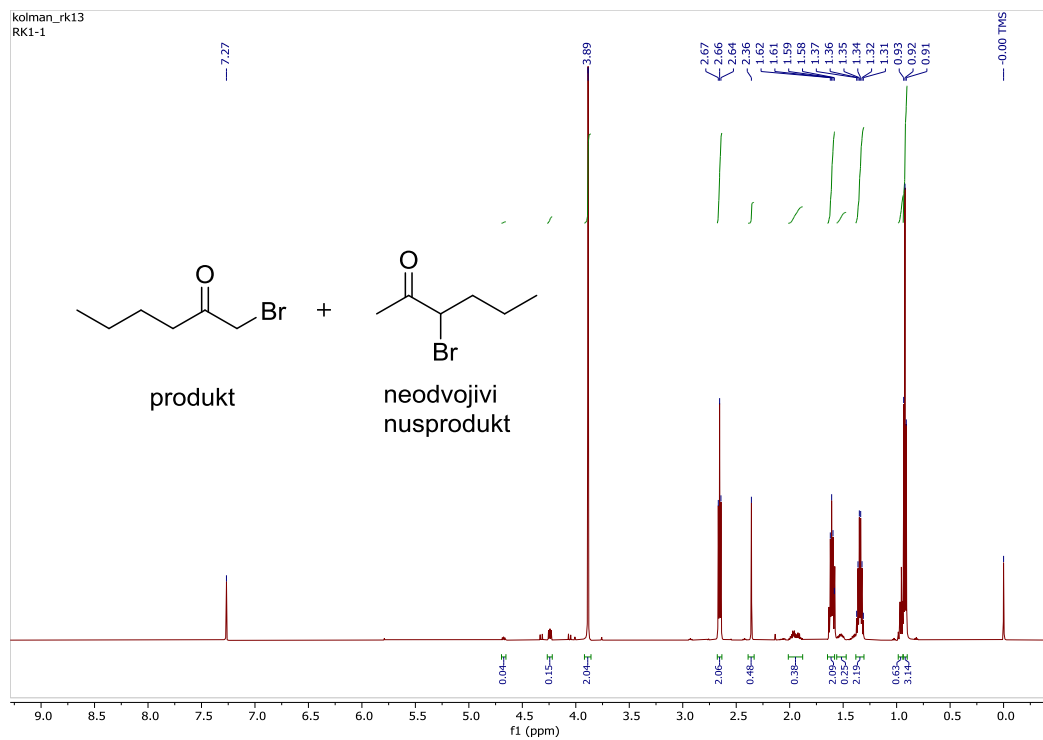
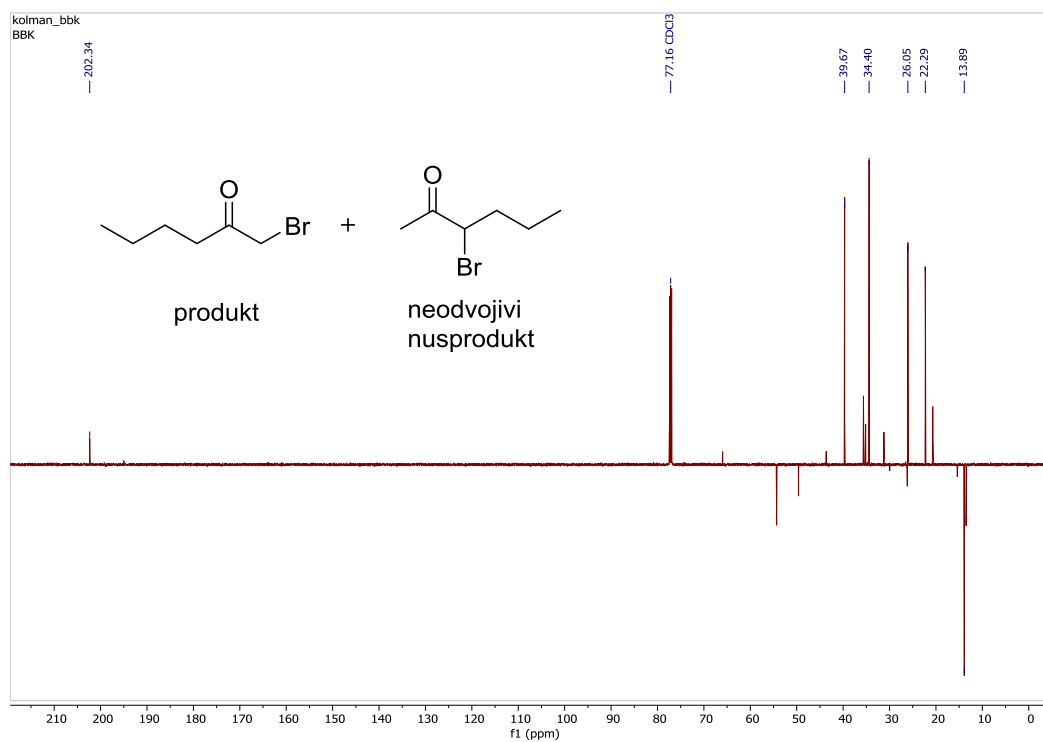
D2.7.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6b**.D2.8.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **6b**.

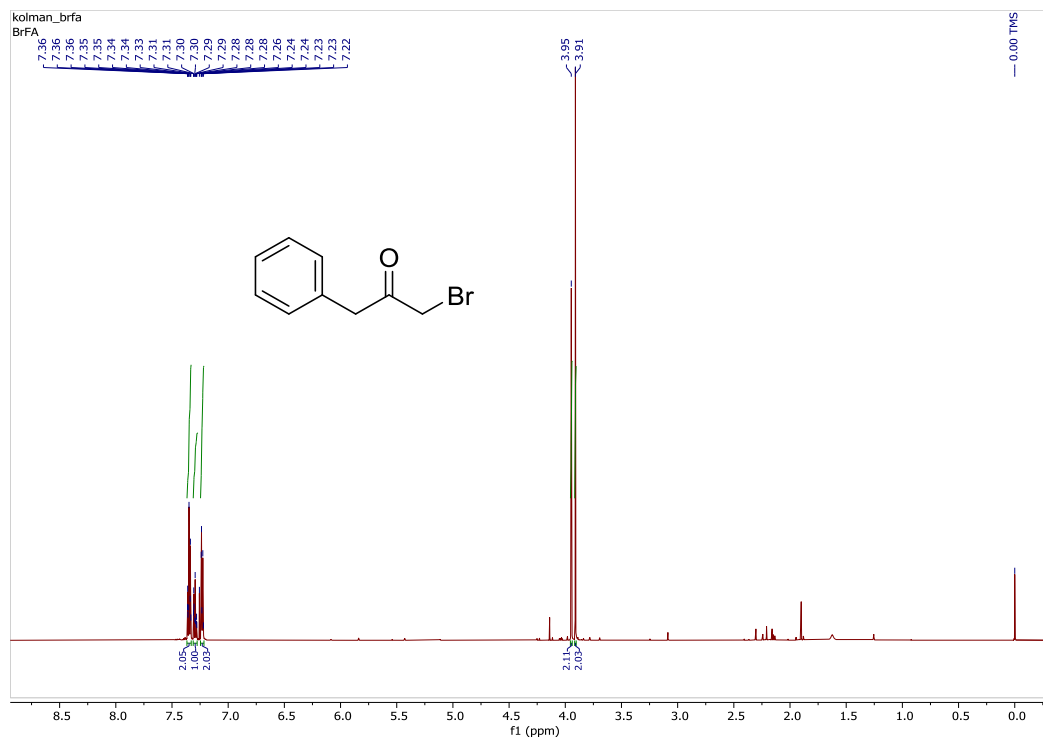
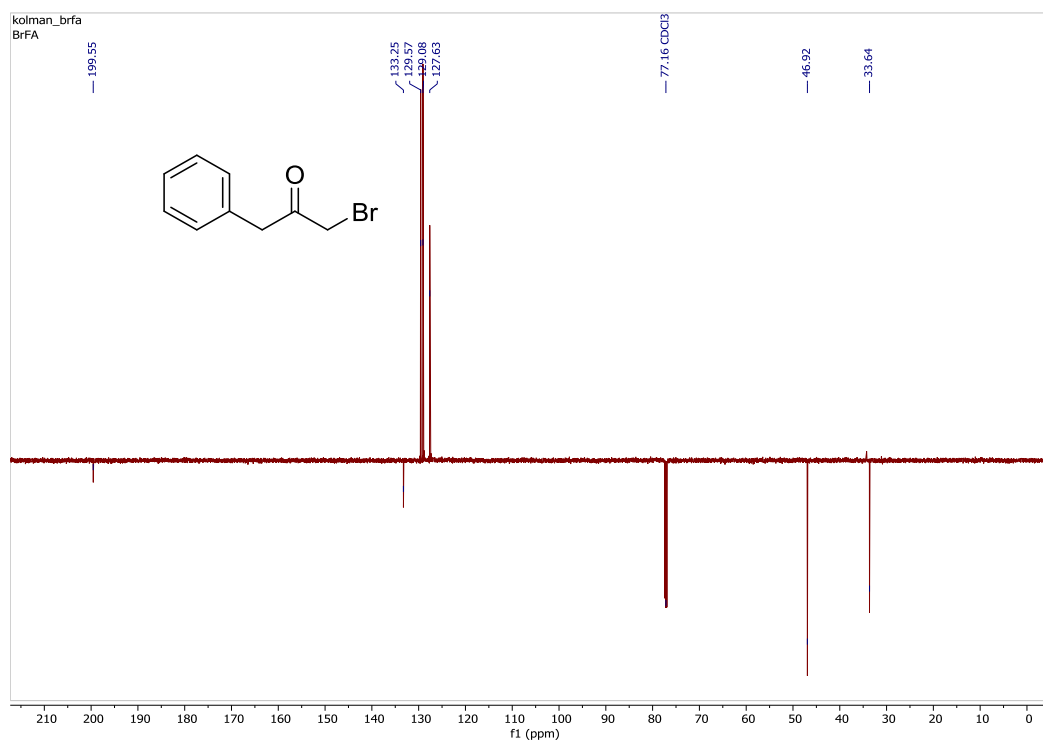
D2.9.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6c**.D2.10.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **6c**.

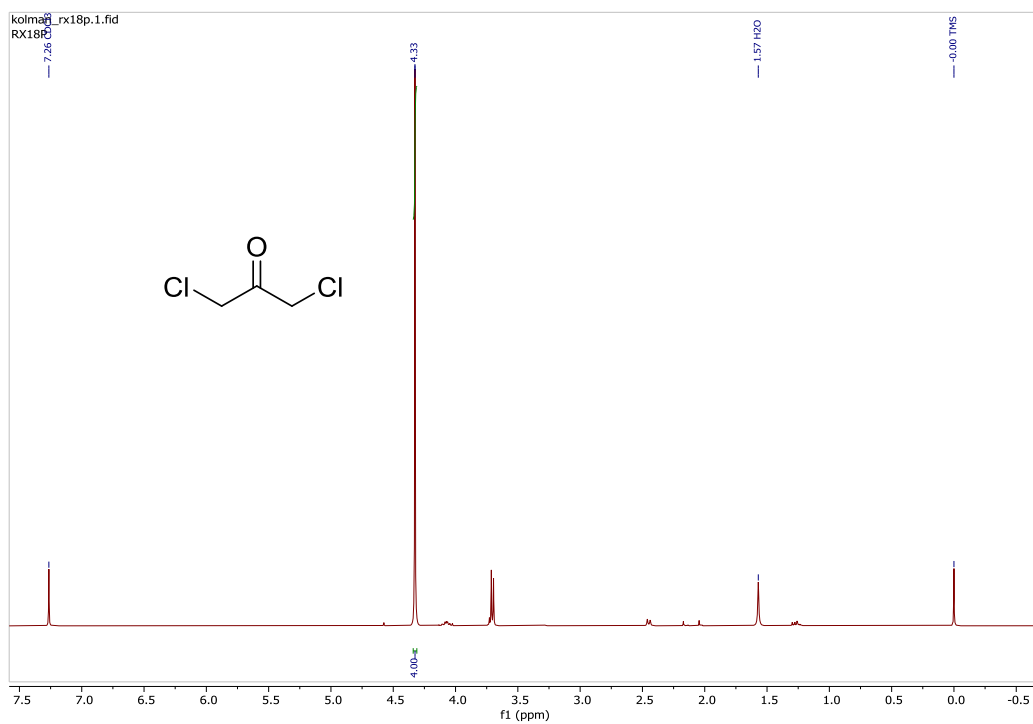
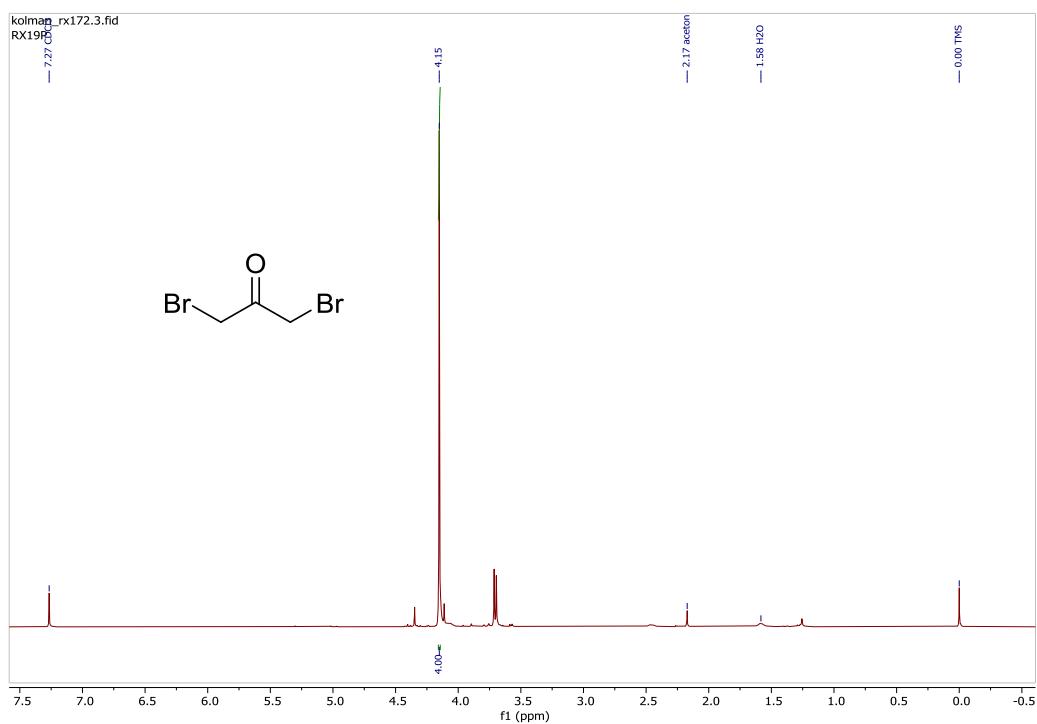
D2.11.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6d**.D2.12.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **6d**.

D2.13. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 6e.D2.14. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 6e.

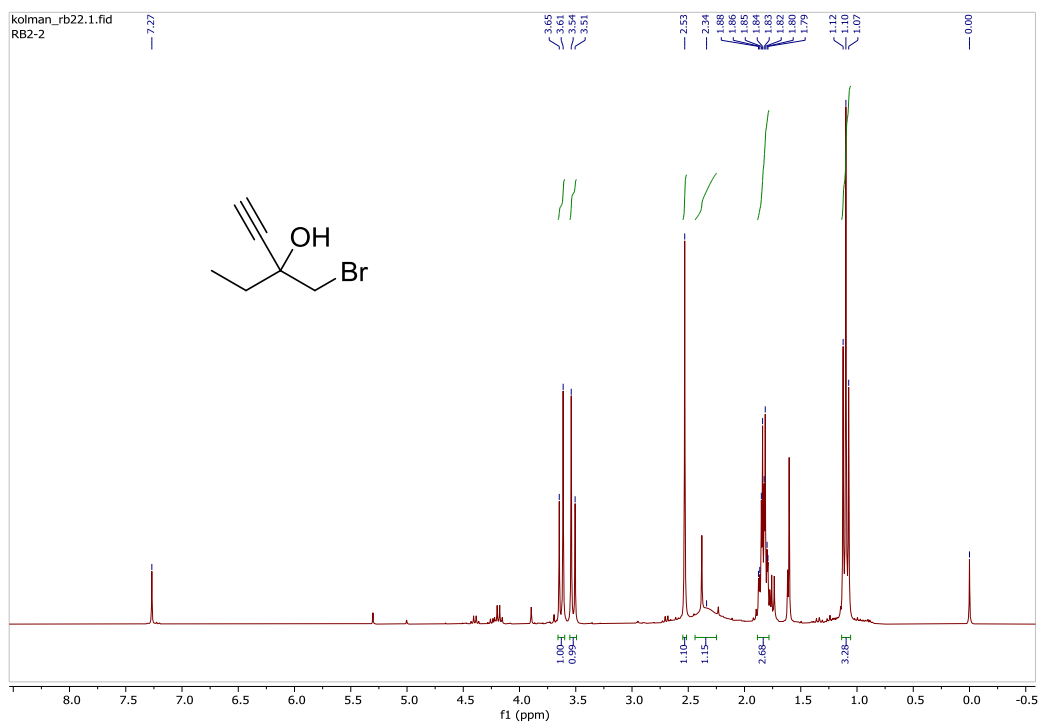
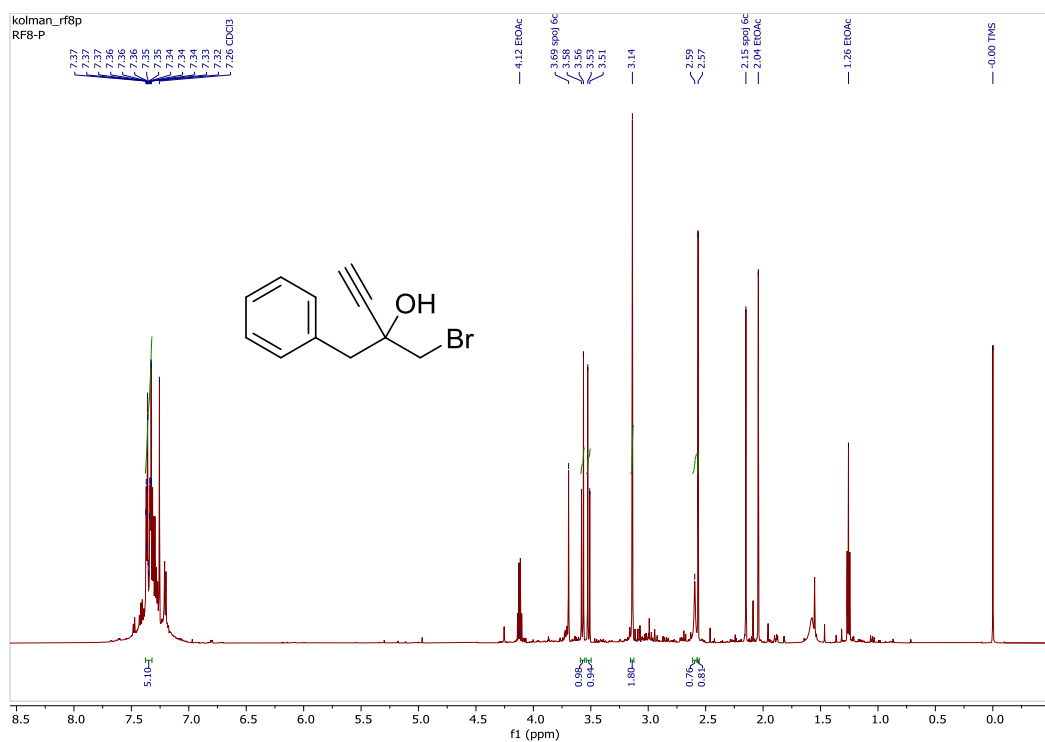
D2.15. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 6f.D2.16. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 8a.

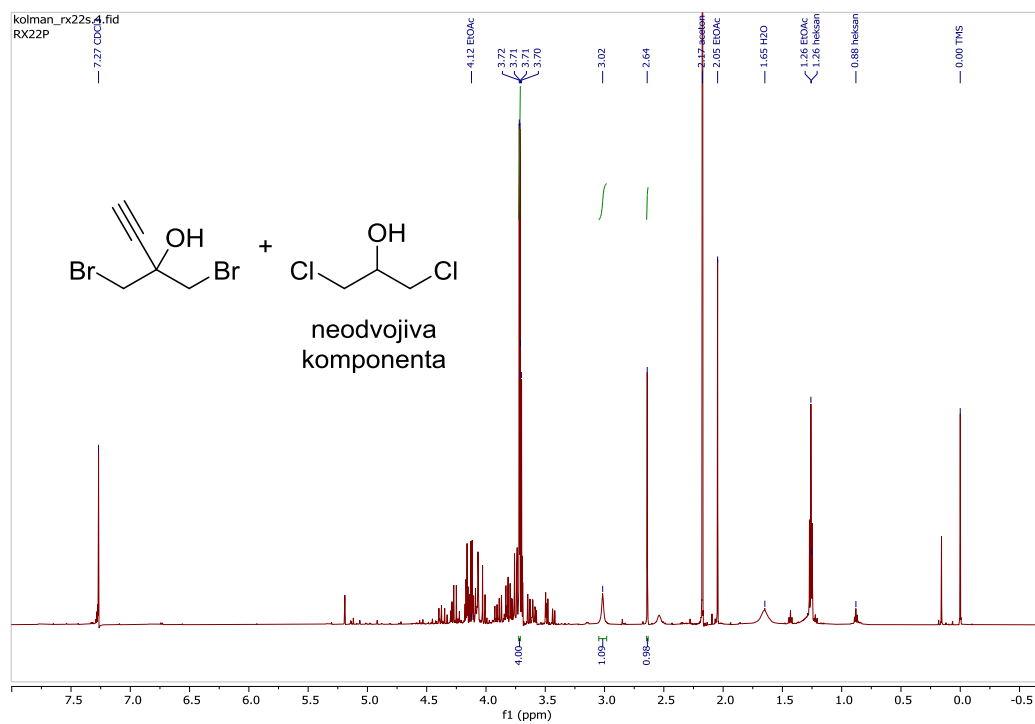
D2.17.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **8b**.D2.18.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **8b**.

D2.19.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **8c**.D2.20.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **8c**.

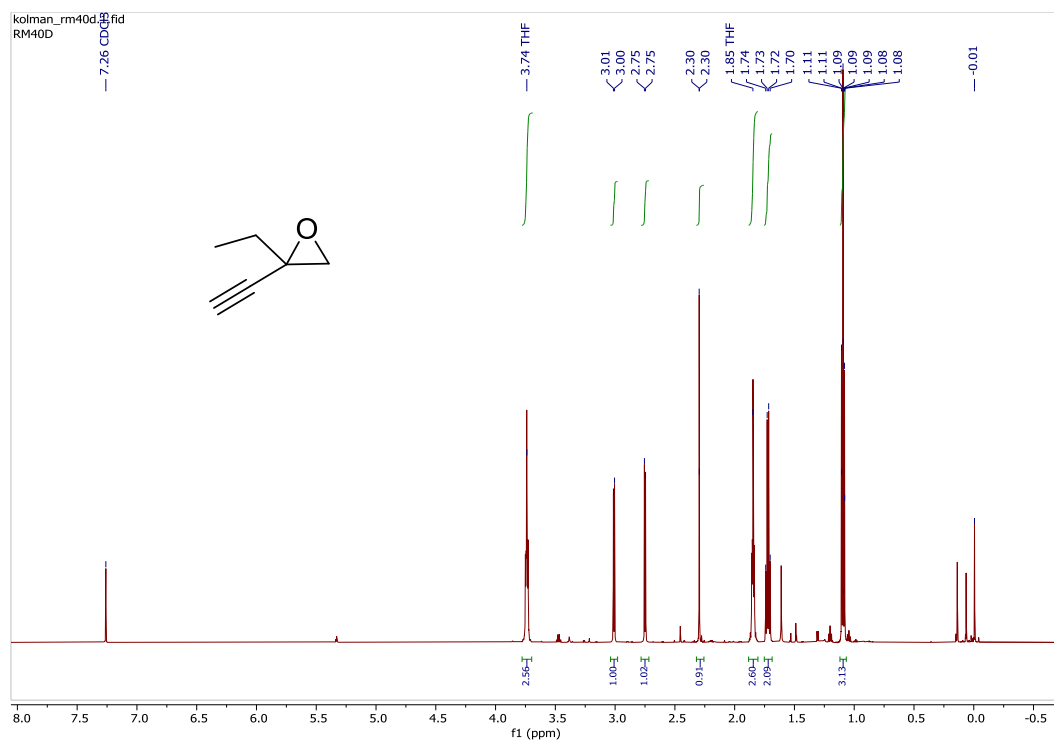
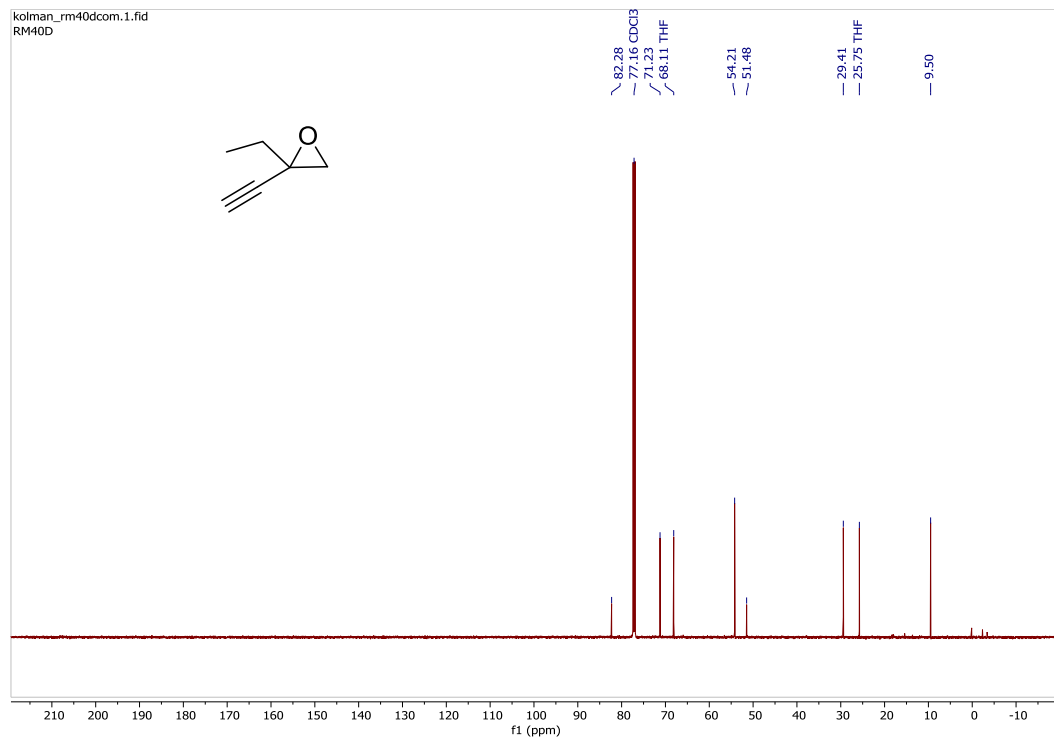
D2.21. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 10.D2.22. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 8d.

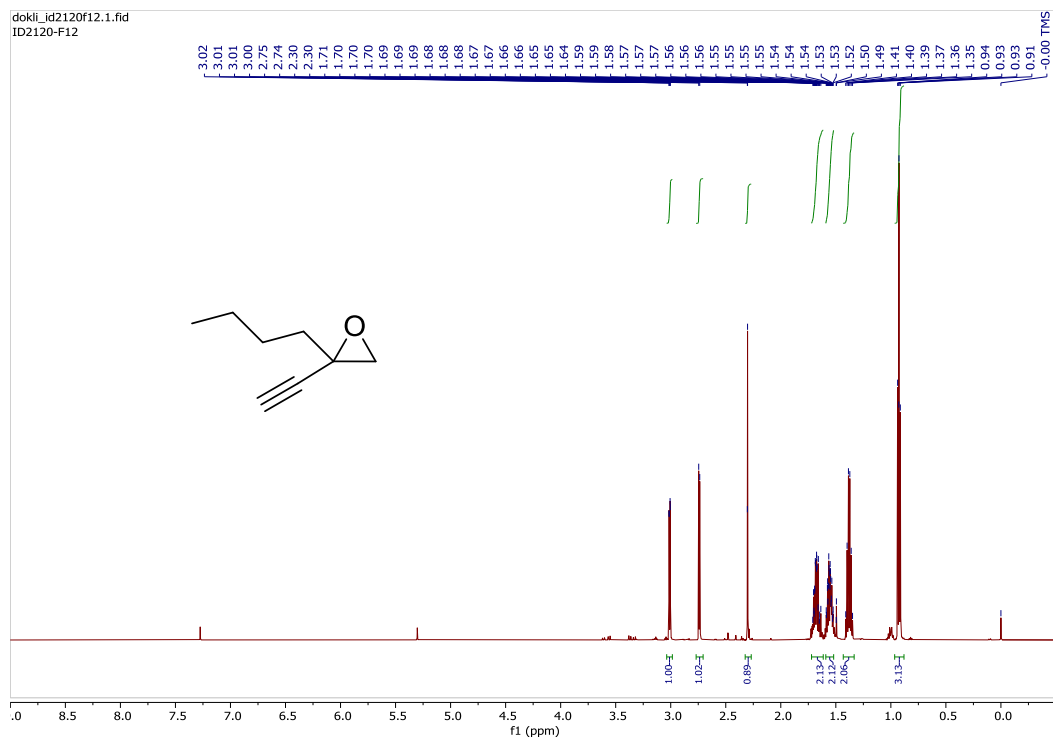
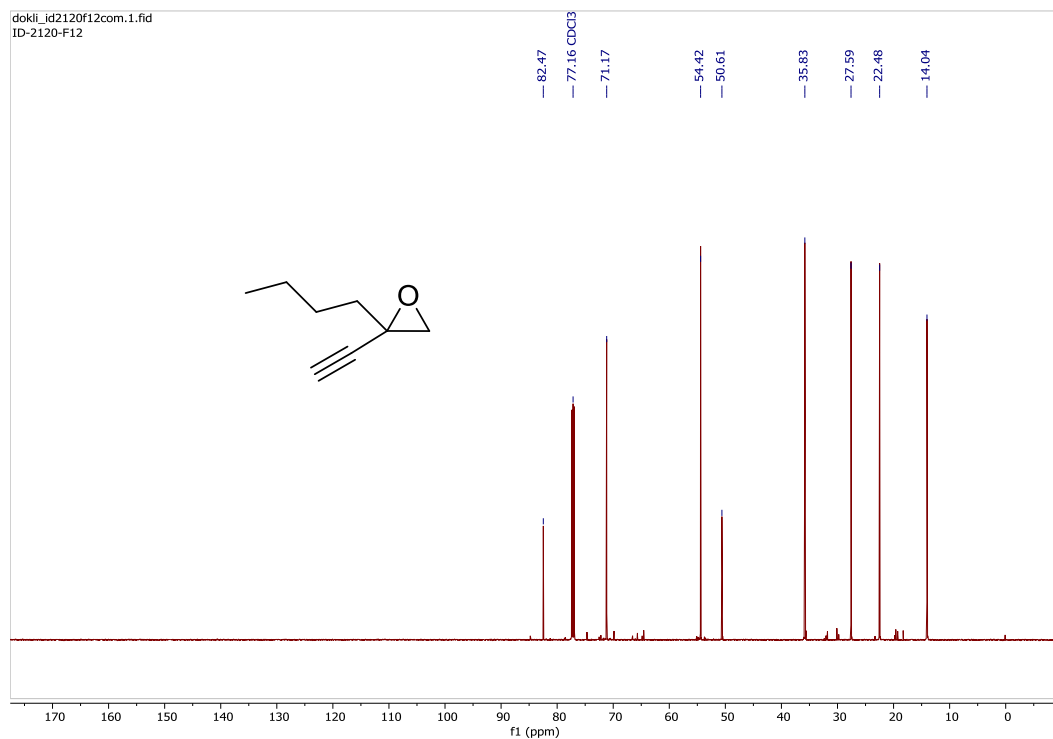


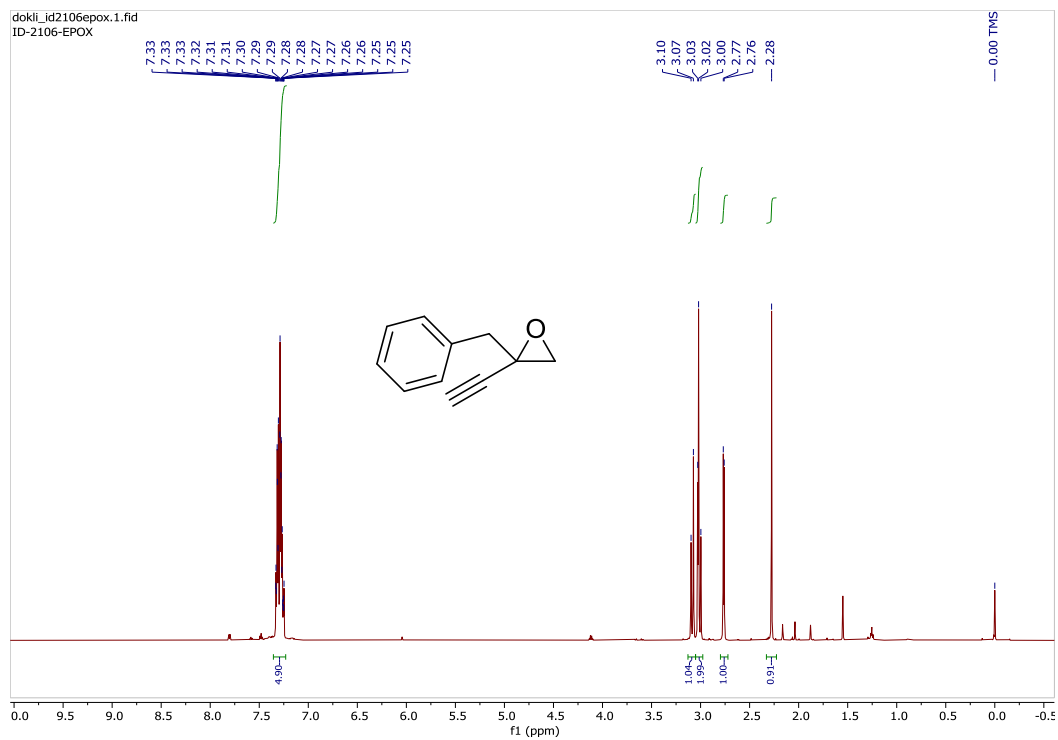
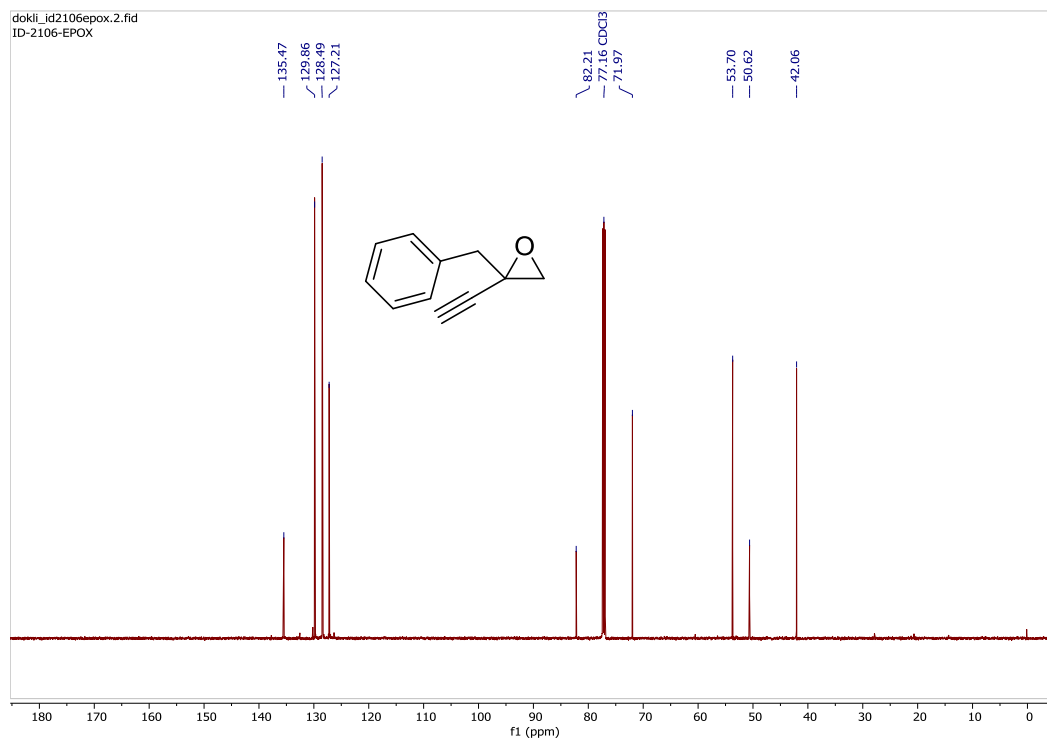
D2.23.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 11a.D2.24.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 11c.

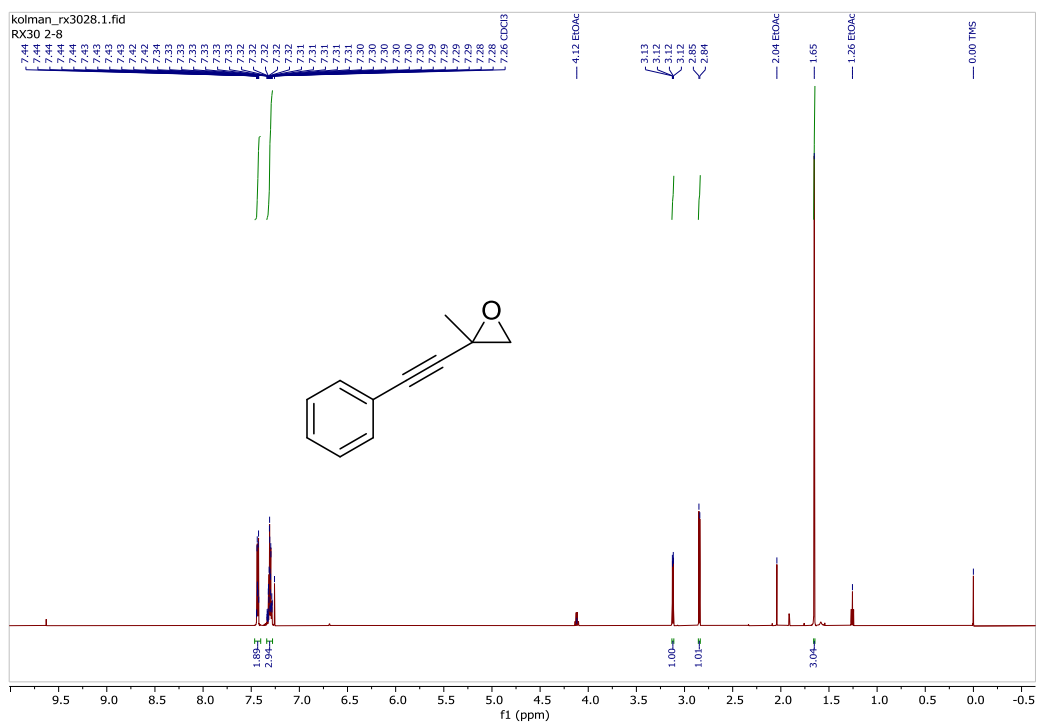
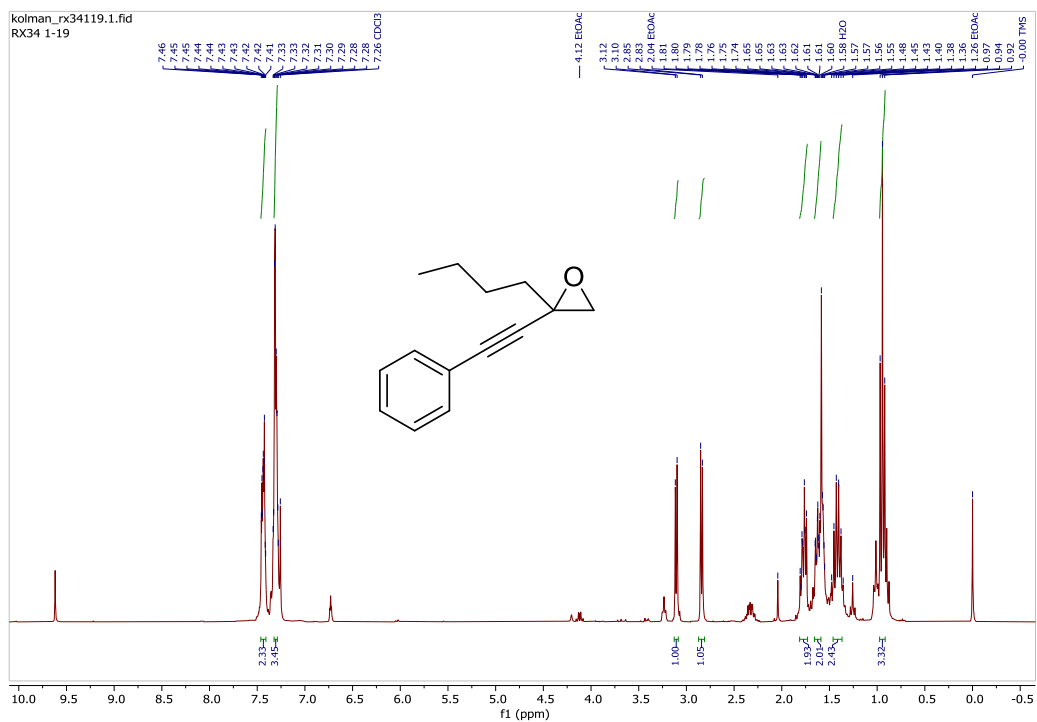


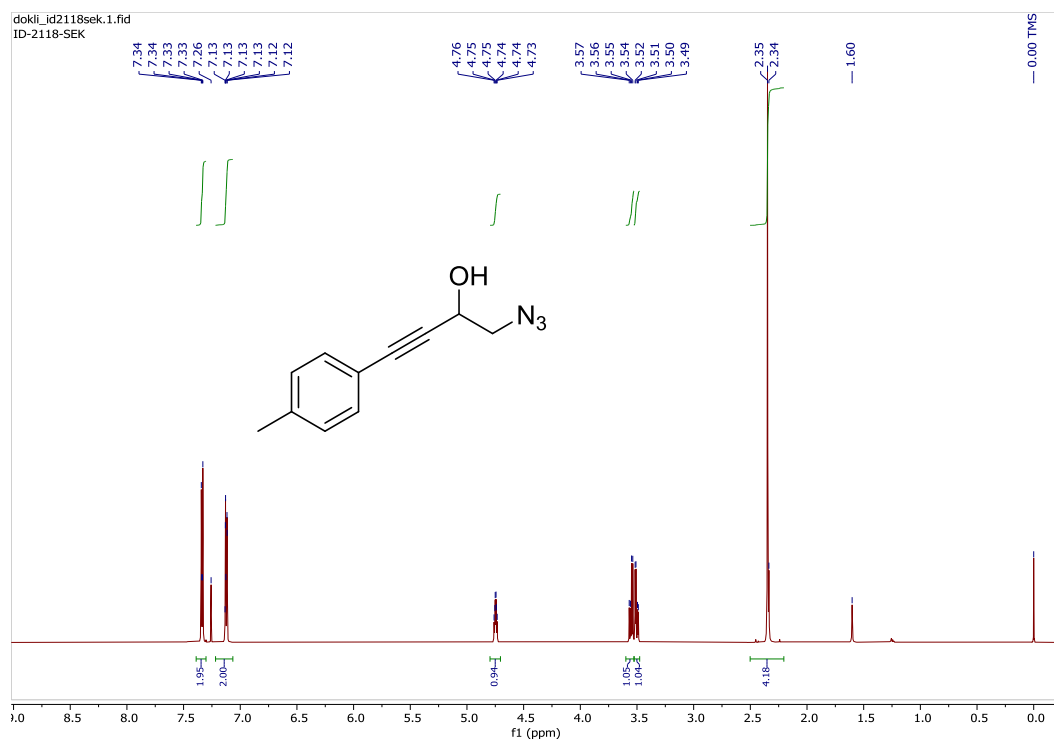
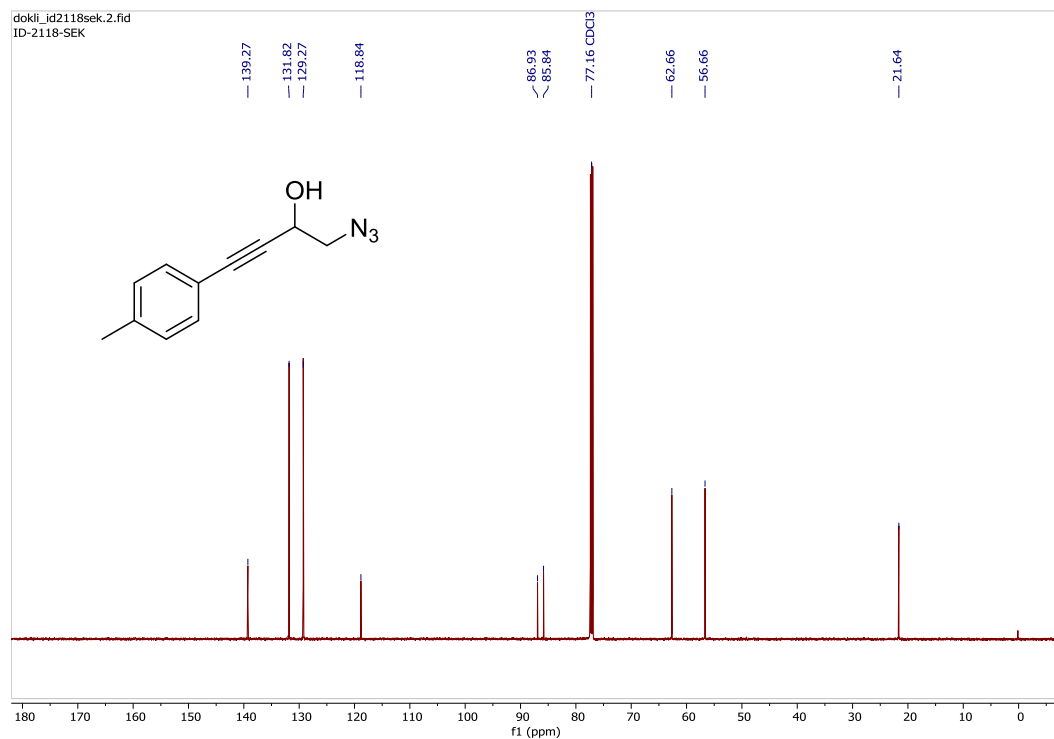
D2.25. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja **11d**.

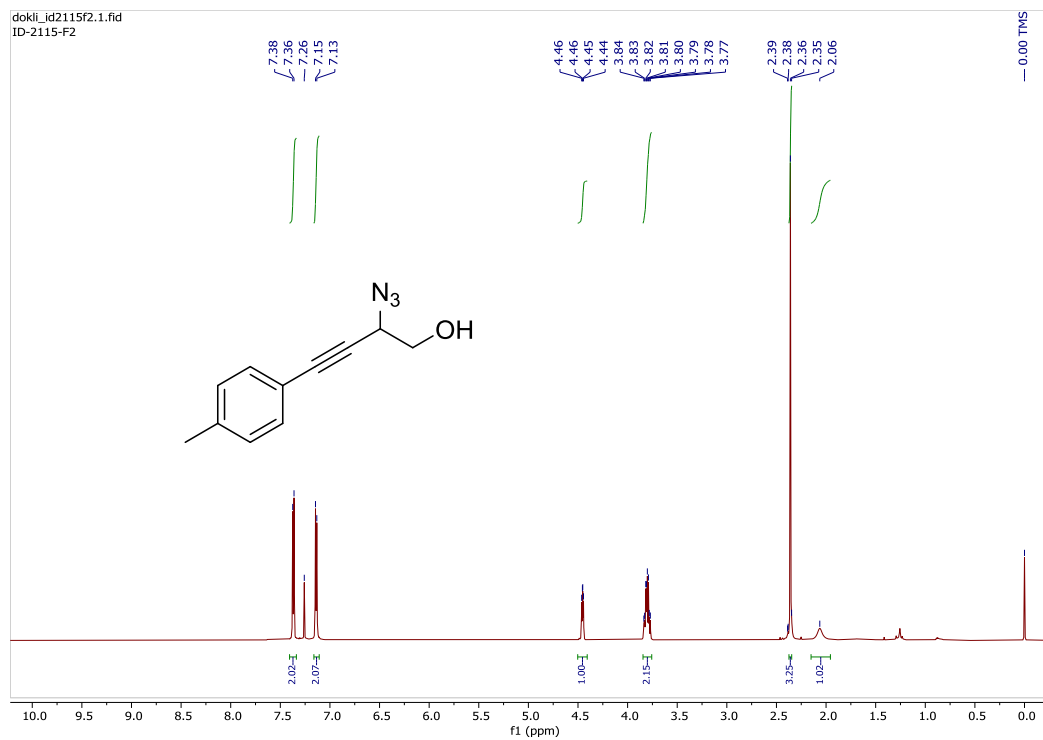
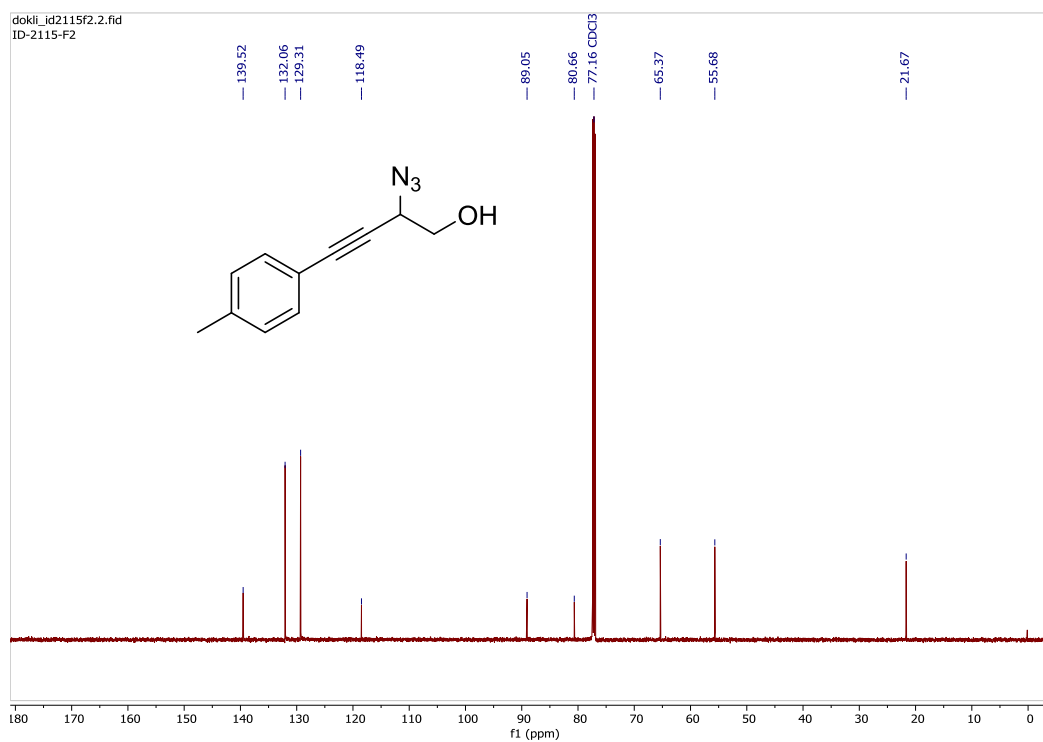
D2.26. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 6h.D2.27. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 6h.

D2.28.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6i**.D2.29.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **6i**.

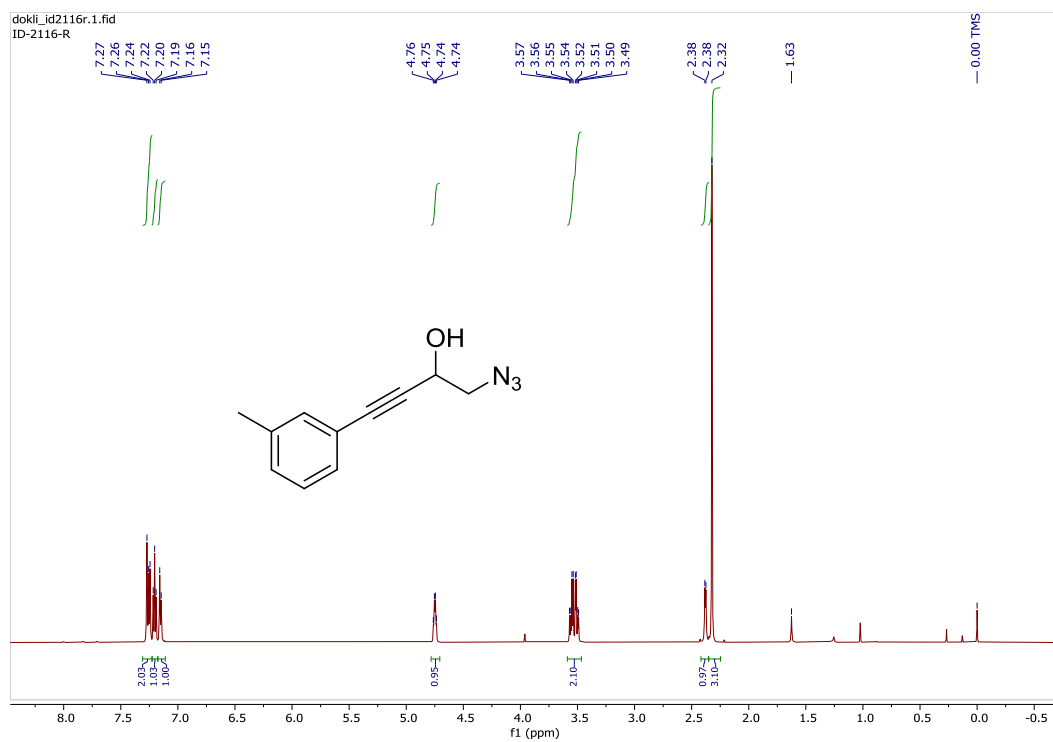
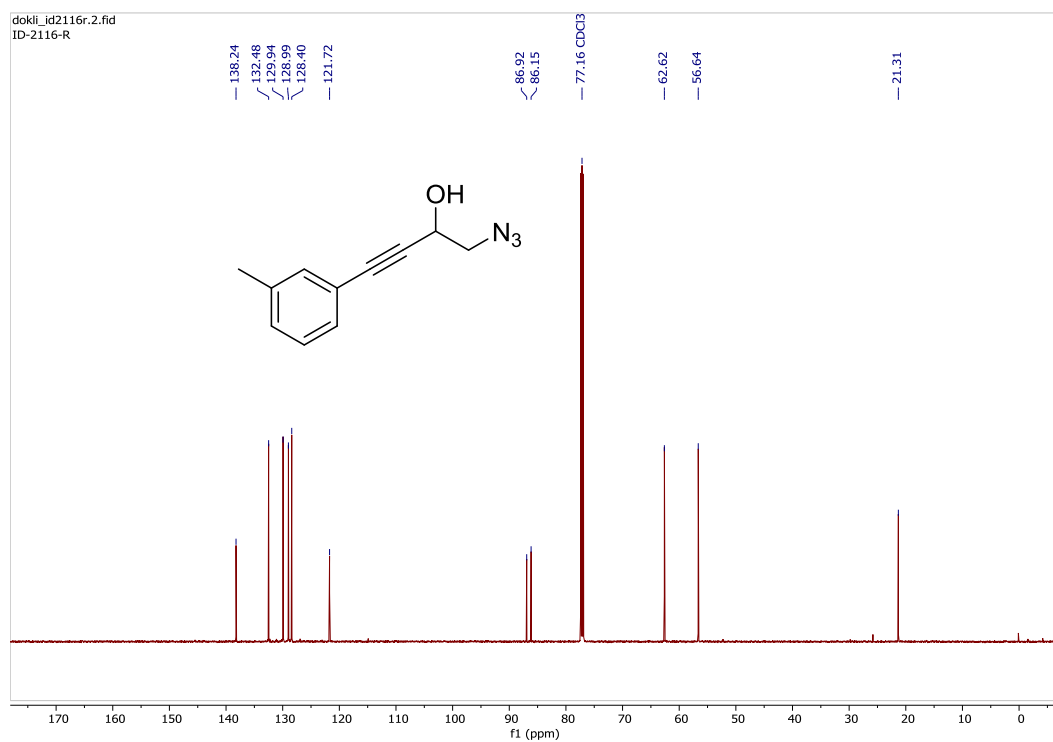
D2.30.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6j**.D2.31.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja **6j**.

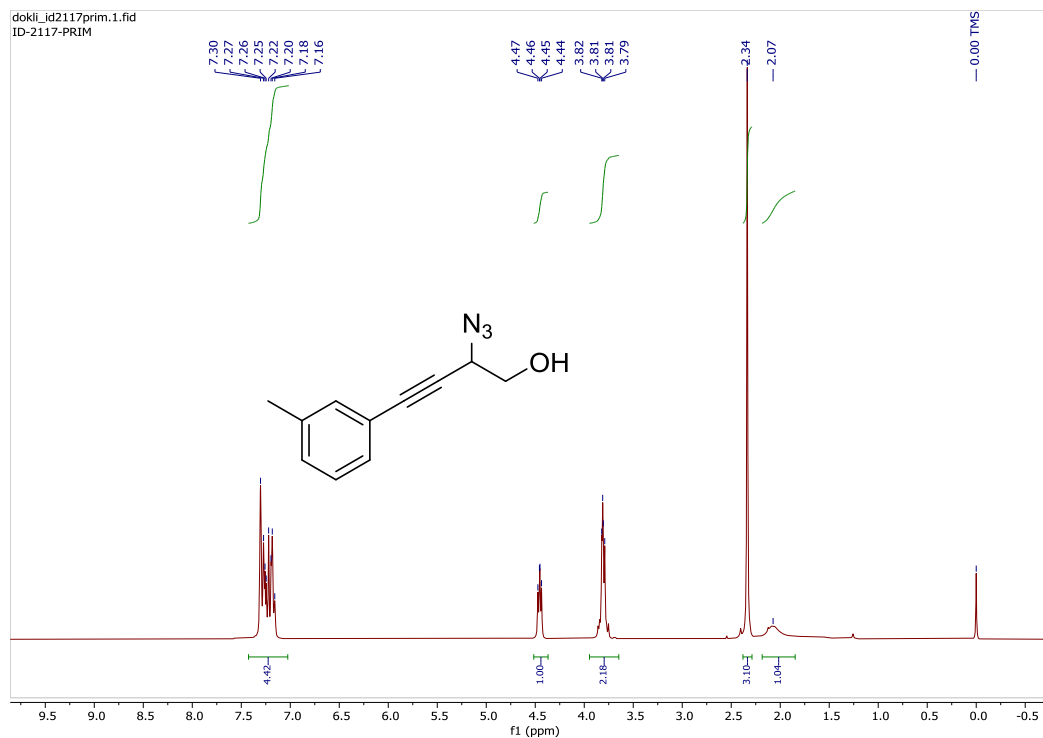
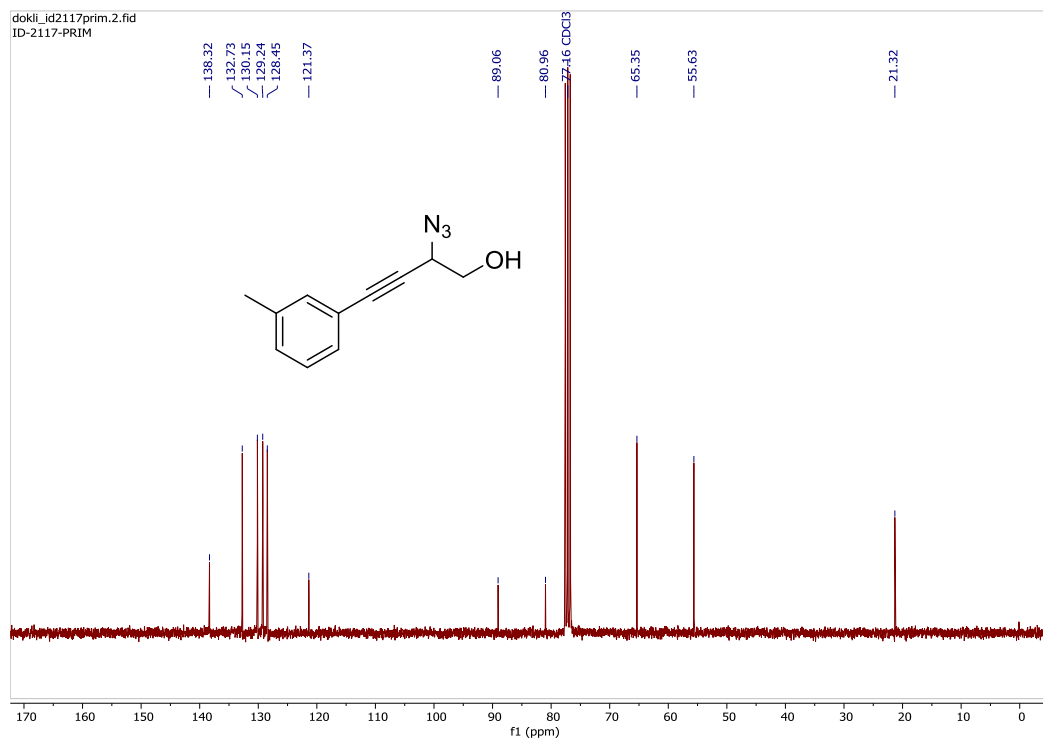
D2.32.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6k**.D2.33.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja **6l**.

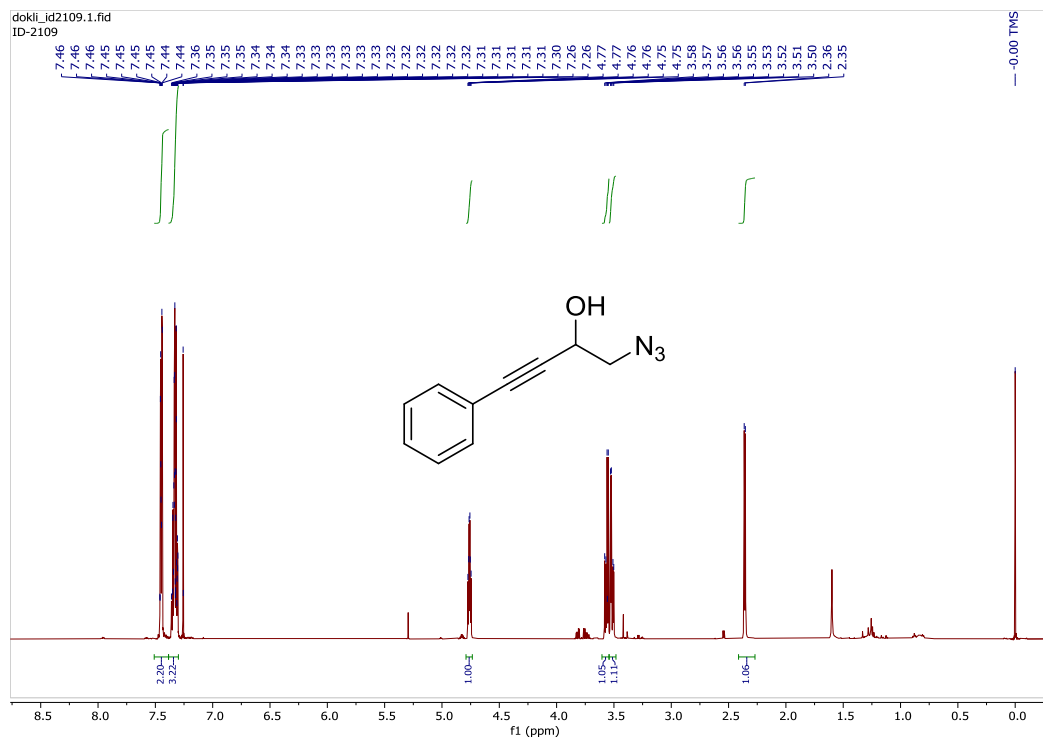
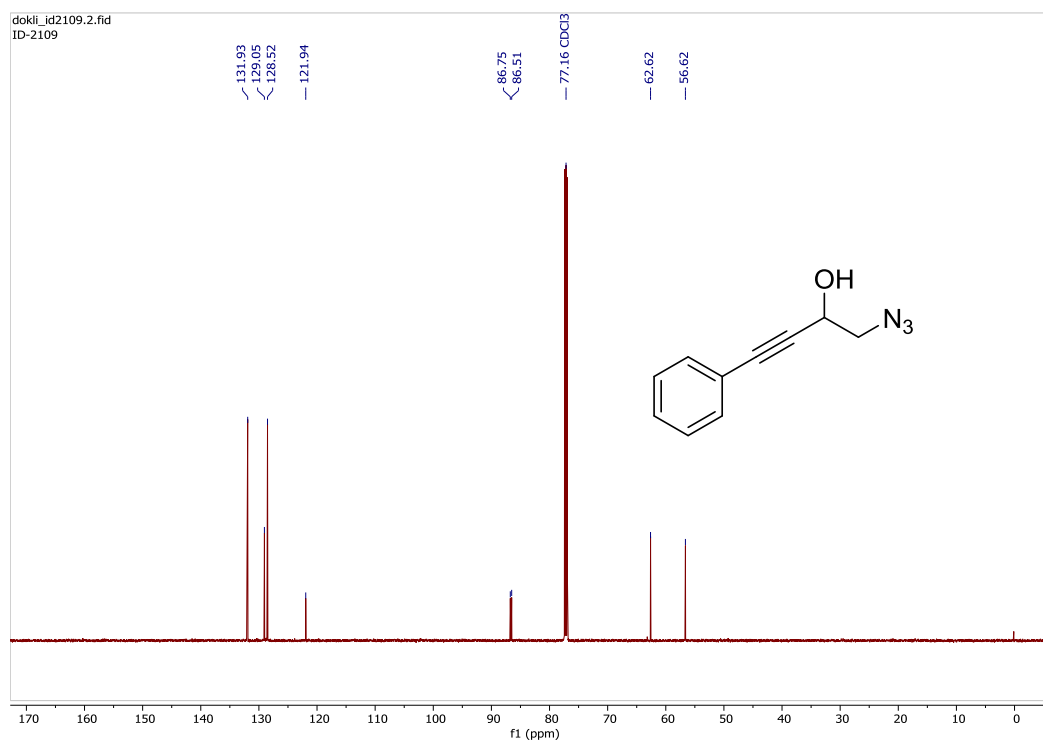
D2.34.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12a.D2.35.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12a.

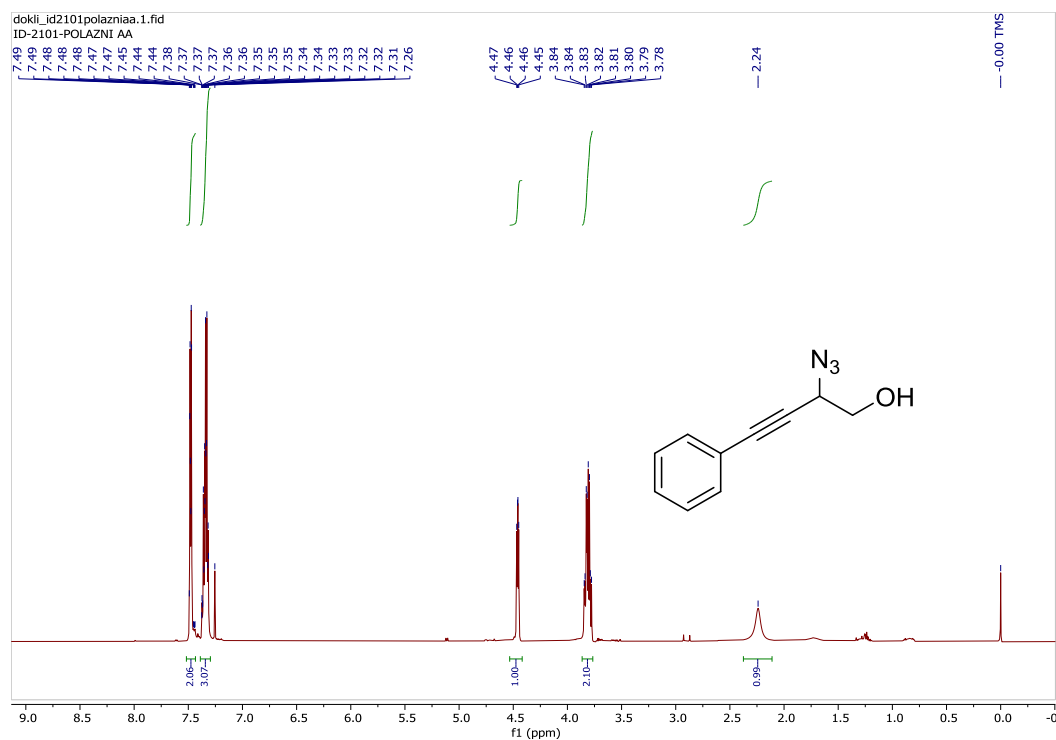
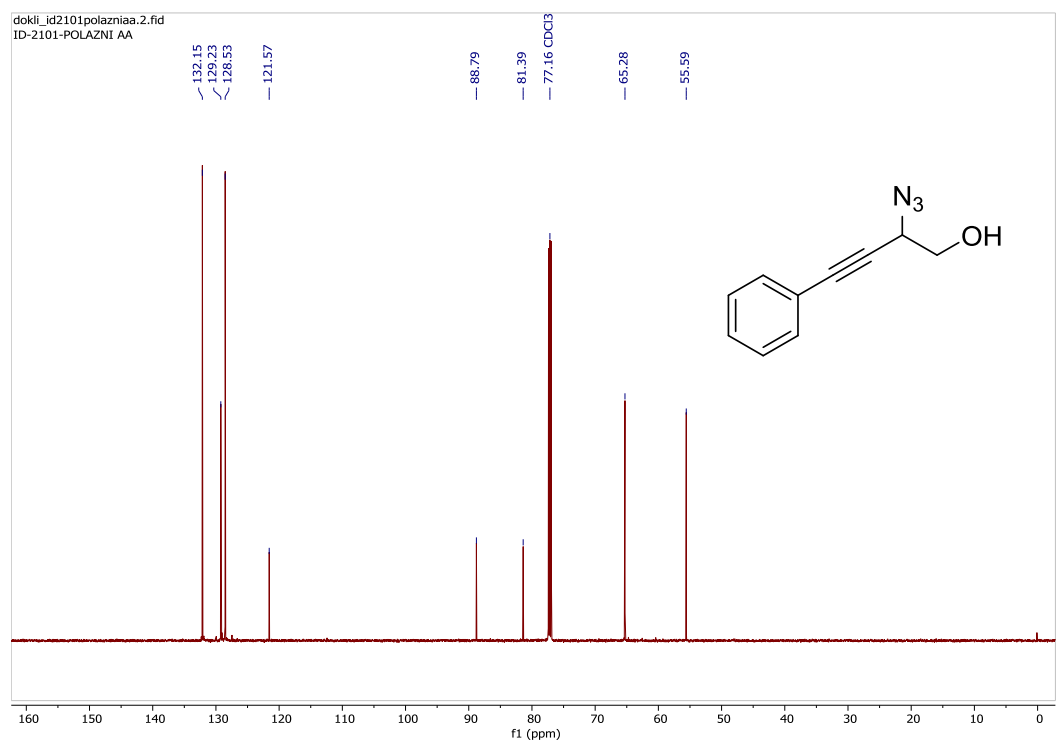
D2.36.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 13a.D2.37.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 13a.

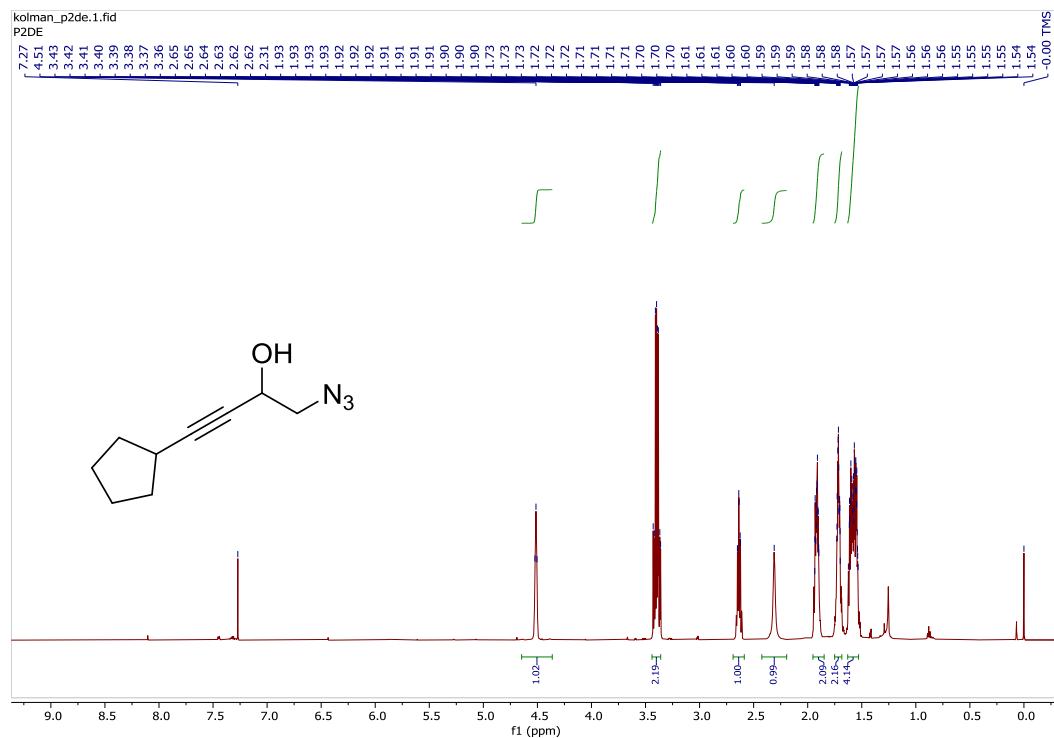
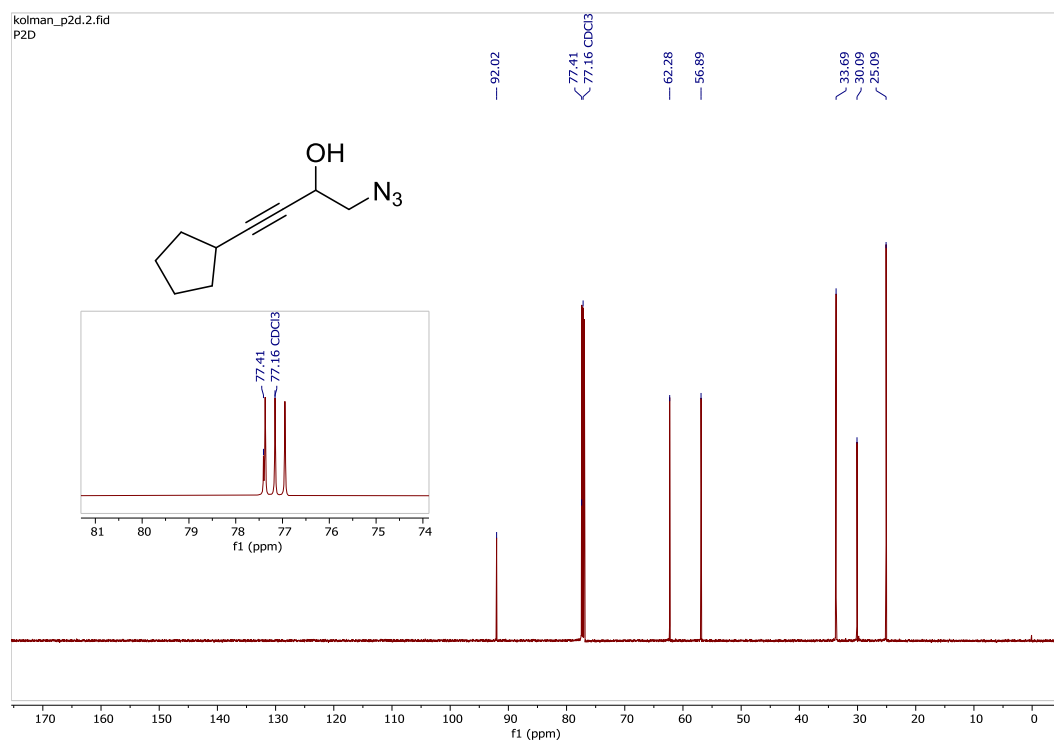


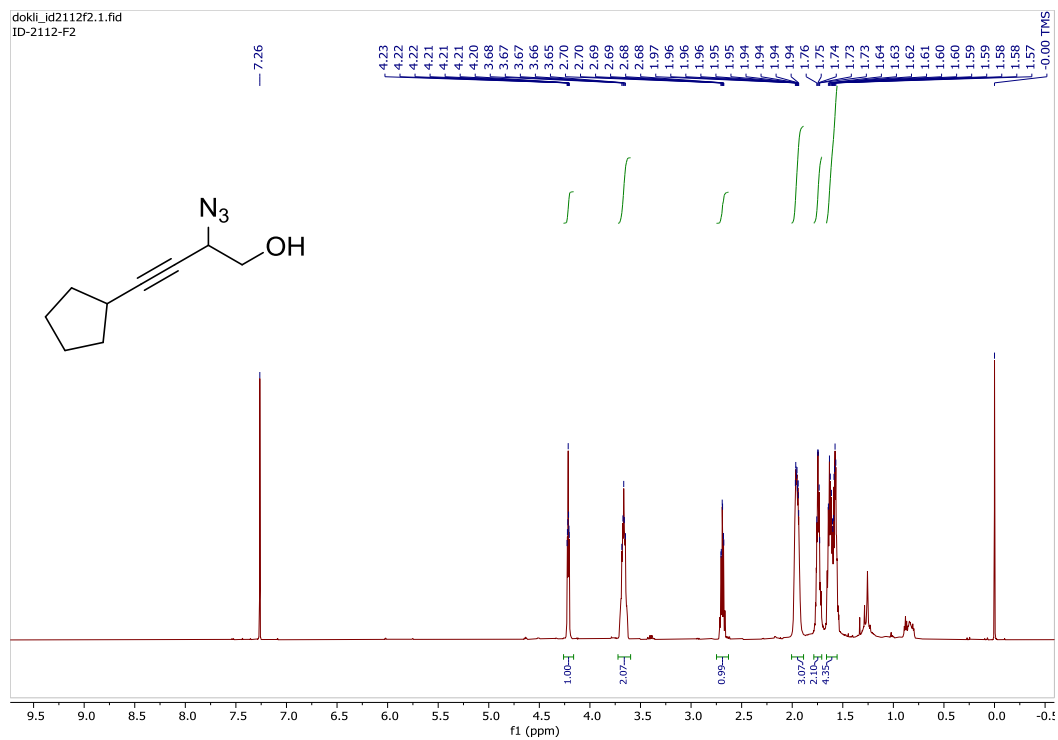
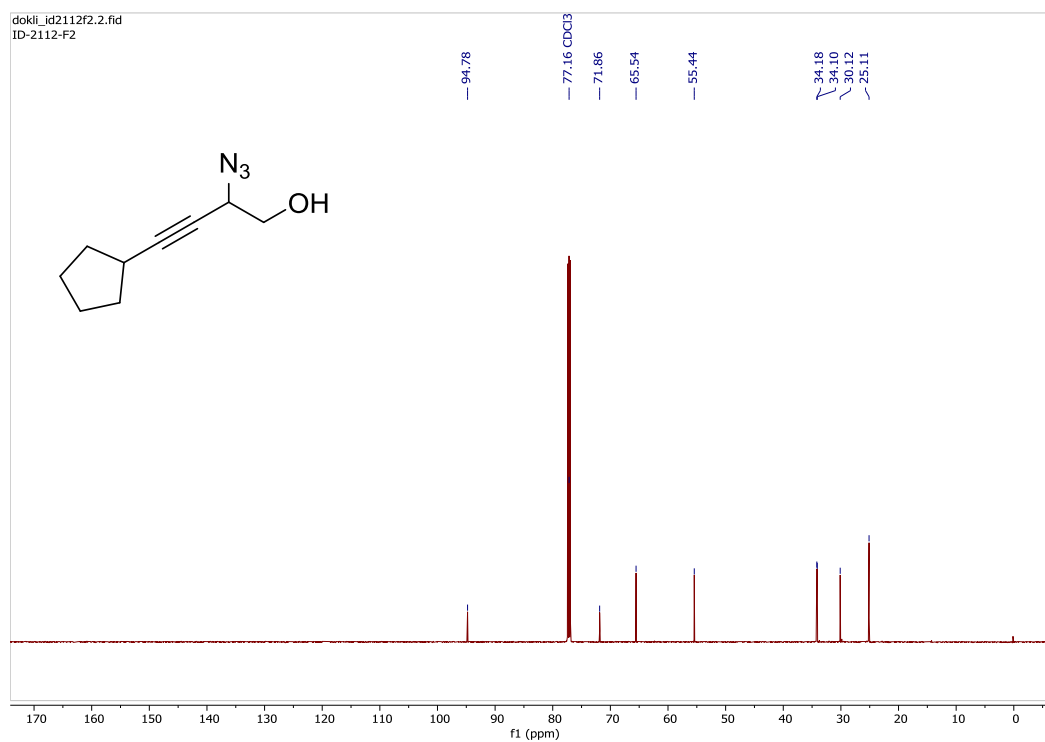
D2.38.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12b.D2.39.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12b.

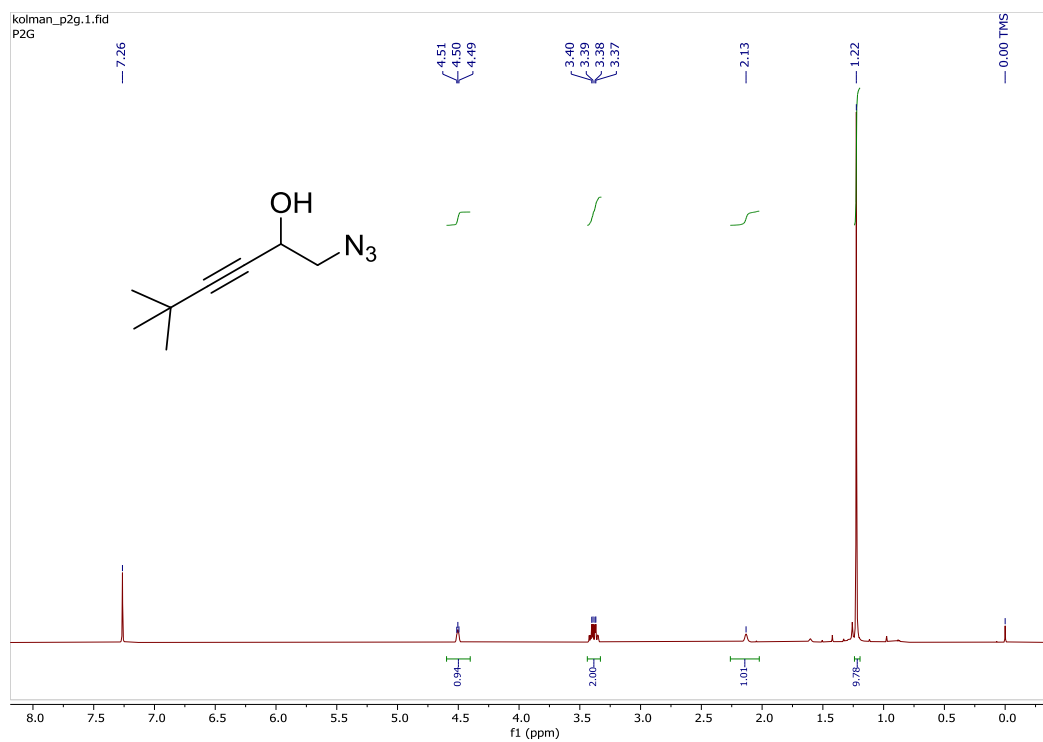
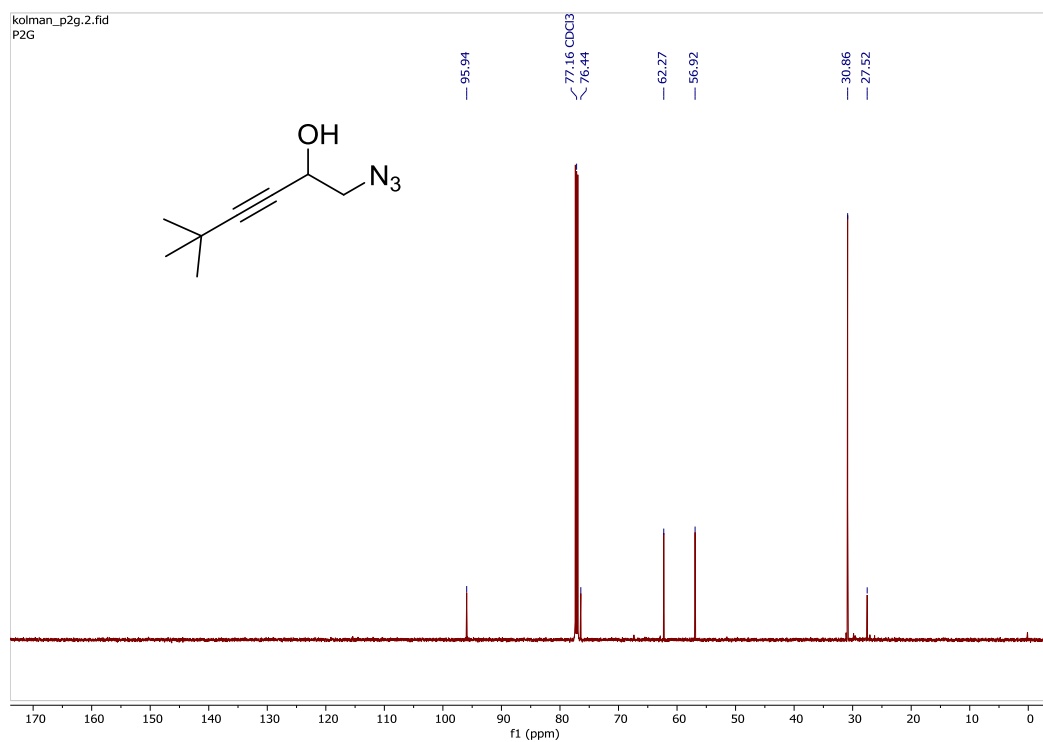
D2.40.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 13b.D2.41.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 13b.

D2.42.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12c.D2.43.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12c.

D2.44.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 13c.D2.45.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 13c.

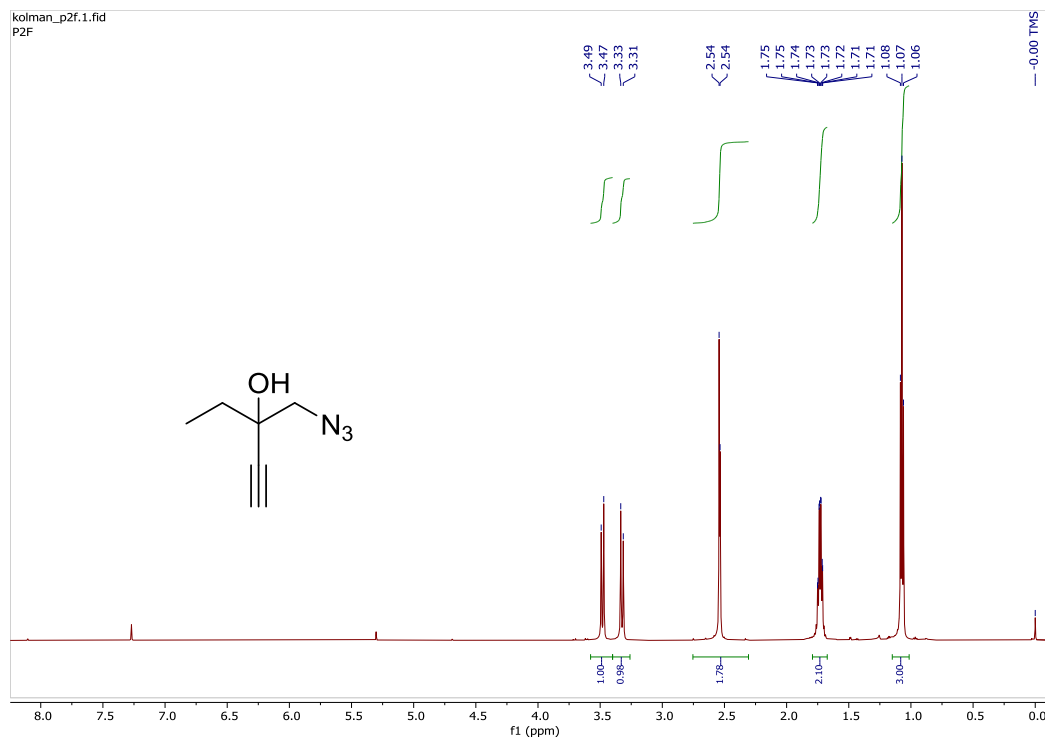
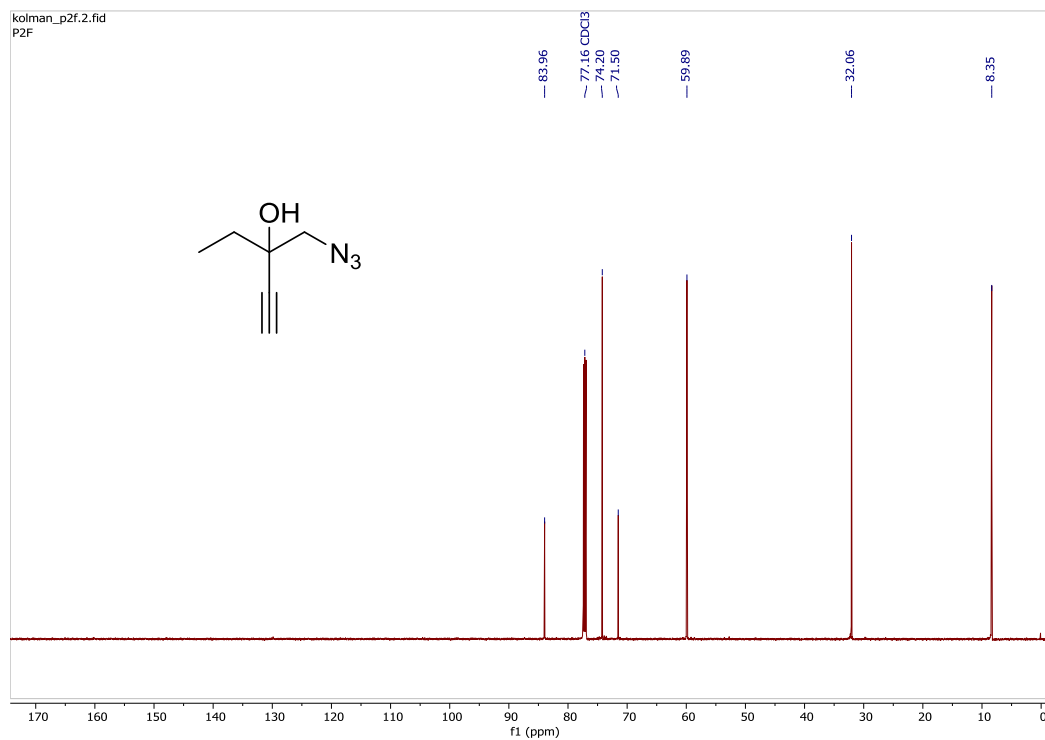
D2.46.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12d.D2.47.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12d.

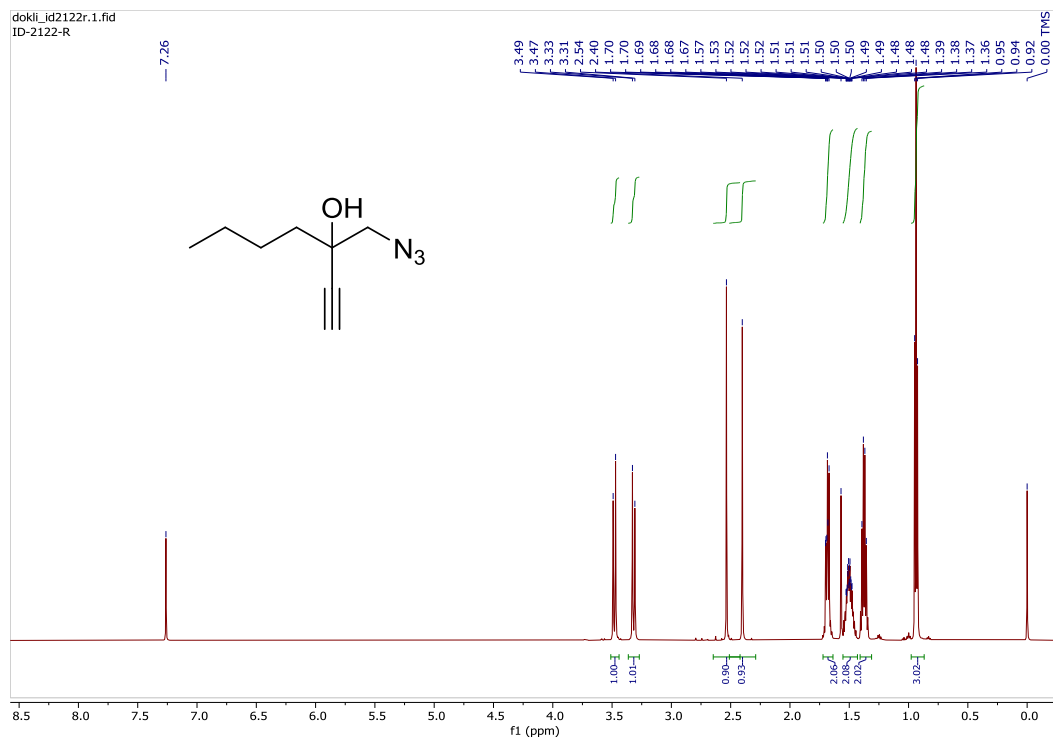
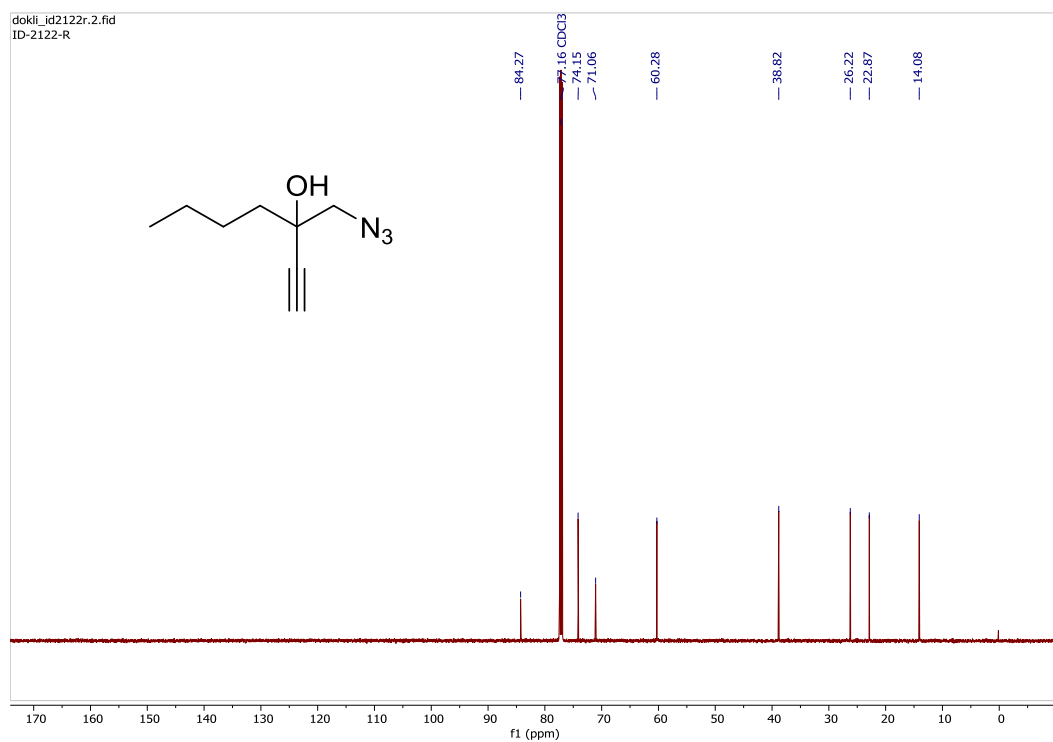
D2.48.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 13d.D2.49.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 13d.

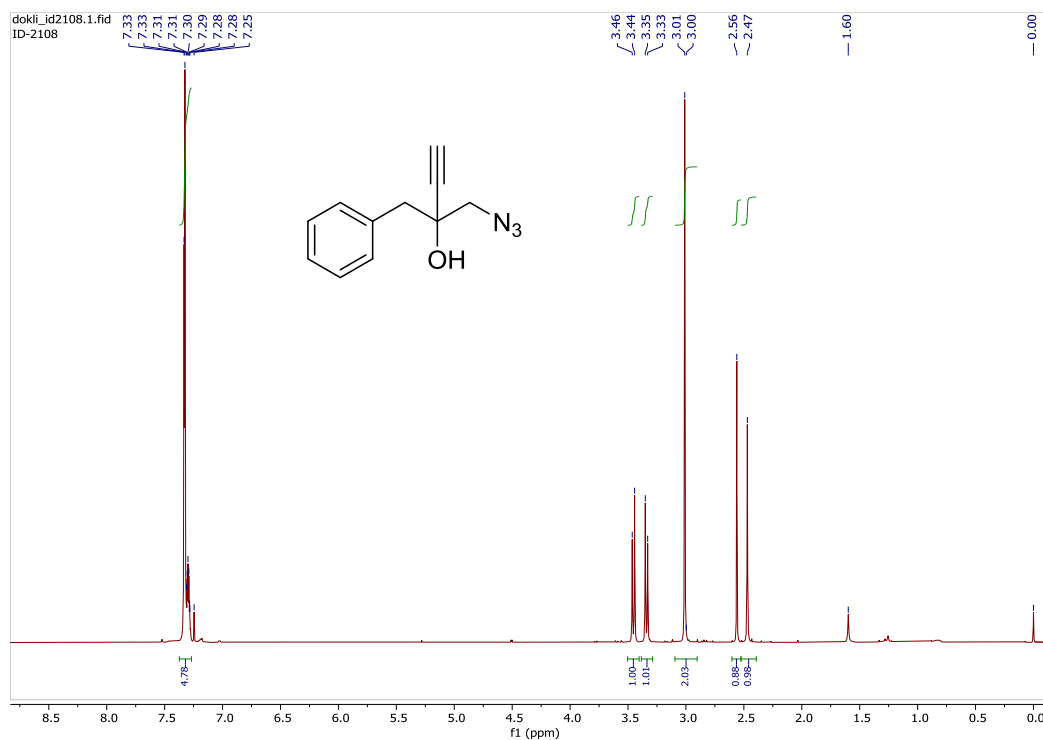
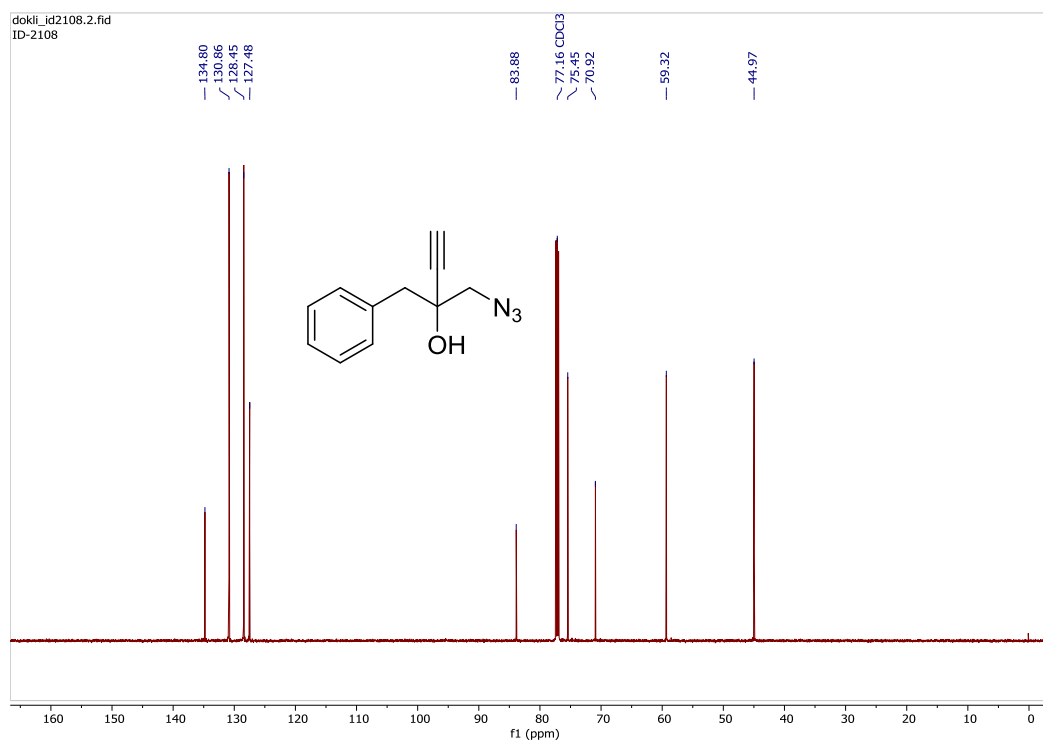
D2.50.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12e.D2.51.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12e.

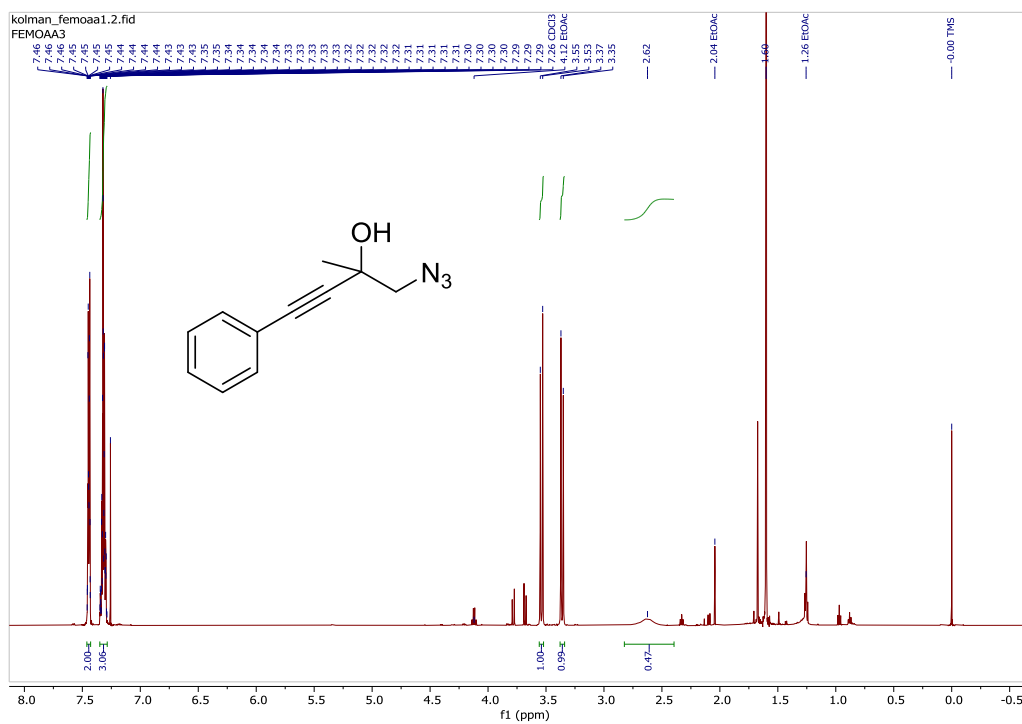
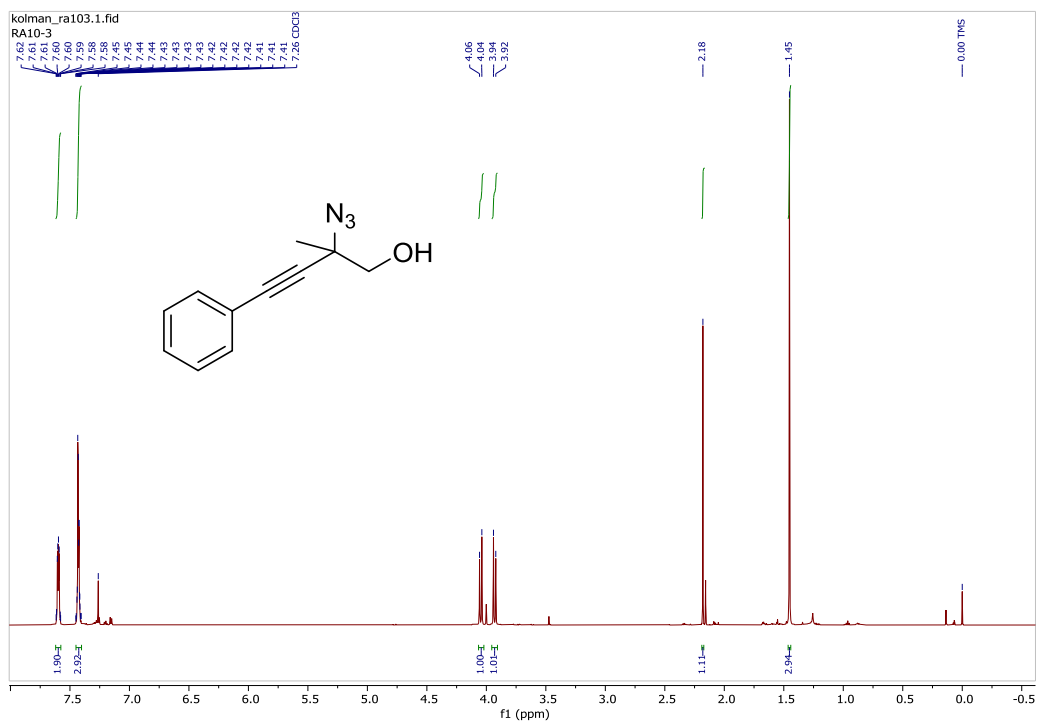


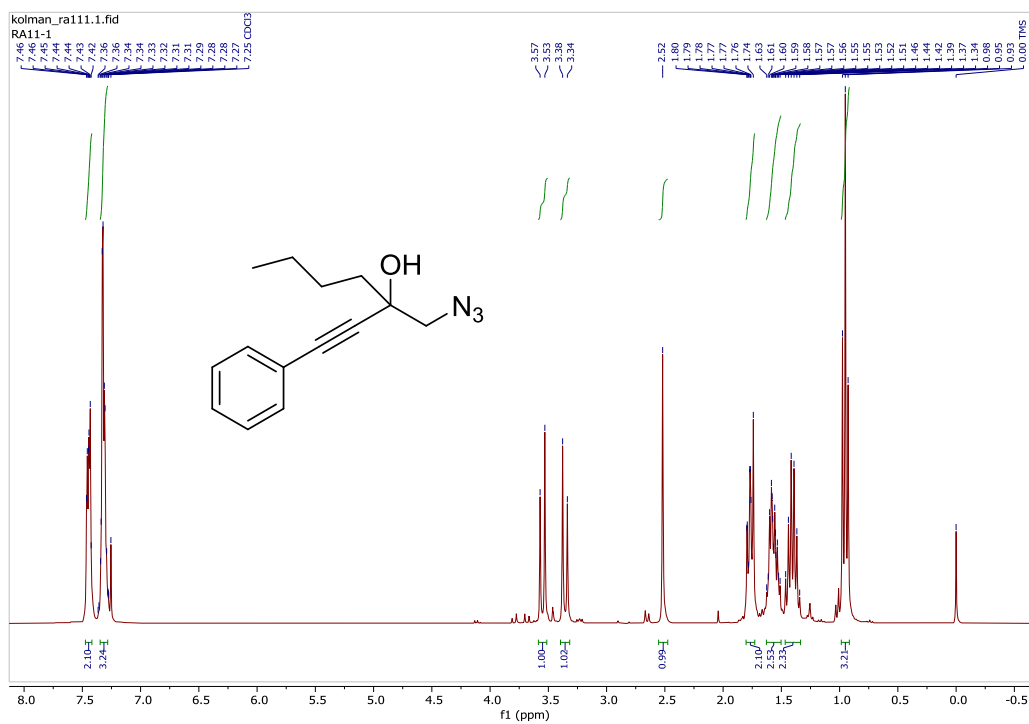
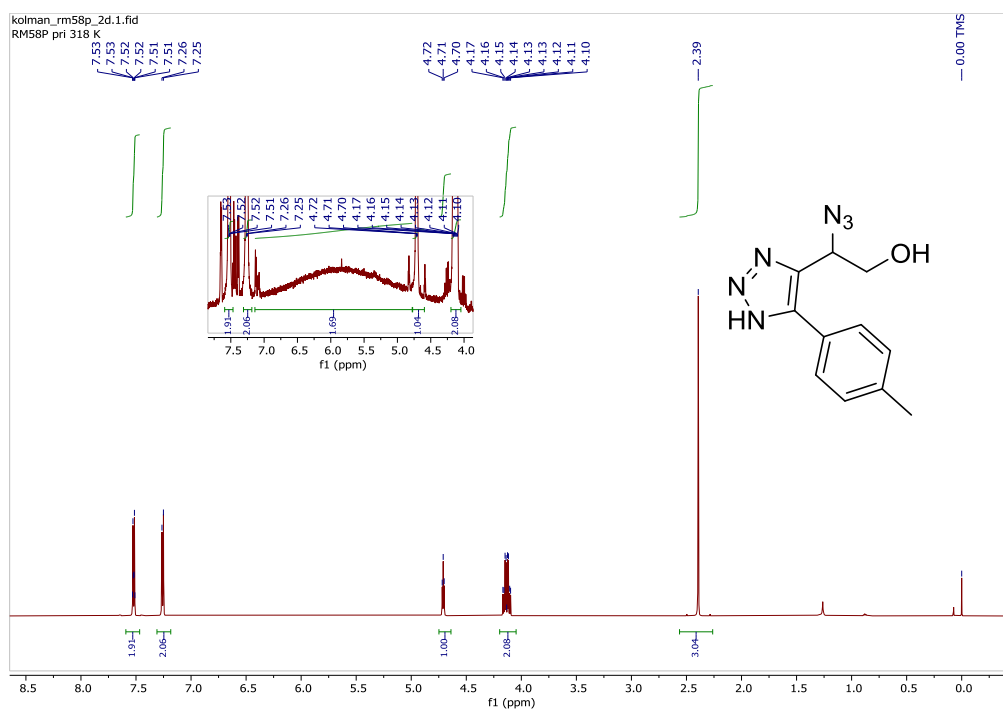


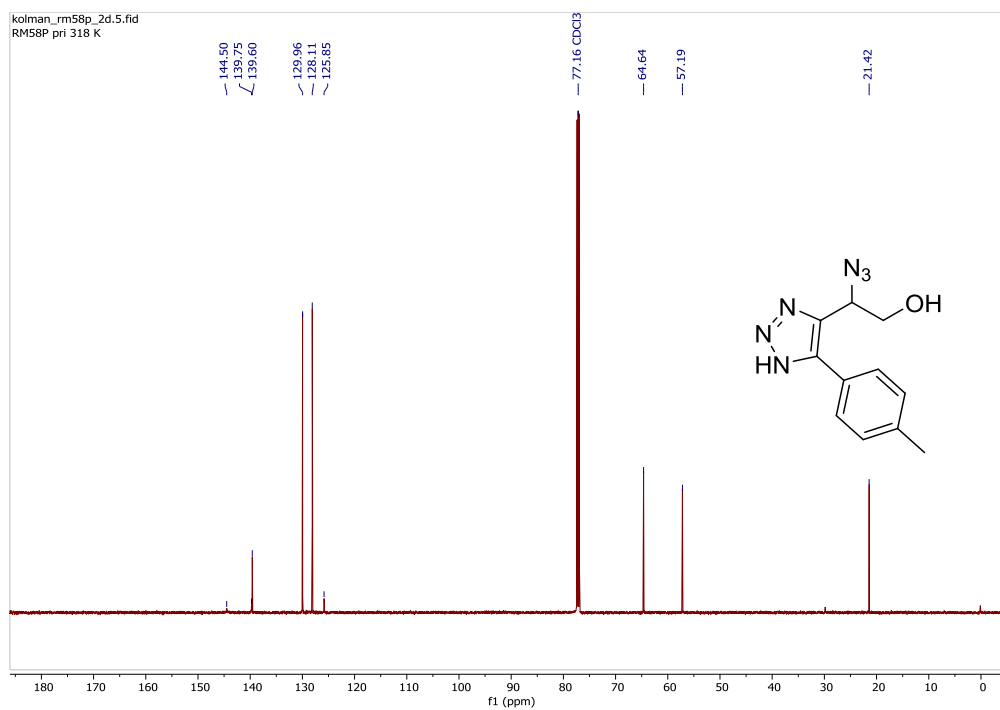
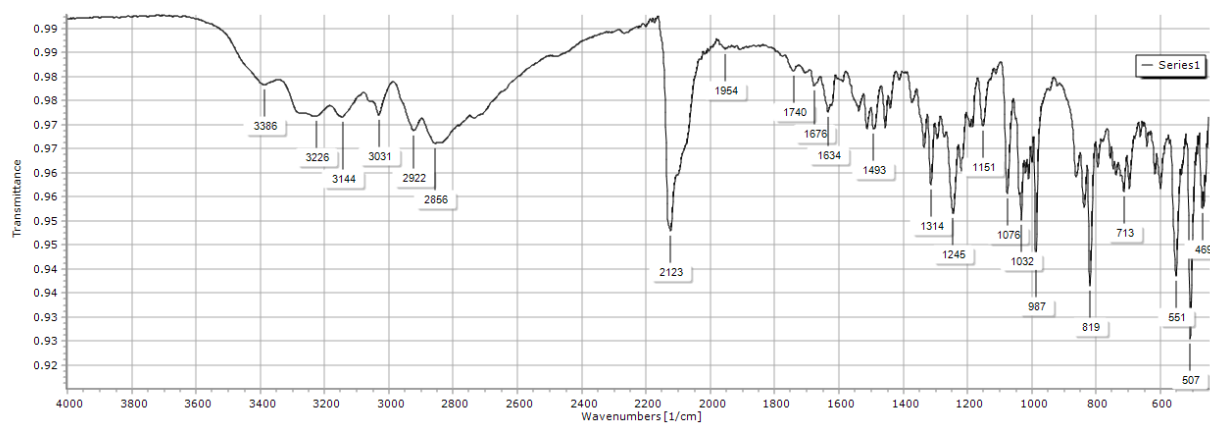
D2.54.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12f.D2.55.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12f.

D2.56.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12g.D2.57.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12g.

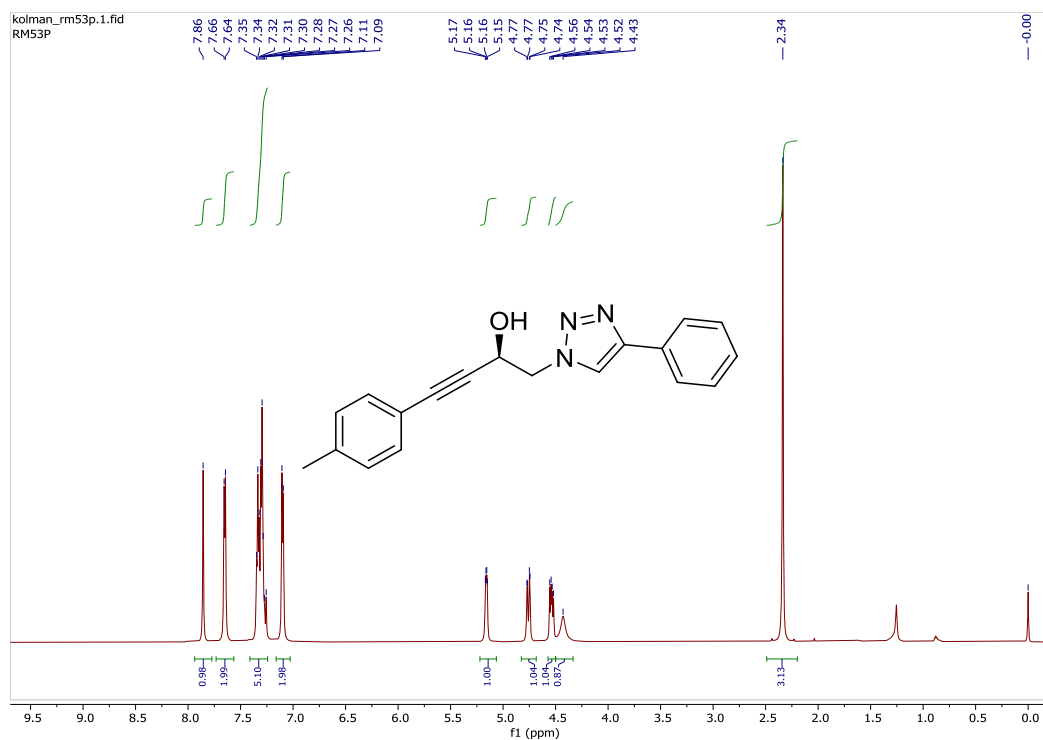
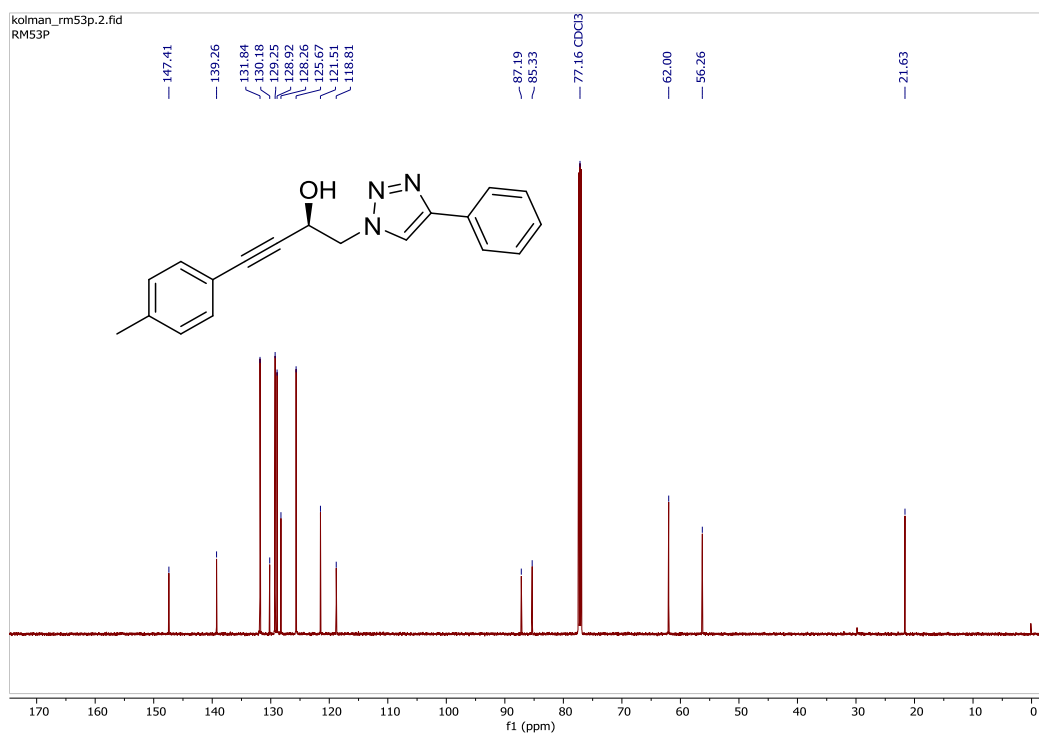
D2.58.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 12h.D2.59.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 12h.

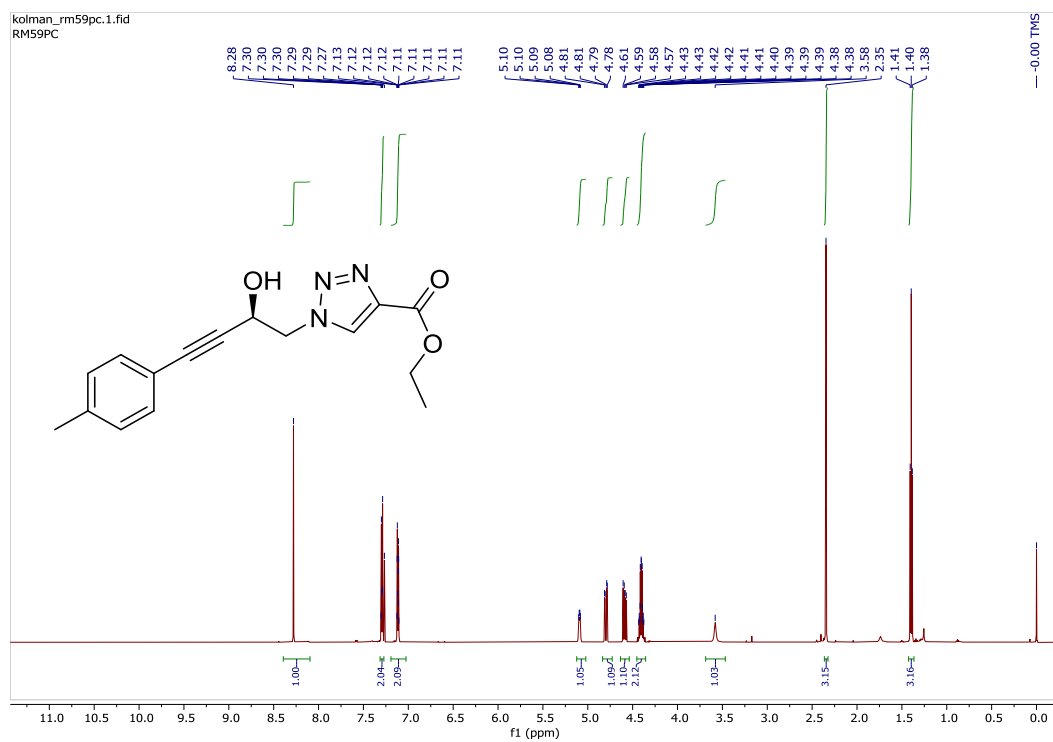
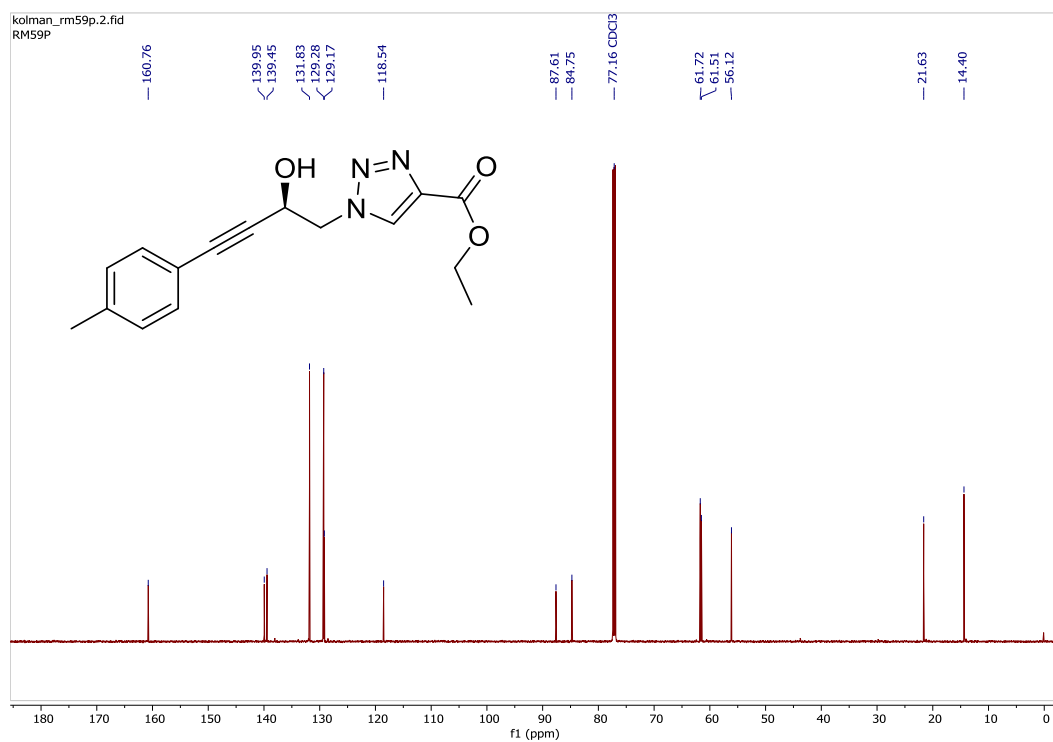
D2.60. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 12i.D2.61. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 13f.

D2.62. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 12j.D2.63. <sup>1</sup>H NMR spektar spoja 14a.

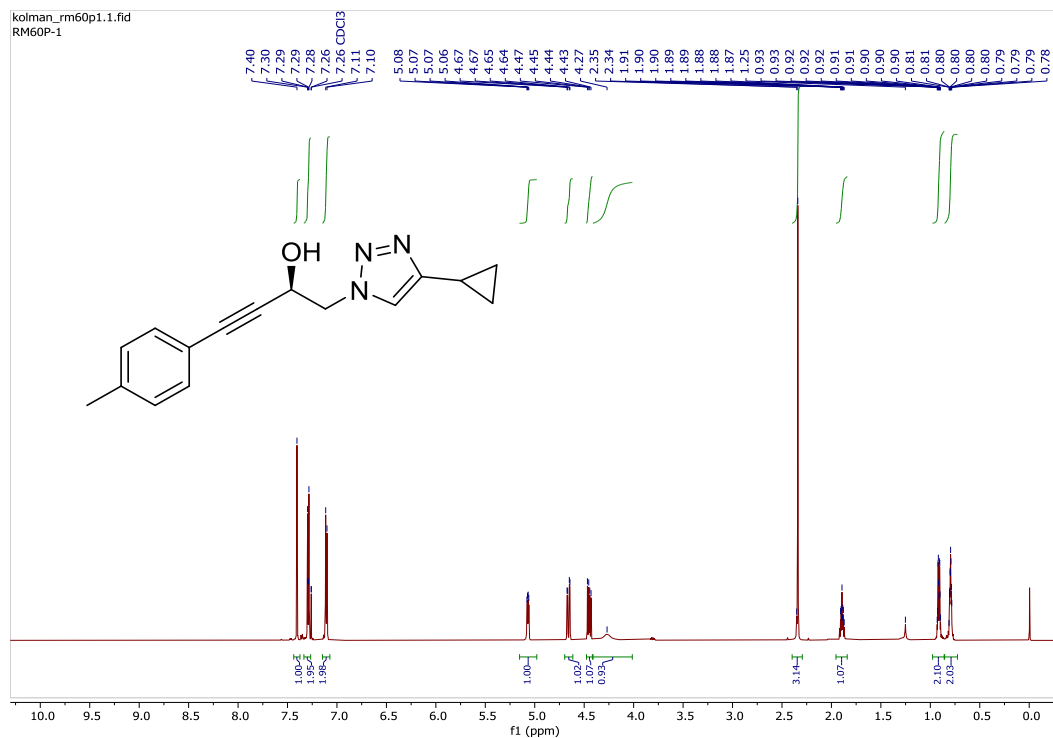
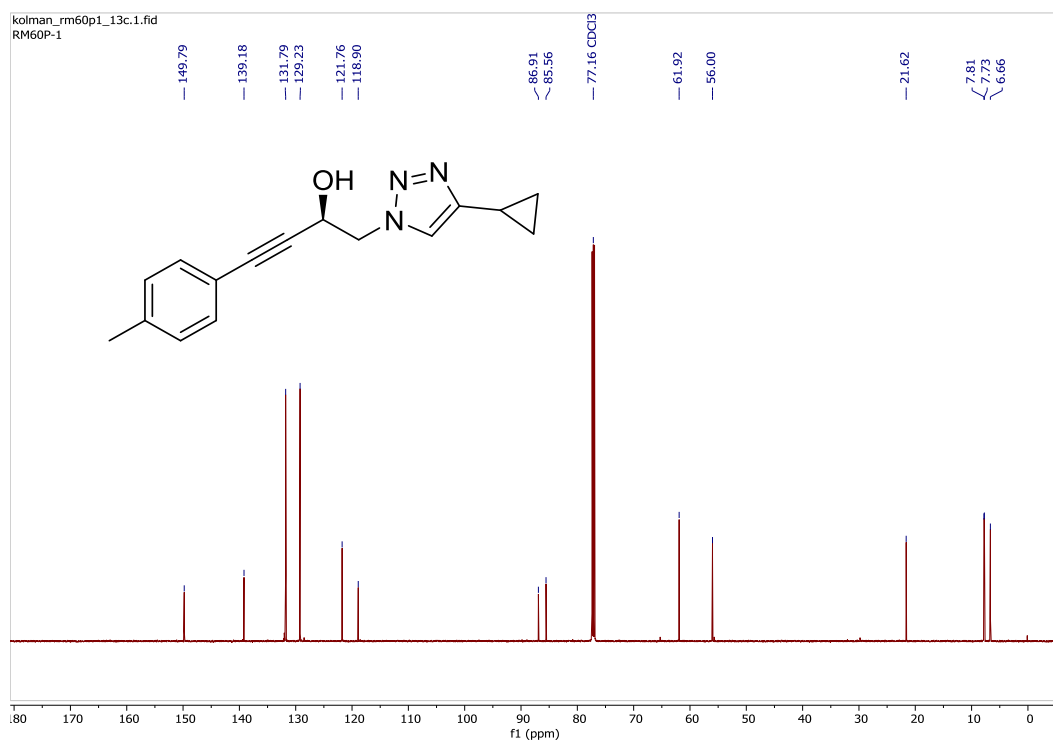
D2.64. <sup>13</sup>C NMR spektar spoja 14a.

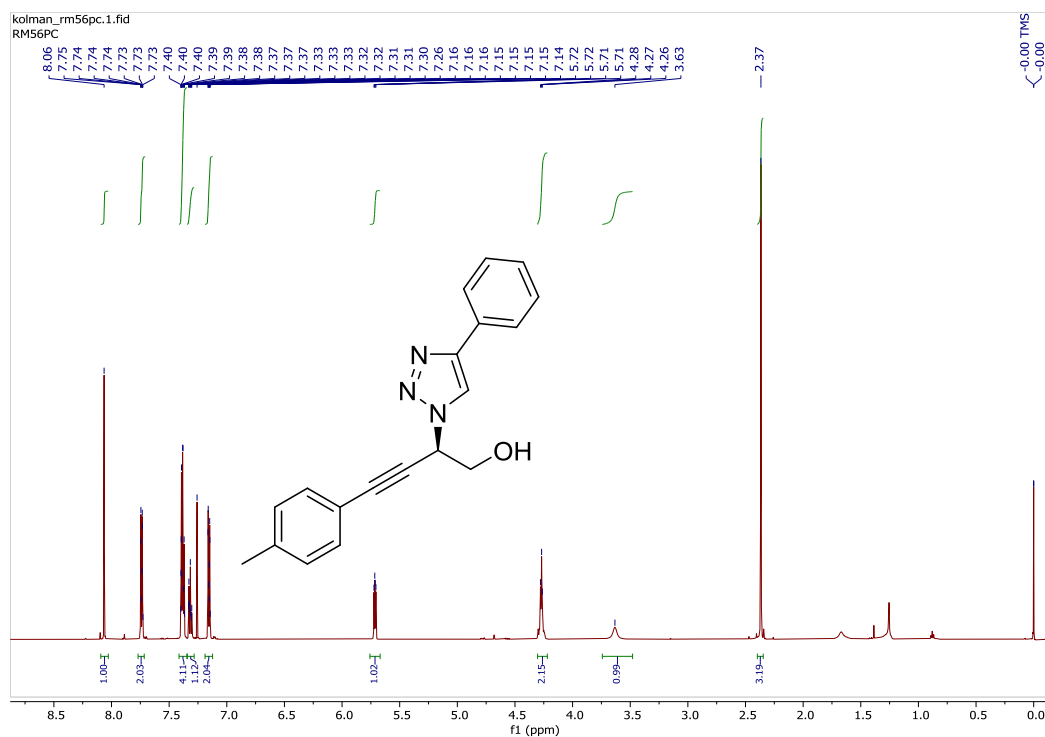
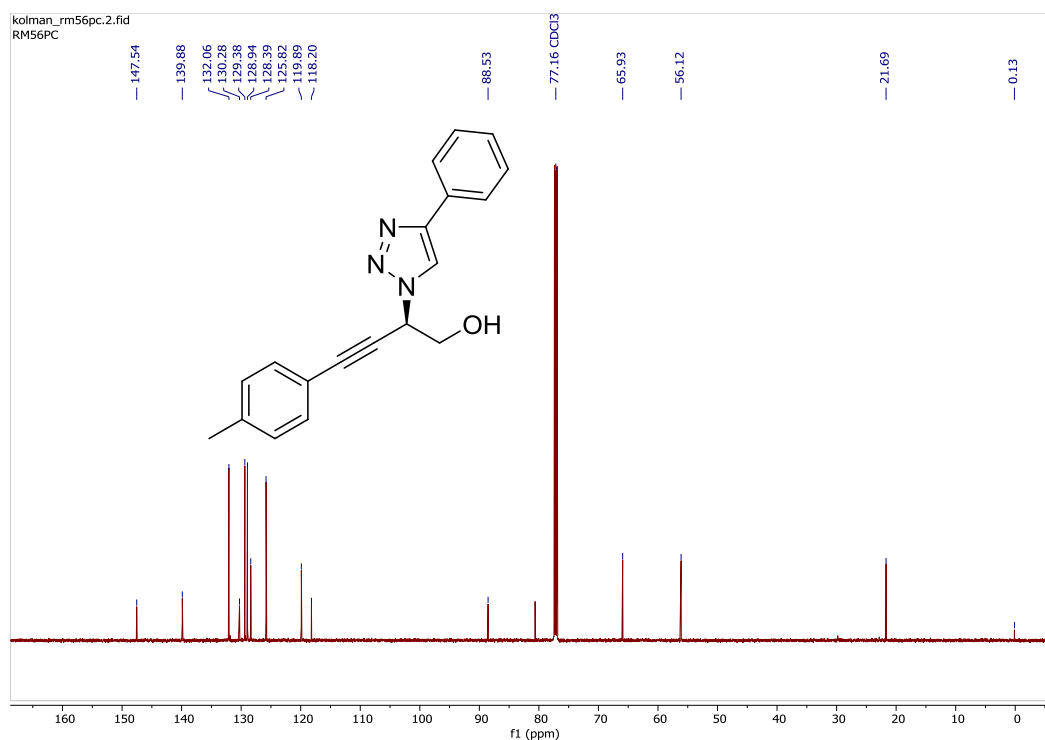
D2.65. IR spektar spoja 14a.

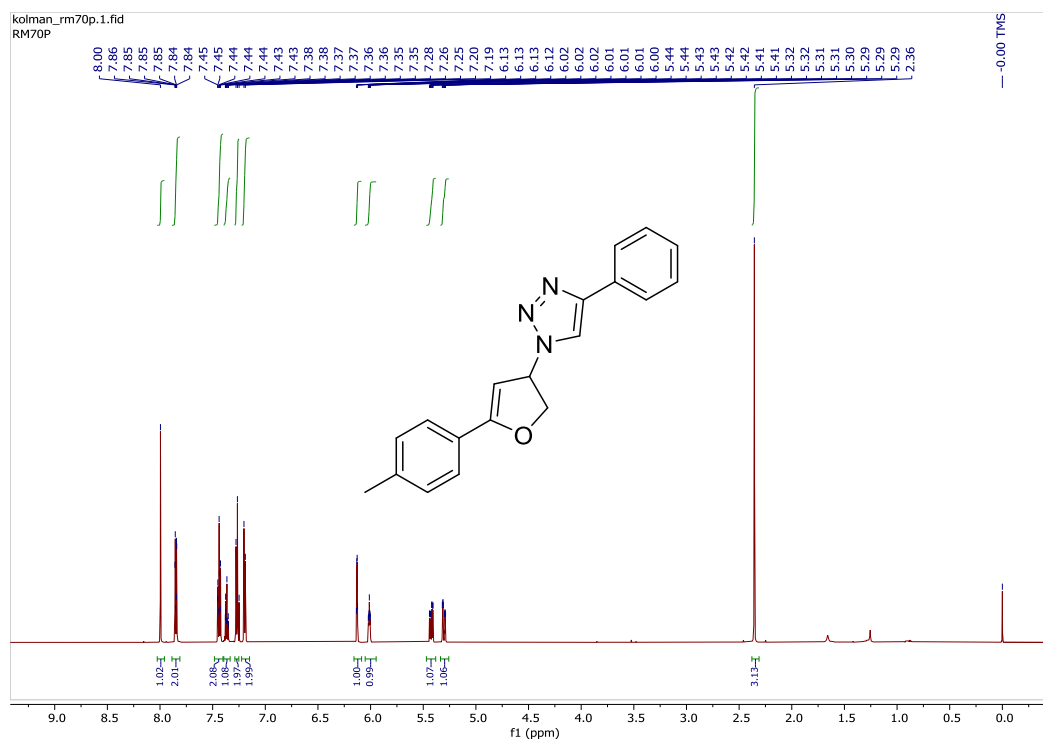
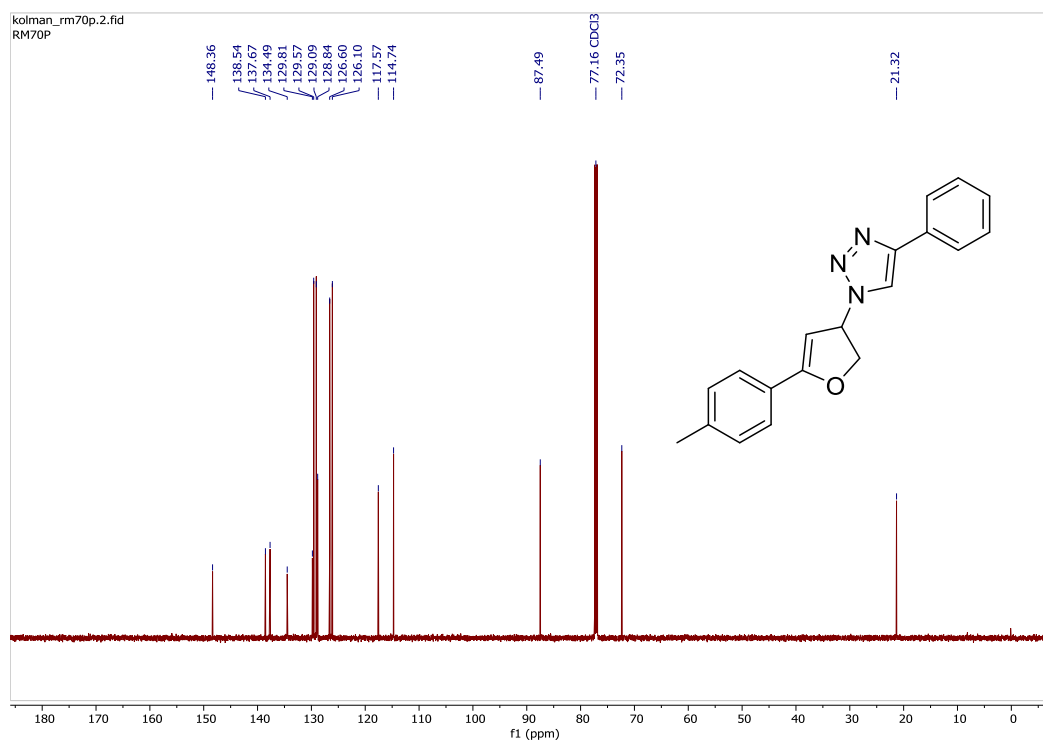
D2.66.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 15a.D2.67.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 15a.

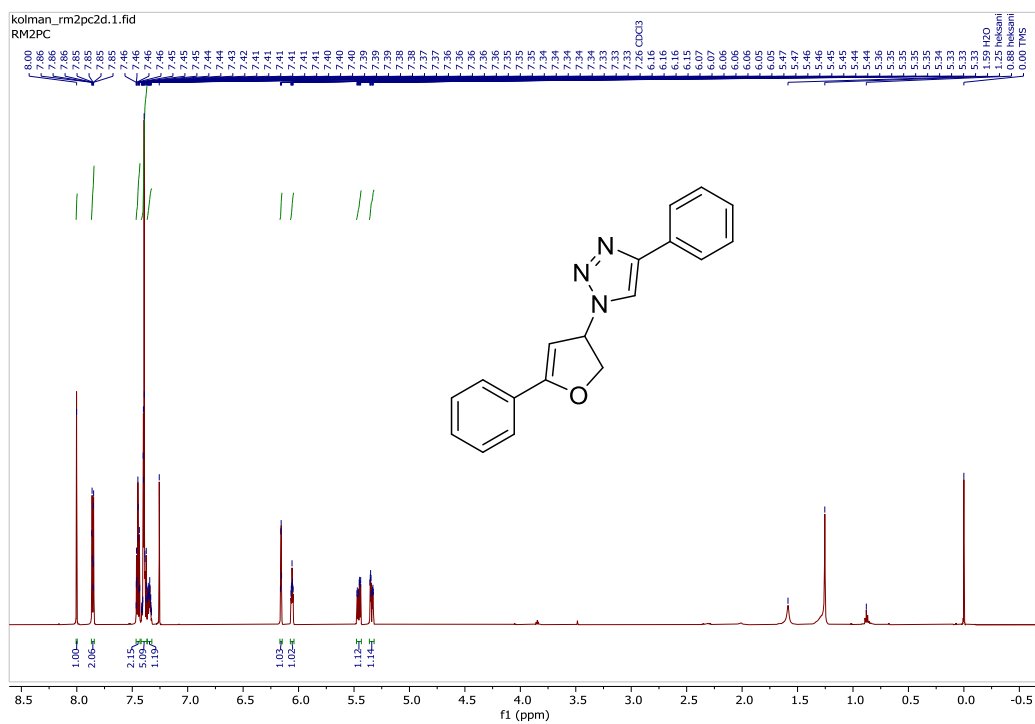
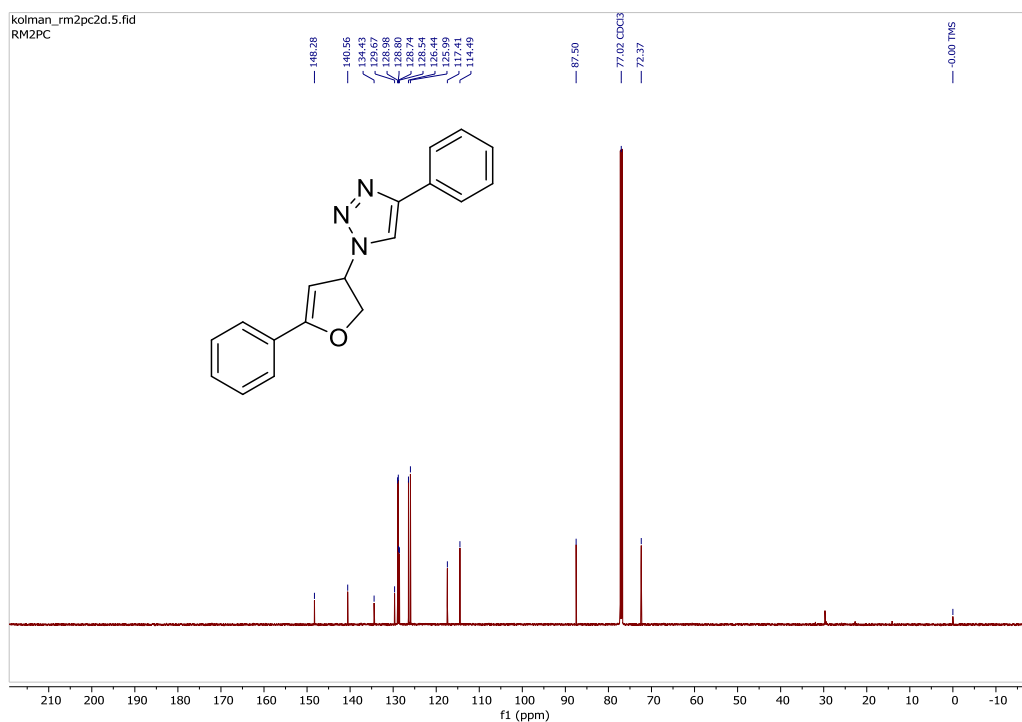
D2.68.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 15b.D2.69.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 15b.



D2.70.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 15c.D2.71.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 15c.

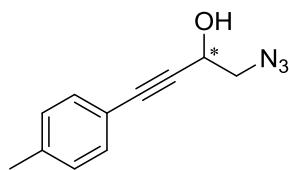
D2.72.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 16.D2.73.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 16.

D2.74.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 17a.D2.75.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 17a.

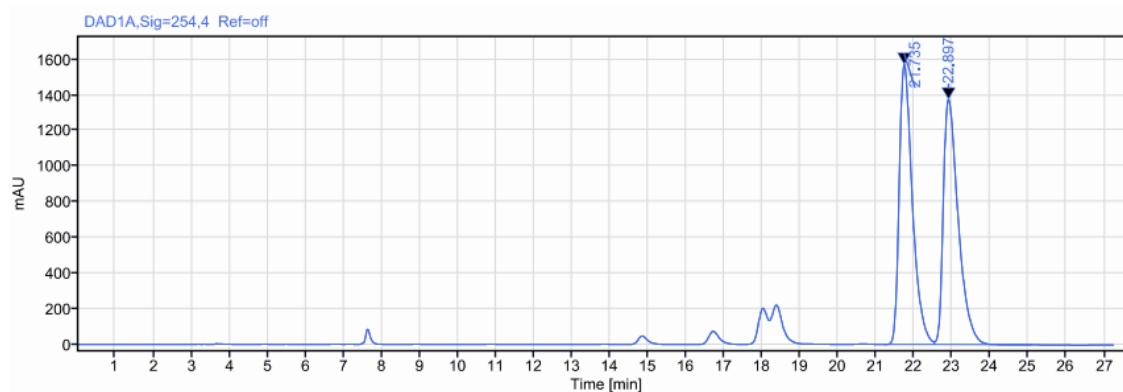
D2.76.  $^1\text{H}$  NMR spektar spoja 17b.D2.77.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar spoja 17b.

## 8.3. HPLC / GC kromatogrami

## Spoj 12a

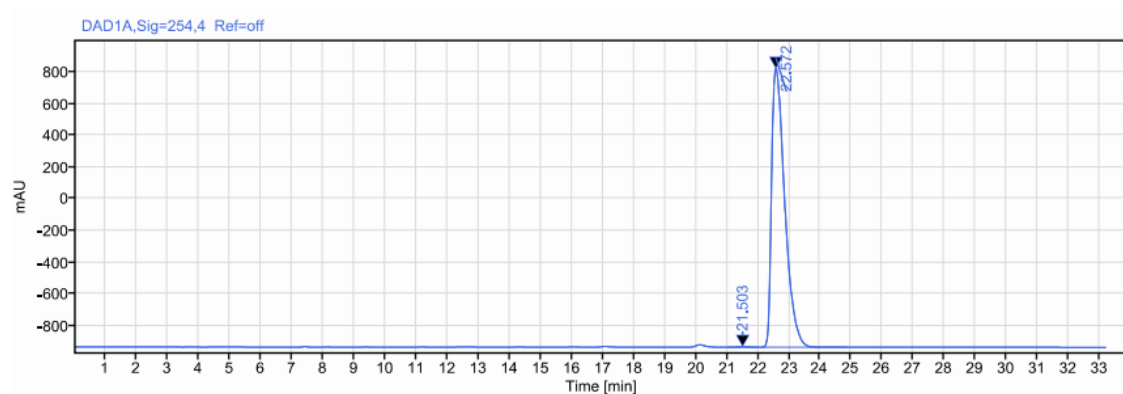


Chiralpak IC-3, 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min



Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

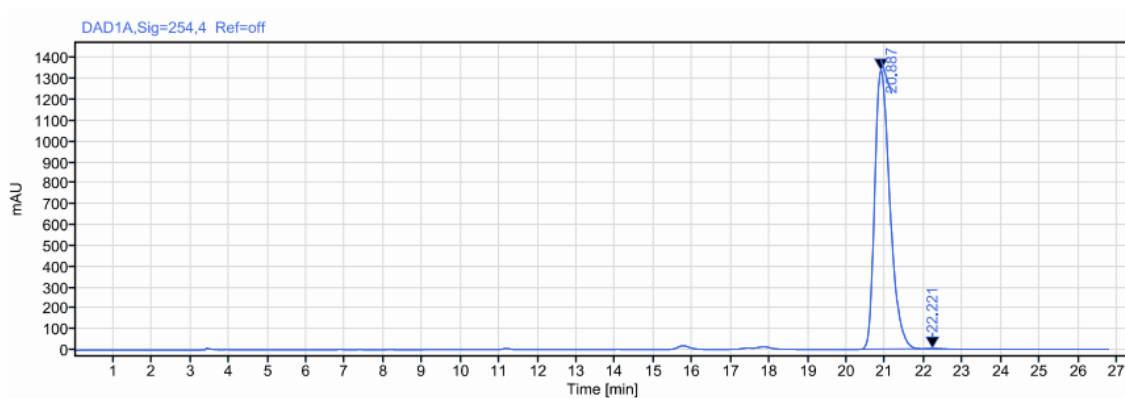
| RT [min] | Type       | Width [min] | Area            | Height  | Area% | Name |
|----------|------------|-------------|-----------------|---------|-------|------|
| 21.735   | BV         | 1.33        | 37797.37        | 1568.78 | 50.23 |      |
| 22.897   | VB         | 2.56        | 37444.20        | 1374.22 | 49.77 |      |
|          | <b>Sum</b> |             | <b>75241.57</b> |         |       |      |

D3.1. HPLC kromatogram spoja *rac*-12a.

Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

| RT [min] | Type       | Width [min] | Area            | Height  | Area% | Name |
|----------|------------|-------------|-----------------|---------|-------|------|
| 21.503   | MM m       | 0.93        | 67.70           | 3.11    | 0.13  |      |
| 22.572   | MM m       | 2.76        | 51825.44        | 1758.71 | 99.87 |      |
|          | <b>Sum</b> |             | <b>51893.15</b> |         |       |      |

D3.2. HPLC kromatogram spoja (*R*)-12a.

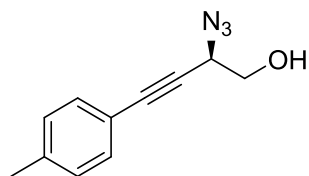


Signal: DAD1A, Sig=254,4 Ref=off

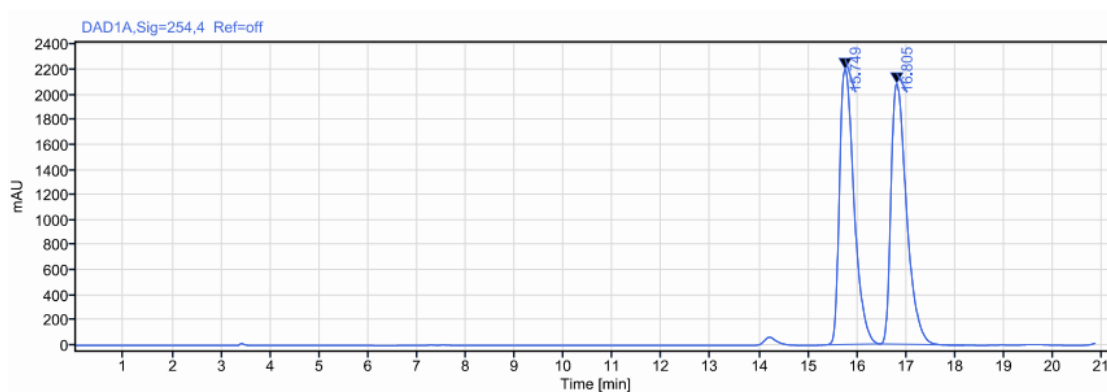
| RT [min] | Type | Width [min] | Area     | Height  | Area% | Name |
|----------|------|-------------|----------|---------|-------|------|
| 20.887   | MM m | 1.57        | 36654.75 | 1337.50 | 99.89 |      |
| 22.221   | MM m | 0.89        | 38.69    | 2.02    | 0.11  |      |
|          |      | Sum         | 36693.44 |         |       |      |

### D3.3. HPLC kromatogram spoja (S)-12a.

## Spoj 13a

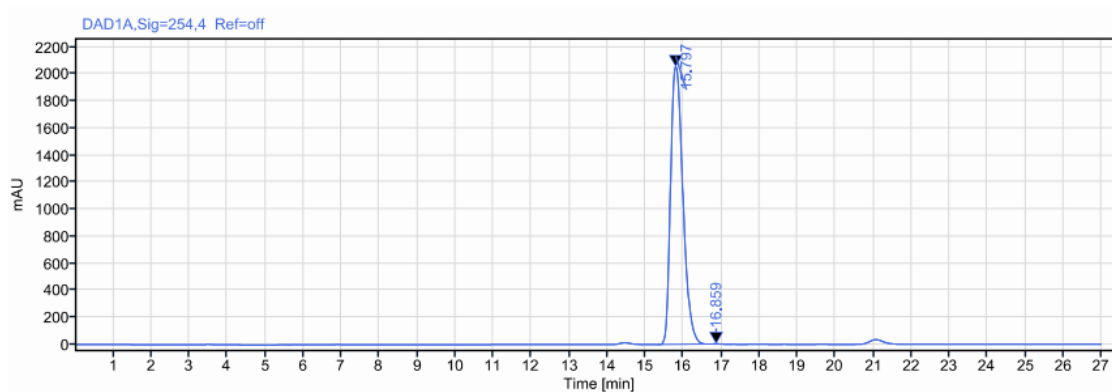


Chiralpak IC-3, 2 % 2-PrOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min



Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

| RT [min]   | Type | Width [min] | Area            | Height  | Area% | Name |
|------------|------|-------------|-----------------|---------|-------|------|
| 15.749     | MM m | 1.10        | 45289.21        | 2193.13 | 49.68 |      |
| 16.805     | MM m | 1.75        | 45864.61        | 2074.92 | 50.32 |      |
| <b>Sum</b> |      |             | <b>91153.82</b> |         |       |      |

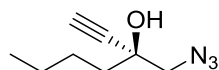
D3.4. HPLC kromatogram spoja *rac*-13a.

Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

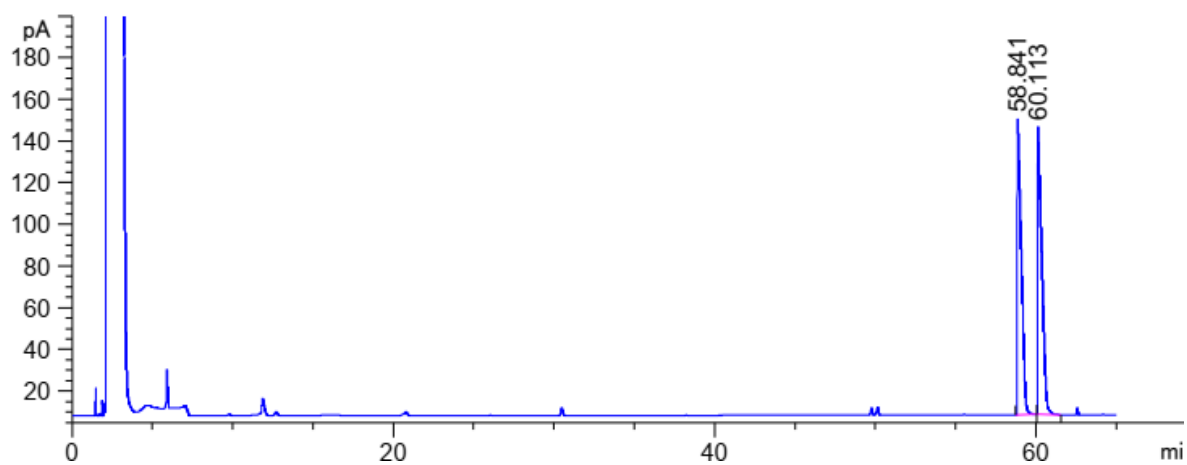
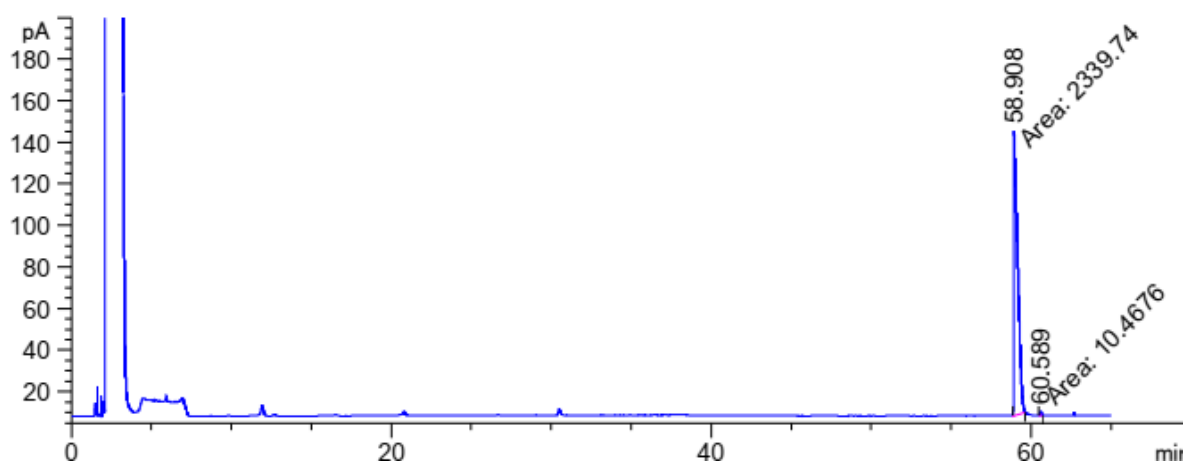
| RT [min]   | Type | Width [min] | Area            | Height  | Area% | Name |
|------------|------|-------------|-----------------|---------|-------|------|
| 15.797     | MM m | 1.28        | 46421.27        | 2054.00 | 99.90 |      |
| 16.859     | MM m | 0.65        | 47.80           | 2.69    | 0.10  |      |
| <b>Sum</b> |      |             | <b>46469.07</b> |         |       |      |

D3.5. HPLC kromatogram spoja (*R*)-13a.

## Spoj 12g

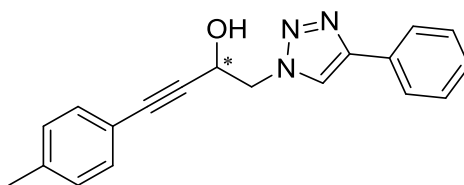


Beta-DEX 225 (Supelco): 40 °C, 1 °C/min do 70 °C, 2 °C/min do 140 °C

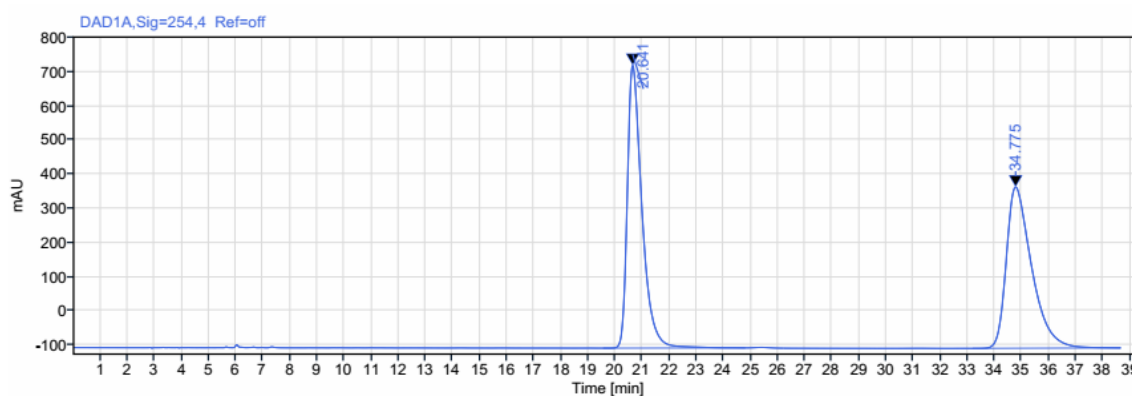
D3.6. GC kromatogram spoja *rac*-12g.D3.7. GC kromatogram spoja (*S*)-12g.



## Spoj 15a

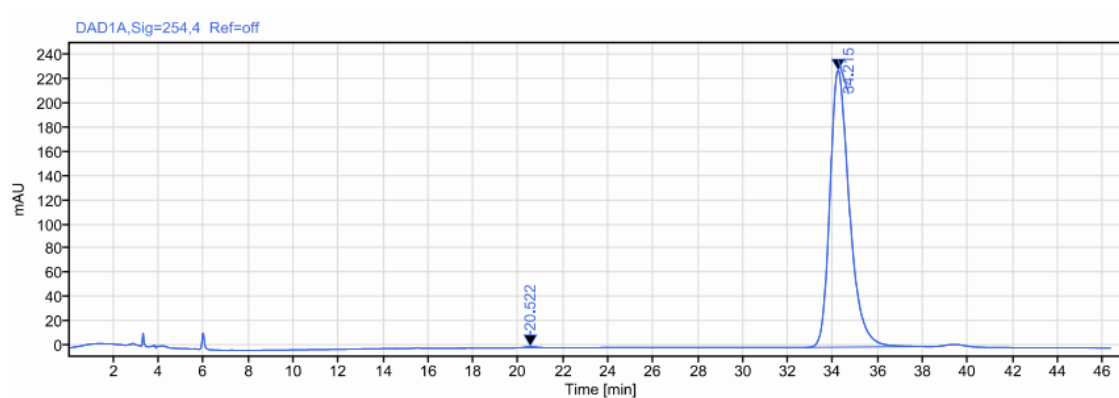


Chiralpak IA, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min



Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

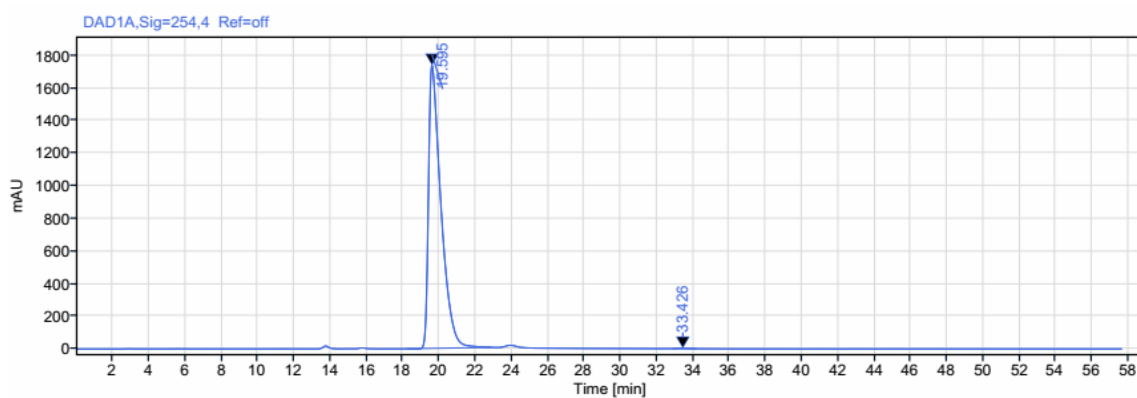
| RT [min]   | Type | Width [min] | Area            | Height | Area% | Name |
|------------|------|-------------|-----------------|--------|-------|------|
| 20.641     | MM m | 5.24        | 30939.01        | 826.97 | 50.26 |      |
| 34.775     | MM m | 5.46        | 30618.00        | 471.49 | 49.74 |      |
| <b>Sum</b> |      |             | <b>61557.01</b> |        |       |      |

D3.8. HPLC kromatogram spoja *rac*-15a.

Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

| RT [min]   | Type | Width [min] | Area            | Height | Area% | Name |
|------------|------|-------------|-----------------|--------|-------|------|
| 20.522     | MM m | 1.83        | 38.23           | 1.14   | 0.28  |      |
| 34.215     | MM m | 5.29        | 13859.18        | 229.06 | 99.72 |      |
| <b>Sum</b> |      |             | <b>13897.41</b> |        |       |      |

D3.9. HPLC kromatogram spoja (*R*)-15a.

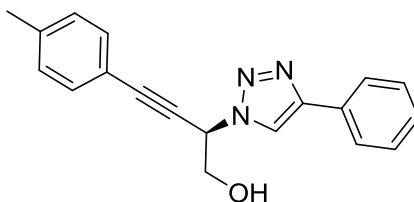


Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

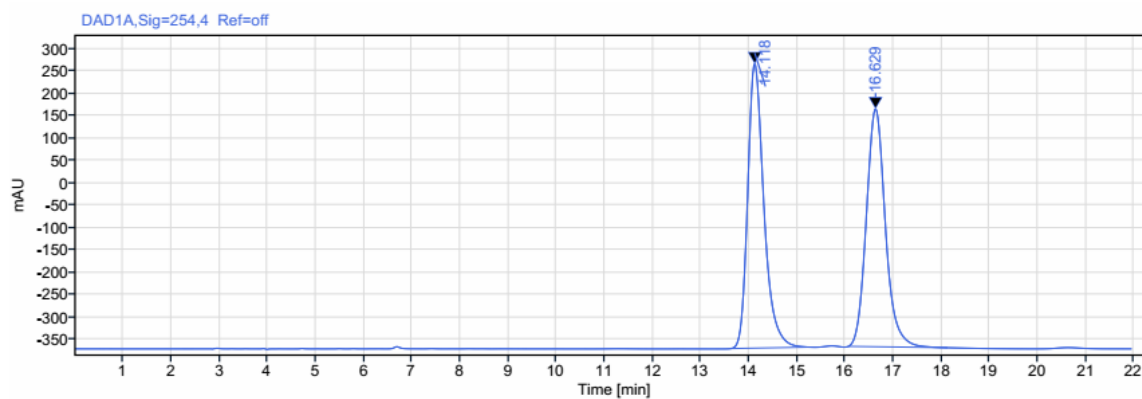
| RT [min] | Type | Width [min] | Area     | Height  | Area% | Name |
|----------|------|-------------|----------|---------|-------|------|
| 19.595   | MM m | 4.64        | 82564.46 | 1733.61 | 99.92 |      |
| 33.426   | MM m | 1.33        | 66.09    | 1.48    | 0.08  |      |
|          |      | Sum         | 82630.55 |         |       |      |

### D3.10. HPLC kromatogram spoja (*S*)-15a.

## Spoj 16

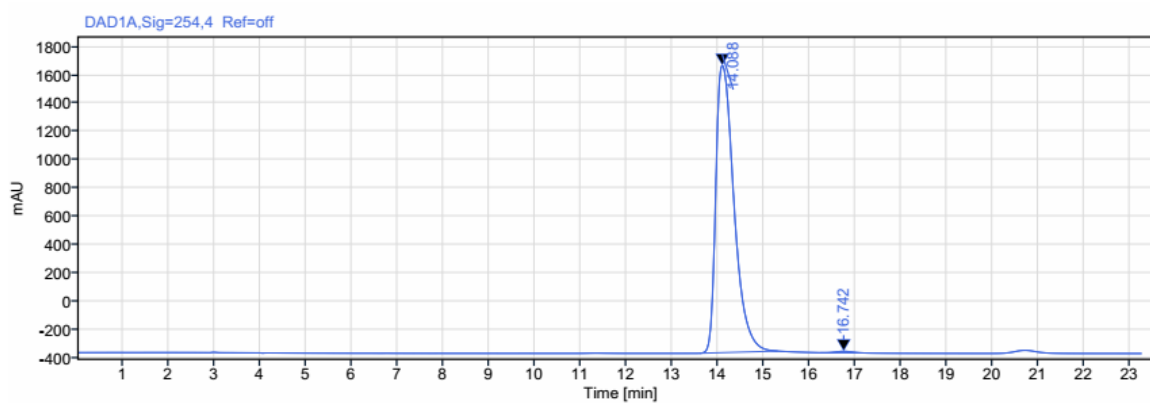


Chiralpak IA, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min



Signal: DAD1A, Sig=254,4 Ref=off

| RT [min] | Type | Width [min] | Area     | Height | Area% | Name |
|----------|------|-------------|----------|--------|-------|------|
| 14.118   | MM m | 1.62        | 14887.81 | 635.73 | 50.41 |      |
| 16.629   | MM m | 2.06        | 14642.93 | 531.68 | 49.59 |      |
| Sum      |      |             | 29530.75 |        |       |      |

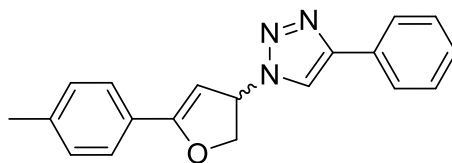
D3.11. HPLC kromatogram spoja *rac*-16.

Signal: DAD1A, Sig=254,4 Ref=off

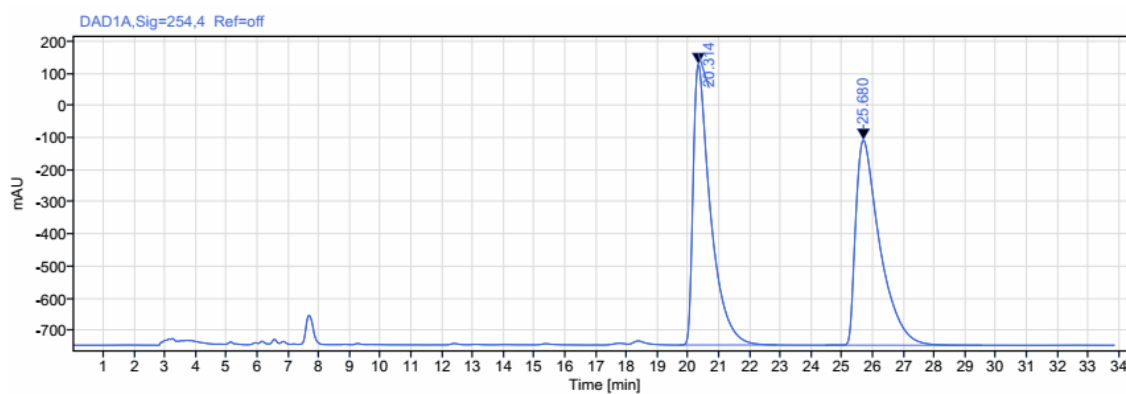
| RT [min] | Type | Width [min] | Area     | Height  | Area% | Name |
|----------|------|-------------|----------|---------|-------|------|
| 14.088   | MM m | 1.70        | 56213.85 | 2031.21 | 99.55 |      |
| 16.742   | MM m | 0.96        | 256.54   | 10.68   | 0.45  |      |
| Sum      |      |             | 56470.39 |         |       |      |

D3.12. HPLC kromatogram spoja (*R*)-16.

## Spoj 17a

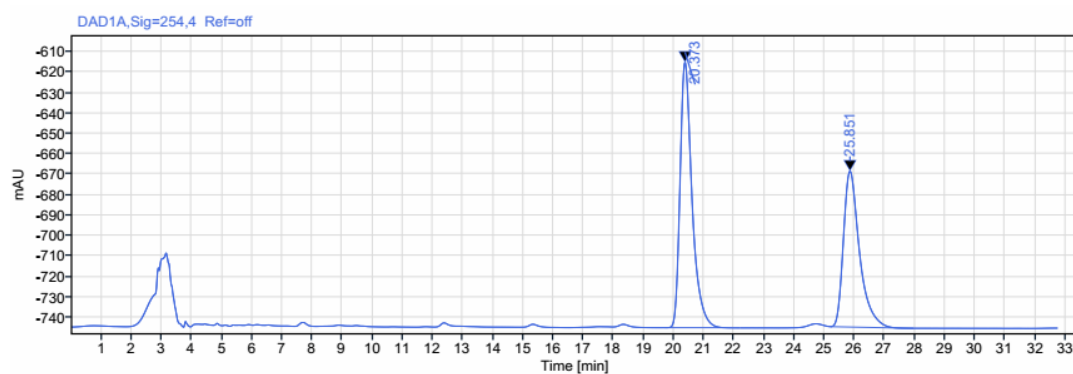


Chiralpak AD, 15 % EtOH u heksanu, 254 nm, 1 mL/min



Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

| RT [min] | Type | Width [min] | Area     | Height | Area% | Name |
|----------|------|-------------|----------|--------|-------|------|
| 20.314   | MM m | 3.14        | 34263.33 | 872.82 | 49.72 |      |
| 25.680   | MM m | 5.09        | 34647.36 | 637.58 | 50.28 |      |
| Sum      |      |             | 68910.69 |        |       |      |

D3.13. HPLC kromatogram spoja *rac-17a*.

Signal: DAD1A,Sig=254,4 Ref=off

| RT [min] | Type | Width [min] | Area    | Height | Area% | Name |
|----------|------|-------------|---------|--------|-------|------|
| 20.373   | MM m | 1.94        | 3579.80 | 129.76 | 55.92 |      |
| 25.851   | MM m | 2.75        | 2822.41 | 76.22  | 44.08 |      |
| Sum      |      |             | 6402.21 |        |       |      |

D3.14. HPLC kromatogram spoja **17a**, *ee* = 12 %.

## § 9. ŽIVOTOPIS

### **Osobni podatci:**

Ime i prezime: Robert Junior Kolman

Datum i mjesto rođenja: 17. prosinca 1994., Zagreb, Republika Hrvatska

E-mail: Robert.Junior.Kolman@irb.hr

### **Obrazovanje:**

2020. – danas      Poslijediplomski sveučilišni studij Kemija, smjer organska kemija  
Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu
2017. – 2019.      Diplomski sveučilišni studij Kemija; smjer: istraživački - organska i  
biokemija, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
mag. chem.
2014. – 2017.      Preddiplomski sveučilišni studij Kemija  
Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
univ. bacc. chem

### **Radno iskustvo:**

- 01/2020. – danas      suradničko radno mjesto asistent  
Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Laboratorij za stereoselektivnu  
sintezu i biokatalizu, Institut Ruđer Bošković
- 10/2020. – 06/2023.      vanjsko suradničko radno mjesto asistent u nastavi  
Zavod za organsku kemiju, Prirodoslovno-matematički fakultet,  
Sveučilište u Zagrebu  
rad u praktikumima
- Praktikum organske kemije 2 (2020/2021, 2021/2022, 2022/2023)
  - Organska kemija – mol. biol. (2021/2022, 2022/2023)
  - Praktikum organske kemije 1 (2020/2021)

**Znanstveno usavršavanje:**

- znanstvene radionice:

**18/07/2023 – 23/07/2023** škola organske kemije, *XLVII "Attilio Corbella" International Summer School on Organic Synthesis (ISOS 2023)*

**02/12/2021 – 06/12/2021** *Uvod u molekulsko modeliranje*

**Stipendije i nagrade:**

2023. dobitnik stipendije Sveučilišta u Zagrebu u okviru Natječaja za akademsku mobilnost za sufinanciranje aktivnog sudjelovanja na znanstvenom skupu *22nd European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2023)*

2023. dobitnik stipendije *Università degli Studi di Milano* za aktivno sudjelovanje na skupu *XLVII "Attilio Corbella" International Summer School on Organic Synthesis (ISOS 2023)*

**Vođenje mladih suradnika:**

neposredno voditeljstvo jedne studentske prakse u trajanju od mjesec dana

**Sudjelovanja u popularizaciji znanosti:**

2022. Otvoreni Dan IRB-a

**Znanstvene publikacije:**

**R. J. Kolman**, P. Švaco, M. Majerić Elenkov, I. Dokli, *Adv. Synth. Catal.* (2024) doi: 10.1002/adsc.202400734

**Priopćenja na konferencijama:**

1. **R. J. Kolman**, E. Mehić, M. Majerić Elenkov, I. Dokli, Resolution of propargylic epoxides by halohydrin dehalogenases // 22nd European Symposium on Organic Chemistry - Book of Abstracts. Ghent: Ghent University, 2023. str. 144-144
2. **R. J. Kolman**, E. Mehić, M. Majerić Elenkov, I. Dokli, Resolution of propargylic epoxides by halohydrin dehalogenases // ISOS 2023 \_ Book of Abstracts. Gargnano: Università degli Studi di Milano, 2023. str. 100-100
3. **R. J. Kolman**, E. Mehić, M. Majerić Elenkov, I. Dokli, Kinetic resolution of mono- and 2,2-disubstituted propargylic epoxides // 6. simpozij studenata doktorskih studija

PMF-a : knjiga sažetaka = 6th Faculty of Science PhD student symposium : book of abstracts / Scheider, Petra (ur.). Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2022. str. 266-267

4. **R. J. Kolman**, E. Mehić, M. Majerić Elenkov, I. Dokli, Synthesis and biocatalysis of propargylic epoxides // 27th Croatian Meeting of Chemists and Chemical Engineers and 5th Symposium Vladimir Prelog : Book of Abstracts / Marković, Dean ; Meštrović, Ernest ; Namjesnik, Danijel et al. (ur.). Zagreb: Hrvatsko kemijsko društvo, 2021. str. 265-265
5. **R. J. Kolman**, E. Mehić, M. Majerić Elenkov, I. Dokli, Synthesis and kinetic resolution of propargylic epoxides // BioTrans 2021 : Book of abstracts. Graz, 2021. str. 147-147
6. **R. J. Kolman**, I. Dokli, Synthesis of propargylic epoxides // Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a : knjiga sažetaka = PhD student symposium 2021 : book of abstracts / Barišić, Dajana (ur.). Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2021. str. 338-338