

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-Matematički Fakultet

Kemijski odsjek

**Sinteza i karakterizacija diamido derivata aromatskih
karboksilnih dikiselina s aminokiselinama**

Mladen Borovina

Zagreb, 2013.

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za kemiju čvrstog stanja i kompleksnih spojeva na Zavodu za kemiju materijala, Instituta Ruđer Bošković, pod neposrednim vodstvom dr. sc. Srećka Kirina u suradnji sa Zavodom za opću i anorgansku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu i pod vodstvom doc. dr. sc. Dominika Cinčića, te je predan na natječaj za dodjelu rektorove nagrade u akademskoj godini 2012./13.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u ovom radu

HOBt	- hidoksibenzotriazol
TBTU	- O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronijev tetrafluoroborat
DIPEA	- diizopropiletilamid
H-Phe-OH	- fenilalanin
H-Val-OH	-valin
H-Gly-OH	-glicin
H-PEA	- 1-feniletilamin
TFA	- trifluoroctena kiselina

Kratice za zaštitne skupine na aminokiselinama:

Boc-Aa - N-(tert-butoksikarbonil)

Aa-OMe - metilester

Otapala:

DKM - diklormetan

DMF - N,N-dimetilformamid

DMSO - dimetilsulfoksid

EA - etil acetat

Et₂O - dietil-eter

Ostale:

iPr - izopropil

Bzl - benzil

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA	2
3. LITERATURNI PREGLED	3
3.1. Sekundarni strukturni motivi u proteinima	3
3.1.1. Motivi vodikovih veza u β zavojnicama, te β i γ okretima	4
3.1.2. Motivi vodikovih veza odgovornih u paralelnim i antiparalelnim β pločama	5
3.2. Primjeri modela sekundarnih struktura	6
3.2.1. Derivati ferocendikarboksilnih kiselina	6
3.2.2. Derivati benzentrikarboksilnih kiselina	6
3.2.3. Kompleksi rodija s peptidima trifenilfosfina	8
3.3. Formiranje peptidne veze uz pomoć coupling reagensa	9
3.3.1. Mehanizam reakcije	10
3.3.2. Korišteni coupling reagensi	11
3.3.3. Zaštita amino skupine i karboksilne skupine	11
4. MATERIJALI I METODE	12
4.1. Opći postupak pripreme diamido derivata antracenske i naftalenskih dikiselina	14
4.2. Opći postupak pripreme dipeptida i tripeptida	15
4.3. Skidanje Boc zaštite s dipeptida	16
4.4. Pokusi kristalizacije	16
4.5. Određivanje kristalne strukture iz podataka dobivenih rentgenskom difrakcijom na monokristalu	18
5. REZULTATI I RASPRAVA	19
5.1. Sinteza produkata	20
5.2. Rezultati i rasprava podataka dobivenih spektroskopskim metodama	25
5.2.1. Analiza masenih spektara	25
5.2.2. Analiza IR spektara	26
5.2.3. Analiza NMR spektara	27
5.2.4. Analiza UV/VIS spektara	29
5.2.5. Analiza fluorescencijskih spektara	30
5.3. Analiza kristalografskih podataka	33

5.3.1. Kristalna struktura spoja 3.....	34
5.3.3. Kristalna struktura spoja 7.....	35
5.3.4. Osvrt na daljnje mogućnosti i na potencijalne strukture s naftalenskim derivatima.....	37
6. ZAKLJUČAK.....	38
7. LITERATURNI VRELA.....	39
8. ZAHVALE.....	40
9. PRILOZI.....	I
9.1. Detaljni opis priprave produkata.....	II
9.1.1. Priprava derivata naftalenskih dikiselina.....	II
9.1.2. Priprava derivata 9,10-antracenske dikiseline.....	III
9.1.3. Detaljni opisi priprave dipeptida i tripeptida.....	VII
9.2. MASENI SPEKTRI.....	VIII
9.3. IR SPEKTRI.....	XIII
9.4. NMR SPEKTRI.....	XVI
9.5. Kristalografske tablice.....	XXVIII
9.6. Hirshfieldove površine.....	XXXI
10. SAŽETAK.....	XXXIV
11. ABSTRACT.....	XXXV
12. ŽIVOTOPIS.....	XXXVI

1. UVOD

U biokemiji se pojam sekundarna struktura odnosi na lokalnu konformaciju nekoga dijela proteina. Proučavanjem proteina učeno je da su određeni motivi sekundarnih struktura veoma stabilni i da se učestalo pojavljuju u proteinskim strukturama. Najčešći i najpoznatiji sekundarni motivi proteina su α zavojnice, β ploče, β okreti, te nešto rjeđi γ okreti¹. Zanimljivo je da su Linus Pauling i Robert Corey predvidjeli ove tipove sekundarnih struktura još 1951. godine, nekoliko godina prije nego što je u potpunosti riješena prva struktura proteina.

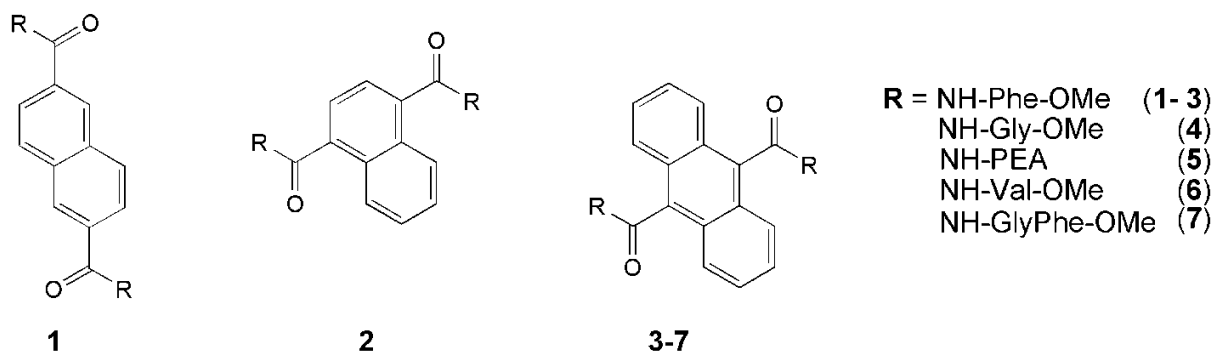
Začeci same proteinske kristalografije sežu u 1930-te i rad Williama Austbury-a, no tek su napredci u kristalografskim metodama i tehnikama, uz razvoj modernih računala i sofisticiranih instrumenata omogućili snimanje i rješavanje većeg broja kristalnih struktura proteina. Sama rezolucija snimaka se također značajno povećala od samih početaka, no problem se javlja u tome što su te strukture i dalje relativno niske rezolucije (u usporedbi s rezolucijama za male molekule) te je veoma otežano praćenje svih inter i intramolekulskih interakcija koje se javljaju u tako velikim strukturama. Kako bi se doskočilo tom problemu mogu se sintetizirati i analizirati mnogo jednostavnije strukture koje reproduciraju neki strukturni motiv iz sekundarnih struktura proteina (modelni spojevi). Takvi spojevi i interakcije unutar njih mogu se analizirati u otopini ili u čvrstom stanju. Rješavanje kristalnih struktura nudi kvalitetniji uvid u same interakcije no ne daje nam podatke o tome kako bi se određeni spoj ponašao u tekućoj fazi, s druge strane istraživanja u otopinama nam daju relativno malo podataka, ali ti su podaci relevantni za samo ponašanje spoja u otopini (proteini su "otopljeni" u citosolu). Često se uz ovakva istraživanja, koristeći moderne računalne metode, osnovne skupove i razine teorije, radi proračune energija i konformacija proučavanih spojeva.

Osim kao modelni spojevi, aminokiselinski derivati razno raznih molekula pronašli su svoju primjenu i u mnogim drugim granama poput medicinskih istraživanja, kristalnom inženjeringu, te u kemijskoj sintezi kao izvori kiralnosti homogenih katalizatora.

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Cilj ovog rada je sinteza i karakterizacija, diamido derivata naftalenskih i antracenske dikiseline s kraćim peptidnim lancima (mono-peptidi do tripeptida) u svrhu proučavanja vodikovih veza između peptidnih lanaca. Priređeni spojevi nisu literaturno poznati.

Specifični ciljevi su proučavanje intermolekulskih i intramolekulskih vodikovih veza između peptidnih lanaca vezanih na aromatsku jezgru u otopini i čvrstom stanju.

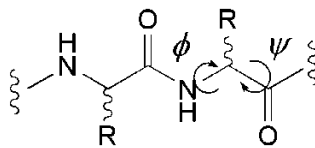


Pretpostavka je da će aminokiselinski lanci vezani na aromatsku dikiselinu međusobno stupati u intramolekulske vodikove veze te tako tvoriti sekundarni strukturni motiv koji bi mogao odgovarati motivu u α zavojnici, β konformaciji te β ili γ okretu.

3. LITERATURNI PREGLED

3.1. Sekundarni strukturni motivi u proteinima

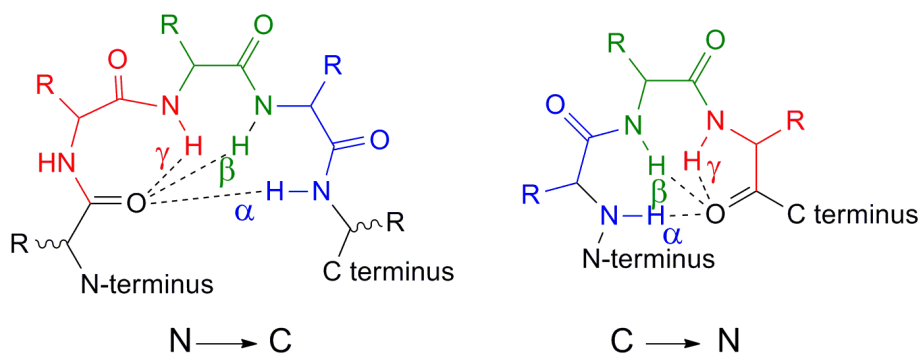
Aminokiseline u primarnoj strukturi proteina povezane su peptidnim vezama. Peptidna veza je amidna veza koja se formira između karboksilne skupine jedne (amino)kiseline i aminoskupine druge aminokiseline¹. Iz kristalografskih studija, pokazalo se da je C-N veza u peptidnoj vezi nešto kraća od jednostruke C-N veze što ukazuje na rezonanciju odnosno djelomično dijeljenje elektronskih parova između karbonilnog kisika te amidnog dušika što otežava rotaciju oko te veze, dok je između C-C_α i N-C_α rotacija slobodna. Također, svi atomi koji formiraju peptidnu vezu (CONH) leže u istoj ravnini a vodik i kisik su međusobno u trans položaju. Rigidnost peptidne veze i odbijanja između atoma u samoj okosnici peptidnog lanca (-N-C_α-C(O)-) te u bočnim skupinama aminokiselina ograničavaju raspon konformacija koje sam peptid može poprimiti. Neke od stabilnih konformacija su α zavojnica, paralelna i antiparalelna β ploča, te β i γ okret. Za strukturu proteina su, uz specifične kuteve φ (N-C_α) i ψ (C_α-C) koji tvore stabilne konformacije (Slika 1), posebno važni motivi vodikovih veza koji ih omogućuju.¹



Slika 1. Prikaz kuteva φ i ψ u strukturi proteina.

3.1.1. Motivi vodikovih veza u β zavojnicama, te β i γ okretima

Strukture okreta u kemiji peptida prikazane su na Slici 2. Smjer $N \rightarrow C$ je definiran ako je karbonilna skupina bliža N-terminusu peptida od amida koji sudjeluje u vodikovoj vezi. Ovisno o veličini prstena koji nastaje vodikovom vezom razlikujemo γ okret ($R_1^1(7)^*$ motiv, crvena aminokiselina), β okret ($R_1^1(10)$ motiv; crvena i zelena aminokiselina), te α zavojnicu ($R_1^1(13)$ motiv; crvena, zelena i plava aminokiselina). "Obrnuti okreti" (smjer $C \rightarrow N$) rvs- γ okret ($R_1^1(5)$ motiv; crvena aminokiselina), rvs- β okret ($R_1^1(8)$ motiv; crvena i zelena aminokiselina), te rvs- α zavojnicu ($R_1^1(11)$ motiv; crvena zelena i plava aminokiselina) su iz steričkih razloga energetski nepovoljniji te se rijede viđaju u strukturama proteina (Slika 2).³

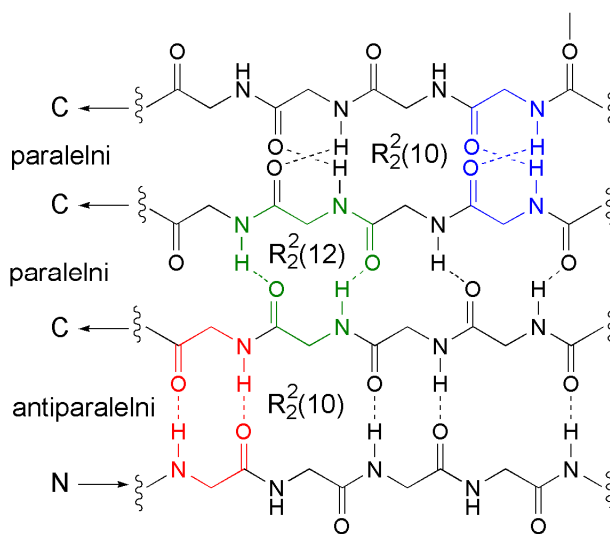


Slika 2. Motivi vodikovih veza koji sačinjavaju okrete u proteinskim strukturama.

 *Način označavanja motiva vodikovih veza $M_D^A(N)$; M-motiv (R-prsten, D-diskretna, S-intramolekulska); A-broj akceptora; D broj donora; N broj atoma u motivu).²

3.1.2. Motivi vodikovih veza odgovornih u paralelnim i antiparalelnim β pločama

Antiparalelne β ploče stabilnije su od paralelnih. Uzrok tome su vodikove veze koje se formiraju između aminokiseline u prvom lancu i njoj nasuprotne aminokiseline u susjednom lancu ($R_2^2(10)$ motiv; označeno crveno), Međusobni položaj amino i karboksilne skupine omogućava optimalni kontakt između njih te formiranje jake vodikove veze (kut blizu 180°). U paralelnim β pločama vodikove veze se formiraju između aminokiseline u prvom lancu i dvije susjedne aminokiseline u nasuprotnom lancu ($R_2^2(12)$ motiv; označeno zeleno), vidljivo je da je kut značajno manji nego u prvom slučaju. Između paralelnih lanaca, moguć je i motiv gdje nastaju unakrsne vodikove veze između nasuprotnih aminokiselina u lancu koje zatvaraju prsten ($R_2^2(10)$ motiv; označeno plavo), no ovakve veze su energetski značajno nepovoljnije, zbog malog veznog kuta te zbog značajnih odbijanja između istovjetnih skupina (Slika 3).^{1,4}

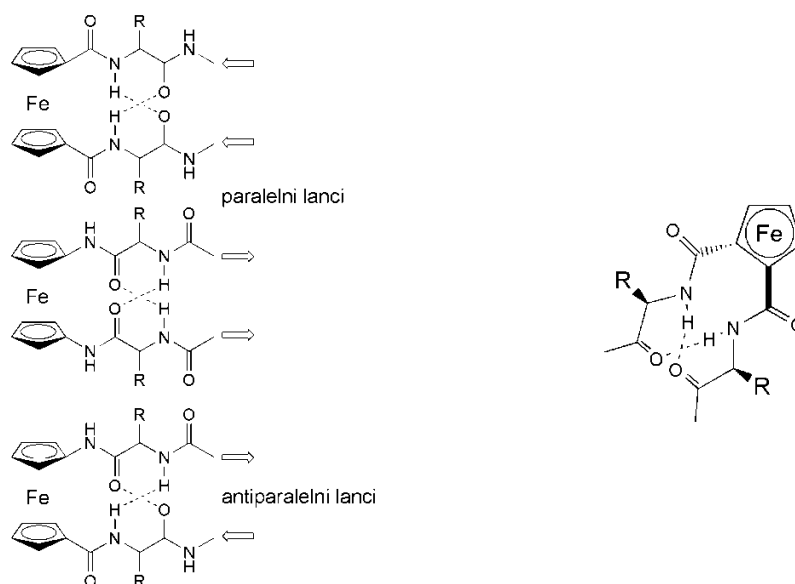


Slika 3. Motivi vodikovih veza u β pločama.

3.2. Primjeri modela sekundarnih struktura

3.2.1. Derivati ferocendikarboksilnih kiselina

Peptidi disupstituiranih ferocen(amino)kiselina priređivani su u svrhu proučavanja motiva vodikovih veza koji nastaju između peptidnih lanaca te stvaranja peptidnih sekundarnih struktura (okretima i nabiranjima). Ova grana spojeva nudi stvaranje vodikovih veza koje će imitirati vodikove veze koje odgovaraju paralelnim i antiparalelnim β pločama u proteinima i okretima poput β -okreta (deseteročlani prsten) te γ -okreta (sedmeročlani prsten).³



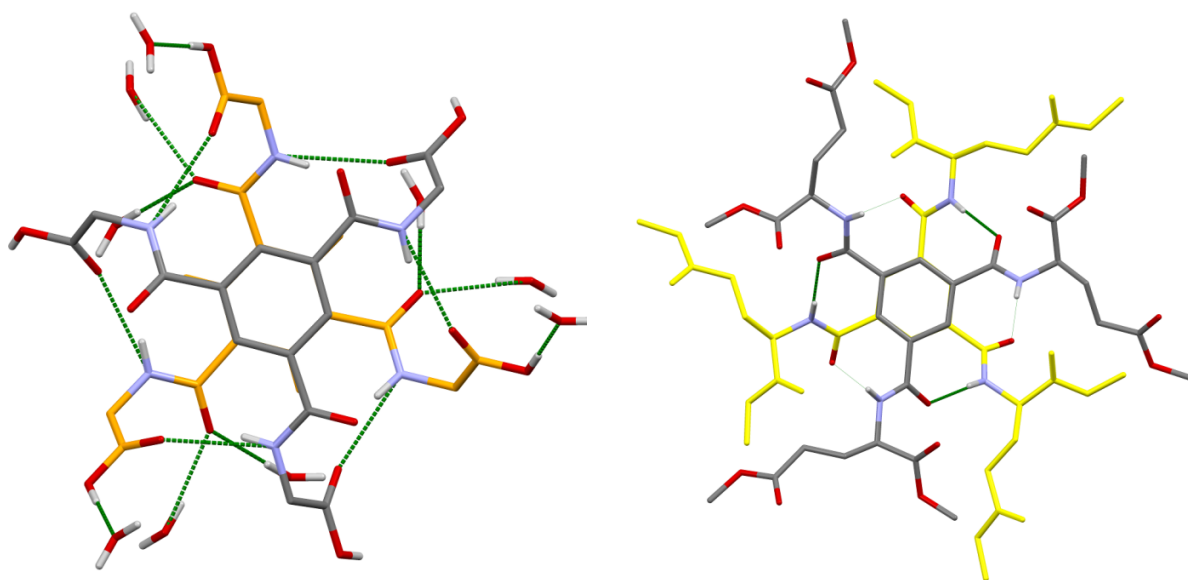
Slika 4. Aminokiselinski derivati ferocenske dikiseline. Motivi vodikovih veza poput onih u paralelnim i antiparalelnim β pločama, pogled sa strane (lijevo); primjer pogleda odozgo (desno).

3.2.2. Derivati benzentrikarboksilnih kiselina

Gong i suradnici proučavali su motive vodikovih veza u produktu dobivenim reakcijom benzen-trikarbonil triklorida i glicin-metil estera. Uspješno su dobiveni jedinični kristali glicinima trisupstituirane benzentrikarboksilne kiseline kojima je određena molekulska i kristalna struktura metodom difrakcije rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu. Utvrđeno je da

molekule produkta dimeriziraju te da postoji 15 vodikovih veza po asimetričnoj jedinici u kristalnoj rešetci. Šest identičnih N-H...O vodikovih veza sudjeluje u formiranju dimera, a ostale vodikove veze nastaju između molekula produkta i molekula vode te na taj način tvore dvodimenzionalne ploče koje su međusobno povezane daljnjim vodikovim vezama preko molekula vode (Slika 5, lijevo).⁵

Karle i suradnici pokušavali su pripremiti peptidne dendrimere opće formule AB_3 ($A = 1,3,5$ -Benzotrikarboksilna jedinica, $B = H$ -Glu(OMe)-OMe ili Glu7(OktaOMe) koji bi mogli biti korišteni kao modelni spojevi tercijalnih proteinskih struktura odnosno 3D struktura određenih proteina. Za sada su uspješno dobiveni jedinični kristali dendrimera prve generacije ($B = Glu\ diOMe$) kojima je određena kristalna i molekulska struktura difrakcijom rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu. Iz strukture je vidljivo da nema intramolekulskih vodikovih veza te da su u strukturi prisutne $\pi \cdots \pi$ interakcije i intermolekulske vodikove veze. Također je primijećeno da je svaka sljedeća molekula u stupcu zaokrenuta za 60° u odnosu na prethodnu (Slika 5, desno).⁶ Ovakve molekule su zanimljive jer bi mogle biti iskorištene za stvaranje umjetnih proteina globularne strukture s primjenom u dizajnu cjepiva, dijagnostičkih proizvoda te umjetnih enzima.



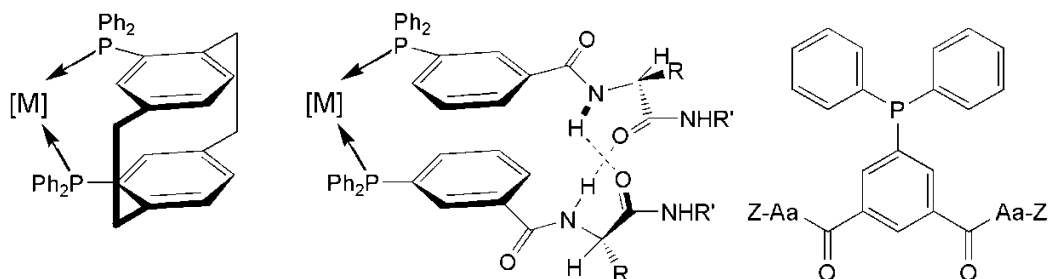
Slika 5. Struktura spoja priređenog od Gongga i sur. (lijevo), struktura spoja priređenog od Karle i sur. (desno). Aminokiselinski lanci dolnje molekule su obojani radi pojednostavljenja prikaza.

3.2.3. Kompleksi rodija s peptidima trifenilfosfina

Wilkinsonov katalizator $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$ uz odabir kiralnih liganada koristi se u asimetričnoj hidrogenizaciji. Bilo je opće prihvaćeno mišljenje da se kiralna informacija mora uvesti što bliže primarnoj koordinacijskoj sferi metala kako bi se dobila zadovoljavajuća svojstva. Pokazalo se međutim, da je moguće koristiti prokiralni metalni centar u kojemu se kiralna informacija prenosi formiranjem vodikovih veza između aminokiselinskih lanaca supstituiranih na jednom od fenilnih prstena koordiniranog trifenilfosfina, daleko od samog aktivnog mjesta ("backdoor induction"). Variranjem sastava i dužine aminokiselinskih lanaca moguće je mijenjati svojstva metalnog centra te na taj način fino podešavati katalitička svojstva samog kompleksa.

Laungani i Breit su uspjeli prirediti katalitički aktivne rodijeve komplekse nazvane "SupraPhanePhos" modelirane po uzoru na "PhanePhos" katalizatore pripremljene od strane Pye-a, Rossena i suradnika. "PhanePhos" katalizatori se koriste u asimetričnoj katalizi i komercijalno su dostupni, no njihov glavni nedostatak je veoma složen postupak pripreme. "SupraPhanePhos" spojevi se puno lakše pripremaju s obzirom na to da se ligandi sklone samoudruživanju nakon vezanja na metalni centar putem niza intramolekulskih vodikovih veza između N-H i C=O skupina u lancima aminokiselina vezanim na benzen (Slika 6).⁷

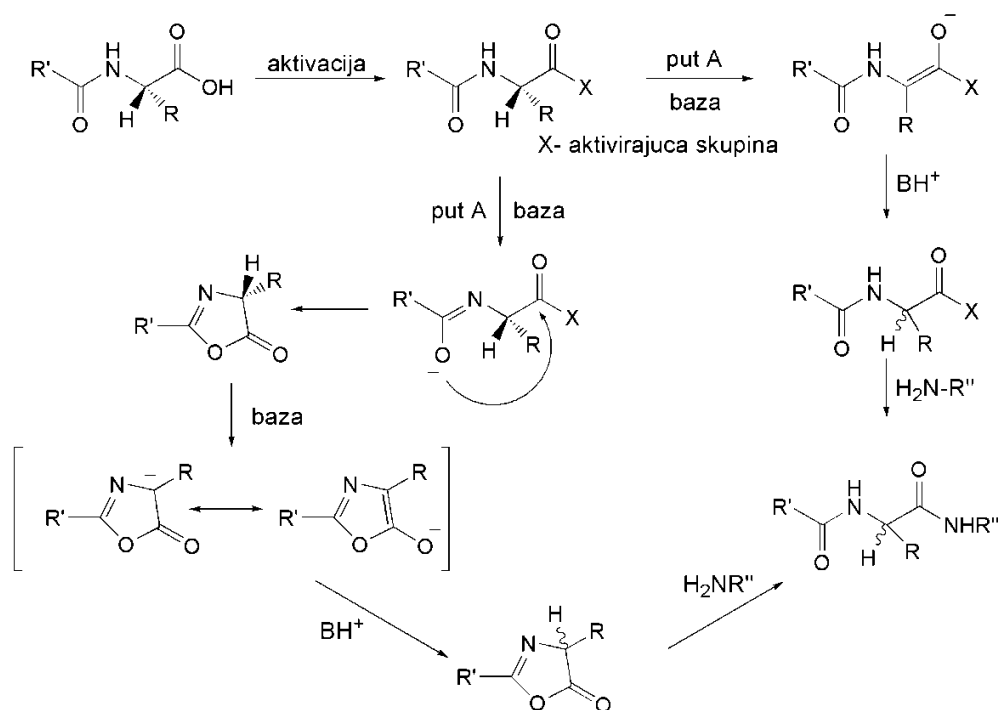
Kokan i Kirin također su istraživali komplekse rodija te pripremili trifenilfosfinske ligande u kojima je jedan fenilni prsten disupstituiran s aminokiselinskim lancima. Dodatni lanac aminokiselina može pridonijeti daljnjoj stabilizaciji kompleksa te većoj selektivnosti. Aa se odnosi na aminokiselinski lanac, a Z na zaštitnu skupinu vezanu na karboksilnu skupinu C terminalnog kraja $Z = \text{NH}_2, \text{OMe}$, (Slika 6).^{8,9}



Slika 6. PhanePhos (lijevo) SupraPhanePhos (sredina), Disupstituirani trifenilfosfinski ligand (desno).

3.3. Formiranje peptidne veze uz pomoć coupling reagensa

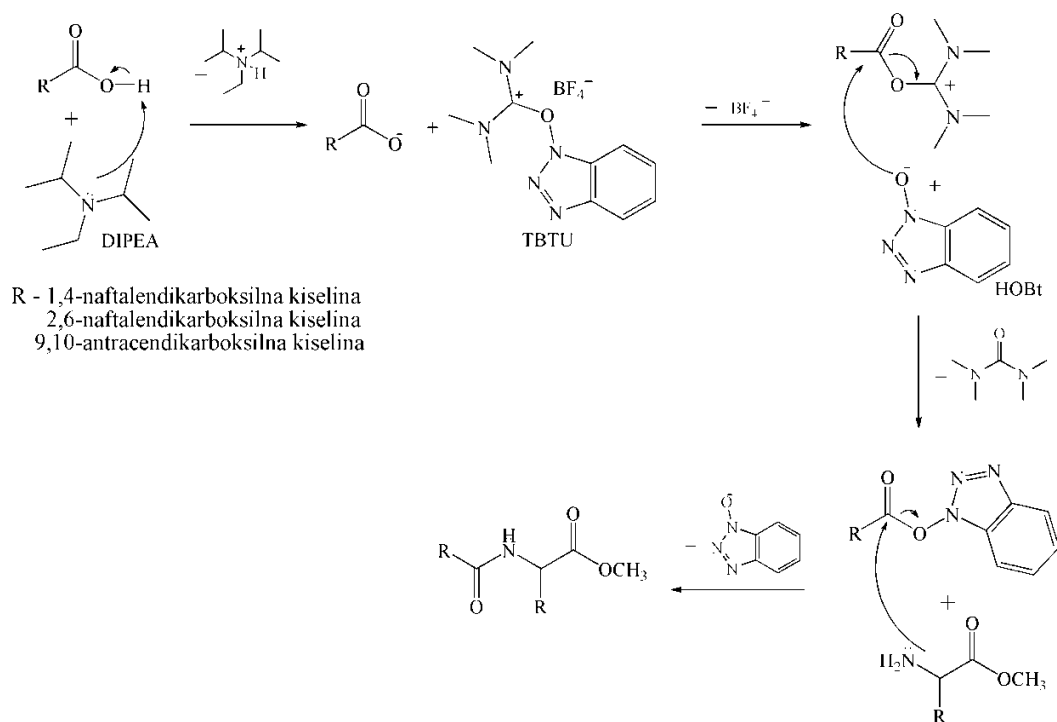
U sintezi peptida koriste se razni coupling reagensi u svrhu pospešivanja brzine same reakcije kao i u svrhu zaštite od racemizacije do koje može doći ili eliminacijom alfa vodikovog atoma ili pak eliminacijom vodika iz alfa amidne skupine (kod polipeptida) što rezultira formacijom oksazolona koji se ponovno može deprotonirati od strane neke baze, te ponovno protonirati sa suprotne strane. Nukleofilnim napadom nove aminokiseline na oksazolon dolazi do formiranja nove peptidne veze, lanac se produžuje s promijenjenom konfiguracijom (Slika 7).¹⁰



Slika 7. Mehanizmi mogućih puteva racemizacije aminokiselina.

3.3.1 Mehanizam reakcije

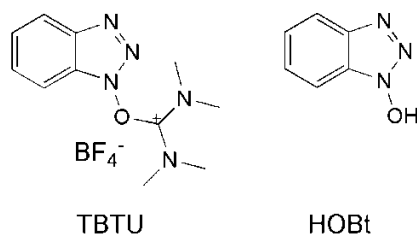
Reakcijski mehanizam nastajanja peptidne veze prikazan je na Slici 8. R-COOH predstavlja opću formulu za korištene aromatične karboksilne dikiseline, reakcija za drugu karboksilnu skupinu je analogna i radi pojednostavljivanja slike nije prikazana.¹¹



Slika 8. Mehanizam nastajanja peptidne veze uz pomoć coupling reagensa.

3.3.2. Korišteni coupling reagensi

Prilikom sinteze spojeva u ovom radu korišteni su coupling reagensi TBTU i HOBt (Slika 9).



Slika 9. Coupling reagensi korišteni prilikom sinteze.

TBTU je derivat HBTU-a otkrivenog 1978 godine, TBTU i HBTU su uronijski reagensi. Jedina razlika između njih je u korištenom protuionu, u TBTU-u je korišten BF_4^- dok je u HBTU-u korišten PF_6^- . Studije su pokazale da odabir protuiona ne utječe na samu brzinu reakcije kao ni na racemizaciju.⁴

HOBt je dodavan kao aditiv u sintezu s DCC-om kako bi pospješio brzinu reakcije i smanjio racemizaciju. Nakon toga su otkriveni i danas se koriste mnogi strukturni analozi HOBt-a s poboljšanim svojstvima poput HOAt-a s dodanim dušicima u benzenski prsten koji poboljšavaju efikasnost samog reagensa.^{11,12}

3.3.3. Zaštita amino skupine i karboksilne skupine

Za zaštitu NH_2 skupine u aminokiselinama korištena je t-Boc (t-burilkarbamat) zaštita koj spada u karbamatne zaštitne skupine i učestalo se koristi u peptidnoj sintezi, stabilna je u bazičnim uvjetima i inertna na mnoge nukleofilne reagense. Može se uvesti korištenjem BOC_2O anhidrida u prisustvu jake baze poput NaOH, zatim korištenjem $\text{BOC-ONC}=\text{C}(\text{CN})\text{Ph}$ uz Et_3N (selektivno zaštićivanje primarnih amina u prisustvu sekundarnih) ili kao $\text{BOC-OCH}(\text{Cl})\text{CCl}_3$ uz K_2CO_3 kao bazu. Za skidanje BOC zaštite najčešće se koristi TFA uz korištenje aditiva za hvatanje oslobođenih t-Bu^+ kationa poput PhSH, anisola, tioanisola, krezola, tiokrezola i CS_2

kako bi se spriječilo alkiliranje triptofana ili metionina. Zbog korozivnosti trifluoroctene kiseline kod sinteze većih peptida u čvrstom stanju koristi se TsOH+THF u CH₂Cl₂.

Karboksilna skupina je zaštićena prevođenjem u metilni ester. Metilna zaštita se u aminokiseline uvodi korištenjem Me₂C(OMe)₂ uz katalitičku količinu HCl-a pri sobnoj temperaturi. Zaštitna skupina može se skinuti jakom bazom poput LiOH u MeOH/H₂O, zatim s Cs₂CO₃ u PhSH i DMF-u pri 85°C ili korištenjem LiCl ili LiI u DMF-u.^{13,14}

4. MATERIJALI I METODE

Opće napomene

Tankoslojna kromatografija rađena je na aluminijskim folijama silikagel 60 F₂₅₄ (Merck), produkti su detektirani pomoću UV-lampe. Za kromatografiju na koloni korišten je silikagel 60, veličine zrna 0.040 - 0.063 mm (Merck).

IR spektri su snimljeni na spektrometru Bruker Alpha, kao KBr pastile. Valni brojevi su izraženi u cm⁻¹.

UV/Vis spektri snimljeni su na spektrofotometru Varian Cary 50. Valne duljine, λ , izražene su u nm, a molarni absorpcijski koeficijent, ϵ , je izražen u dm³ mol⁻¹ cm⁻¹. Fluorecentni spektri su snimljeni na spektrofluorimetru Cary Eclipse Varian, valne duljine, λ , izražene su u nm.

Spektri mase izmjereni su na HPLC / MS sustavu (Agilent Technologies 1200 / 6410 Triple-Quadrupole mass spectrometer) u ESI+ modu, fragmenti su izraženi kao m/z.

NMR spektri izmjereni su na Bruker Avance spektrometerima, pri 300.13 ili 600.13 MHz za ¹H, te 75.47 ili 150.92 MHz za ¹³C. Kemijski pomaci, δ , izraženi su u ppm prema internom standardu, tetrametilsilanu, TMS. Konstante sprege, J, izražene su u Hz. Signali su označeni kao s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet i m = multiplet.

Rentgenska difrakcija na monokristalu snimljena je na Oxford Diffraction Xcalibur CCD difraktometru (MoK α zračenje). Kristalne strukture riješene su i utočnjene uz pomoć programskog paketa SHELLX¹⁵ u sklopu WinGX-a.¹⁶

Za obradu spektara je korišten program ORIGIN, a za analizu riješene kristalne strukture korišteni su programi Parst¹⁷, Platon¹⁸ i Crystal Explorer 3.0,¹⁹ a za vizualizacije programi Mercury^{20, 21} i Crystal Explorer 3.0.¹⁹

4.1. Opći postupak pripreve diamido derivata antracenske i naftalenskih dikiselina

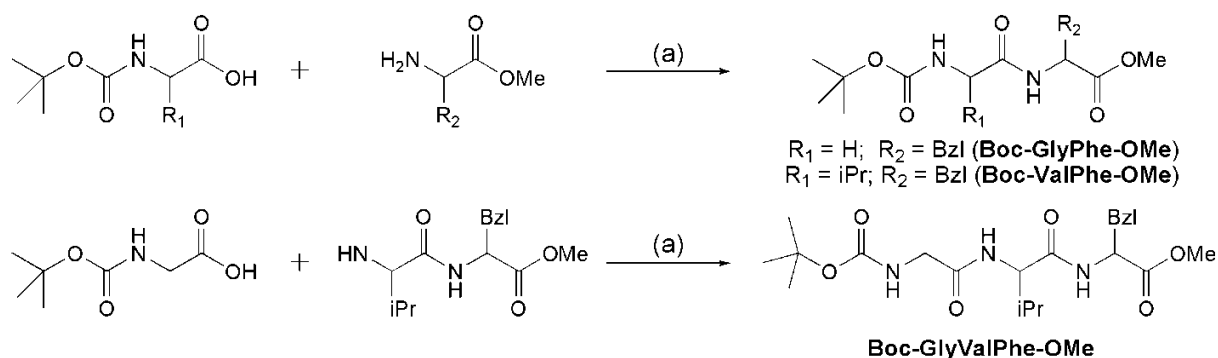
Dikiselina (jedan ekvivalent) otopi se u otapalu. Za svaku karboksilnu skupinu u otopinu se doda TBTU (jedan ekvivalent), HOBt (jedan ekvivalent) i DIPEA-e (pet ekvivalenata). Reakcijska smjesa miješa se pri sobnim uvjetima. Nakon sat vremena doda se H-Aa-OMe × HCl (jedan ekvivalent po karboksilnoj skupini polazne kiseline). Nakon jednog dana miješanja u reakcijsku smjesu može se dodati još po jedan ekvivalent TBTU, HOBt i H-Aa-OMe × HCl te pet ekvivalenata DIPEA-e, a reakcijska smjesa miješa se još jedan dan. Ukoliko je kao otapalo korišten acetonitril ili DKM otopina se, prije ekstrakcije, upari do suha uz vakuum i suhi ostatak se otopi u etil-acetatu. Ako je kao otapalo prilikom reakcije korišten DMF u reakcijsku smjesu se doda 60 mL destilirane vode te ju se ekstrahira sa 60mL etil-acetata. Organski sloj (etilacetatni sloj / gornji sloj) se ispere sa zasićenom otopinom NaHCO₃, potom s otopinom limunske kiseline (10%) te konačno sa zasićenom otopinom NaCl. Organski sloj se potom suši sat vremena iznad bezvodnog Na₂SO₄ te se zatim profiltrira i upari do suha. Dobiveni sirovi produkt veže se na silikagel te se nanese na kromatografsku kolonu i eluira smjesom otapala heksan : etil-acetat. Tijek kromatografije antracenskih derivata može se pratiti obasjavanjem kolone UV-svjetlošću jer produkt fluorescira intenzivno ljubičasto pri pobudi svjetlošću valne duljine $\lambda = 365\text{nm}$.

Tablica 1. Tvari korištene prilikom sinteze produkata **1-7** i posebne napomene.

Produkt	1	2	3	4	5	6	7
Dikiselina/mg	109	105	125	126	124	124	120
HOBt/mg	153	153	147+74	142+73	306	466	453
TBTU/mg	321	324	303+158	304+148	144	221	217
DIPEA/mL	0,85	0,85	0,80+0,40	0,80+0,40	0,80	1,20	1,20
Peptid/(mg)	Phe·HCl (221)	Phe·HCl (216)	Phe·HCl (207+103)	Gly·HCl (117+62)	PEA (180 μ L)	Val·HCl (258)	GlyPhe (386)
Otapalo (/mL)	DKM (30)	CH ₃ CN (30)	DMF (20)	DMF (22)	DMF (25)	DMF (25)	DMF (25)
Nastaje talog dodatkom DIPEAe	da	da	da	da	da	da	da
Talog se otapa miješanjem (1 dan)	da	da	da	da	da	da	da
Posebne napomene	/	/	/	taloži prilikom ekstrakcije	u tikvicu upuhan dušik	/	/

4. 2. Opći postupak pripreve dipeptida i tripeptida

Aminokiselina Boc-Aa-OH (jedan ekvivalent) otopi se u DKM. Otopini se dodaju coupling reagensi HOBt (jedan ekvivalent), TBTU (jedan ekvivalent) te DIPEA (dva i pol ekvivalenta). Nakon otprilike sat vremena miješanja u reakcijsku smjesu se doda druga mono-peptid ili dipeptid (jedan ekvivalent) te se reakcijska smjesa miješa 5-7 dana. Potom se reakcijska smjesa ispiri s 10% otopinom KHCO_3 , potom s 10% otopinom limunske kiseline te konačno s destiliranom vodom. Organski sloj (donji) suši se iznad bezvodnog Na_2SO_4 te se konačno upari. Tako dobiveni sirovi produkt može se pročititi postupkom falsh kromatografije ili se može koristiti nepročišćen u daljnjoj sintezi.



Slika 10. Shema sinteze dipeptida i tripeptida, (a) HOBt, TBTU, DIPEA, DKM

Tablica 2. Popis tvari korištenih prilikom sinteze dipeptida i tripeptida

Produkt	Boc-GlyPheOMe	Boc-ValPheOMe	Boc-GlyValPheOMe
Boc-Aa-OH(g)	Gly (0,883)	Val (1,141)	Gly (0,334)
HOBt/g	1,610	0,805	0,291
TBTU/g	0,782	1,689	0,615
DIPEA/mL	2,15	2,25	0,64
H-Aa-OMe(g)	Phe-HCl (1,090)	Phe-HCl (1,174)	ValPhe (0,641)*
Otapalo (/mL)	DKM (120)	DKM (80)	DKM (40)
Nastaje talog dodatkom DIPEA-e	ne	ne	ne

* podatak za masu uzetog Boc-ValPheOMe, kojemu je prije reakcije skinuta t-Boc zaštita.

4.3. Skidanje Boc zaštite s dipeptida

Željena količina dipeptida otopi se u minimalnoj količini DKM (2,5-5 mL) te se u otopinu doda TFA (2,6mL). Reakcijska smjesa se miješa oko 10 min a potom se uparava 15 minuta (ili dok se ne prestane dimiti). Ukoliko se uzorak upari do suha talog se ponovno otopi u otapalu koje je korišteno u coupling reakciji u koju će se dipeptid dodati (DMF za derivate antracenske dikiseline, DKM za sintezu tripeptida). zaostala TFA se neutralizira DIPEAom na način da se dodaje u malim količinama (0,1mL) dok se otopina ne prestane dimiti.

Detaljni postupci sinteze nalaze se među priložima.

4.4. Pokusi kristalizacije

Pokusi kristalizacije rađeni su sa svim priređenim produktima. U Tablicama 3 i 4 nalazi se popis svih rađenih pokusa, uz navedenu masu, korištena otapala i metodu te rezultatom.

Tablica 3. Pokusi kristalizacije derivata naftalenskih dikiselina (spoj **1** i **2**).

spoj	masa	otapala	metoda*	rezultat
1	5 mg	MeOH(1mL), EA(1mL), CH ₃ CN(1mL)	ostavljeno da polako hlapi.	bijele, duge i tanke niti
	5 mg	EA(1mL), CH ₃ CN(1mL)	začepljeno i stavljeno u hladnjak	bijele, duge i tanke niti
	11 mg	CHCl ₃ (3mL)	stavljeno u atmosferu s dietil eterom	bijele, duge i tanke niti
2	30 mg	EA (5mL)	stavljeno u atmosferu s dietil eterom	bijele duge i tanke niti
	30 mg	MeOH(2mL)	stavljeno u atmosferu s dietil eterom	bijele duge i tanke niti

* Ukoliko nema posebnih napomena produkt je otopljen u navedenoj količini otapala pri sobnoj temperaturi uz korištenje ultrazvučne kupelji.

Tablica 4. Pokusi s kristalizacijom derivata antracenske dikiseline (spojevi 3-7).

spoj	masa	otapala	metoda*	rezultat
3	3 mg	CHCl ₃ (3mL)	stavljeno u atmosferu s dietil eterom	dobiven jedinični kristal, riješena struktura
	24 mg	MeOH(10mL), DMF(2,5ml)	grijano uz refluks, pušteno da se hladi	dobiveni kristali, no nedovoljno kvalitetni za difrakcijski eksperiment
4	24 mg	MeOH(10mL), DMF(3,5mL)	stavljeno u atmosferu s MeOH	dobiveni kristali, nedovoljno kvalitetni.
	7 mg	DMSO (0,2mL)	stavljeno u atmosferu s MeOH	dobiveni kristali, nedovoljno kvalitetni
5	30 mg	EA (5 mL)	stavljeno u atmosferu s dietil eterom	nije došlo do kristalizacije
	30 mg	EA(5mL)+Et ₂ O	izvađeno iz Et ₂ O atmosfere i otapalo pušteno da polako hlapi	dobiveni kristali, nedovoljno kvalitetni
6	11 mg	EA(4mL)	stavljeno u atmosferu s dietil eterom	nije došlo do kristalizacije
	11 mg	EA(4mL)+Et ₂ O	uzorak izvađen iz atmosfere s Et ₂ O i pušteno da otapalo hlapi	Otapalo ishlapilo do suha, dobiveni jako loši kristalići
	11 mg	MeOH(1,6mL)	stavljeno u atmosferu s dietileterom	nije došlo do kristalizacije
	11 mg	MeOH(1,6mL)+Et ₂ O	bočica je izvađena iz Et ₂ O atmosfere, začepljena i stavljena u hladnjak	nije došlo do kristalizacije
7	12 mg	EA(5mL), MeOH(1mL)	stavljena u atmosferu s Et ₂ O	nije došlo do kristalizacije
	12 mg	EA(5mL), MeOH(1mL)+Et ₂ O	bočica izvađena iz Et ₂ O atmosfere i puštena da otapalo hlapi	pojavi se kristalići na stijenci
	12 mg	EA, MeOH +MeOH(0,4mL)	u bočicu je dodano 0,4mL MeOH, kristalići po stijenci su se otopili, otapalo pušteno da polako hlapi	dobiveni jedinični kristali, riješena struktura

* Ukoliko nema posebnih napomena produkt je otopljen u navedenoj količini otapala pri sobnoj temperaturi uz korištenje ultrazvučne kupelji.

4.5. Određivanje kristalne strukture iz podataka dobivenih rentgenskom difrakcijom na monokristalu

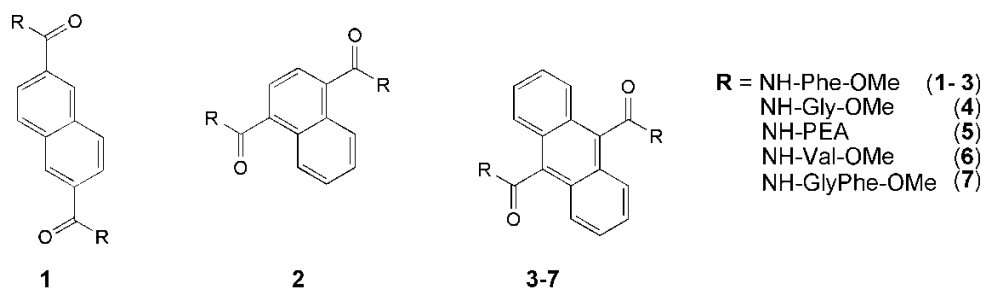
Spojevima **3** i **7** riješene su kristalne strukture na temelju podataka dobivenih difrakcijom rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu. Strukture su rješavane direktnom metodom kristalografskim programom SHELXS97,¹⁵ a njihovi osnovni strukturni modeli utočnjavani su metodom najmanjih kvadrata pomoću kristalografskog programa SHELXL97.¹⁵ Pri rješavanju struktura kod oba spoja vodikovi atomi vezani na ugljikove atome smješteni su na svoje geometrijski izračunate položaje C-H 0,930 Å, C-H 0,980 Å, C-H 0,970 Å i $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{C})$; C-H 0,960 Å i $U_{\text{iso}}(\text{H})=1,5 U_{\text{eq}}(\text{C})$ Vodici vezani na dušik pronađeni su u diferentnoj Fourierovoj mapi.

Dobiveni podatci obrađivani su programskim paketima WinGX 1.64.05,¹⁶ Platon¹⁸ i Parst¹⁷ te CrystalExplorer 3.0.¹⁹ Za prikaz molekulskih i kristalnih struktura korišten je program Mercury v3.0.1.^{20,21}

5. REZULTATI I RASPRAVA

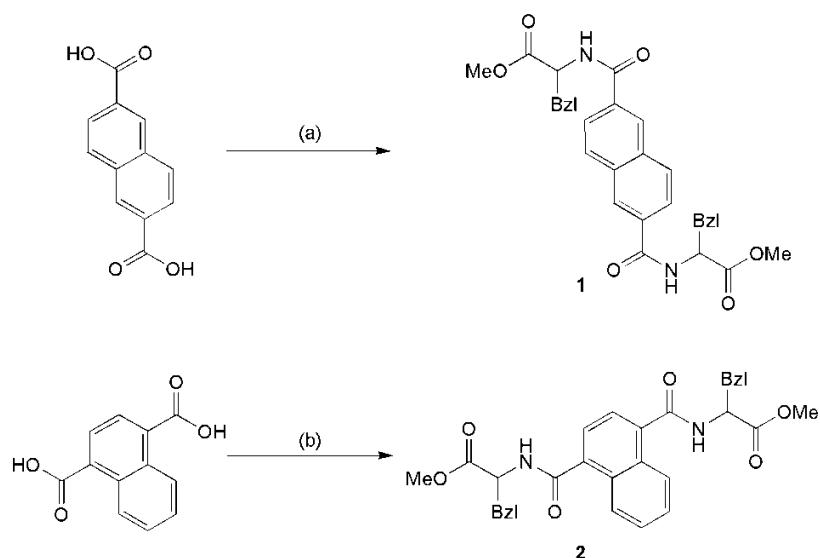
5.1. Sinteza produkata

U sklopu ovoga rada priređena su dva aminokiselinska derivata naftalenske dikiseline (jedan s 1,4-naftalenskom dikiselinom (**1**), te jedan s 2,6-naftalenskom dikiselinom (**2**), te pet derivata 9,10-antracenske dikiseline (**3-7**), Slika 11. Još su pokušane sinteze derivata 9,10-antracenske dikiseline s dipeptidom H₂N-ValPhe-OMe i tripeptidom H₂N-GlyValPhe-OMe, no te sinteze nisu bile uspješne: u sintezi dipeptida je izoliran međuprodukt, a u sintezi tripeptida je dobiveno svega 20 mg produkta. U ovom poglavlju biti će dan kratki osvrt na spektroskopsku karakterizaciju spojeva (MS, IR, NMR, UV/VIS, fluorescencija za **3-7**), uz kratku diskusiju vezanu za svaku metodu. Produktima **3** i **7** riješene su kristalne strukture, detaljna obrada rezultata i diskusija struktura nalazi se u potpoglavlju 5.7.



Slika 11. Shema struktura priređenih u ovom radu.

Naftalenski derivati su priređeni s fenilalaninom kako bi se isprobala primijenjivost korištene metode sinteze na ovu klasu spojeva (aromatske dikiseline), shema sinteze se nalazi na Slici 12. Fenilalanin je korišten jer ima relativno jednostavni bočni lanac bez jakih akceptora i donora vodikove veze poput amino skupine i kisika, a fenilni prsten bi mogao sudjelovati u $\pi\cdots\pi$ interakcije između molekula. Pokusi s kristalizacijom su rezultirali samo dobivanjem niti i nisu rađeni daljnji derivati naftalena. Valjalo bi pokušati sintezu derivata s dipeptidima i tripeptidom (uvođenje većeg broja donora i akceptora vodikovih veza moglo bi rezultirati formiranjem vodikovih veza koje povezuju molekule u 3D strukturu kao što je slučaj kod kristalne strukture spoja **7** te rastu kristala duž ostalih kristalografskih osi).



Slika 12. Shema sinteze produkata **1** i **2**.

(a) HOBt, TBTU, DIPEA, DKM, $\text{H}_2\text{N-CH(Bzl)-CO}_2\text{Me} \times \text{HCl}$;

(b) HOBt, TBTU, DIPEA, CH_3CN , $\text{H}_2\text{N-CH(Bzl)-CO}_2\text{Me} \times \text{HCl}$.

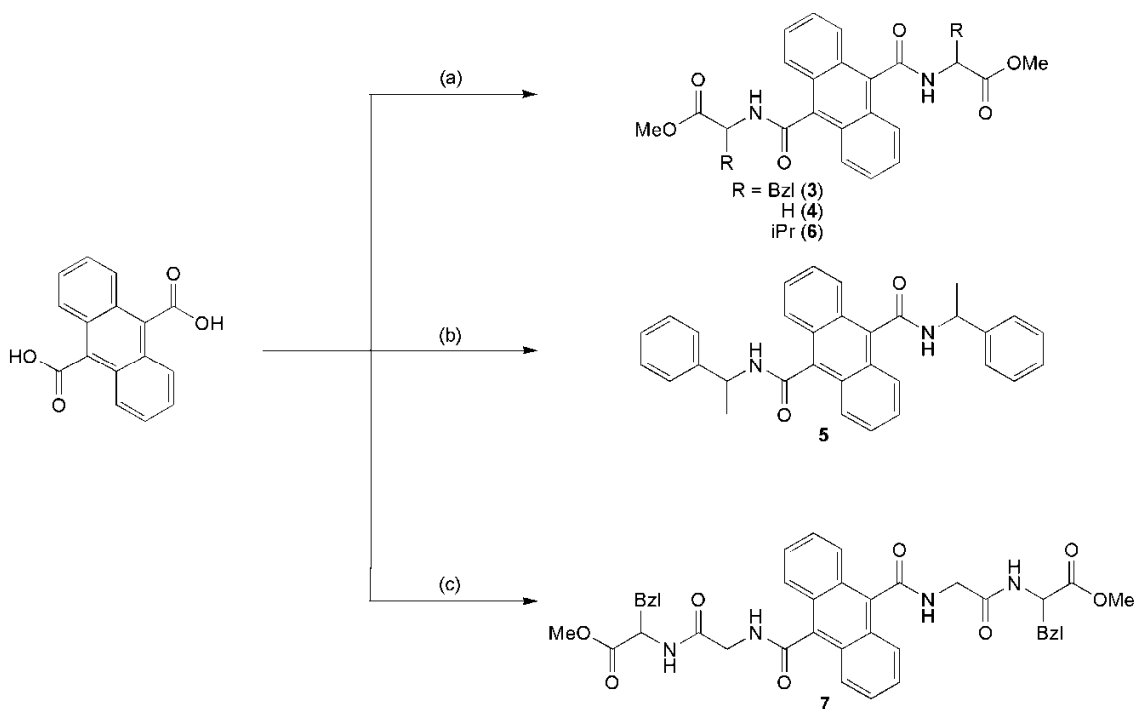
Antracenski derivati su priređeni kao modelni spojevi za proučavanje motiva vodikovih veza koji se pojavljuju u sekundarnim strukturama proteina. 1-Feniletilamin je korišten kao model za mali kiralni spoj te za proučavanja utjecaja druge karboksilne skupine u aminokiselini na samu strukturu spojeva. Glicin je korišten kako bi se priredio akiralni derivat. Valin i fenilalanin su korišteni kao kiralne aminokiseline s relativno jednostavnim bočnim ograncima (njihovom upotrebom se u strukturu ne unose dodatni akceptori i/ili donori za vodikove veze). Između derivata s aminokiselinama moguće je nastajanje vodikovih veza koje se inače viđaju u paralelnim β pločama (motiv $R_2^2(10)$).

Derivati s dipeptidima $\text{H}_2\text{N-GlyPhe-OMe}$, i $\text{H}_2\text{N-ValPhe-OMe}$ priređivani su jer dodatna aminokiselina uvodi u strukturu još jedan donor i akceptor vodikove veze što omogućava drukčije motive povezivanja od onih u derivatima sa samo jednom aminokiselinom. Konkretno derivati s dipeptidima bi već mogli imati sekundarnu strukturu u vidu γ okreta koji bi mogao nastati intramolekulskim vodikovim vezama između druge aminokiseline u dipeptidu i C=O skupine od antracenske dikiseline. Naravno u dipeptidu je i dalje moguć (i vjerojatniji) motiv vodikovih veza koji se viđa u paralelnim β pločama. Aminokiselina glicin stavljena je na početak

lanca kako bi se smanjile steričke smetnje između antracenske dikiseline i bočnog ogranka prve aminokiseline.

Derivat s tripeptidom H₂N-GlyValPhe-OMe priređivan je jer bi mogao imati sekundarnu strukturu u γ i β vidu okreta nastalih intramolekulskim vezama unutar aminokiselinskih lanaca. Osim toga moguć je nastanak motiva vodikovih veza koji se nalaze i u antiparalelnim ($R_2^2(12)$) i u paralelnim ($R_2^2(10)$) β pločama. Aminokiseline su poredane kako bi se minimalizirale steričke smetnje između antracenske jezgre i bočnih ogranaka aminokiselina. Za sintezu su korištene komercijalno dostupne aminokiseline, a dipeptidi i tripeptidi su sintetizirani u sklopu ovoga rada prema shemi na Slici 10.

Shema sinteze uspješno pripravljenih produkata (3-7) nalazi se na Slici 13.



Slika 13. Shema sinteze antracenskih derivata.

- (a) HOBt, TBTU, DIPEA, DMF, H₂N-CH(R)-CO₂Me;
- (b) HOBt, TBTU, DIPEA, DMF, H₂N-CH(Ph)-CH₃;
- (c) HOBt, TBTU, DIPEA, DMF, H₂N-CH₂-CONH-CH(Bzl)-CO₂Me

Sinteza derivata antracenske dikiseline pokazala se zahtjevnijom od sinteze naftalenskih. Problem stvara smanjena topljivost međuprodukta koji nastaje aktivacijom dikiseline te su

reakcije rađene u DMF-u. Pokušane reakcije s dipeptidima ili nisu uopće išle pri sobnoj temperaturi (izoliran međuprodukt) ili su imale veoma nisko iskorištenje. Reakcija s tripeptidom rađena je pri povišenoj temperaturi te je dobiveno svega 20 mg produkta.

Tablica 5. Mase izoliranih produkata i iskorištenja reakcija.

Spoj	m(produkta)/mg	μ/%
1	130,9	48
2	151,9	58
3	79,5	29
4	90,1*	47
5	75,6	34
6	96,1	19
7	148,7	21

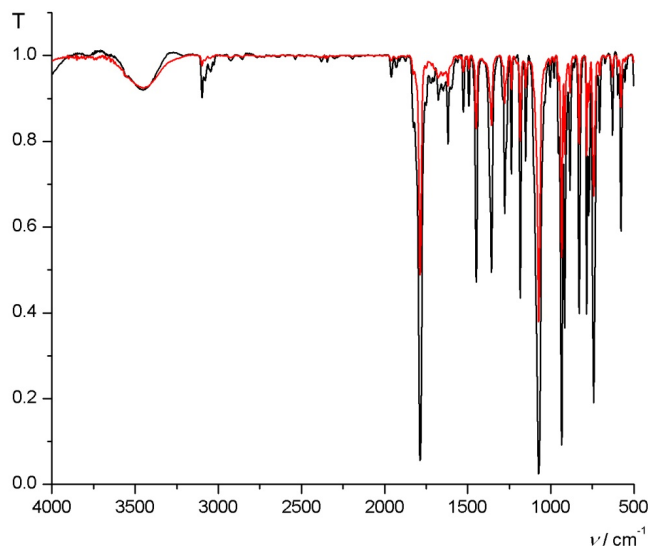
*produkt je istaložio prilikom ekstrakcije te nije kromatografski pročišćavan.

U Tablici 5 nalaze se mase izoliranih produkata te iskorištenja reakcija. Iskorištenje reakcija antracenske dikiseline s fenilalaninom računato je na temelju mase izolirane iz alikvota (pola početne reakcijske smjese) i teorijskog iskorištenja od ukupne reakcije, tako da bi realno iskorištenje trebalo biti duplo veće (uz pretpostavku da neće biti većih gubitaka tokom pročišćavanja veće količine sirovog produkta).

Iskorištenje reakcije antracenske dikiseline s glicinom je u rangu iskorištenja naftalenskih reakcija no sam produkt nije pročišćavan jer je počeo taložiti tokom ekstrakcije. Moguće je eventualno pročišćavanje na način da se otopi u DMSO-u i precipitira s MeOH. Nešto manje iskorištenje od prethodnih ima reakcija antracenske dikiseline s PEA-om no još uvijek je značajno više od reakcija antracenske dikiseline s valinom, dipeptidom H₂N-GlyPhe-OMe.

U reakciji s dipeptidom H₂N-ValPhe-OMe izoliran je međuprodukt, što je potvrđeno preklapanjem IR spektra žutog taloga koji je nastao prilikom pripreve tog derivata s IR spektrom žutog taloga koji nastaje prilikom pripreve tripeptidnog derivata. Na Slici 14, vidljivo je izvrsno preklapanje spektra izoliranog žutog taloga iz sinteza spojeva **8** (crna linija) i **9** (crvena linija) za koje se uspostavilo da su međuprodukti u sintezi (aktivirana kiselina). Također vidljivo je da u

spektru nedostaju vrpce za N-H istezanje te vrpca od istezanja C=O veza amidnih skupina i vrpce za aminII.



Slika 14. IR spektar žutog taloga izoliranog prilikom sinteze spoja **8** (crna linija) i aktiviranog međuprodukta iz sinteze spoja **9** (crvena).

Reakcija s tripeptidom H₂N-GlyValPhe-OMe ima definitivno najniže iskorištenje od svih(2%). Valja razmotriti alternativni pristup sintezi te reakciju ponoviti u mikrovalnom reaktoru, naime pokazalo se da reakcije ovoga tipa idu brže i uz bolja iskorištenja kada ih se zagrijava izvorom mikrovalnog zračenja nego pri sobnim uvjetima ili uz klasično zagrijavanje.²²

Ukoliko se i to pokaže neefikasno, mogao bi se razmotriti alternativni put sinteze na način da se prvo pripremi mono-peptidni derivat s antracenskom dikiselinom (glicinski je najbolji kandidat jer ima najviše iskorištenje), potom se ukloni zaštita s karboksilne skupine koristeći LiCl ili LiI u DMF-u te nakon pročišćavanja da se ponovno pokuša reakcija s dipeptidom H₂N-ValPhe-OMe te tako dobije tripeptidni derivat. U ovom pristupu moglo bi se razmotriti i korištenje H₂N-Gly-Ot-Bu (treba utvrditi iskorištenje reakcije s antracenskom dikiselinom, no sama zaštitna skupina se puno lakše uklanja uz veoma visoka iskorištenja).^{13,14}

5.2. Rezultati i rasprava podataka dobivenih spektroskopskim metodama

5.2.1. Analiza masenih spektara

Maseni spektri su snimani kako bi se potvrdila molekulska masa pripremljenih spojeva. U spektrima nađeni očekivani signali iona $[M+H]^+$ i $[M+Na]^+$ za sve pripravljene spojeve.

Tablica 6. Signali kompleksnog iona molekulske produkta s vodikom/natrijem u masenom spektru.

Spoj	m/z $[M+H]^+$	m/z $[M+Na]^+$
1	539,1	561,2
2	539,1	561,2
3	589,1	611,2
4	409,1; 817,1 ($[2M+H]^+$)	431; 839,1 ($[2M+Na]^+$)
5	473,1; 945,3 ($[2M+H]^+$)	495,1; 967,2 ($[2M+Na]^+$)
6	493,1; 985,3 ($[2M+H]^+$)	515,1; 1007,3 ($[2M+Na]^+$)
7	703,1	725,1
9	901,3	923,3

5.2.2. Analiza IR spektara

Iz IR spektara je moguće odrediti postojanje vodikovih veza između peptidnih lanaca, vrijedi generalno pravilo da N-H skupina sudjeluje u vodikovoj vezi ako se njezina istezanja nalazi ispod 3400 cm^{-1} .³ Iz Tablice 7 vidljivo je da se vrpce N-H istezanja svih produkata nalaze na valnim brojevima ispod 3400 cm^{-1} iz čega se može zaključiti da postoje vodikove veze između N-H skupine i nekog akceptora vodikove veze, najvjerojatnije kisik na karboksilnoj skupini, doduše moguće je da neki produkti tvore kokristale s otapalom. S obzirom na to da su dostupne kristalne strukture diamido derivata antracenske dikiseline s PheOMe i dipeptidom GlyPheOMe moguće je potvrditi postojanje vodikovih veza (pogledati 5.7. analiza kristalografskih podataka) te zaključiti da vjerojatno generalno pravilo vrijedi i u ovom slučaju. Iz podataka je vidljivo i da glicinski derivat ima vrpce N-H istezanja na najvišem valnom broju (3352 cm^{-1}) no to je za očekivati s obzirom na to da glicin ima najnižu molekulsku masu od svih ostalih peptida. IR spektri produkata kao i Tablica s popisanim i asigniranim signalima nalaze se u dodatku.

Tablica 7. IR signali karakterističnih skupina u spojevima.

Spoj	$\tilde{\nu}(\nu\text{N-H})$	$\tilde{\nu}(\nu\text{C=O}_{\text{ester}})$	$\tilde{\nu}(\nu\text{C=O}_{\text{amid}})$	$\tilde{\nu}(\text{amid II}^*)$
1	3291	1755 i 1738	1637	1531
2	3293	1745	1643	1532
3	3328	1722	1656	1535
4	3352	1725	1666	1522
5	3272	/	1634	1522
6	3321	1732	1657	1521
7	3297(Phe), 3239(Gly)	1764, 1749	1680(Phe), 1637(Gly)	1545, 1522

*amid II - $\nu\text{C-N}$, $\delta\text{-N-H}$

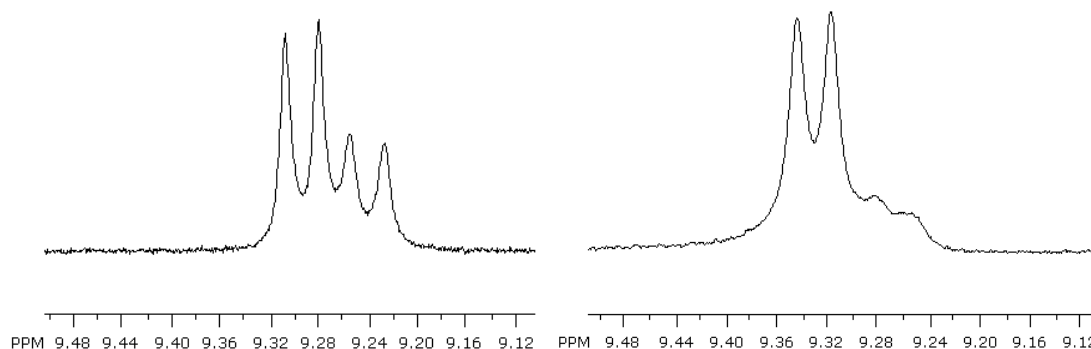
5.2.3. Analiza NMR spektara

NMR spektroskopija je korištena kao primarna metoda za identifikaciju sintetiziranih spojeva. NMR spektri produkata kao i Tablica s popisanim i asigniranim signalima nalaze se u dodatku.

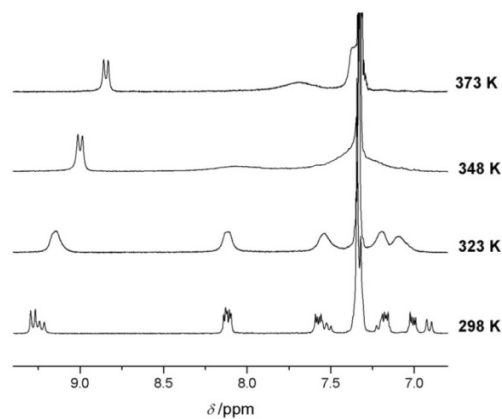
^1H NMR spektri produkata **3** i **5** derivata snimljenih u deuteriranom kloroformu su posebno zanimljivi jer imaju nedefinirane signale za aromatske vodike (odnosno njihovi signali su spljoštani i razvučeni). Produktima su snimljeni ^1H NMR spektri i u deuteriranom DMSO-u i u tim spektrima signali vodika vezanih na aromatski sustav su jasno definirani. U spektrima oba spoja snimljenih pri sobnoj temperaturi primijećeno je cijepanje signala vodika iz NH skupine i OCH_3 skupine u spoju **3**. U spektru produkta **3** jasno se vide pocijepani signali dok se u spektru produkta **5** vide signali s ramenom (Slika 15).

Spoju **3** su dodatno snimljeni i ^1H NMR spektri u deuteriranom DMSO-u pri povišenim temperaturama (50°C , 75°C i 100°C) što je prikazano na Slici 16. Pri 50°C signali prestaju biti pocijepani, te se još uvijek razaznaju signali vodika vezanih na antracen, no ti su signali poprilično slabi i izgubili su finu strukturu. Pri višim temperaturama signali vodika vezanih na antracen potpuno iščezavaju.

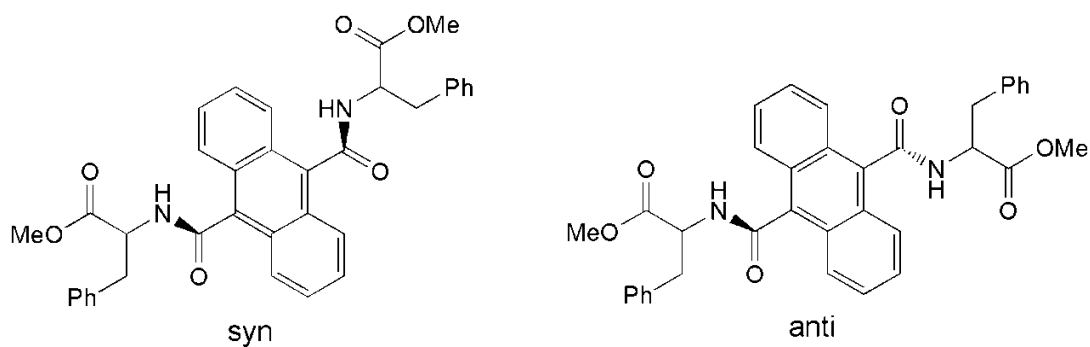
Moguće objašnjenje ove pojave je postojanje syn i anti konformera spojeva **3** (Slika 17) i **5** (Slika 18).²³ U spoju **3** je moguće i postojanje dimera povezanih vodikovim vezama između funkcionalnih skupina u fenilalaninu.



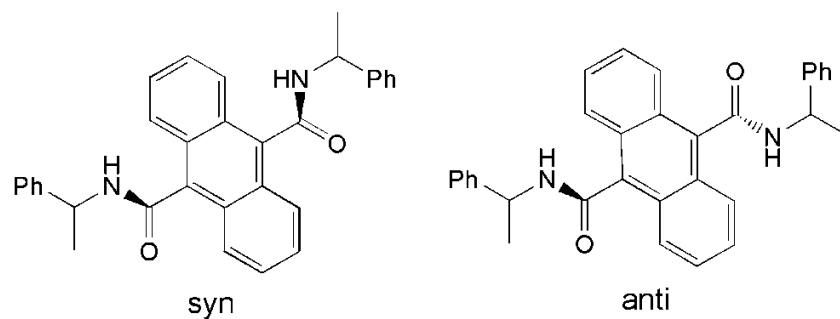
Slika 15. Uvećani prikaz regije između 9,12 i 9,50 ppm. signal NH skupine spoja **3** (lijevo); signal NH skupine spoja **5** (desno).



Slika 16. Prikaz područja od 6,8 do 9,4 ppm-a ^1H NMR spektara antracenskog derivata **3** snimljenih u deuteriranom DMSO-u pri 298K, 323K, 348K i 373K.



Slika 17. Syn i anti konformeri spoja **3**.



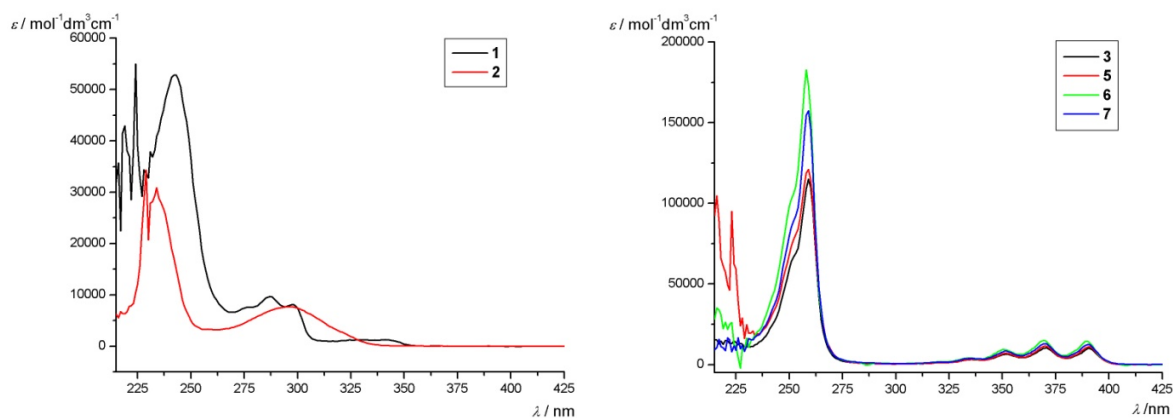
Slika 18. Syn i anti konformeri spoja **5**.

5.2.4. Analiza UV/VIS spektara

Molarni apsorpcijski koeficijenti su izračunati metodom najmanjih kvadrata iz vrijednosti određenih za više koncentracija (4 do 5 ovisno o uzorku). Vidljivo je da antracenski derivati apsorbiraju pri nešto višoj valnoj duljini od naftalenskih te da imaju značajno više molarne apsorpcijske koeficijente. Antracenski derivati imaju slične apsorbancije za maksimume iznad 320 nm, jedine veće razlike su u intenzitetu apsorbancije pri 259 nm. Naftalenski spojevi su bezbojni, a antracenski su svi lagano žuto obojani. Maksimum apsorbancije antracenskih derivata pri 259 nm odgovara valnoj duljini pobude kod fluorescencije.

Tablica 8. Valne duljine i apsorbancije maksimuma u UV/VIS spektrima produkata (snimljenih u DKM).

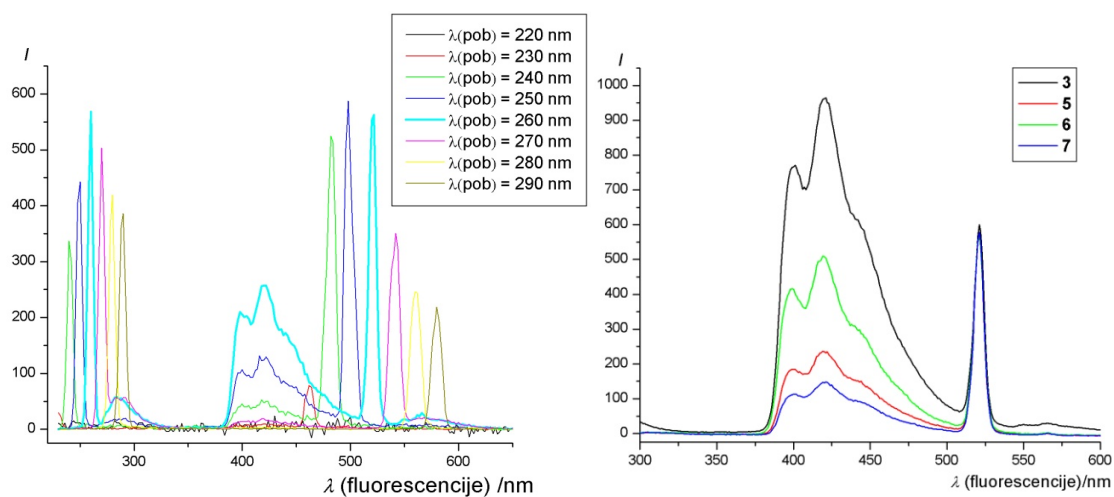
Spoj	λ/nm ($\epsilon/\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$)
1	243 ($5,29 \cdot 10^4$)
2	229 ($3,43 \cdot 10^4$), 231 ($2,79 \cdot 10^4$), 296 ($7,7 \cdot 10^3$)
3	259 ($1,15 \cdot 10^5$), 370 ($1,03 \cdot 10^4$), 391 ($9,94 \cdot 10^3$);
5	259 ($1,21 \cdot 10^5$), 352 ($7,12 \cdot 10^3$), 370 ($1,15 \cdot 10^4$), 391 ($1,12 \cdot 10^4$)
6	258 ($1,75 \cdot 10^5$), 351 ($8,86 \cdot 10^3$), 370 ($1,41 \cdot 10^4$), 389 ($1,37 \cdot 10^4$)
7	259 ($1,57 \cdot 10^5$), 352 ($8,42 \cdot 10^3$), 370 ($1,30 \cdot 10^4$), 389 ($1,25 \cdot 10^4$)



Slika 19. UV/VIS spektri naftalenskih derivata 1 i 2 (lijevo); antracenskih derivata 3-7 (desno).

5.2.5. Analiza fluorescencijskih spektara

Kada ih se izloži UV svjetlosti otopine antracenskih produkata imaju veoma intenzivnu ljubičastu fluorescenciju, a krutine zeleno-žutu fluorescenciju. Snimljeni su fluorescencijski spektri DKM otopina produkata **3-7** (Slika 20). Fluorescenciji produkta odgovara dio spektra između 380 i 500 nm. Oštri signali ispod 300 nm nastaju zbog Rayleigh-jea raspršenja samog pobudnog zračenja, a oštri signali koji se nalaze pri dvostrukim valnim duljinama pobudnog zračenja odgovaraju Rayleigh-jevu raspršenju dodatnog zračenja koje monokromator propušta (zbog difrakcije drugog reda na rešetci). Maksimumi fluorescencije nalaze se pri **402 nm, 421 nm, 442 nm** (rame) na spektru je još i prisutan oštar signal pri dvostrukoj valnoj duljini pobudnog zračenja (520 nm).



Slika 20. Fluorescencijski spektri DKM otopine spoja **3** snimani s pobudnim zračenjem različitih valnih duljina. (gore lijevo) Fluorescencijski spektri DKM otopina spojeva **3-7** (gore

desno) fotografija krutine spoja **3** ozračena UV svjetlošću ($\lambda = 365$ nm) (dolje lijevo),
fotografija DKM otopine spoja **3** ozračene UV svjetlošću ($\lambda = 365$ nm) (dolje desno).

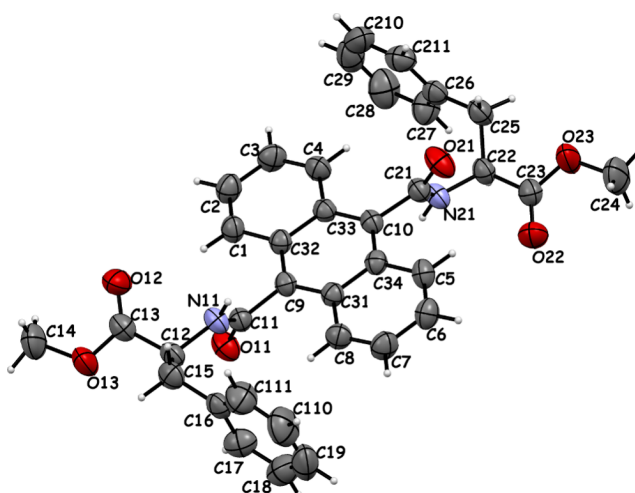
Iz fluorescencijskih spektara produkta **3** snimanih pobudnim zračenjem različitih valnih duljina vidljivo je da produkt najintenzivnije fluorescira kada se pobuđuje zračenjem valne duljine 260 nm, to je ujedno i valna duljina pri kojoj spojevi imaju najveću apsorbanciju u UV/VIS spektrima. S obzirom na to da i ostali produkti (**5-7**) također imaju maksimum apsorbancije u UV/VIS spektrima pri 260nm daljnji fluorescencijski spektri snimljeni su samo pobudnim zračenjem te valne duljine.

Fluorescencijski spektri prikazani na Slici 20 snimljeni su za otopine koncentracija reda veličine 10^{-8} mol dm⁻³. Nisu uspoređivani intenziteti fluorescencije pojedinih produkata jer su snimani za otopine različitih koncentracija. Spektri su snimljeni samo kako bi se kvalitativno odredila fluorescencija spojeva te je najbitnije uočiti da svi spojevi imaju slične spektre s maksimumima pri istim valnim duljinama. Ovo opažanje je očekivano s obzirom da sve molekule imaju isti kromofor, također je iz spektara očito da aminokiselinski lanci nemaju značajnog utjecaja na fluorescenciju kromofora. S obzirom da produkti fluoresciraju i u čvrstom stanju valjalo bi snimiti fluorescencijske spektre krutine jer postoji mogućnost da se spektri različitih produkata, snimani u čvrstom stanju, razlikuju zbog drugačijih kristalnih pakiranja, odnosno okruženja oko molekula.

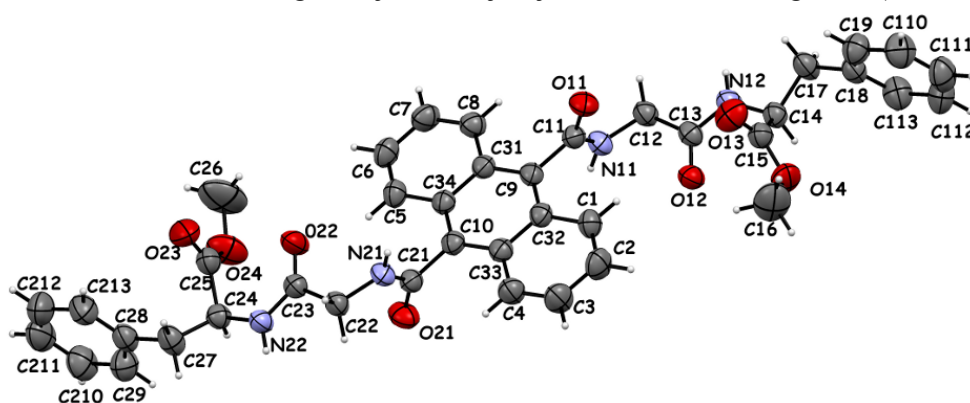
5.3. Analiza kristalografskih podataka

U okviru ovoga rada od sedam pripremljenih spojeva za dva spoja određena je molekulska i kristalna struktura metodom difrakcije rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu. Kristalografski podaci spojeva **3** i **7** (Slika 21 i 22) nalaze se prilogu u Tablici D6. Spoj **3** kristalizira u triklinskom sustavu u prostornoj grupi $P1$ s jednom molekulom po jediničnoj ćeliji, a spoj **7** u monoklinskom sustavu u prostornoj grupi $P2_1$ dvije molekule po jediničnoj ćeliji.

Dobiveni su i kristali spojeva **5** i **6**, no pokazalo se da su nedovoljno kvalitetni za kristalografske pokuse.



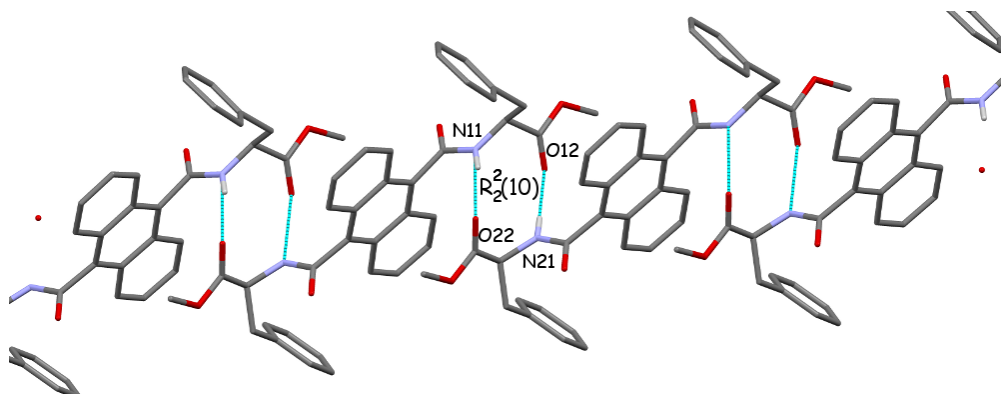
Slika 21. Ortep prikaz molekulske strukture spoja **3** s numeriranim atomima (vibracijski elipsoidi nevodikovih atoma odgovaraju 50% vjerojatnosti elektronske gustoće).



Slika 22. Ortep prikaz molekulske strukture spoja **7** numeriranim atomima. (vibracijski elipsoidinevodikovih atoma odgovaraju 50% vjerojatnosti elektronske gustoće)

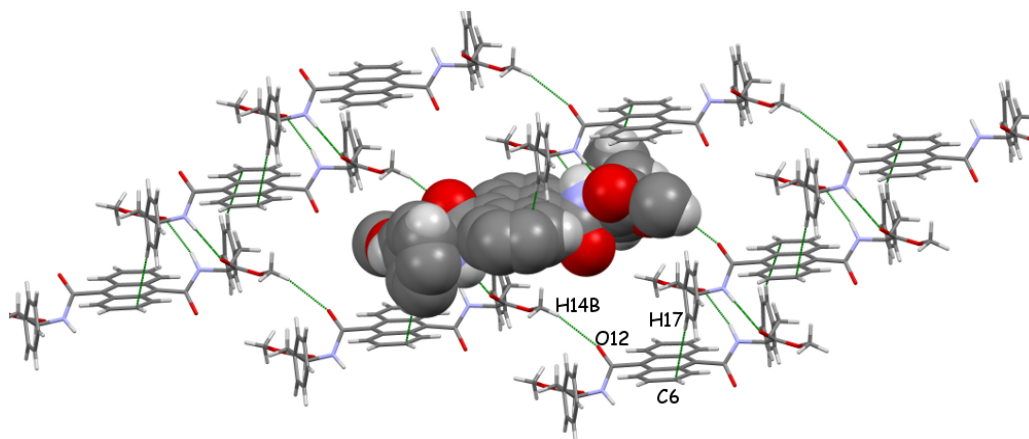
5.3.1. Kristalna struktura spoja 3

Popis svih vodikovih veza i međumolekulskih kontakata u kristalnoj strukturi spoja **3** nalazi se u Tablici D7, a Hirshfeldova površina molekule na kojima su prikazane atomske udaljenosti d_{norm} te grafički prikaz ovisnosti d_e o d_i , prikazani su u Tablici D9.. Molekule su međusobno povezane u jednodimenzionalne lance vodikovim vezama vrste N-H...O preko motiva (10) gdje su N...O udaljenosti 3,161(3) Å [N11...O22; x-1, y, z] te 2,942(2) Å [N21...O12; x+1, y, z], Slika 23.



Slika 23. Vodikove veze koje povezuju molekule spoja **3** u 1D lance.

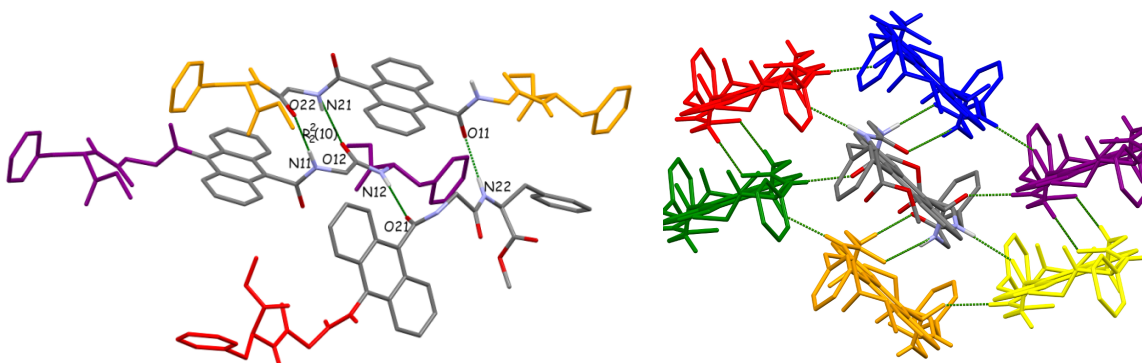
Lanci su nadalje, međusobno povezani u dvodimenzionalne mreže kontaktima vrste C-H...O gdje je C...O udaljenost 3,603(2) Å [C14...O21 x - 1, y, z + 1] te kontaktima vrste C-H...C između fenilnog prstena jedne i antracenskog prstena susjedne molekule gdje je C...C udaljenost 3,691(1) Å (C17...C6), Slika 24. Mreže su međusobno povezane ostalim kontaktima vrste C-H...O i C-H...C.



Slika 24. Prikaz povezivanja molekula spoja 3 u dvodimenzijске mreže

5.3.3. Kristalna struktura spoja 7

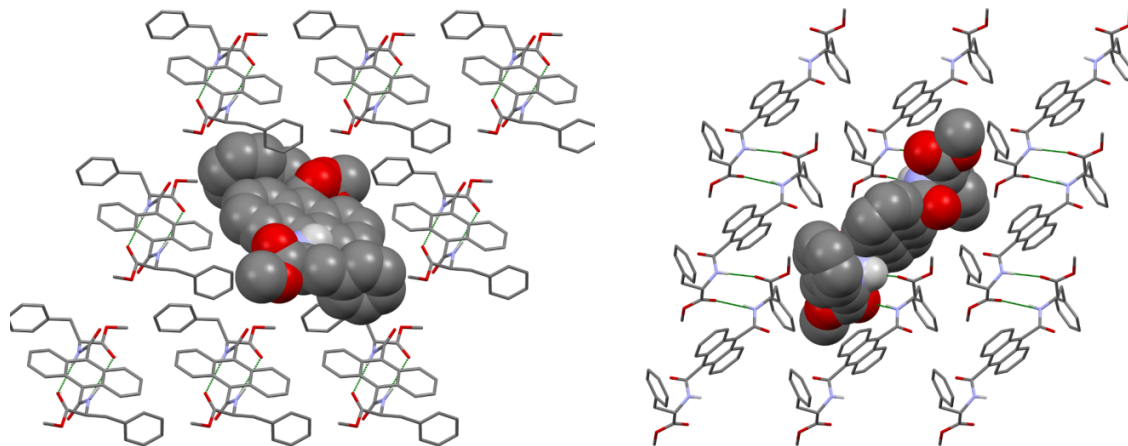
Popis svih vodikovih veza i međumolekulskih kontakata u kristalnoj strukturi spoja **7** nalazi se u prilogu u tablici u Tablici D8, a Hirshfeldova površina molekule na kojima su prikazane atomske udaljenosti d_{norm} te grafički prikaz ovisnosti d_e o d_i , prikazani su u Tablici D10. Molekule su međusobno povezane u trodimenzionalnu strukturu vodikovim vezama vrste N-H...O. Svaka molekula u kristalnoj strukturi povezana s još 6 molekula u susjedstvu (Slika 25). Razmatranjem pakiranja molekula u kristalu može se razaznati karakterističan motiv povezivanja molekula (10) koji je odgovoran za povezivanje molekule u 1D lance (svi antracenski prsteni u jednom lancu su međusobno paralelni). Motiv tvore vodikove veze tipa N-H...O gdje su N...O udaljenosti 2,962(1) Å [N11...O22; x+1, y, z] te 2,833(6) Å [N21...O12; x-1, y, z]. Ovaj motiv vodikovih veza svojstven je pri povezivanju peptida u antiparalelne β ploče. Jednodimenzionalni lanci su međusobno povezani u 3D strukturu diskretnim vodikovim vezama tipa N-H...O, gdje su N...O udaljenosti 2,907(8) Å [N22...O11; -x+1, y+1/2, -z+1] i 2,896(3) Å [N12...O21; -x+2, y-1/2, -z+1].



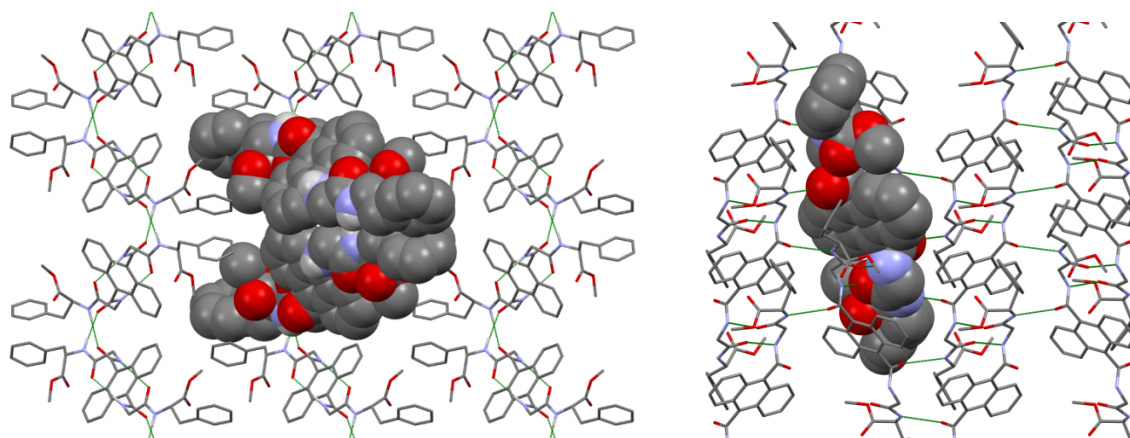
Slika 25. Motiv vodikovih veza između tri molekule spoja **7** (lijevo) te prikaz povezivanja jedne molekule spoja **7** sa šest susjednih (desno).

Slabi kontakti, za razliku od spoja **3** gdje grade 3D strukturu povezivanjem 1D lanaca, u spoju **7** služe uglavnom kao moderatori same strukture odnosno odgovorni su za prostorno

usmjeravanje dijelova peptidnih lanaca koji ne stupaju u jake vodikove veze.



Slika 26. Pakiranje molekula spoja **3** duž kristalografske osi *a* (lijevo) i pakiranje molekula duž kristalografske osi *b* (desno). Vodici su izostavljeni radi jednostavnosti slike.



Slika 27. Pakiranje molekula spoja **7** duž kristalografske osi *a* (lijevo) pakiranje duž kristalografske osi *c* (desno). Vodici su izostavljeni radi jednostavnosti slike.

5.3.4. Osvrt na daljnje mogućnosti i na potencijalne strukture s naftalenskim derivatima

U obje strukture prisutan je motiv vodikovih veza $R_2^2(10)$ koji odgovara motivu povezivanja peptida u antiparalelnim β pločama. Ipak, niti u jednoj određenoj strukturi spoja **3** i **7** nema motiva koji bi odgovarao nekom od motiva u paralelnim β pločama, nekom od okreta (β , γ) ili pak α zavojnici. Takve motive, kao i pravu sekundarnu strukturu moglo bi se reproducirati na način da se u molekulsku strukturu uvede piridin (bilo na kraju jednog od ili oba peptidna lanaca bilo umjesto jednog od lanaca) te da se tako dobiveni produkt koristi kao ligand i poveže s nekim metalom, te tako omogućí nastajanje intramolekulskih vodikovih veza između peptidnih lanaca.

Naftalenski derivati kristaliziraju u obliku tankih niti. Uzrok tome mogao bi biti naglašeno povezivanje molekula duž jedne kristalne osi vodikovim vezama. Za očekivati je da u strukturama diamido derivata naftalenske kiseline dolazi do formiranja sličnih motiva 1D lanaca uz pomoć vodikovih veza između N-H skupine amida i karboksilnih skupina, s tim da je moguće da dolazi do pojačanih C-C kontakata naftalenskih jezgara koje disperznim interakcijama dodatno stabiliziraju strukturu te nadjačaju ostale slabe vodikove/disperzne interakcije koje bi doprinijele međusobnom povezivanju 1D lanaca i rastu kristala u ostale 2 dimenzije.

S obzirom na to da su u kristalnoj strukturi spoja **7** molekule međusobno povezane u 3D strukturu intermolekulskim vodikovim vezama, moglo bi se očekivati da će se formirati slični motivi i u naftalenskim derivatima koji sadrže dulje lance (od dipeptida nadalje).

6. ZAKLJUČAK

Primarni cilj ovoga rada bila je sinteza diamido derivata 2,6-naftalenske, 1,4-naftalenske i 9,10-antracenske dikiseline s aminokiselinama (i aminokiselinskih lanaca) koji bi mogli poslužiti kao modelni spojevi za proučavanje sekundarnih struktura u proteinima. Koristeći metodu sinteze s coupling reagensima uspješno su pripremljeni derivati 2,6-naftalenske dikiseline i 1,4-naftalenske dikiseilne s H₂N-Phe-OMe (produkti **1** i **2**) te derivati 9,10-antracenske dikiseline s aminom 1-feniletilaminom (spoj **5**), aminokiselinama H₂N-Gly-OMe (**4**), H₂N-Val-OMe (**6**), H₂N-Phe-OMe (**3**) te dipeptidom H₂N-Gly-Phe-OMe (**7**). Pokušane su i sinteze derivata 9,10-antracenske dikiseline s dipeptidom H₂N-Val-Phe-OMe i tripeptidom H₂N-Gly-Val-Phe-OMe, no u prvom slučaju je izoliran međuprodukt, a u drugom je dobiveno svega 20 mg produkta. Pokazalo se da je korištena metoda upotrebljiva za sintezu aminokiselinskih derivata navedenih spojeva, no već kod dipeptida se javljaju problemi te potreba za poboljšanjem metode. U diskusiji je razmatrana sinteza posljednja dva derivata i zaključeno je kako bi se mogao poboljšati postupak da se uspješno dobije produkt uz bolje iskorištenje.

Svi spojevi su izučavani spektroskopskim metodama. Masenom spektroskopijom dokazano je postojanje molekulskog iona, ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom potvrđeno je da su sintetizirani i izolirani željeni produkti. IR spektroskopija se koristila kao nadopuna NMR spektrima te za potvrđivanje postojanja vodikovih veza u čvrstom stanju. Antracenski derivati veoma intenzivno fluoresciraju ispod UV svjetlosti (u otopini i u čvrstom stanju). Spojevima **3-7** snimljeni su fluorescencijski spektri u otopini, očekivano se pokazalo da su ti spektri gotovo identični te da variranje aminokiselinskih lanaca na antracenskoj jezgri ne utječe značajno na flourescenciju u otopini.

Specifični cilj ovog rada bio je proučavanje povezivanja molekula spojeva **3** i **7**, te usporedba s vodikovim vezama koje se nalaze u sekundarnim strukturama proteina. Spoj **3** kristalizira u triklinskom sustavu u prostornoj grupi *P1*, a spoj **7** kristalizira u monoklinskom sustavu u prostornoj grupi *P2*₁. Molekule Spoja **3** povezane su vodikovim vezama vrste N-H...O (motiv $R_2^2(10)$) u 1D lance, koji su slabim vodikovim vezama vrste C-H...O i C-H...C povezani u 2D mreže. Spoj **7** tvori 1D lance povezane vodikovim vezama vrste N-H...O (motiv $R_2^2(10)$) no, za razliku od spoja **3**, ti su lanci međusobno povezani u 3D mrežu vodikovim vezama također vrste N-H...O.

7. LITERATURNÁ VĚLA

1. a) A. L. Lehninger, *Biochemistry, 4th Edition*, Worth Publishers, Inc., New York, 1976.
b) L. Stryer, *Biochemistry, 5th Edition*, W.H. Freeman & Company, 1995.
2. J. Bernstein, R. E. Davis, L. Shimoni, N.-L. Chang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34** (1995) 1555–1573.
3. S. I. Kirin, H.-B. Kraatz, N. Metzler-Nolte, *Chem. Soc. Rev.* **35** (2006) 348–354.
4. C. K. Smith, L. Regan, *Acc. Chem. Res.* **30** (1997) 153–161.
5. B. Gong, C. Zheng, Y. Yan, *J. Chem. Crystallogr.* **29** (1999) 649–652.
6. D. Ranganathan, S. Kurur, R. Gilardi, I. L. Karle, *Biopolymers* **54** (2000) 287–295.
7. A. Ch. Laungani, B. Breit, *Chem. Commun.* (2008) 844–846.
8. Z. Kokan, S. I. Kirin, *RSC Advances* **2** (2012) 5729–5737.
9. Z. Kokan, S. I. Kirin, *rukopis poslan na ocjenu*.
10. T. I. Al-Warhi, Hassan M. A. Al-Hazimi, A. El-Faham, *J. Saudi Chem. Soc.* **19** (2012) 97–116.
11. S. I. Kirin, F. Noor, N. Metzler-Nolte, W. Mier, *J. Chem. Edu.* **84** (2007) 108–111.
12. S.-Y. Han, Y.-A. Kim, *Tetrahedron* **60** (2004) 2447–2467.
13. T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, J. Wiley and Sons, Inc., New York, 1999.
14. P. J. Kocienski, *Protecting Groups*, Thieme, Stuttgart, 2000.
15. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A* **64** (2008) 112–122.
16. L. J. Farrugia, WinGX, *J. Appl. Cryst.*, **32** (1999) 837–838.
17. M. Nardelli, *Comput. Chem.*, **7** (1983) 95–97.
18. A. L. Spek, *Acta Cryst.*, **D65** (2009) 148–155.
19. M. Nardelli, *J. Appl. Cryst.*, **28** (1995) 659–667.
20. I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edington, M. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, R. Taylor, *Acta Crystallogr.*, **B58** (2002) 389–397.
21. C. F. Macrae, P. R. Edington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.*, **39** (2006) 453–457.
22. A. Mahindra, K. K. Sharma, R. Jain, *Tetrahedron Letters*, **53** (2012) 6931–6935.
23. Z. Liang, W. Zhao, S. Wang, Q. Tang, S.-C. Lam, Q. Miao, *Org. Lett.*, **10** (2008) 2007–2010.
24. M. A. Spackman, D. Jayatilaka, *CrystEngComm*, **11** (2009) 19–32.
25. J. J. McKinnon, M. A. Spackmana, A. S. Mitchell, *Acta Cryst.*, **B60** (2004) 627–668.

8. ZAHVALE

Zahvaljujem se Institutu Ruđer Bošković na pruženim sredstvima i uvjetima za rad.

Zahvaljujem se Prirodoslovno-matematičkom fakultetu na suradnji.

Zahvaljujem se svojem mentoru i neposrednom voditelju rada dr. sc. Srećku Kirinu, na pruženoj prilici, na nevjerojatnom strpljenju i razumijevanju, za svu pruženu pomoć i znanje.

Zahvalan sam mu što je unatoč svim svojim obavezama uvijek pronašao potrebno vrijeme.

Zahvaljujem se i svojem mentoru doc. dr. sc. Dominiku Cinčiću, na svim savjetima i konstruktivnim kritikama, na pomoći oko analize kristalnih struktura i na tome što me je upoznao s programom Crystal Explorer i Hirshfieldovim površinama.

Zahvaljujem se dr. sc. Berislavu Periću na rješavanju kristalnih struktura.

Hvala Ernestu i Zoranu na svojoj pruženoj pomoći i savjetima, i hvala za sve lijepe zajedničke trenutke i zabavne razgovore.

Hvala Petri, na svojoj pruženoj ljubavi na svim poticajnim razgovorima, na vjeri u mene i nevjerojatoj podršci.

Hvala Petru i Anamariji što su vjerovali u mene kada ni sam nisam imao vjere, na zajedničkom planinarenju na Sljeme, koje mi je lijepo i slikovito ukazalo kako je važno ustrajati i kako je besmisleno razmišljati o odustajanju 5 minuta prije kraja puta zbog naleta trenutne slabosti.

I konačno hvala mojoj obitelji i prijateljima što su me tjerali da idem dalje i bez čije podrške i poticaja bih vjerojatno odavno posustao.

9. PRILOZI

Tablica D1. Sheme numeriranja ugljikovih atoma u prirednim produktima.

Derivati 2,6-naftalenske dikiseline (1) i 1,4-naftalenske dikiseline (2) s Phe			
Spoj	Shema	Spoj	Shema
1		2	
Derivati 9,10-antracenske dikiseline s PheOMe (3), GlyOMe (4), PEAom (5) i ValOMe (6)			
Spoj	Shema	Spoj	Shema
3		4	
5		6	
Derivati 9,10-antracenske dikiseline s GlyPheOMe (7) i GlyValPheOMe (9)			
Spoj	Shema	Spoj	Shema
7			
9			

9.1. Detaljni opis priprave produkata

9.1.1. Priprava derivata naftalenskih dikiselina

Sinteza i pročišćavanje 2,6-bis(L-Phe-OMe)naftalendikarboksiamida (1)

2,6-Naftalendikarboksilna kiselina (jedan ekvivalent 109,01 mg, 0,5043 mmol), TBTU (dva ekvivalenta 321,10 mg, 1,000 mmol), i HOBt (dva ekvivalenta, 153,24 mg, 1,001 mmol) suspendirani su u diklormetanu (30 mL). Suspenziji je dodana DIPEA (deset ekvivalenata, 0,854 mL, 5,002 mmol), nastala je bistra otopina koja se nakon par minuta ponovno zamutila. U reakcijsku smjesu dodan je acetonitril (30 mL), nije bilo vidljivih promjena. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je L-Phe-OMe × HCl (dva ekvivalenta, 221,14 mg, 1,025 mmol). Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći i do jutra je u tikvici nastala bistra otopina. Sadržaj tikvice uparen je do suha uz vakuum i suhi ostatak je otopljen u etil-acetatu i ispran. Tako dobiveni sirovi produkt vezan je na silikagel (1,0 g) i nanesen na kromatografsku kolonu te eluiran sa smjesom otapala etil-acetat:heksan 7:3. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

Sinteza i pročišćavanje 1,4-bis(L-Phe-OMe)naftalendikarboksiamida (2):

1,4-naftalendikarboksilna kiselina (jedan ekvivalent 105,16 mg, 0,486 mmol), TBTU (dva ekvivalenta 324,24 mg, 1,010 mmol), i HOBt (dva ekvivalenta, 153,44 mg, 1,002 mmol) suspendirani su u acetonitrilu (30 mL). Suspenziji je dodana DIPEA (deset ekvivalenata, 0,854 mL, 5,002 mmol), nastala je bistra otopina koja se nakon par minuta ponovno zamutila. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je L-Phe-OMe × HCl (dva ekvivalenta, 216,12 mg, 1,002 mmol). Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći i do jutra je u tikvici nastala bistra otopina. Nakon ispiranja sirovi produkt je vezan na silikagel (1,82 g) i nanesen na kromatografsku kolonu te eluiran sa smjesom otapala etil-acetat:heksan 1:1 (nakon što je prva nečistoća izašla iz kolone povećan je udio etil-acetata do omjera etil-acetat:heksan 8:2.

Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt

9.1.2. Priprava derivata 9,10-antracenske dikiseline

Sinteza 9,10-bis(L-Phe-OMe)antracendikarboksiamida (3)

9,10-antracendikarboksilna kiselina (125 mg; 0,47 mmol), TBTU(304 mg; 0,95 mmol), i HOBt (147 mg; 0,96 mmol) suspendirani su u DMF-u (30 mL). Suspenziji je dodana DIPEA (0,80 mL; 4,71 mmol). Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je L-Phe-OMe × HCl (207mg; 0,96 mmol). Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. Drugi dan je u reakcijsku smjesu dodano još 2 ekvivalenta TBTU-a, HOBt-a i L-Phe-OMe × HCl i deset ekvivalenata DIPEA-e, te je smjesa puštena da se miješa još dva dana. Reakcijska smjesa se potom tretira i ispire na gore opisan način. Nakon sušenja organski sloj je uparen do suha i izoliran je sirovi produkt. Tako dobiveni sirovi produkt vezan je na silikagel(1,36 g) i nanesen na kromatografsku kolonu te eluiran sa smjesom otapala etil-acetat:heksan 4:6. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

Sinteza 9,10-bis(L-Gly-OMe)antracendikarboksiamida (4)

9,10-antracendikarboksilna kiselina (125mg; 0,47 mmol), TBTU(304mg; 0,95 mmol), i HOBt (142mg; 0,93 mmol) otopljeni su u DMF-u (22 mL). Nakon 10 minuta miješanja otopini je dodana DIPEA (0,80 mL). Dodatkom DIPEA-e bezbojna otopina požuti i nakon nekoliko minuta nastaje svijetložuti talog. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je L-Gly-OMe × HCl (117mg; 0,93 mmol). Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. U tikvici se drugi dan nalazila bistra otopina u koju je dodano još 1 ekvivalent TBTU-a, HOBt-a i L-Phe-OMe × HCl i pet ekvivalenata DIPEA-e, te je smjesa puštena da se miješa još dva dana. Sadržaju tikvice je zatim dodana destilirana voda (60 mL) i etil-acetat (60 mL). Prilikom ekstrakcije u organskom sloju se je počeo taložiti svijetlo žuti talog. Nastali talog je izoliran.

Sinteza 9,10-bis(L-PEA)antracendikarboksiamida (5)

9,10-antracendikarboksilna kiselina (124 mg; 0,47 mmol), TBTU(306mg; 0,95 mmol), i HOBt (144mg; 0,94 mmol) otopljeni su u DMF-u (22 mL). Nakon 10 minuta miješanja otopini je dodana DIPEA (0,80 mL). Dodatkom DIPEA-e bezbojna otopina požuti i nakon nekoliko minuta nastaje svijetložuti talog. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je 1-feniletilamin (180 μ L). Nakon dodatka DIPEA-e u tikvicu je upuhan dušik (iznad reakcijske smjese) te je tikvica začepljena i dodatno izolirana parafilmom. Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. Drugi dan je u reakcijsku smjesu dodano još 1 ekvivalent TBTU-a, HOBt-a i L-Phe-OMe \times HCl i pet ekvivalenata DIPEA-e, te je smjesa puštena da se miješa još dva dana. Reakcijska smjesa se potom tretira i ispire na gore opisan način, nakon sušenja organski sloj se upari do suha te se izolira sirovi produkt. Sirovi produkt je impregniran na silikagel (1,4 g) te je potom nanesen na kolonu sa silikagelom (29 g) u smjesi otapala etil-acetat,heksan (2:8). Kolona je ispirana smjesom otapala etil-acetat, heksan u raznim omjerima počevši od 2:8 te postepeno povećavajući udio etil-acetata u smjesi do konačnog omjera 1:1. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

9,10-bis(NHValOMe)antracendikarboksiamida (6)

9,10-antracendikarboksilna kiselina (124mg; 0,47 mmol), TBTU(466mg; 1,45 mmol), i HOBt (221mg; 1,44 mmol) otopljeni su u DMF-u (25 mL). Nakon 10 minuta miješanja otopini je dodana DIPEA (1,20 mL). Dodatkom DIPEA-e bezbojna otopina požuti i nakon nekoliko minuta nastaje svijetložuti talog. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodano je NH₂ValOMe·HCl (258mg; 1,54 mmol), nije došlo do otapanja taloga. Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. Nakon par dana miješanja talog se potpuno otopio. Reakcijska smjesa je potom tretirana na prethodno opisani način. Organski sloj je nakon sušenja uparen do suha te je izoliran sirovi produkt. Sirovi produkt je impregniran na silikagel (1,52 g) te je potom nanesen na kolonu sa silikagelom (30 g) u smjesi otapala etil-acetat,heksan (4:6). Kolona je ispirana smjesom otapala etil-acetat, heksan u raznim omjerima počevši s 1:1 uz postepeno povećavanje udjela etil-acetata u smjesi do konačnog omjera 8:2. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

Sinteza 9,10-bis(NHGlyPheOMe)antracendikarboksiamida (7)

9,10-antracendikarboksilna kiselina (120mg; 0,45 mmol), TBTU(453mg; 1,41 mmol), i HOBt (217mg; 1,41 mmol) otopljeni su u DMF-u (25 mL). Nakon 10 minuta miješanja otopini je dodana DIPEA (1,20 mL). Dodatkom DIPEA-e bezbojna otopina požuti i nakon nekoliko minuta nastaje svijetložuti talog. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je NH₂GlyPheOMe (465 mg; 1,64 mmol)*, nije došlo do otapanja taloga. Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. Do sljedećeg dana talog se potpuno otopio. Reakcijska smjesa je miješana još četiri dana. Reakcijska smjesa je potom tretirana i ispirana na prethodno opisani način. Organski sloj je nakon sušenja uparen do suha i izoliran je sirovi produkt. Sirovi produkt je impregniran na silikagel (1,8 g) te je potom nanesen na kolonu sa silikagelom (35 g) u smjesi otapala etil-acetat,heksan (4:6). Kolona je ispirana smjesom otapala etil-acetat, heksan u raznim omjerima počevši s 1:1 uz postepeno povećavanje udjela etil-acetata u smjesi do konačnog omjera 8:2. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

*podaci se odnose na masu dipeptida s t-Boc zaštitom (Boc-GlyPheOMe). t-Boc zaštita je prethodno skinuta pomoću TFA (2,5 mL) u DKM (2,5 mL), smjesa je uparena, ostatak je otopljen u DMF-u (5mL) i u otopinu je dodana DIPEA(0,6 mL)

Sinteza 9,10-bis(NHValPheOMe)antracendikarboksiamida

9,10-antracendikarboksilna kiselina (126 mg; 0,47 mmol), TBTU(454mg; 1,41 mmol), i HOBt (226mg; 1,48 mmol) otopljeni su u DMF-u (25 mL). Nakon 10 minuta miješanja otopini je dodana DIPEA (0,804 mL). Dodatkom DIPEA-e bezbojna otopina požuti i nakon nekoliko minuta nastaje svijetložuti talog. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je NH₂ValPheOMe (537mg, 1,42 mmol*). Nakon dodatka dipeptida talog se nije otopio. Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. Reakcijska smjesa je miješana nekoliko dana no nije došlo do otapanja taloga. Žuti talog je izoliran tako da je otopina profiltrirana, a talog ispran s metanolom.

*podaci se odnose na masu dipeptida s t-Boc zaštitom (Boc-GlyPheOMe). t-Boc zaštita je prethodno skinuta pomoću TFA (2,5 mL) u DKM (2,5 mL), smjesa je uparena, ostatak je otopljen u DMF-u(5mL) i u otopinu je dodana DIPEA (0,6 mL)

Sinteza 9,10-bis(NHGlyValPheOMe)antracendikarboksiamida

9,10-antracendikarboksilna kiselina (125mg; 0,47 mmol), TBTU(466mg; 1,45 mmol), i HOBt (222mg; 1,45 mmol) otopljeni su u DMF-u (25 mL). Nakon 10 minuta miješanja otopini je dodana DIPEA (0,804 mL). Dodatkom DIPEA-e bezbojna otopina požuti i nakon nekoliko minuta nastaje svijetložuti talog. Nakon sat vremena u reakcijsku smjesu dodan je NH₂GlyValPheOMe (808mg; 1,86 mmol)*. Dodatkom tripeptida nije došlo do vidljivih promijena u reakcijskoj smjesi. Reakcijska smjesa je puštena da se miješa preko noći. Talog je ostao neotopljen. Sadržaj tikvice je grijan uz refluks dok se sav talog nije otopio i reakcija je puštena da se miješa još par dana. Reakcijska smjesa je potom tretirana i ispirana na prethodno opisan način. Organski sloj je nakon sušenja uparen do suha i izoliran je sirovi produkt. Sirovi produkt je impregniran na silikagel (3 g) te je potom nanesen na kolonu sa silikagelom (30 g) u smjesi otapala etil-acetat,heksan (1:1). Kolona je ispirana smjesom otapala etil-acetat, heksan u raznim omjerima počevši s 1:1 uz postepeno povećavanje udjela etil-acetata u smjesi do konačnog omjera 8:2. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

*podaci se odnose na masu tripeptida s t-Boc zaštitom. Tripeptid je uzet iz prethodne sinteze bez pročišćavanja, t-Boc zaštita mu je uklonjena pomoću TFA (2,5 mL) u DKM (2,5 mL), nakon toga uzorak je uparen otopljen u DMF-u (5 mL) i dodavana je DIPEA dok sva preostala TFA nije bila neutralizirana)

9.1.3. Detaljni opisi priprave dipeptida i tripeptida.

Sinteza dipeptida BocGlyPheOMe

Boc-L-GlyOH (882 mg) otopljeno je u 120mL DKM. Otopini su dodani coupling reagensi HOBt (781 mg), TBTU (1,610 g) te DIPEA-a (2,15mL). Nakon dodatka coupling reagensa ne dolazi do taloženja međuprodukta. Nakon 50 min miješanja u otopinu je dodan L-H₂NPhe-OMe × HCl (1,089g). Nakon tjedan dana miješanja reakcijska smjesa je isprana s 10% otopinom KHCO₃, potom s 10% otopinom limunske kiseline te konačno s destiliranom vodom. Organski sloj (dolnji) sušen je iznad bezvodnog Na₂SO₄ te je uparen. Izolirani sirovi produkt impregniran je na 5g silikagela te pročišćen flash kromatografijom. Frakcije s produktom su spojene i uparene te je izoliran kruti produkt.

Sinteza dipeptida BocValPheOMe

Boc-L-ValOH (1,141 g) otopljeno je u 80mL DKM. Otopini su dodani coupling reagensi HOBt (804 mg), TBTU (1,689 g) te DIPEA-a (2,25mL). Nakon dodatka coupling reagensa ne dolazi do taloženja međuprodukta. Nakon 45 min miješanja u otopinu je dodan L-H₂NPhe-OMe × HCl (1,174g). Nakon pet dana miješanja reakcijska smjesa je isprana s 10% otopinom KHCO₃, potom s 10% otopinom limunske kiseline te konačno s destiliranom vodom. Organski sloj (dolnji) sušen je iznad bezvodnog Na₂SO₄ te je uparen. Izolirani sirovi produkt nije dalje pročišćavan.

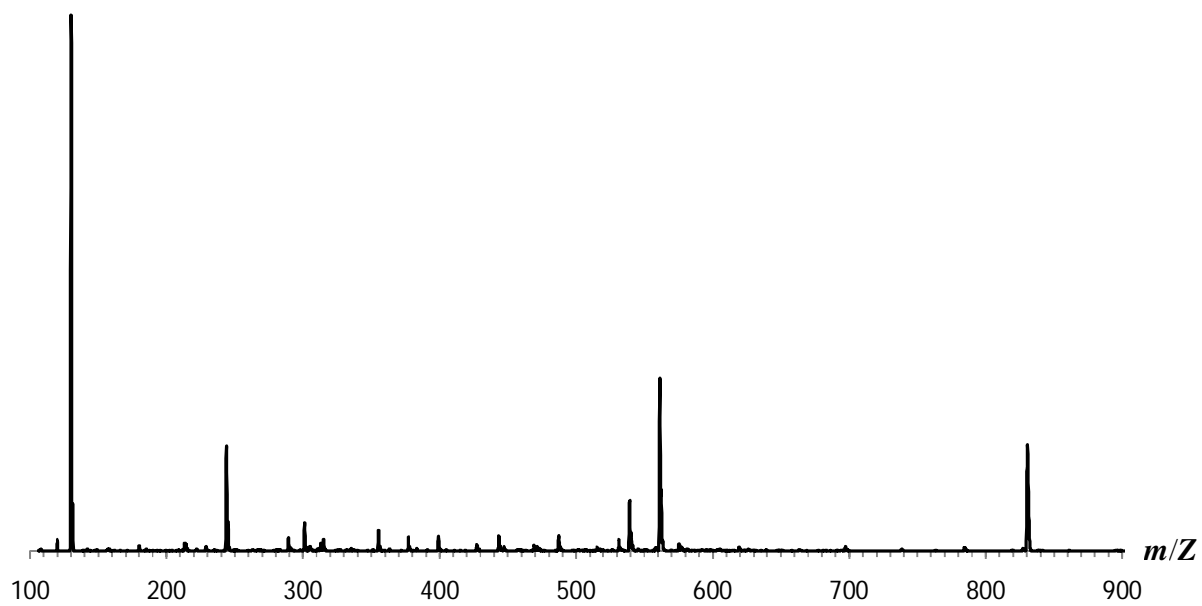
Sinteza tripeptida BocGlyValPheOMe

Boc-L-GlyOH (334,1 g) otopljeno je u 40mL DKM. Otopini su dodani coupling reagensi HOBt (291 mg), TBTU (614 mg) te DIPEA-a (0,64 mL). Nakon dodatka coupling reagensa ne dolazi do taloženja međuprodukta. Nakon 45 min miješanja u otopinu je dodan L-H₂NValPhe-OMe (jedan ekvivalent) kojemu je prethodno skinuta Boc zaštita. Nakon tjedan dana miješanja reakcijska smjesa je isprana s 10% otopinom KHCO₃, potom s 10% otopinom limunske kiseline te konačno s destiliranom vodom. Organski sloj (dolnji) sušen je iznad bezvodnog Na₂SO₄ te je uparen. Izolirani sirovi produkt nije dalje pročišćavan.

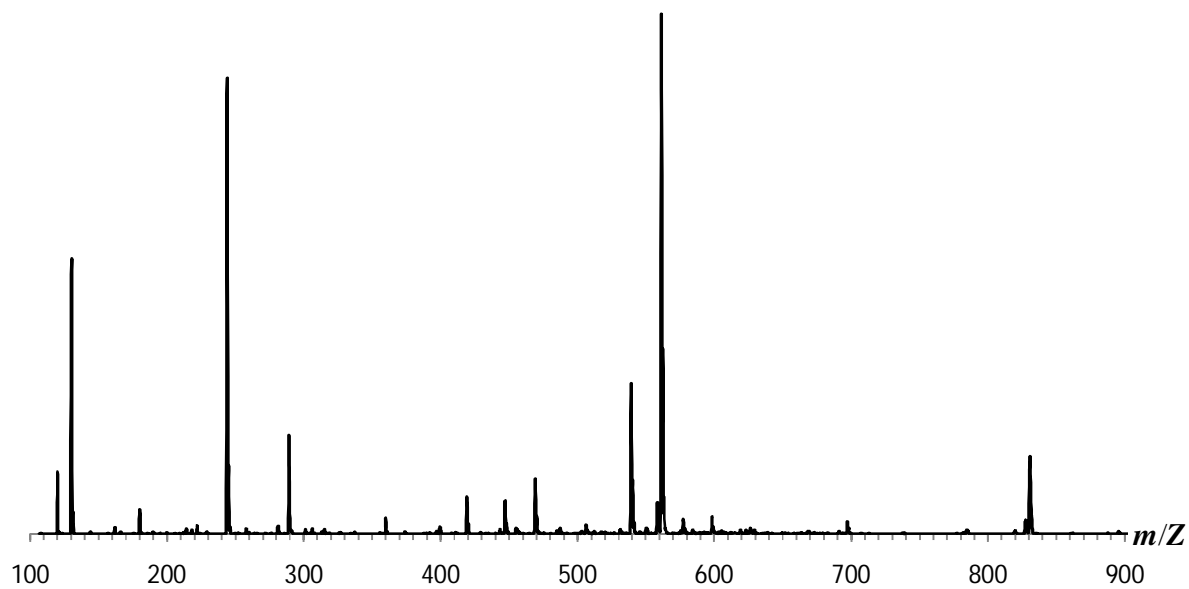
9.2. MASENI SPEKTRI

Tablica D2. Signali iona u masenim spektrima produkata.

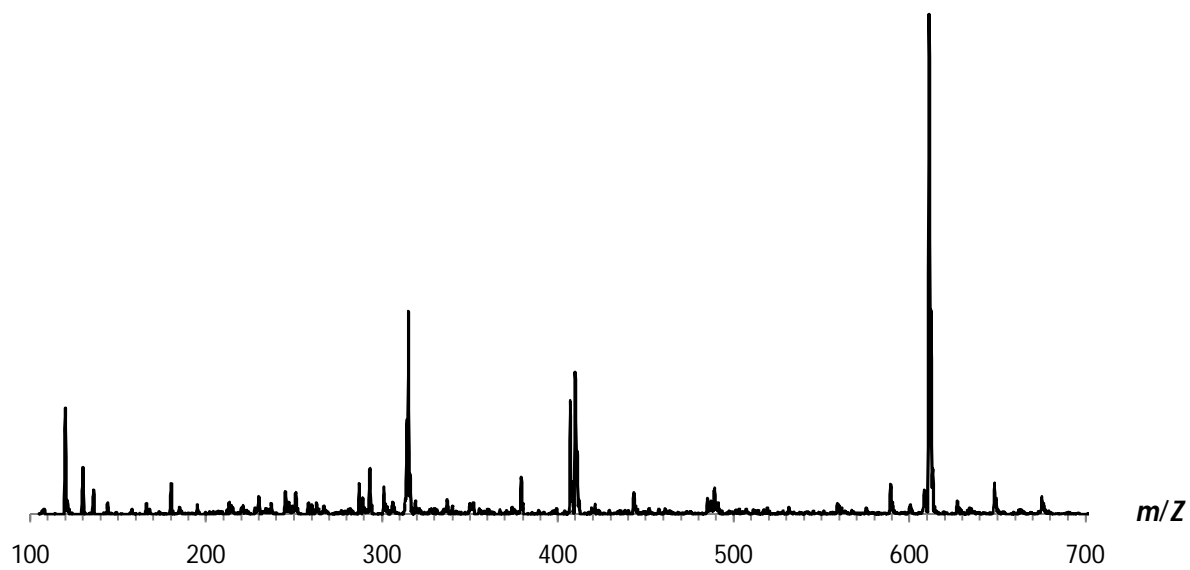
Spoj	m/z [M+H]⁺	m/z [M+Na]⁺	m/z ostali ioni
1	539,1	561,2	130,2, 244,1, 289,1, 531,4, 575,4, 830,7
2	539,1	561,2	130,2, 244,1, 289,2, , 830,7
3	589,1	611,2	130,2, 315,1, 410,1, 421,2, 600,6, 627,2
4	409,1;817,1 ([2M+H]⁺)	431;839,1 ([2M+Na]⁺)	130,1, 244,2, 288,2, 316,2, 322,1, 344,2, 510,4, 526,4, 538,3, 554,4, 568,3, 582,4, 607,4,
5	473,1;945,3 ([2 M+H]⁺)	495,1;967,2 ([2M+Na]⁺)	123, 288,2, 316,2, 526,4, 554,4, 582,4, 595,2, 607,4, 977,3
6	493,1 985,3 ([2M+H]⁺)	515,1 1007,3 ([2M+Na]⁺)	123,1, 288,2, 554,4, 582,4, 601,1, 615,2, 639,2, 1018,6, 1046,6,
7	703,1	725,1	123, 288,2, 316,2, 341,2, 359,2, 381,2, 526,4, 554,4, 582,4, 598,3, 714,4, 739,4, 799,3, 825, 849,3, 1054,8, 1065,7, 1076,8, 1127,8
GlyValPheOMe	901,3	923,3	123,1244,2, 288,2, 316,2, 341,2, 353,2, 381,2, 397,2, 416, 498,1, 526,4, 554,4, 582,4, 591,4, 611,1, 619,4, 711,4, 739,4, 757,2, 771,4,



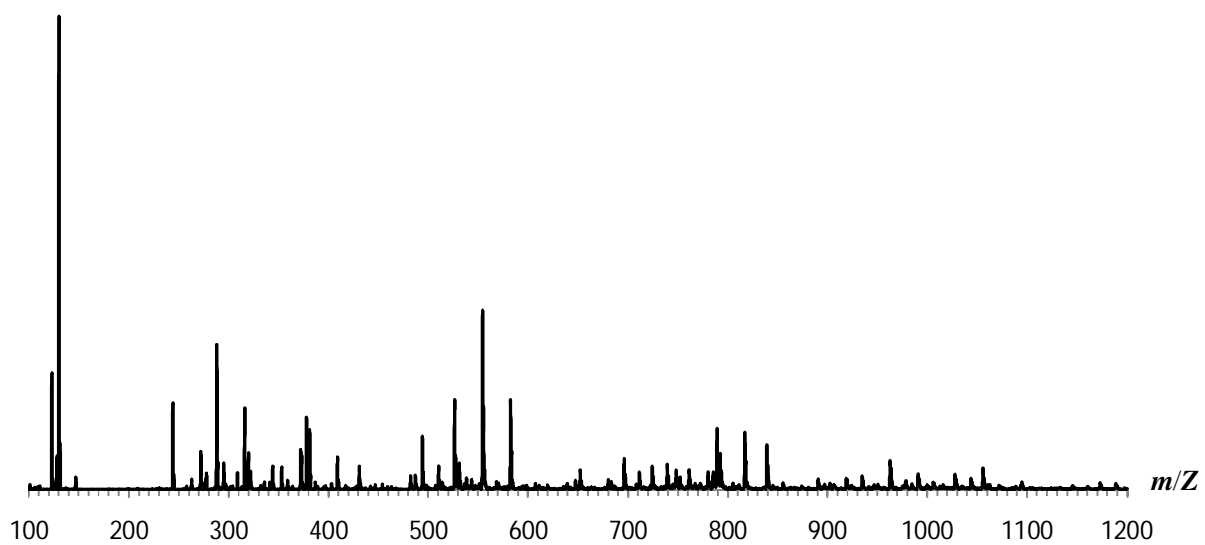
Slika D1. Maseni spektar spoja 1.



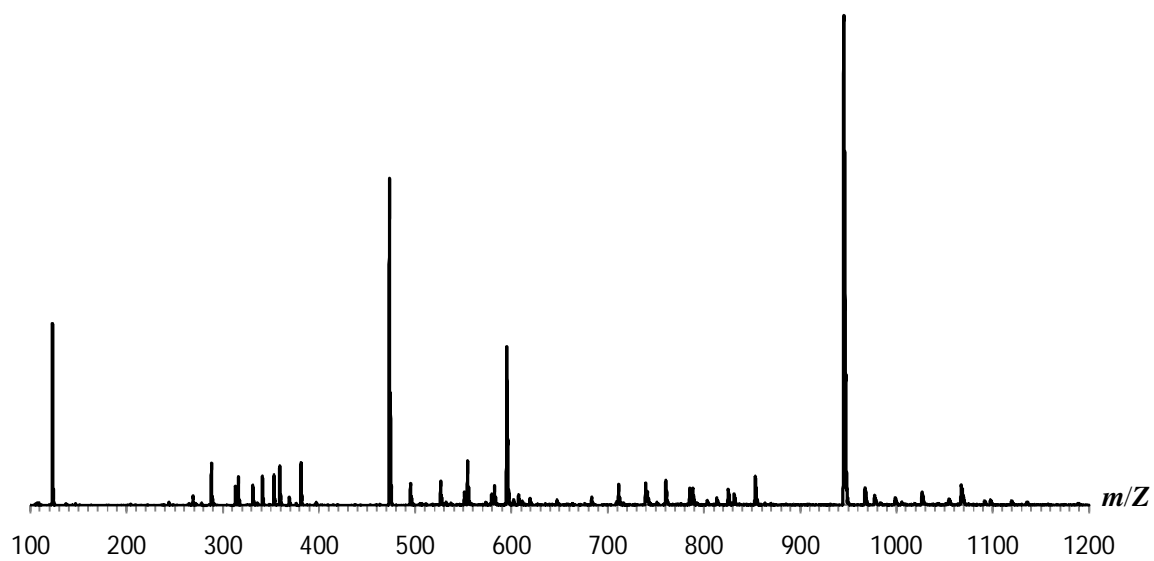
Slika D2. Maseni spektar spoja 2.



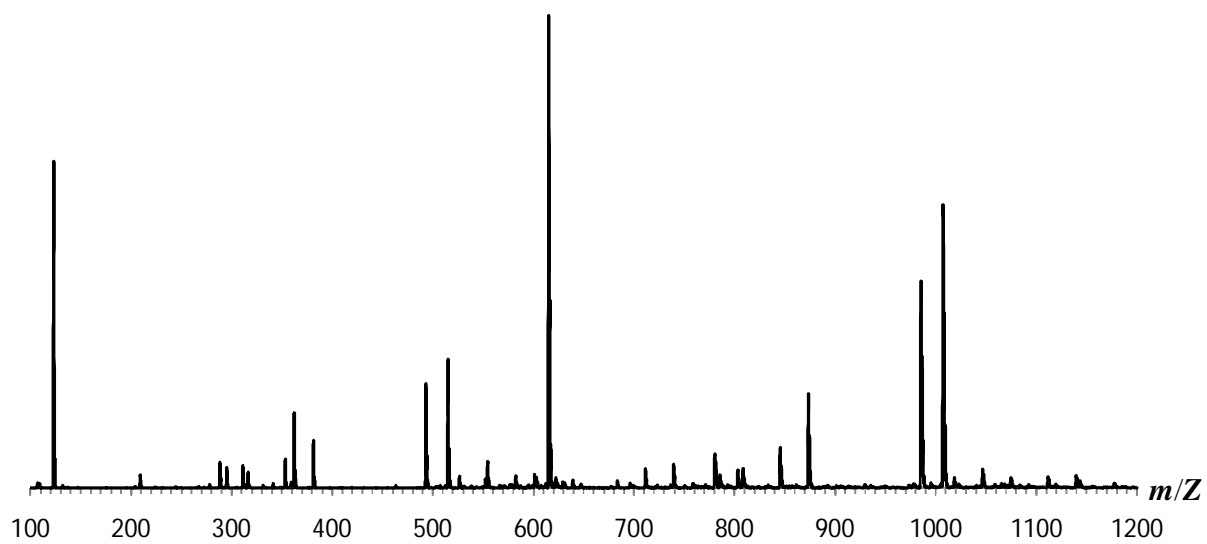
Slika D3. Maseni spektar spoja 3.



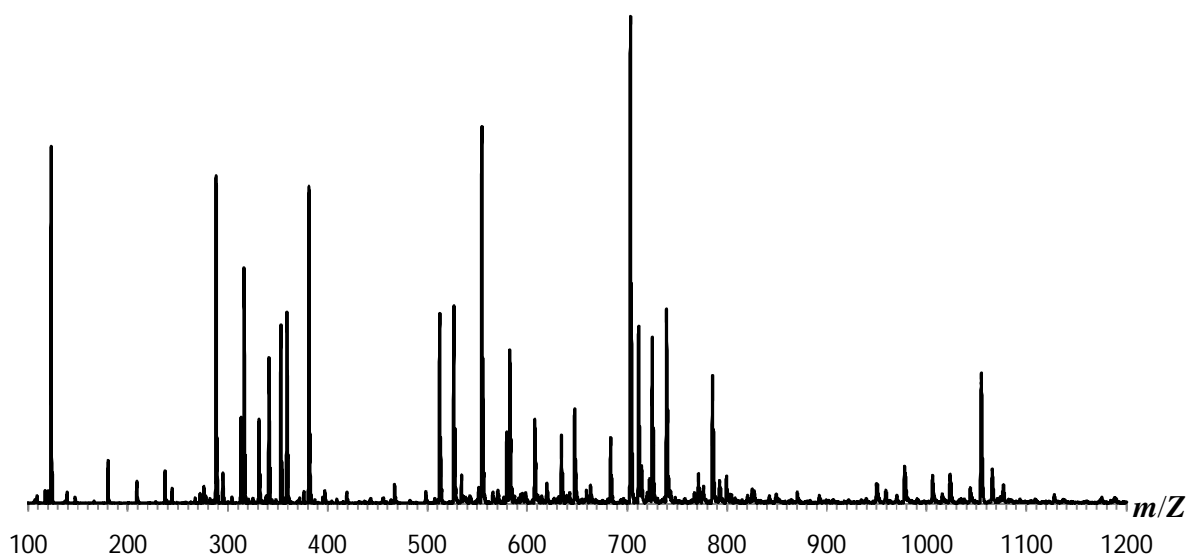
Slika D4. Maseni spektar spoja 4.



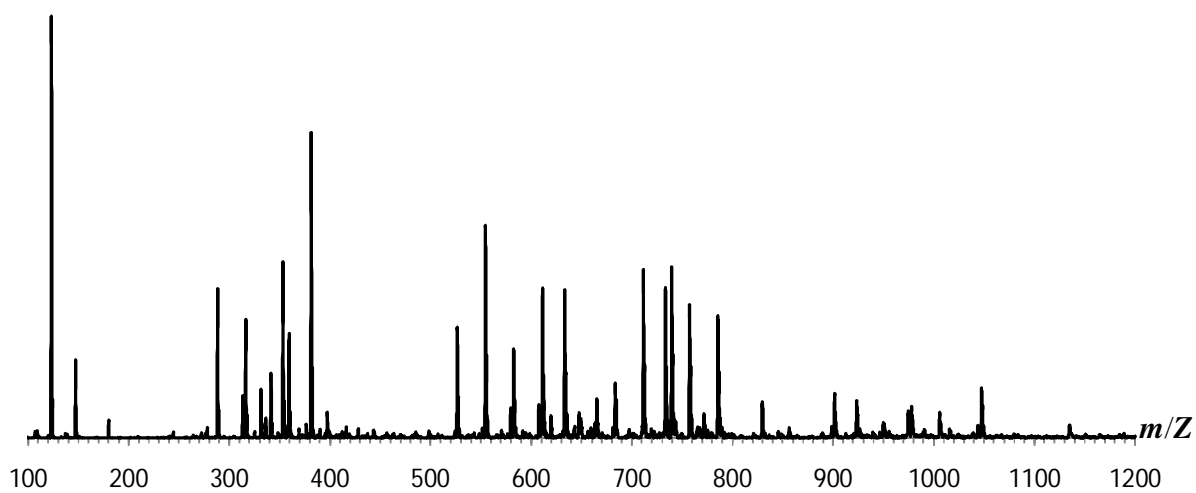
Slika D5. Maseni spektar spoja 5.



Slika D6. Maseni spektar spoja 6.



Slika D7. Maseni spektar spoja 7.



Slika D8. Maseni spektar derivata H₂N-Gly-Val-Phe-OMe.

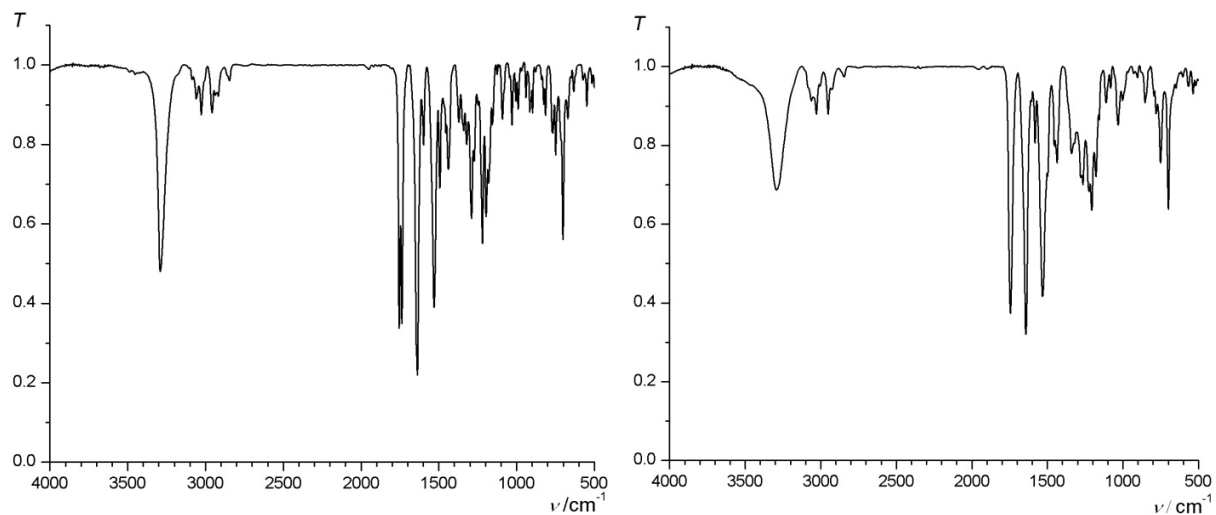
9.3. IR SPEKTRI

Tablica D3. IR spektri produkata.

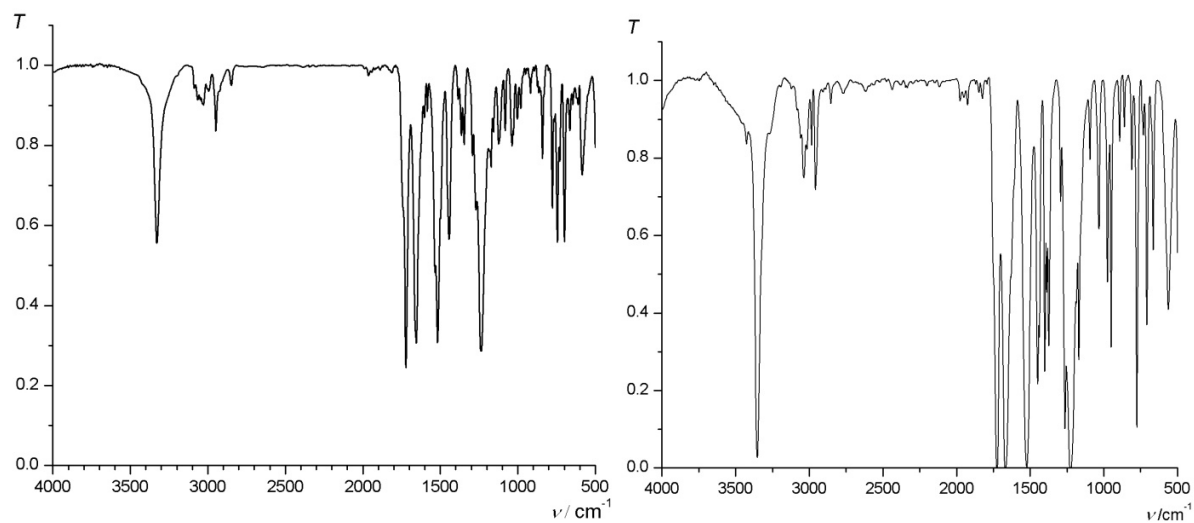
Spoj	Signali u IR spektru ($\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$)
1	3291 (lp, sj; ν N-H), 3059(lp, s; ν C-H _{fenil}), 3028(lp, s; ν C-H _{antracen}), 2957(o, s; ν_{as} C-H _(CH₃)), 2937, 2917, 2847, 1755 i 1738 (o,j; ν C=O _{ester}), 1637 (o,j; ν C=O _{amid}), 1531 (o,j amid II)
2	3293 (p, sj; NH _{istezanje}), 3062(lp, s; ν C-H _{fenil}), 3029(lp, s; ν C-H _{antracen}), 2951(o, s; ν_{as} C-H _(CH₃)), 2923, 2843, 1745 (o,j ν C=O _{ester}), 1643 (o,j ν C=O _{amid}), 1532 (lp,j amid II)
3	3328 (lp, sj; ν N-H), 3028, 2949, 2848, 1722 (o,j ν ; C=O _{ester}), 1656 (lp,j; ν C=O _{amid}), 1535 (o,j; amid II)
4	3352 (o, j; ν N-H), 3036 (lp, s; ν C-H _{arom}), 2984, 2957 (o, s; ν_{as} C-H _(CH₃)), 1725 (lp, j; ν C=O _{ester}), 1666 (lp, j; ν C=O _{amid}), 1522 (lp, j; amid II),
5	3272 (p, sj; ν N-H), 3059(lp, s; ν C-H _{fenil}), 3029 (lp, s; ν C-H _{antracen}), 2974(o, s; ν_{as} C-H _(CH₃)), 2930(o, s; ν_{as} C-H _(CH₂)), 1634 (lp, sj; ν C=O _{amid}), 1522(lp, sj; amid II)
6	3321(p, j; ν N-H), 2970 (p, sj; ν_{as} C-H _(CH₃)), 2947 (r, s; ν_{as} C-H _(CH₂)), 2876 (o, s; ν_{s} C-H _(CH₃)), 2850 (o, s; ν_{s} C-H _(CH₂)), 1732 (o, j, ν C=O _{ester}), 1657 (p, j; ν C=O _{amid}), 1624 (r), 1521 (lp, j; amid II)
7	3297 (o, sj; ν N-H _{Phe}), 3239 (lp, sj, ν N-H _{Gly}), 3063 (o, s, ν C-H _{fenil}), 3032 (o, s, ν C-H _{antracen}), 2942(o, s; ν_{as} C-H _(CH₃)), 2920 (r, s; ν_{as} C-H _(CH₂)), 1764, 1749 (o, j; ν C=O _{ester}), 1680 (o, j, ν C=O _{amid,Phe}), 1637 (p, j; ν C=O _{amid,Gly}), 1568 (rame), 1545 (lp, j; amid II), 1521 (rame)

* amid II ν C-N, δ -N-H

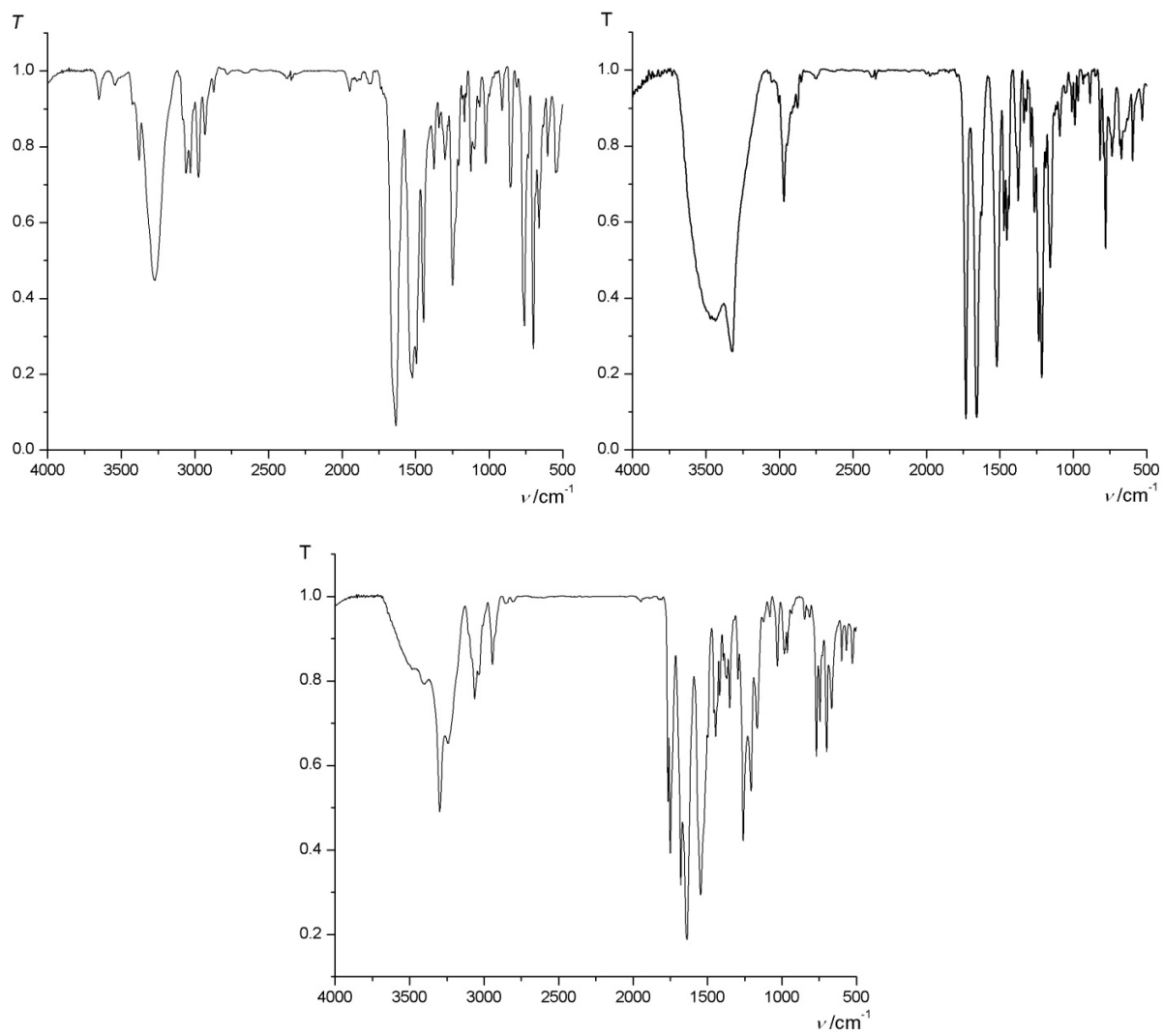
** Opis izgleda signala: o – oštar, lp – lagano proširen, p – proširen, r- rame; Opis intenziteta signala: j-jak ($T < 0,4$), sj – srednje jak ($0,4 < T < 0,7$), s – slab ($T > 0,7$).



Slika D9. IR spektri (KBr pastila) naftalenskih derivata **1** (lijevo) i **2** (desno).



Slika D10. IR spektri (KBr pastila) antracenskih derivata **3** (lijevo) i **4** (desno).



Slika D11. IR spektri (KBr) antracenskih derivata **5** (gore lijevo), **6** (gore desno), **7** (dolje).

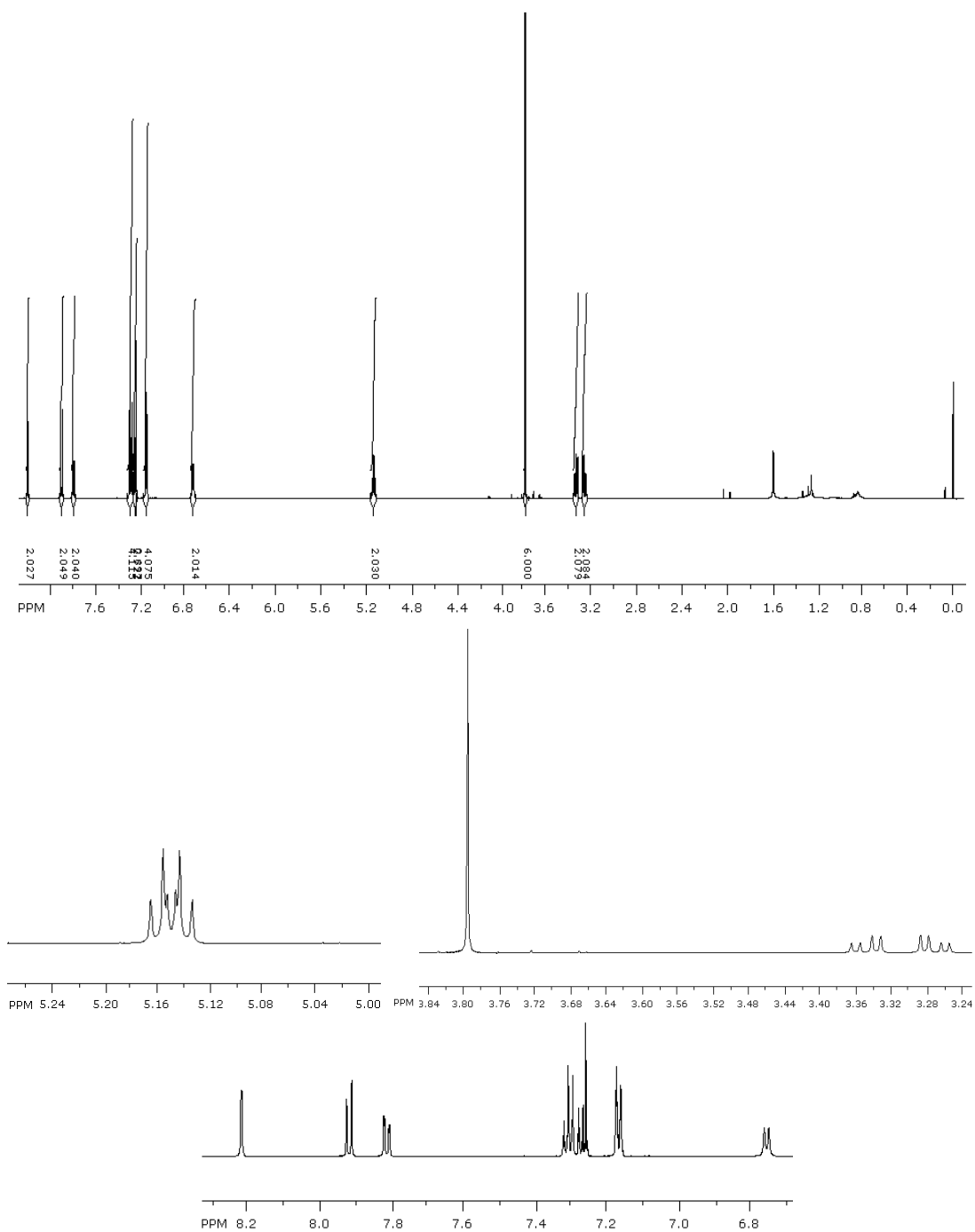
9.4. NMR SPEKTRI

Tablica D4. ^1H NMR i ^{13}C NMR signali otapala koji se mogu pojaviti spektrima produkata^{A,B}.

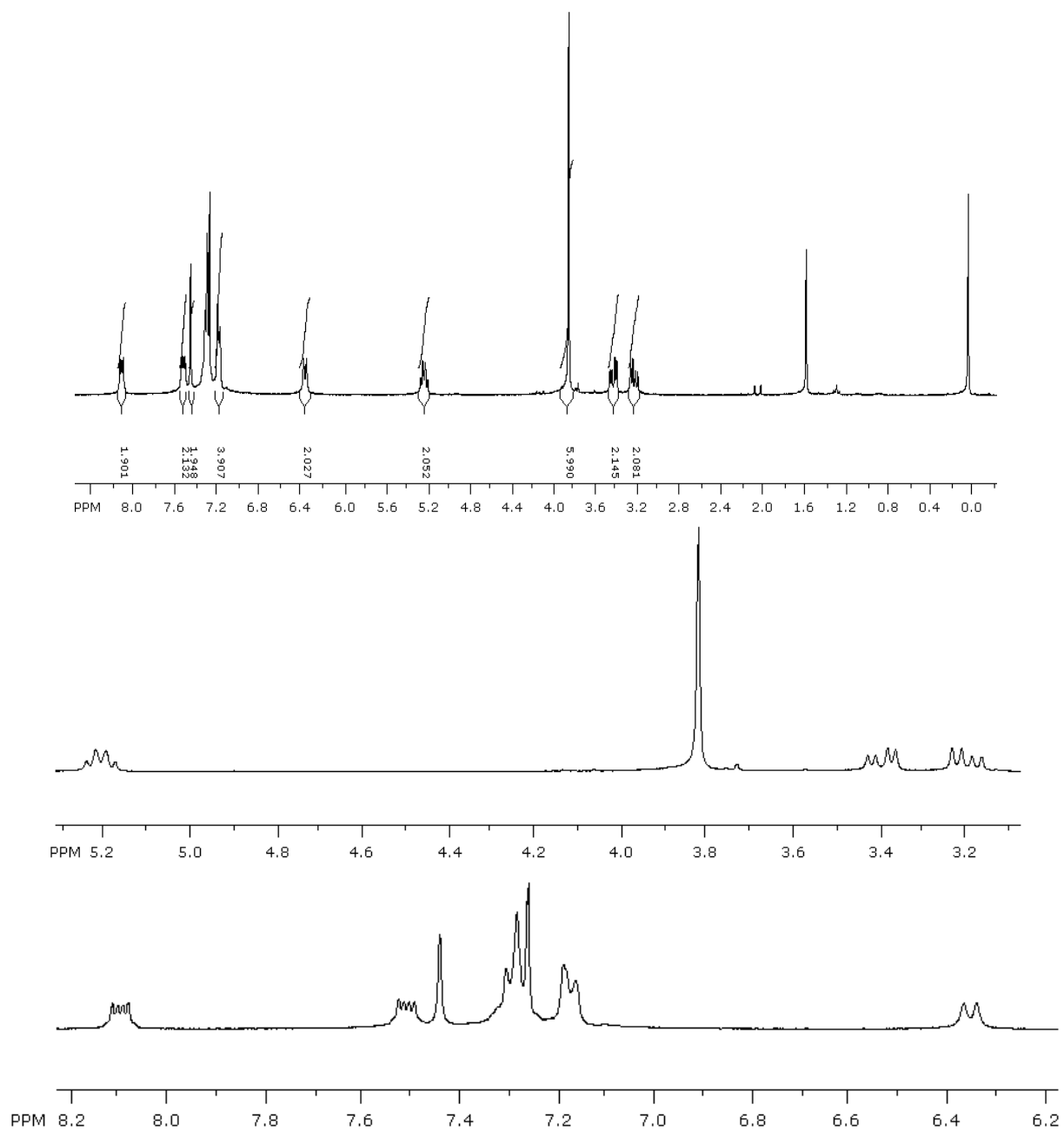
Otapalo	Signali u ^1H NMR spektru (δ/ppm)	Signali u ^{13}C NMR spektru (δ/ppm)
CHCl_3	7,26 (s)	77,16
CH_2Cl_2	5,32 (s)	53,84
DMSO	2,50 (m)	39,52
H_2O (u CDCl_3)	1,56 (s)	/
H_2O (u DMSO)	3,33 (s)	/
EA (u CDCl_3)	1,26 (t), 2,05 (s), 4,12 (q)	14,19, 21,04, 60,49, 171,36
EA (u DMSO-u)	1,17 (t), 1,99(s), 4,03 (q)	14,40, 20,68, 59,74, 170,31
n-heksan (u CDCl_3)	0,88 (t), 1,26 (m)	14,14, 22,70, 31,64
n-heksan (u DMSO)	0,86 (t), 1,25 (m)	13,88, 22,05, 30,95
CH_3CN (u CDCl_3)	2,10 (s)	1,89, 116,43
CH_3CN (u DMSO-u)	2,07 (s)	1,03, 117,91

Tablica D5. Signali iz NMR spektara produkata 1-7 i H₂NGlyPheOMe.

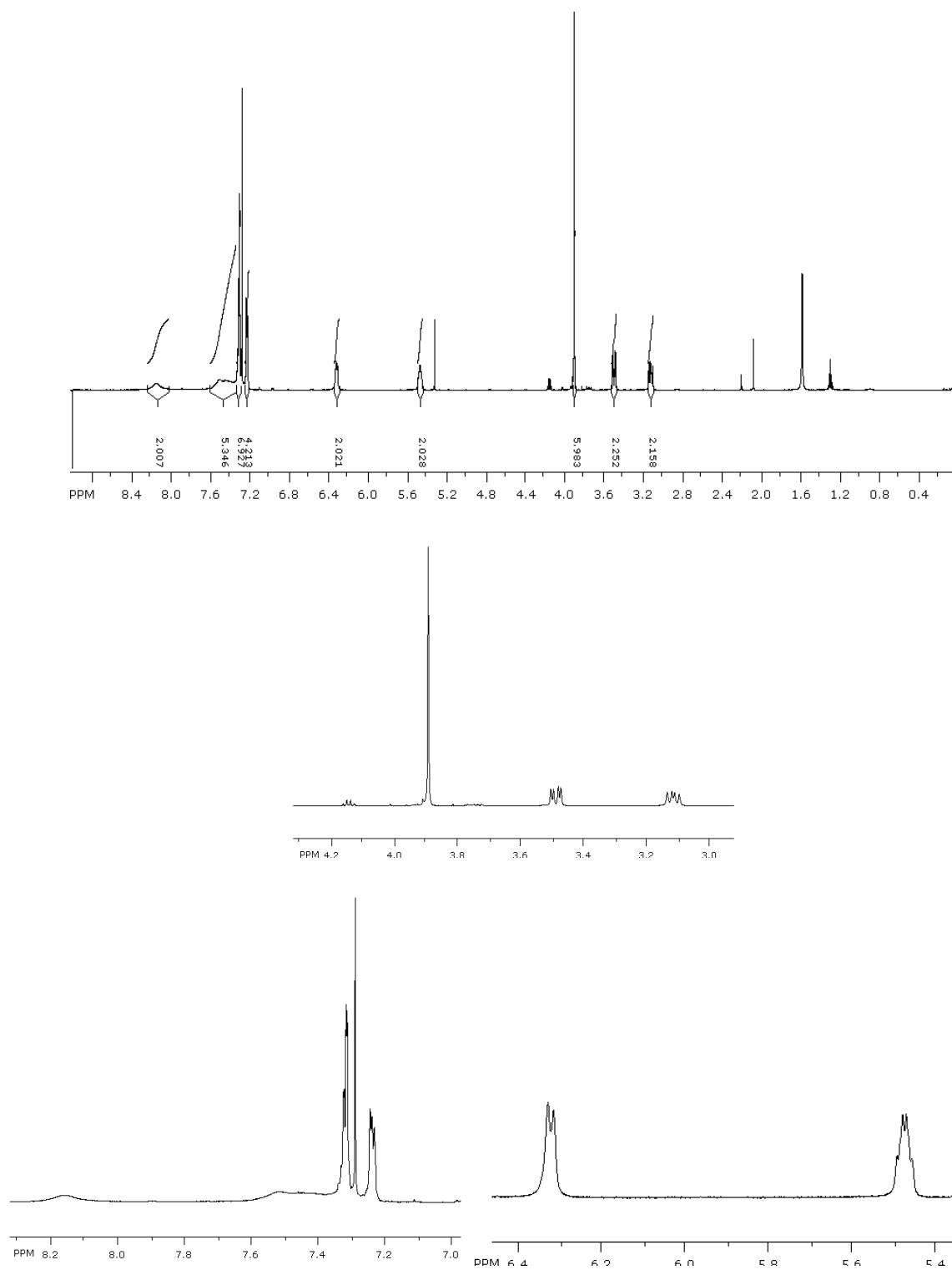
Spoj	Vrsta spektra	Otopalo	Signali (δ /ppm):
1	¹ H NMR (600,13 MHz)	CDCl ₃	3,27 (dd, 2H, J _m =5,5 Hz, J _v =13,9 Hz, H _β), 3,35 (dd, 2H, J _m =5,9 Hz, J _v =13,9 Hz, H _β), 3,80 (s, 6H, H _{OCH3}), 5,15 (ddd, J=5,7 Hz, J=7,5 Hz, J=13,9 Hz, 2H, H _α), 6,75 (d, 2H, J=7,7 Hz, NH), 7,15-7,18 (m, 4H), 7,25-7,28 (m, 2,7 H), 7,29-7,32 (m, 4H), 7,81 (d, 2H, J=8,4, H _{4,8}), 7,92 (d, 2H J=8,5, H _{3,7}), 8,22 (s, 2H, H _{1,5});
	¹³ C NMR (150,92 MHz)	CDCl ₃	171,55 (CO _{amid}), 165,97 (CO _{ester}), 135,32, 133,53, 132,41, 129,11, 128,86, 128,17, 126,82, 126,77, 123,95 (C _{Ph}); 76,71, 76,50, 76,29 (CHCl ₃), 53,20 (C _α), 51,98 (C _{OCH3}), 37,43 (C _β);
2	¹ H NMR (600,13 MHz)	CDCl ₃	3,19 (dd, H _β , J = 13,8 Hz i 5,5 Hz), 3,39 (dd, H _β , J = 14,1 Hz i 6,7 Hz), 3,82 (s, 6 H, H _{OMe}), 5,21 (dd, 2H, H _α , J = 7,7 i 6,7 Hz), 6,35 (d, 2H, H _{NH} , J = 7,7 Hz), 7,17 (d, 2H, H _p , J = 6,7), 7,25-7,33 (m, H _{Ph} + CHCl ₃), 7,43 (s, 2H, H _{2,3}), 7,51 (dd, 2H, H _{6,7} , J= 6,4 Hz i 3,1 Hz), 8,10 (dd, 2H, H _{5,8} , J= 6,4 Hz i 3,4 Hz);
	¹³ C NMR (75,48 MHz)	CDCl ₃	171,88 (CO _{amid}), 168,33 (CO _{ester}), 136,16, 135,77, 130,25, 129,30, 128,77, 127,64, 127,30, 125,58, 123,83 (C _{Ph}), 77,45, 77,02, 76,60 (CHCl ₃), 53,54 (C _α); 52,58 (C _{OCH3}); 37,93 (C _β);
3	¹ H NMR (600,13 MHz)	CDCl ₃	3,08 (dd, J= 8,8 Hz J = 14,2 Hz, 1H, H _β) i 3,46 (dd, J= 5,0 Hz J = 14,2 Hz, 1H, H _β), 3,86 (s, 6H, OMe), 5,44 (dd, 2H, H _α), 6,29 (d, J= 8,0 Hz, 2H, H _{NH}), 7,19-7,22 (m, 4H), 7,27-7,30 (m, 6H), 7,33-7,57, 8,05-8,22 (2H);
4	¹ H NMR (300,13 MHz)	deuterirani DMSO	3,80 (s, 6H, H _{OCH3}), 4,25 (d, J=5,8Hz, 4H, H _α), 7,60 (dd, J=3,2 Hz, J=6,8Hz; 4H, H _{2,3,6,7}), 8,21 (dd, J=3,2 Hz, J=6,8Hz; 4H, H _{1,4,5,8}), 9,30 (broad, 2H, H _{NH})
	¹³ C NMR (150,92 MHz)	deuterirani DMSO	170,4 (C _{CO,ester}), 168,7(C _{CO,amid}), 133,6(C _{9,10}), 126,9(C _{11,12,13,14}), 126,3(C _{2,3,6,7}), 125,6(C _{1,4,5,8}), 51,9(C _{OMe}), 41,2(C _□)
5	¹ H NMR (300,13 MHz)	CDCl ₃	1,53 (d s ramenom, J=7,0 Hz; 6H, H _β), 5,45 (p, J=7,0 J=7,2, 2H, H _γ), 6,35 (broad, 2H, H _{NH}), 7,27-7,55 (m, H _{Ph} i H _{antr}), 7,63 (m, 4H, H _{antr}), 8,06 (m, 2H, H _{antr})
6	¹ H NMR (300,13 MHz)	deuterirani DMSO	0,98(d, J= 6,7Hz, 6H, H _{□CH3}), 1,04 (d, J=6,7 Hz, 6H, H _{□CH3}), 2,23 (m, 2H, H _□), 3,81 (s, 6H, H _{OCH3}), 4,63 (t, J=6,7 Hz, 2H, H _□), 7,53-7,64 (m, 4H, H _{antr}), 7,95 (dd, 2H, H _{antr}), 8,20 (dd, 2H, H _{antr}), 9,21 (d, J=7,3 Hz, 2H, H _{NH})
	¹³ C NMR (150,92 MHz)	deuterirani DMSO	172,0 (CO _{ester}), 168,8 (CO _{amid}), 133,9(C _{9,10}), 127,2, 126,8, 126,2, 126,1, 125,7 125,4 (C _{aromati}), 58,5 (C _□), 51,8 (C _{OMe}), 29,2(C _□), 19,1(C _{□OMe}), 18,3 (C _{□OMe})
7	¹ H NMR (300,13 MHz)	deuterirani DMSO	2,99 (dd, J= 8,6 Hz, J= 13,7 Hz; 2H, H _□), 3,10 (dd, J=5,7 Hz, J=13,7 Hz; 2H, H _□), 3,65 (s, 6H, H _{OCH3}), 4,09 (t, 4H, H _□), 4,65 (dt, J=5,7 Hz, J=8,5 Hz), 7,19-7,34 (m, 10H, H _{Ph}), 7,54 (dd, 4H, H _{2,3,6,7}), 8,21 (dd, 4H, H _{1,4,5,8}), 8,57 (d, J)7,6 Hz; 2H, H _{NH}), 8,58 (broad, 2H, H _{NH})
	¹³ C NMR (75,48 MHz)	deuterirani DMSO	171,9(C _{COPhe}), 168,8(C _{COGly}), 168,3(C _{COantr}), 137,0(C _{9,10}), 133,8(C _{iPh}), 129,0(C _{11,12,13,14}), 128,2(C _{mPh}), 126,8(C _{2,3,6,7}), 126,5(C _{oPh}), 126,1(C _{1,4,5,8}), 125,8(C _{pPh}), 53,7(C _□), 51,8(C _{OMe}), 41,8(C _□), 36,9(C _□)
H ₂ NGlyPheOMe	¹ H NMR (600,13 MHz)	deuterirani DMSO	3,08 (dd, J= 8,8 Hz J = 14,2 Hz, 1H, H _β) i 3,46 (dd, J= 5,0 Hz J = 14,2 Hz, 1H, H _β), 3,86 (s, 6H, OMe), 5,44 (dd, 2H, H _α), 6,29 (d, J= 8,0 Hz, 2H, NH), 7,19-7,22 (m, 4H), 7,27-7,30 (m, 6H), 7,33-7,57, 8,05-8,22 (2H)



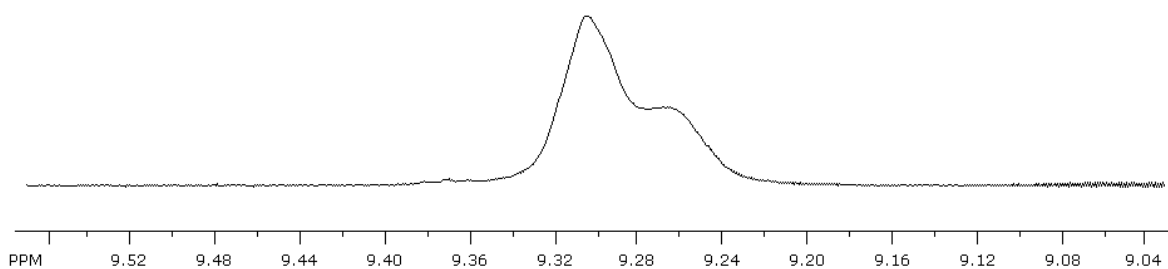
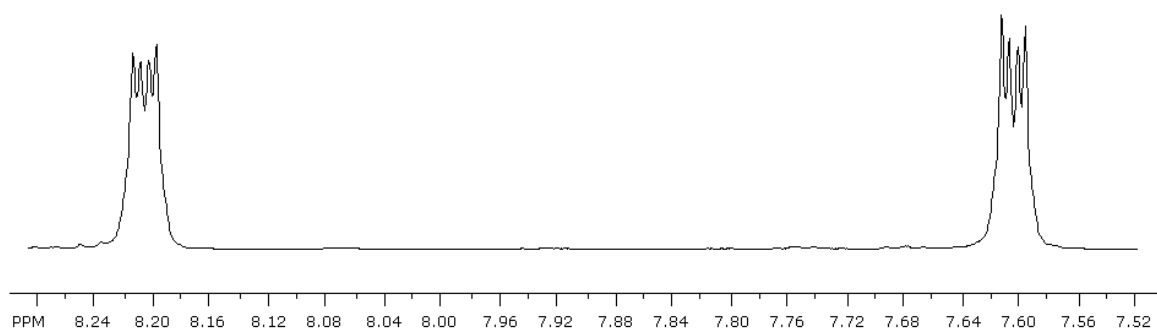
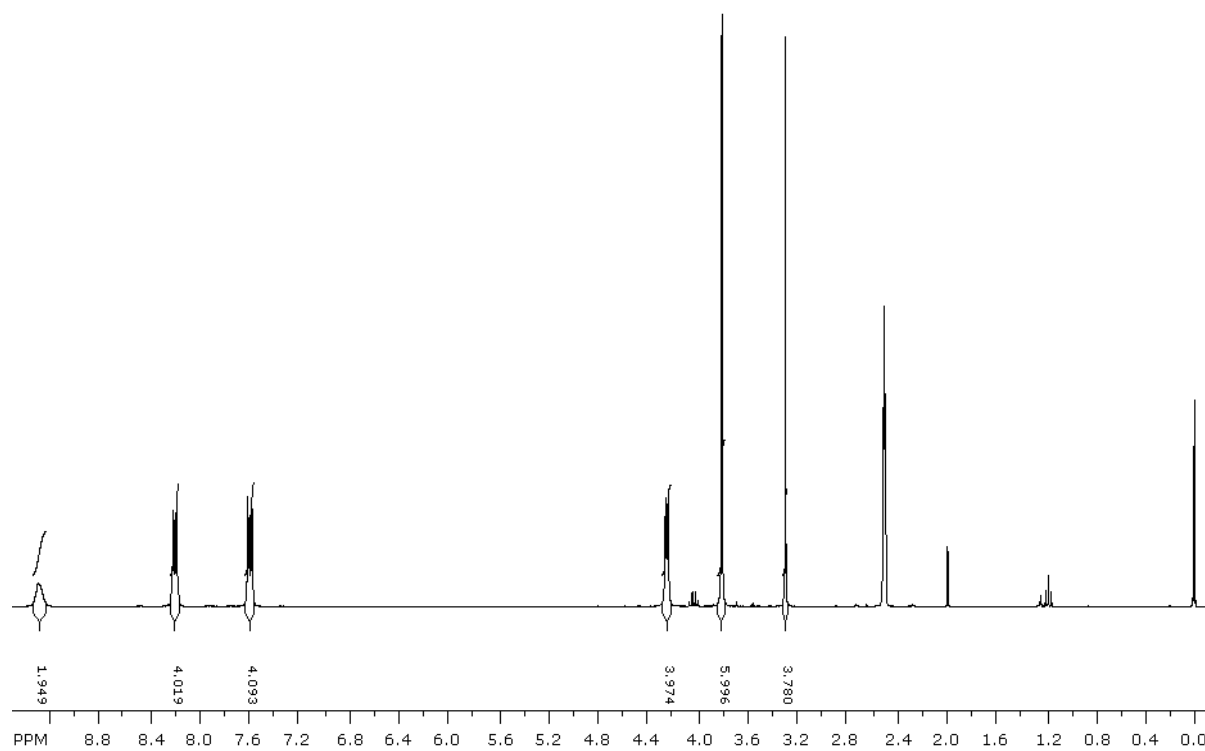
Slika D12. ^1H NMR spektar spoja **1** (CDCl_3 , 600,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 3,2 i 3,8 ppma, 5,0 i 5,25 ppma te 6,7 i 8,3 ppma.



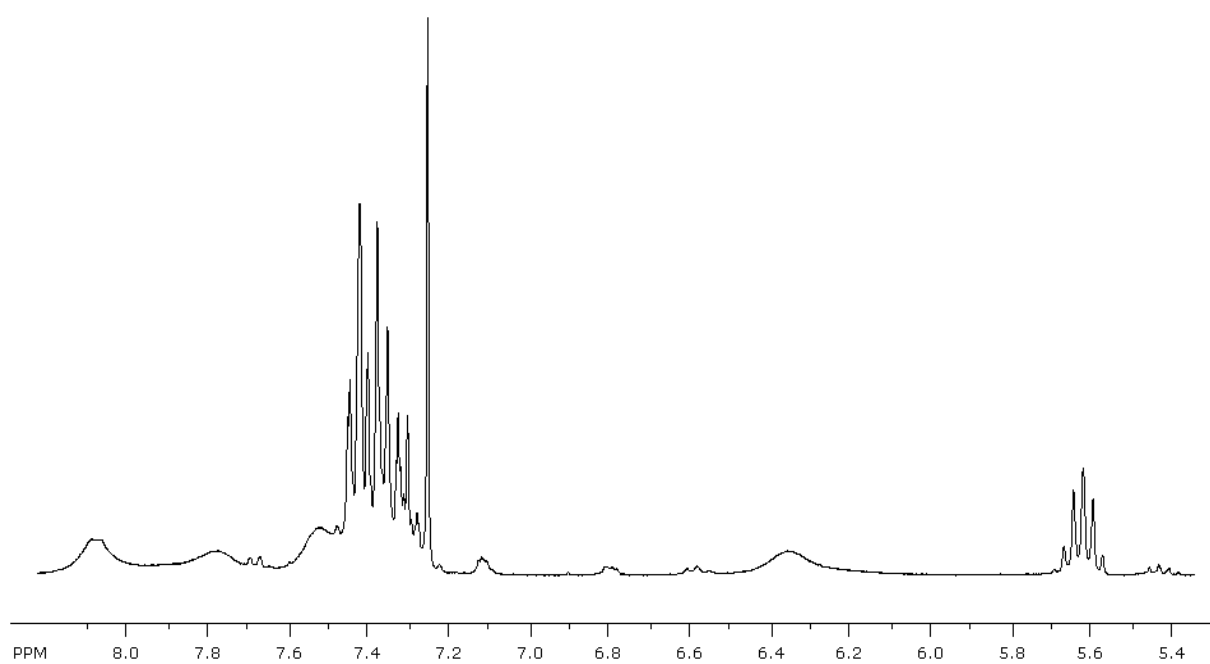
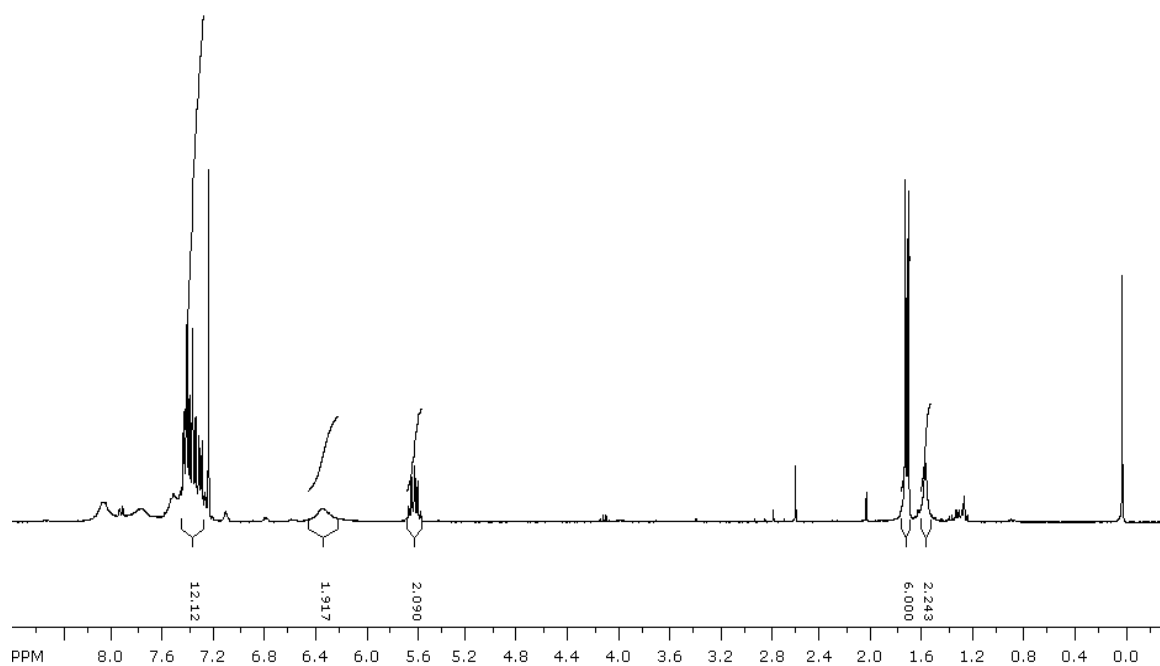
Slika D13. ^1H NMR spekter spoja **2** (CDCl_3 , 600,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 3,1 i 5,3 ppma te 6,2 i 8,2 ppma.



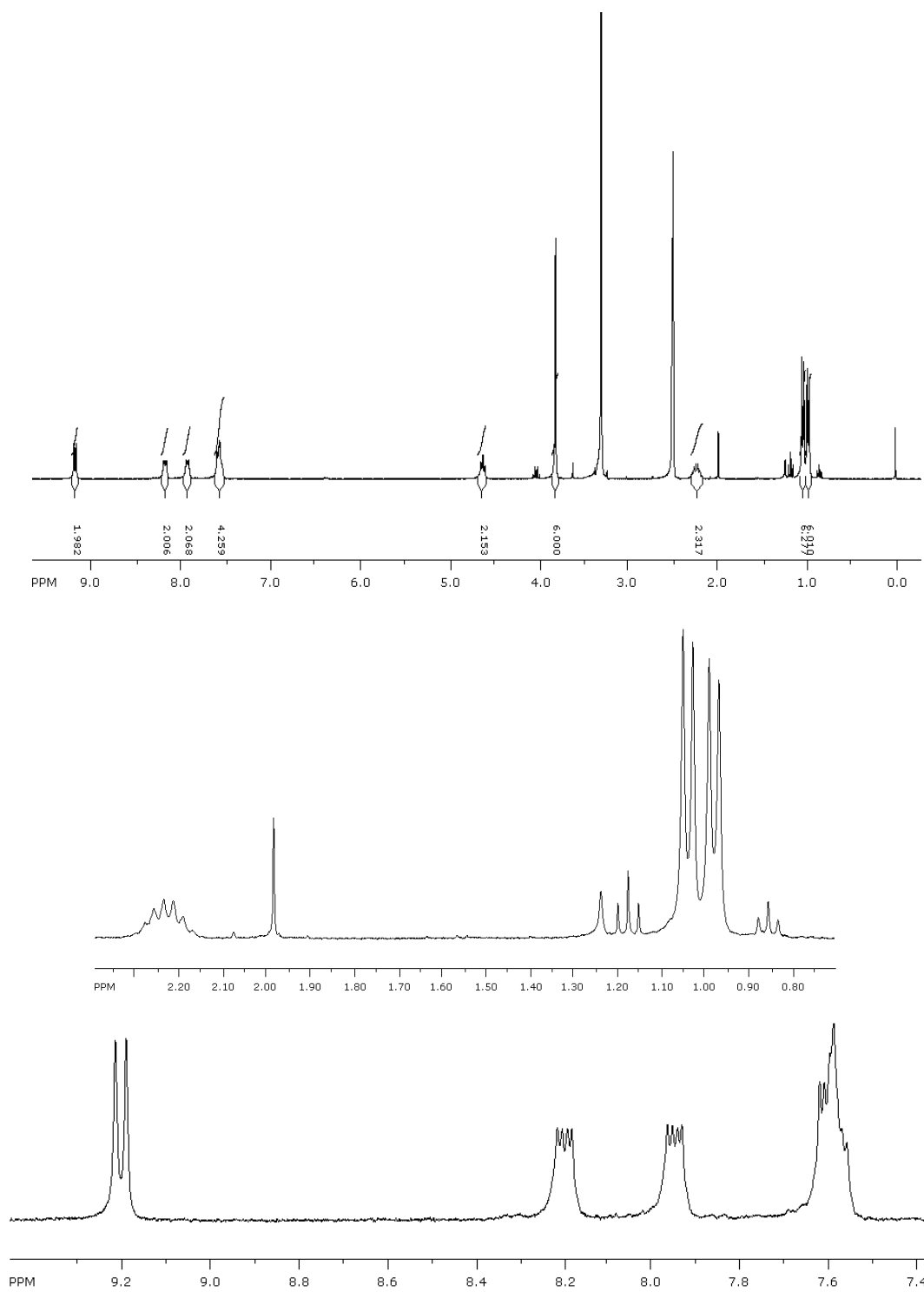
Slika D14. ^1H NMR spektar spoja **3** (CDCl_3 , 600,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 3,0 i 4,2 ppma te 5,4 i 6,4 ppma te 7,0 i 8,2 ppma.



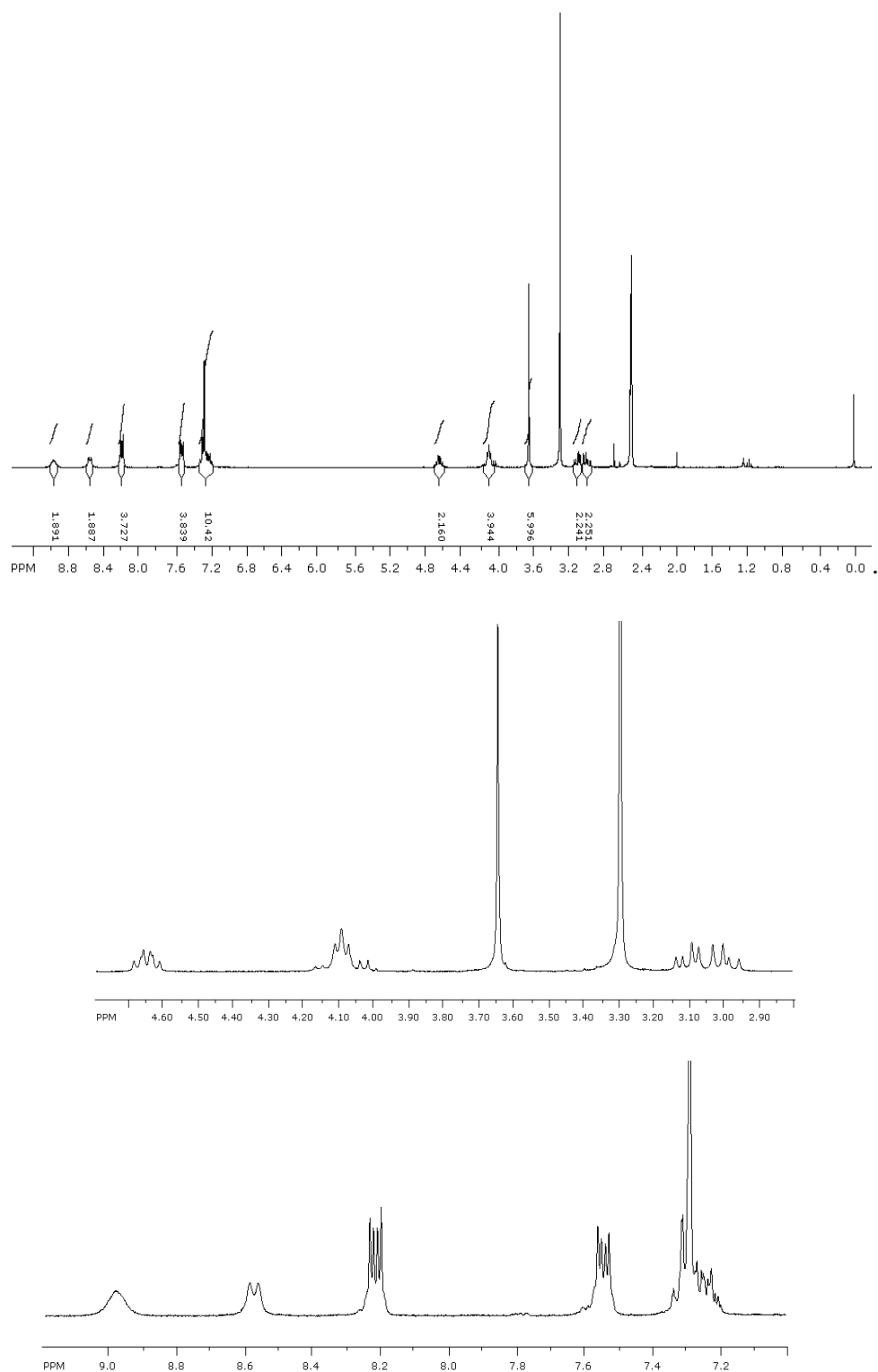
Slika D15. ^1H NMR spektar spoja **4** (deuterirani DMSO, 300,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 7,52 i 8,28 ppma te 9,04 i 9,52 ppma.



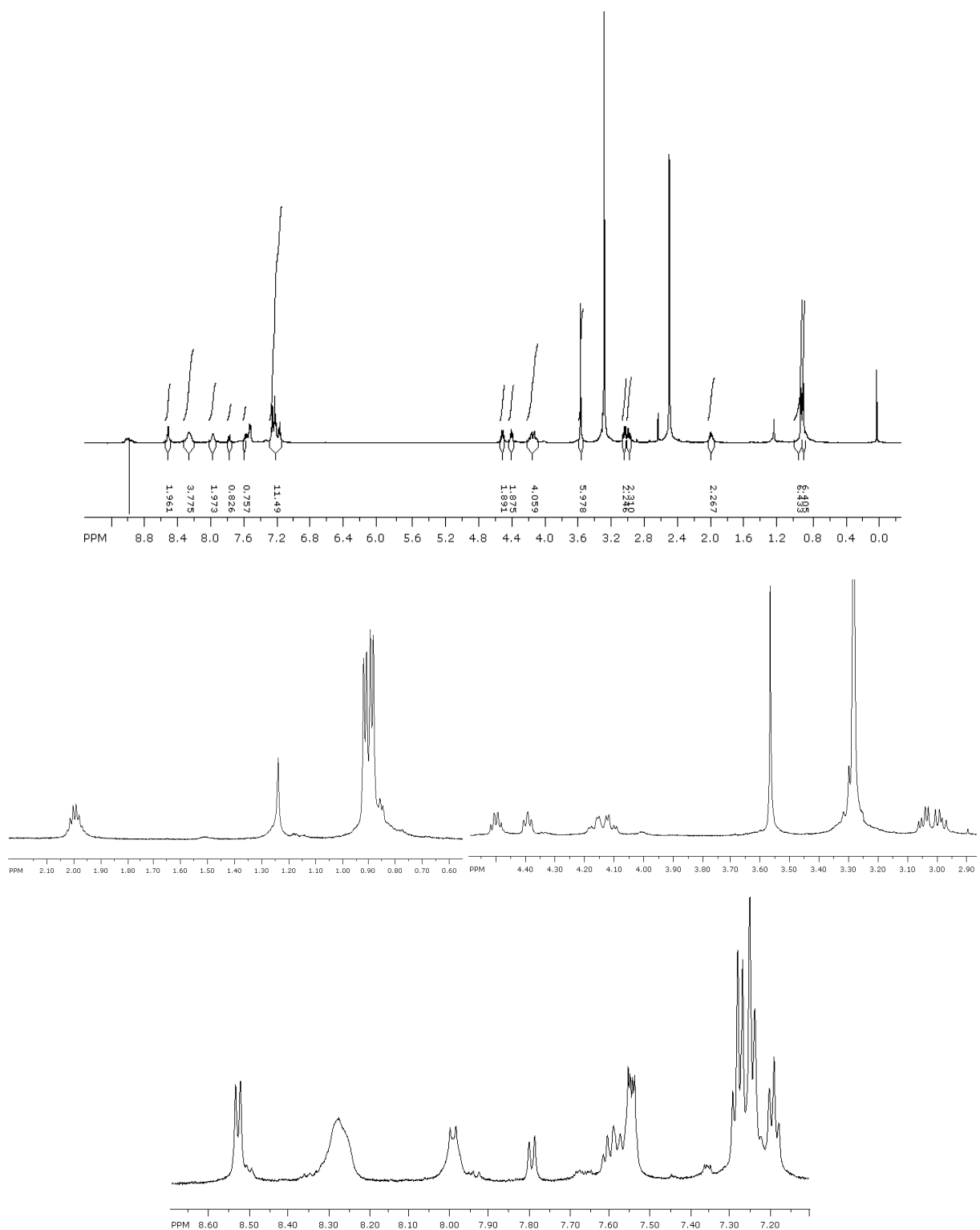
Slika D16. ^1H NMR spektar spoja **5** (CDCl_3 , 300,13 MHz), s uvećanim prikazom regije između 5,4 i 8,3 ppma.



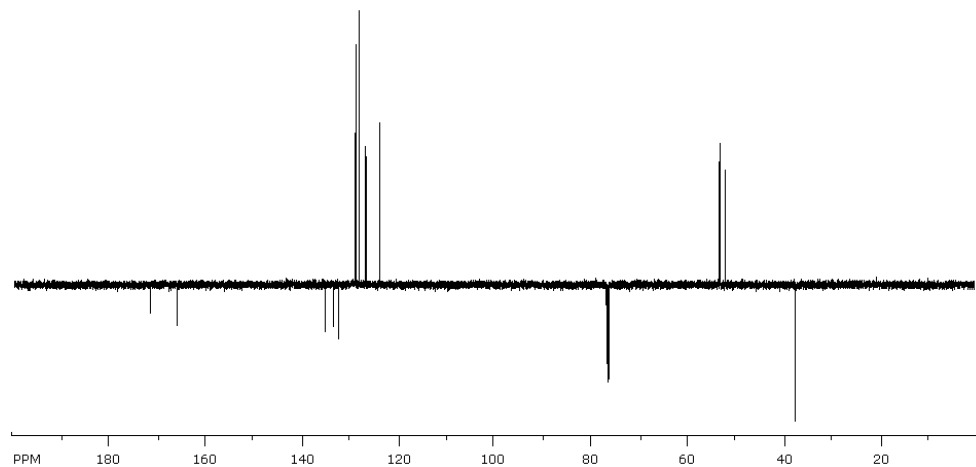
Slika D17. ^1H NMR spektar spoja **6** (deuterirani DMSO, 300,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 0,8 i 2,4 ppma te 7,4 i 9,3 ppma.



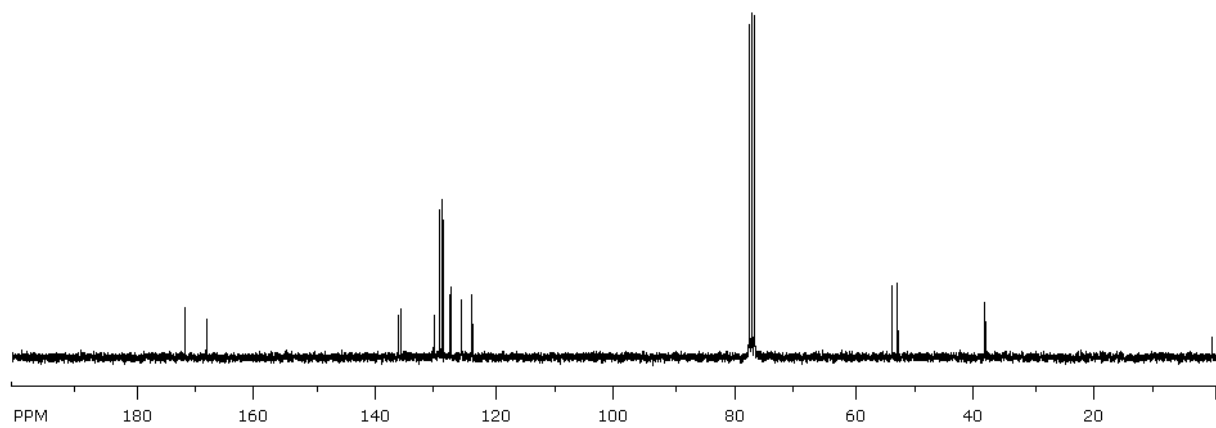
Slika D18. ^1H NMR spektar spoja **7** (deuterirani DMSO, 300,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 2,9 i 4,7 ppma te 7,1 i 9,2 ppma.



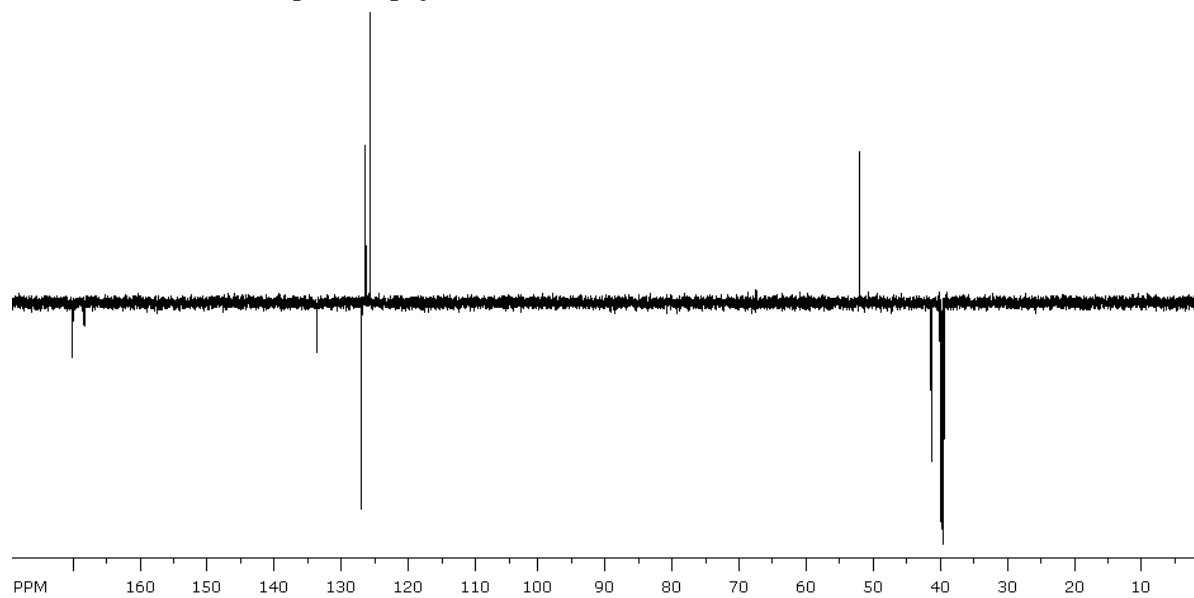
Slika D19. ^1H NMR spektar derivata s $\text{H}_2\text{N-Gly-Val-Phe-OMe}$ (deuterirani DMSO, 600,13 MHz), s uvećanim prikazom regija između 0,6 i 2,2 ppm, 2,8 i 4,6 ppm te 7,1 i 8,6 ppm.



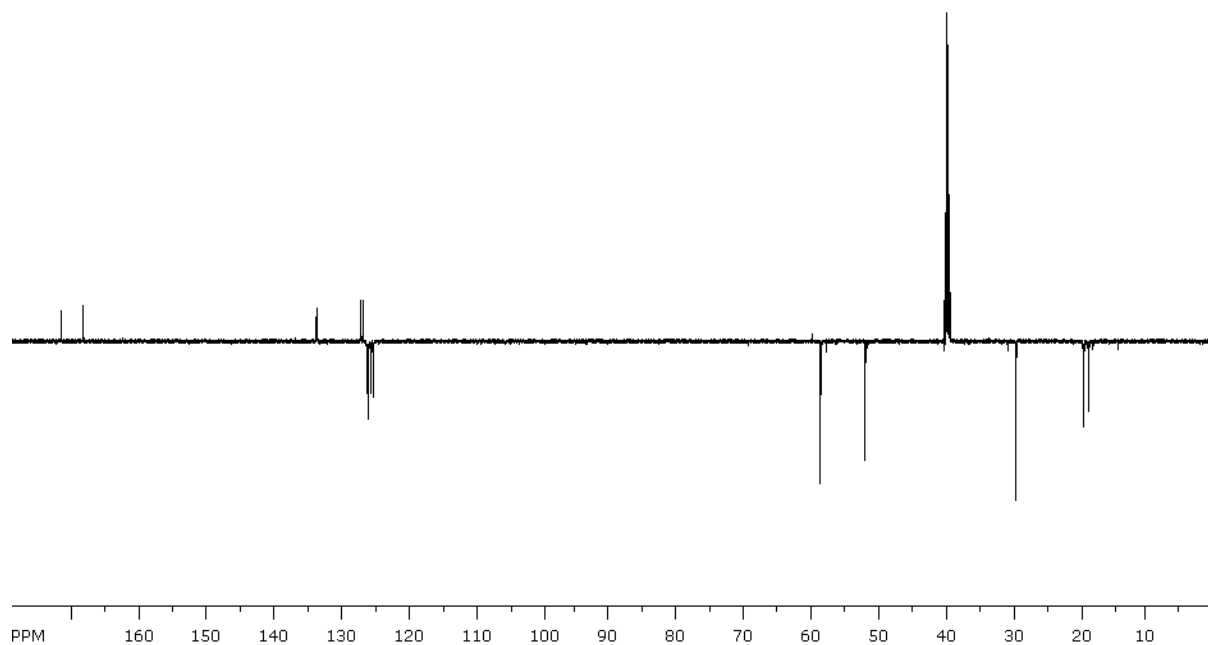
Slika D20. ^{13}C NMR spektar spoja **1** (CDCl_3 , 150,92 MHz)



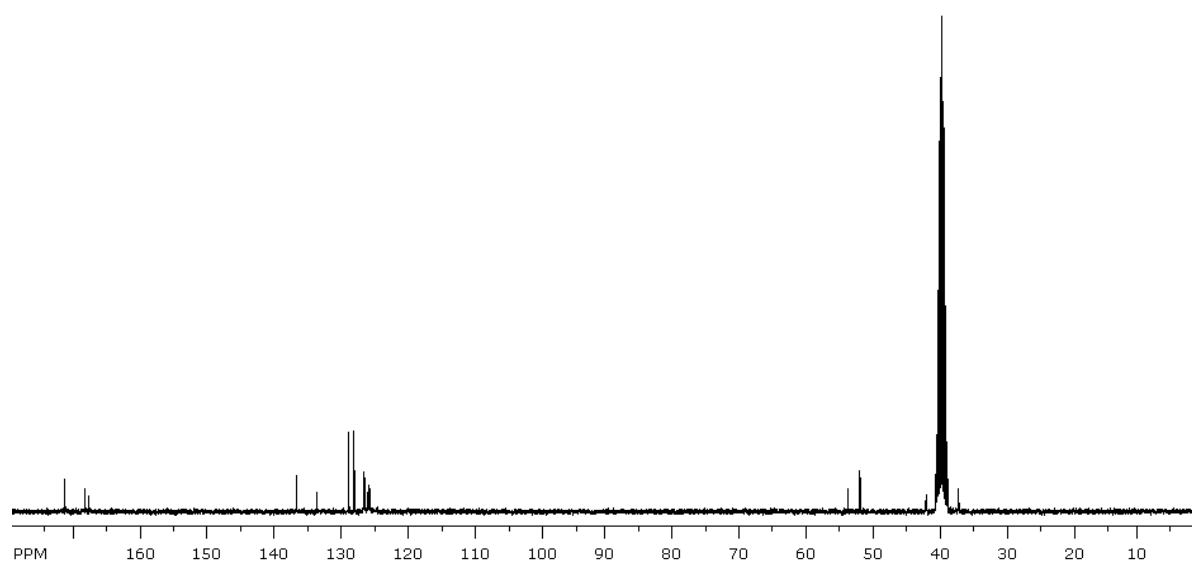
Slika D21. ^{13}C NMR spektar spoja **2** (CDCl_3 , 75,48 MHz).



Slika D22. ^{13}C NMR spektar spoja **4** (deuterirani DMSO , 150,91 MHz).



Slika D23. ^{13}C NMR spektar spoja **6** (deuterirani DMSO, 150,91 MHz).



Slika D24. ^{13}C NMR spektar spoja **7** (deuterirani DMSO, 75,48 MHz).

9.5. Kristalografske tablice

Tablica D6.. Kristalografski podaci za spojeve 3 i 7.

Spoj	3	7
Kemijska formula	C ₃₆ H ₃₂ N ₂ O ₆	C ₄₀ H ₃₈ N ₄ O ₈
Molekulska masa	588,64	702,74
Kristalni sustav	Triklinski	Monoklinski
Prostorna grupa	P1	P2 ₁
a (Å)	8,5535(5)	8,1855(1)
b (Å)	9,4524(5)	15,0849(2)
c (Å)	10,4553(5)	14,5891(2)
α (°)	113,933(5)	90
β (°)	98,748(5)	98,821(1)
γ (°)	96,462(7)	90
V (Å³)	749,32(8)	1780,12(4)
Z	1	2
ρ_{izračunato} (gcm⁻³)	1,304	1,311
Zračenje λ (Å)	0,71073	1,54180
Temperatura (K)	293	293
θ rapson (°)	4,33- 27,51	3,07- 75,79
R, wR*	4,75%, 9,62%	3,94%, 12,13%
Goodnes of fit, S**	1,010	1,158

* $R = \sum |F_o - F_c| / \sum |F_o|$; $wR = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum wF_o^2]^{1/2}$
 $w = 1 / [s^2(F_o^2) + (0.0456P)^2 + 0.0168P]$ gdje je $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$
** $S = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (N_{obs} - N_{param})]^{LIT REF}$

Tablica D7. Vodikove veze i ostali kratki kontakti između molekula u kristalnoj strukturi spoja 3.

Vodikova interakcija	$d(\text{D-H})/\text{Å}^*$	$d(\text{H}\cdots\text{A})/\text{Å}^*$	$d(\text{D}\cdots\text{A})/\text{Å}$	kut $(\text{D-H}\cdots\text{A})/^\circ^*$
N-H\cdotsO				
N11-H11 \cdots O22	0,915(2)	2,261(2)	3,161(3)	167,(2)
N21-H21 \cdots O12	0,843(2)	2,100(5)	2,942(2)	177,(3)
C-H\cdotsO				
C14-H14B \cdots O21	0,960	2,664(4)	3,603(2)	165,(7)
C24-H24B \cdots O11	0,960	2,977(4)	3,899(2)	161,(4)
C28-H28 \cdots O22	0,930	2,950(8)	3,867(2)	168,(5)
C29-H29 \cdots O21	0,929	2,805(3)	3,596(2)	143,(5)
C210-H210 \cdots O11	0,930	2,657(2)	3,492(3)	149,(8)
C-H\cdotsC(π)				
C15-H15B \cdots C211	0,970	2,856(7)	3,719(2)	148,(6)
C17-H17 \cdots C6	0,930	2,808(1)	3,691(1)	158,(8)
C110-H110 \cdots C4	0,930	2,853(7)	3,648(0)	144,(1)
C25-H25B \cdots C110	0,970	2,884(6)	3,848(9)	172,(7)
C27-H27 \cdots C2	0,930	2,802(9)	3,680(3)	157,(7)
Kontakt	Vrsta	Udaljenost/ Å	Kut/°	
C1-H1 \cdots H18-C18	H \cdots H	2,314 (H \cdots H) 3,738(2) (C \cdots C)	151,(2) (C1-H1 \cdots H18)	
C3 \cdots C6	$\pi\cdots\pi$	3,377(7)	/	

Tablica D8. Vodikove veze i ostali kratki kontakti između molekula u kristalnoj strukturi spoja 7

Vodikova interakcija	$d(\text{D-H})/\text{Å}^*$	$d(\text{H}\cdots\text{A})/\text{Å}^*$	$d(\text{D}\cdots\text{A})/\text{Å}$	kut (D-H \cdots A)/ $^\circ$ **
N-H\cdotsO				
N11-H11\cdotsO22	0,887(3)	2,075(1)	2,962(1)	178,(2)
N12-H12\cdotsO21	0,831(8)	2,065(2)	2,896(3)	177,(2)
N21-H21\cdotsO12	0,753(6)	2,095(4)	2,833(6)	166,(5)
N22-H22\cdotsO11	0,843(9)	2,065(8)	2,907(8)	175,(4)
C-H\cdotsO				
intra, C1-H1\cdotsO12	0,930	2,617(7)	3,434(4)	146,(8)
intra, C5-H5\cdotsO22	0,930	2,497(8)	3,324(9)	148,(3)
C22-H22B\cdotsO11	0,970	2,699(9)	3,387(2)	128,(2)
C27-H27A\cdotsO13[*]	0,971	2,760(9)	3,593(1)	144,(2)
C27-H27B\cdotsO21	0,970	2,640(9)	3,497(2)	147,(4)
C-H\cdotsC(π)				
C12-H12B\cdotsC5	0,930	2,761(1)	3,583(6)	143,(3)
C22-H22A\cdotsC1	0,930	2,808(1)	3,663(2)	147,(5)
C26-H26B\cdotsC110	0,960	2,860(6)	3,773(7)	159,(2)
C29-H29\cdotsC112	0,930	2,800(4)	3,660(1)	154,(3)

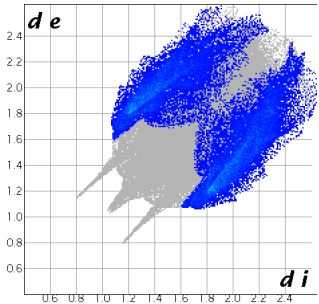
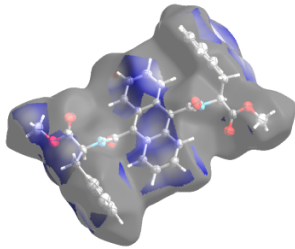
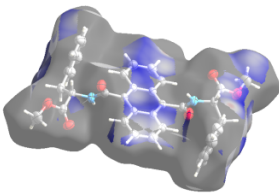
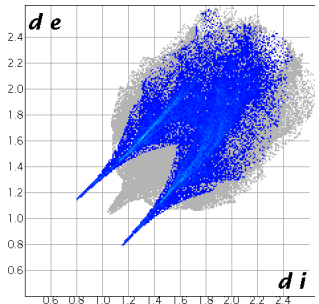
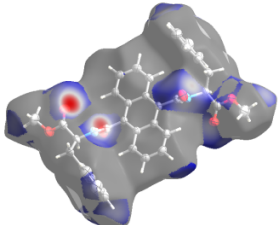
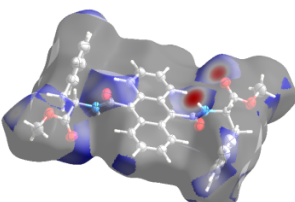
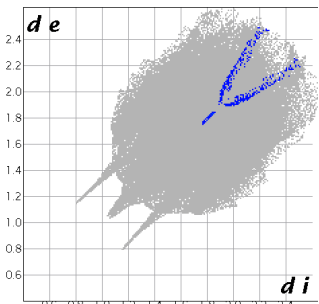
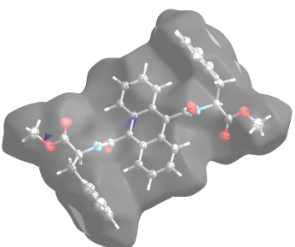
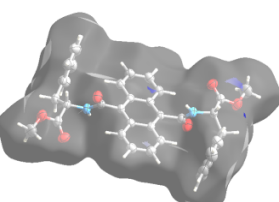
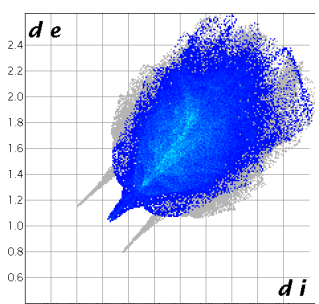
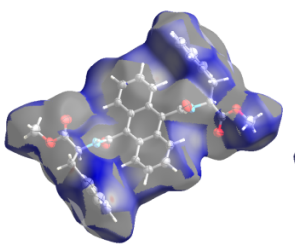
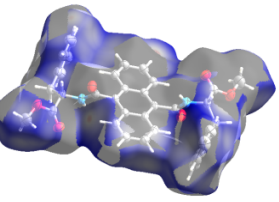
*nije prikazan u Mercuryu kao short kontakt (uvijet je da je udaljenost kontakta manja od zbroja Van der Waalsovih radijusa atoma)

9.6. Hirshfieldove površine

Hirshfieldove površine računaju se na način da se kristal particionira na područja u kojima prevladava elektronska gustoća molekule (promolekula) i područja u kojima prevladava elektronska gustoća kristala (prokristal), s Hirshfieldovom površinom kao granicom između tih regija. Hirshfieldova površina je svojstvena svakoj molekuli u kristalu i osjetljiva je na okruženje molekule (moguće je razlikovanje polimorfa). Na površinu se mogu plotati vizualni prikazi raznih svojstava same površine. U sljedećim prikazima biti će korišten d_{norm}^* plot koji određuje normaliziranu udaljenost između kontakata (uzima se u obzir Van der Waalsov radijus atoma koji sudjeluju u kontaktu); Raspon plota varira od plavih regija koje označavaju dijelove površine u kojima su udaljenosti do najbližih jezgara unutar i izvan površine veće od zbroja vdW radijusa njihovih atoma, preko bijelih do crvenih u kojima su te udaljenosti kraće od zbroja vdW njihovih atoma.^{24,25}

* $d_{norm} = \frac{d_i - r_{i,vdW}}{r_{i,vdW}} + \frac{d_e - r_{e,vdW}}{r_{e,vdW}}$; d_i – udaljenost do najbliže jezgre unutar površine; d_e - udaljenost do najbliže jezgre izvan površine, r_{vdw} Van der Waalsov radijus atoma.

Tablica D9. Hirshfeldova površina spoja **3** s naglašenim regijama intermolekulskih kontakata

Kontakt	d_i, d_e plot	Površine koje odgovaraju tim kontaktima	
		Gornji prikaz	Doljni prikaz
C-H			
O-H			
C-C			
H-H			

Tablica D10. Hirshfeldova površina spoja **7** s naglašenim regijama intermolekulskih kontakata

Kontakt	d_i, d_e plot	Površine koje odgovaraju tim kontaktima Gornji prikaz (iznad)/doljni prikaz(ispod)
C-H		
O-H		
C-C		
H-H		

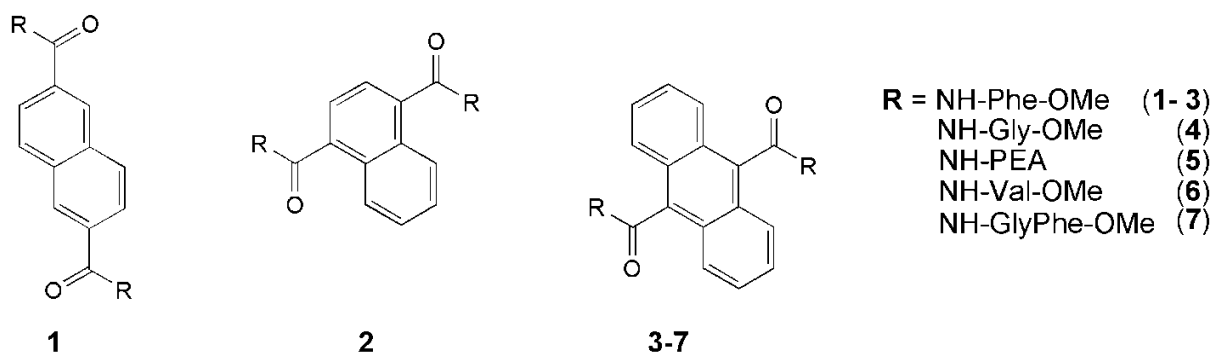
10. SAŽETAK

Sinteza i karakterizacija diamido derivata aromatskih karboksilnih dikiselina s aminokiselinama

Mladen Borovina

U sklopu ovog rada priređeni su diamido derivati 2,6-naftalenske, 1,4-naftalenske i 9,10-antracenske dikiseline s aminokiselinama kao modelni spojevi za proučavanje sekundarnih struktura proteina. Sintetizirani su diamido derivati 2,6-naftalenske dikiseline i 1,4-naftalenske dikiseline s fenilalaninom (spojevi **1** i **2**), zatim derivati 9,10-antracenske dikiseline s 1-feniletilaminom (spoj **5**), aminokiselinama fenilalaninom (spoj **3**), glicinom (spoj **4**), i valinom (spoj **6**) i dipeptidom H₂N-GlyPhe-OMe (spoj **7**). Svi produkti izučavani su masenom spektrometrijom, IR, NMR i UV/VIS spektroskopijom. Fluorescencijskom spektroskopijom izučavani su derivati **3-7** u njihovim diklormetanskim otopinama. Za dva pripremljena spoja, **3** i **7**, iznađena je molekulska i kristalna struktura metodom difrakcije rentgenskog zračenja na jediničnom kristalu. U obje kristalne strukture molekule su vodikovim vezama povezane karakterističnim motivom $R_2^2(10)$ koji je prisutan i pri povezivanju peptida u antiparalelne β ploče.

Ključne riječi: 9,10-antracenskarboksilna dikiselina, fluorescencija, kristalna struktura, vodikove veze, sekundarna struktura, modelni spojevi



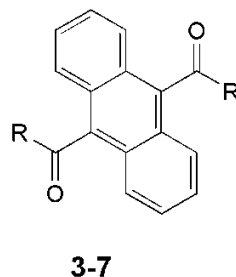
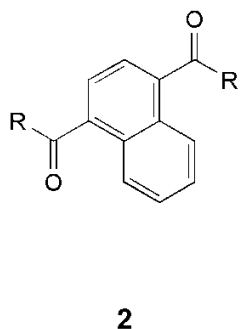
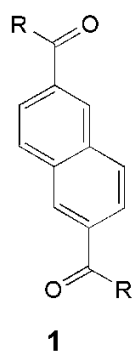
11. ABSTRACT

The synthesis and characterization of diamido derivates of aromatic carboxylic acids with amino acids

Mladen Borovina

Within this work, diamido derivatives of 2,6-naphthalene diacid, 1,4-naphthalene diacid and 9,10-anthracene diacid were prepared as model compounds of protein secondary structures. Diamido derivatives of 2,6-naphthalene diacid and 1,4-naphthalene diacid with phenylalanine (products **1-2**) and 9,10-anthracene diacid with 1-phenylethylamine (product **5**), amino acids phenylalanine (product **3**), glycine (product **4**) and valine (product **6**) and dipeptide H₂N-GlyPhe-OMe (product **7**) were synthesized. All products were studied using mass spectrometry and IR, NMR and UV/VIS spectroscopy. Products **3-7** were also studied with fluorescence spectroscopy in dichloromethane solutions. Crystal and molecular structures of products **3** and **7** were solved using X-ray diffraction on a single crystal. Hydrogen bonds that connect molecules in crystal structures of both products form $R_2^2(10)$ motives that are usually found in β sheets in protein structures.

Key words: 9,10-anthracenecarboxylic diacid, fluorescence, crystal structure, hydrogen bonds, secondary structure, model compound



R = NH-Phe-OMe (1-3)
NH-Gly-OMe (4)
NH-PEA (5)
NH-Val-OMe (6)
NH-GlyPhe-OMe (7)

12. ŽIVOTOPIS

Rođen sam u Rijeci, osnovnoškolsko obrazovanje završio sam u "OŠ dr. Andrija Mohorovičić" Matulji, kao učenik generacije s prosjekom ocjena 5.0 tokom svih godina školovanja, s tim da sam 1999. godine akcelerirao iz trećeg u četvrti razred.

Srednjoškolsko obrazovanje završio sam, u gimnaziji "Andrije Mohorovičića" Rijeka, s odličnim uspjehom te sam bio oslobođen pristupanja maturi. Tokom svog osnovnoškolskog i srednjoškolskog školovanja natjecao sam se iz kemije, matematike, fizike, informatike te engleskog jezika. U osnovnoj školi sam dva puta bio prvi, jednom drugi, i jednom četvrti na državnim natjecanjima iz informatike, također sam bio i regionalni prvak na natjecanju iz matematike u četvrtom razredu. U srednjoj školi sam se dvije godine natjecao na državnim natjecanjima iz informatike. Sve četiri godine bio sam na državnim natjecanjima iz kemije, gdje sam osvojio drugo i četvrto mjesto.

U srednjoj školi sam također sudjelovao na PISA istraživanju gdje sam sa svojim rezultatima bio u samom vrhu u svim kategorijama znanja koje su se ispitivale.

2008. godine upisao sam preddiplomski studij kemije Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu kojeg završavam s prosjekom ocjena 4,811 i 183 ECTS boda. Od 2011. godine pohađam diplomski studij kemije, istraživački smjer, grane organska te anorganska i strukturna kemija s prosjekom ocjena svih do sad položenih ispita od 4,941.

Tokom studija radio sam kao demonstrator iz općeg praktikuma na Zavodu za opću i anorgansku kemiju, te kao demonstrator iz matematike I i II. Također sam bio uključen u raznim projektima vezanih uz popularizaciju znanosti (Sveučilišna smotra, Otvoreni dan kemijskog odsjeka, Čarolije u kemiji).

Vrlo dobro govorim i pišem engleski jezik, te znam osnove talijanskog jezika.

U slobodno vrijeme (kada ga nađem) bavim se čitanjem knjiga, pisanjem priča i crtanjem.