

# Sinteza enantiomera kvarterne amonijeve soli 3-aminokinuklidina s dugim alkilnim lancem

---

Žeravica, Ileana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:166:365996>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-10**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Ileana Žeravica

**SINTEZA ENANTIOMERA KVARTERNE  
AMONIJEVE SOLI 3-AMINOKINUKLIDINA  
S DUGIM ALKILNIM LANCEM**

Završni rad

Split, 2022.

Ovaj rad, izrađen na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Renate Odžak, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnica biologije i kemije.

*Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Renati Odžak na pomoći, vodstvu i savjetima pri izradi ovog završnog rada. Osim toga veliko hvala i na strpljenju za moje mnogobrojne upite kroz prethodne 3 godine studiranja i na konstantnoj podršci i mogućnosti sudjelovanja u aktivnostima Odjela za kemiju.*

*Također se želim zahvaliti i doc. dr. sc. Matildi Šprung koja je uvijek bila voljna pomoći. Hvala na svim savjetima i velikom strpljenju i podršci.*

*Veliko hvala i Antoniu Sabljiću, mag. chem. na pomoći i strpljivosti koji ju pokazao unatoč svim svojim obavezama te posebno hvala na dobroj atmosferi u laboratoriju.*

*Hvala i mojim kolegama i prijateljima koji su mi uljepšali studiranje i pružali ogromnu podršku tijekom školovanja.*

*Mojoj obitelji veliko hvala na konstantnoj podršci i žrtvi za moje školovanje. Osim toga, hvala i na riječima ohrabrenja i usmjerenja.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Splitu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Završni rad

### **SINTEZA ENANTIOMERA KVARTERNE AMONIJEVE SOLI 3-AMINOKINUKLIDINA S DUGIM ALKILNIM LANCEM**

Ileana Žeravica

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split

Kvarterne amonijeve soli koriste se kao biološki indikatori, surfaktanti i terapeutici te se često nalaze u sastavu raznih kozmetičkih proizvoda, primjerice šampona i sapuna. Osim toga, sve je češća primjena kvarternih amonijevih soli kao antiseptika te kao antimikrobnih agensa. U svrhu daljnjih bioloških istraživanja, sintetizirani su (*R*)- i (*S*)-enantiomeri kvarterne amonijeve soli 3-aminokinuklidina. Kinuklidin je biciklički spoj koji u premoštenju sadrži dušikov atom koji je radi svoje bazičnosti podložan reakciji kvaternizacije, a 3-aminokinuklidin je supstituirani kinuklidin s amino skupinom na trećem ugljikovom atomu. Za kvaternizaciju enantiomera korišten je 1-bromtetradekan. Navedeni alkil-halogenid ima atom broma koji je u reakciji kvaternizacije dobra izlazna skupina. Nastali enantiomeri su bijele krutine dobivene u dobrom iskorištenju. Čistoća novosintetiziranih kvarternih amonijevih soli je analizirana i potvrđena tehnikom tankoslojne kromatografije.

29 stranica / 31 slika / 16 literaturnih navoda / jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: kinuklidin, kvaternizacija, enantiomeri

Voditelj: izv. prof. dr.sc. Renata Odžak

Ocjenjitelji: izv. prof. dr. sc. Renata Odžak

dr. sc. Marina Kranjac

Linda Mastelić, mag. educ. biol. et chem.

Rad prihvaćen: 16.9.2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Split

Faculty of Science

Department of Chemistry

Bachelor's Thesis

### **SYNTHESIS OF ENANTIOMERS OF 3-AMINOQUINUCLIDINE QUARternary SALT WITH LONG ALKYL CHAIN**

Ileana Žeravica

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split

Quarternary ammonium salts are used as biological indicators, surfactants and therapeutics, and they are commonly found in many cosmetic products such as shampoos and soaps. Furthermore, quarternary ammonium salts are increasingly used as antiseptics and antimicrobial agents. For the purpose of further biological research, the (*R*)- and (*S*)-enantiomers of the quarternary ammonium salt 3-aminoquinuclidine were synthesized. Quinuclidine is a bicyclic compound with a bridgehead nitrogen atom that is subject to quaternization due to its basicity, and 3-aminoquinuclidine is a substituted quinuclidine with an amino group on the third carbon atom. For the quaternization of enantiomers, 1-bromotetradecane has been used. The used alkyl halide contains a bromine atom which in a reaction of quaternization acts as a good leaving group. The products are white solids obtained in good yields. The purity of the newly synthesized quarternary ammonium salts was analysed and confirmed by thin layer chromatography.

29 pages / 31 figures / 16 references / original in Croatian

Key words: quinuclidine, quaternization, enantiomers

Supervisor: PhD Renata Odžak, *Associate professor*

Reviewers: PhD Renata Odžak, *Associate professor*

PhD Marina Kranjac

Linda Mastelić, *mag. educ. biol. et chem.*

Thesis accepted: September 16<sup>th</sup> 2022.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. RAZRADA TEME.....	2
2.1. Ciklički spojevi .....	2
2.2. Izomeri.....	4
2.3. Amini .....	8
2.4. Kvarterne amonijeve soli.....	10
2.5. Kinuklidin .....	14
2.5.1. 3-supstituirani derivati kinuklidina .....	16
3. MATERIJALI I METODE.....	18
3.1. Kemikalije.....	18
3.2. Otapala.....	18
3.3. Uklanjanje hidroklorida s polaznih amina .....	18
3.4. Kvaternizacija 3-aminokinuklidina .....	19
3.5. Praćenje tijeka reakcije tehnikom tankoslojne kromatografije .....	19
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	22
4.1. Rezultati.....	22
4.1.1. Sinteza ( <i>S</i> )- <i>N</i> -tetradecil-3-aminokinuklidinijeva bromida.....	22
4.1.1.1. Uklanjanje hidroklorida sa ( <i>S</i> )-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida .....	22
4.1.1.2. Reakcija kvaternizacije ( <i>S</i> )-3-aminokinuklidina.....	22
4.1.2. Sinteza ( <i>R</i> )- <i>N</i> -tetradecil-3-aminokinuklidinijeva bromida .....	24
4.1.2.1. Uklanjanje hidroklorida s ( <i>R</i> )-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida .....	24
4.1.2.2. Reakcija kvaternizacije ( <i>R</i> )-3-aminokinuklidina .....	24
4.2. Rasprava.....	26
5. ZAKLJUČAK.....	27
6. LITERATURA .....	28

## 1. UVOD

Zahvaljujući svojoj amfifilnoj strukturi, kvarterni amonijevi spojevi primjenjuju se u raznovrsne svrhe, primjerice kao surfaktanti, boje, dezinficijensi ili pak kao sastojci brojnih kozmetičkih, farmakoloških, ali i prehrambenih proizvoda [1]. Sinteza kvarternih amonijevih spojeva seže daleko u prošlost kada je 1935. godine Domagk ustanovio antimikrobnu aktivnost benzil-dodecil-dimetilamonijeva klorida koji je zatim korišten kao dezinficijens kirurškog pribora [2].

Danas je pak sve veća potražnja za novim kvarternim amonijevim spojevima koji posjeduju antimikrobnu aktivnost, obzirom na ogromni porast bakterijske rezistencije na postojeće kvarterne spojeve. Napretkom tehnologije predlažu se i novi načini sinteze kvarternih spojeva. Jedan od novopredloženih, uspješnih načina temelji se na kvaternizaciji prirodno aktivnih spojeva. Kinuklidin je prirodni prekursor koji se nalazi u sastavu kininovca, a pokazuje značaju antimikrobnu aktivnost. Zbog svojih svojstava, kinuklidin je predmet brojnih znanstvenih istraživanja [3].

Kinuklidin je biciklički spoj koji u svojoj strukturi sadrži heteroatom dušika. Heteroatom dušika se nalazi u premoštenju, a radi svoje bazičnosti podliježe reakciji kvaternizacije koja pospješuje biološku aktivnost. Također, 3-supstituirani derivati kinuklidina su od velikog interesa za znanstvena istraživanja zbog širokog spektra farmakoloških i antimikrobnih aktivnosti [3].

U izradi ovog rada, korišteni su enantiomeri 3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida kojima su uklonjeni hidrokloridi u cilju sinteze enantiomera novih kvarternih amonijevih soli 3-aminokinuklidina. Sintetizirani su i (*R*)- i (*S*)-enantiomeri kvarterne amonijeve soli kako bi se podvrgnuli biološkim testiranjima u svrhu mogućih različitih bioloških aktivnosti pojedinog enantiomera.



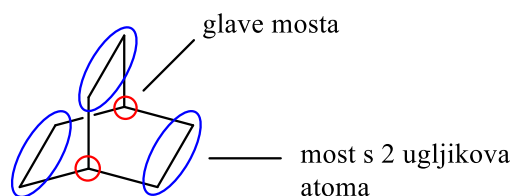
## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. Ciklički spojevi

Strukture organskih spojeva su raznovrsne, a zajednička karakteristika im je niz ugljikovih atoma. Ugljikovi atomi mogu tvoriti lance pa se nazivaju acikličkim spojevima ili pak mogu tvoriti prstenove pa ih svrstavamo u kategoriju cikličkih spojeva [4]. Cikličke molekule su raznovrsne i važne strukture koje primjerice izgrađuju molekulu DNA ili RNA u obliku nukleotida. U cikličke molekule svrstavaju se i ugljikohidrati, poznatiji pod nazivom šećeri te mnogobrojne druge molekule izrazito važne za biološke sustave – primjerice steroidi (hormoni, emulgatori...) i prostaglandini [4].

Ciklički spojevi su općenito manje stabilnosti od acikličkih spojeva. Uzrok tomu je kutna napetost, poznata i pod nazivom Bayerova napetost. Obzirom na  $sp^3$  hibridizaciju ugljikovog atoma u organskim acikličkim molekulama, vezni kutovi atoma ugljika iznose  $109,5^\circ$ . Do pojave kutne napetosti dolazi zbog smanjenja idealnih veznih kutova od  $109,5^\circ$  što uzrokuje neoptimalno prekrivanje orbitala između ugljikovih atoma. Također, torzijska napetost uzrokovana zasjenjenim vezama utječe na manju stabilnost cikličkih spojeva [4].

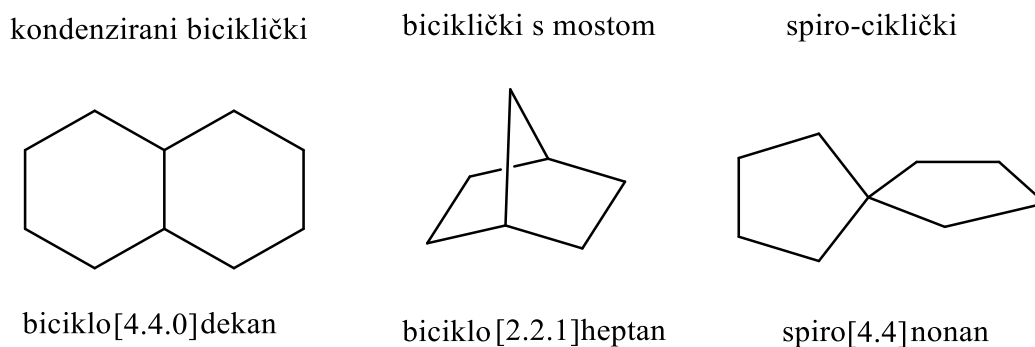
U strukturi cikličkih spojeva može se nalaziti jedan ili više prstenova. Ako ciklički spoj sadrži jedan prsten nazivamo ga monocikličkim, a ako pak sadrži više prstenova nazivamo ga policikličkim. Policikličke spojeve, građene od više prstenova, možemo podijeliti prema načinu povezivanja prstenova na kondenzirane, prstene s mostom te spiro-cikličke spojeve. Kondenzirani spojevi su karakterizirani jednom zajedničkom vezom između prstenova, odnosno prstenovi sadrže dva zajednička susjedna atoma. Policiklički spojevi koji imaju prstene s mostom karakterizirani su s dva zajednička, nesusjedna ugljikova atoma koji čine takozvanu „glavu“ mosta te s jednim ili više ugljikovih atoma koji služe kao spojnica glava u prstenu, a nazivamo ih „mostovima“ [4] (Slika 1).



biciklo[2.2.2]oktan

**Slika 1.** Struktura biciklo[2.2.2]oktana

Imenovanje bicikličkih spojeva (policikličkih spojeva koji sadrže dva prstena) po IUPAC nomenklaturi (Slika 2) provodi se na način da se kao prefiks koristi biciklo, nakon čega se u uglatim zagradama navode brojevi koji označavaju broj atoma ugljika u mostovima koji služe kao spojnice glava sustava. Brojevi se navode opadajućim slijedom, a numeriranje započinje na jednom ugljikovom atomu koji predstavlja „glavu“ mosta te se nastavlja najduljim mostom do idućeg atoma ugljika koji predstavlja drugu „glavu“ mosta. Zatim se numeriraju ostali mostovi, počevši od srednjeg prema najkraćem. Korijen imena se izvodi iz imena alkana koji sadrži jednak broj ugljikovih atoma kao i sami biciklički spoj. Vrlo su rijetki spojevi u kojima dva prstena dijele samo jedan zajednički atom ugljika, a nazivamo ih spiro-cikličkim spojevima. Kod imenovanja spiro-cikličkih spojeva kao prefiks se koristi spiro umjesto biciklo, nakon čega u uglatim zagradama slijede brojevi koji označavaju broj atoma prstena koji su vezani zajedničkim atomom. Numeriranje započinje od ugljikova atoma koji je susjedan zajedničkom atomu te se nastavlja od manjeg prstena prema većem. Osnova imena se izvodi iz imena alkana s ekvivalentnim brojem ugljikovih atoma [4].



**Slika 2.** Strukture različitih policikličkih molekula (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 120)

Osim ugljikovih atoma, u strukturi cikličkih organskih molekula može postojati i neki drugi atom pa takve molekule nazivamo heterocikličkima. U heterocikličkim spojevima, najučestaliji heteroatom su atomi dušika i kisika (Slika 3) [4].



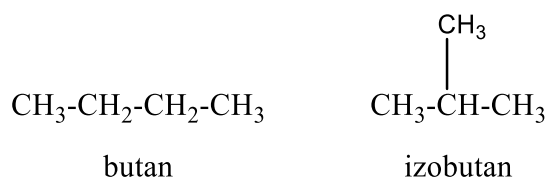
oksetan

**Slika 3.** Struktura oksetana (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 632)

## 2.2. Izomeri

Osim poznavanja kemijske formule određenog spoja, veoma je važno poznavati i raspored samih atoma unutar molekule, odnosno trodimenzijsku strukturu same molekule. Kemijski spojevi istog sastava, odnosno iste molekulske formule, a različitih svojstava nazivaju se izomerima [4]. Razlikujemo dvije glavne skupine izomera - konstitucijske izomere te stereoizomere [4].

Konstitucijski izomeri, poznati i pod nešto starijim nazivom - strukturni izomeri, su kemijski spojevi koji se razlikuju po slijedu vezanih atoma, dok im je molekulska formula jednaka (Slika 4). Različit slijed vezanih atoma očituje se u različitoj razgranatosti odnosno nerazgranatosti molekule, a kod alkena i alkina očituje se i po različitom položaju dvostruke, odnosno trostruke veze [4].



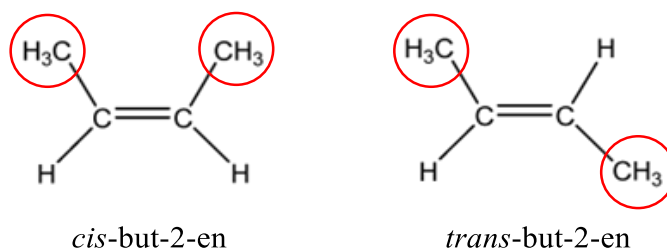
**Slika 4.** Konstitucijski izomeri - butan i izobutan (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 57)

Kod stereoizomera sami slijed vezanih atoma je jednak, ali sastavni atomi imaju drugačiji raspored u prostoru. Zbog različitog rasporeda u prostoru, takve molekule se znatno razlikuju po svojim svojstvima, kako fizikalnim tako i kemijskim, ali i biološkim.

Glavna podjela stereoizomera je na enantiomere i dijastereomere.

Enantiomeri su stereoizomeri koji se međusobno odnose kao predmet i njegova zrcalna slika, odnosno te molekule su kiralne i međusobno se ne mogu preklopiti (ako se molekula postavi iznad druge molekule, njihovi prostorni rasporedi atoma se ne podudaraju). Dijastereomeri su pak stereoizomeri kod kojih ne nalazimo zrcalni odnos. Najveći udio dijastereomera čine *cis/trans* izomeri (nekoć nazivani i geometrijskim izomerima). *Cis/trans* izomeri su nezasićene molekule kod kojih na svakom kraju dvostruke veze nalazimo različite skupine.

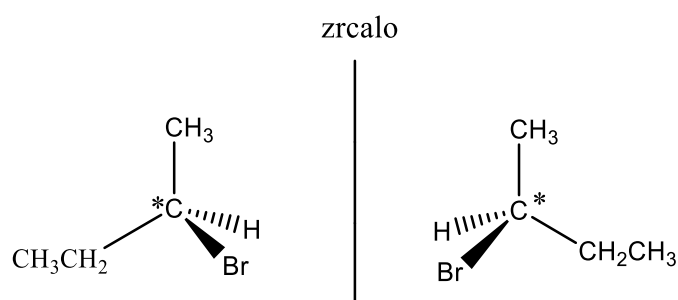
Kod *cis*-izomera, slične skupine se nalaze s jednake strane dvostruke veze, a kod *trans*-izomera se one nalaze na suprotnim stranama veze [4] (Slika 5).



**Slika 5.** *Cis* i *trans* izomeri but-2-ena

Razlika u biološkim svojstvima molekula izomera se primjerice očituje kod vidnog pigmenta rodopsina. Naime, rodopsin - fotoosjetljivi pigment, građen je od proteina skotopsina i 11-*cis*-retinala. Pri adsorpciji svjetla, započinje fotokemijski raspad rodopsina uzrokovan promjenom konformacije 11-*cis*-retinala u *trans*-retinal. Zbog različitog trodimenzijskog položaja atoma i reakcijskih središta molekule, reakcijsko središte proteina skotopsina više ne pristaje uz reakcijsko središte *trans*-retinala. Posljedica promjene konformacije je otpuštanje živčanog impulsa prema centrima primarnog živčanog sustava, točnije prema mozgu te vizualizacija svjetla [5].

Kiralne organske molekule se razlikuju od svojih zrcalnih slika te imaju enantiomerni oblik. Posjeduju asimetrični, odnosno kiralni ugljikov atom koji čini kiralni centar same molekule, a karakteriziran je posjedovanjem četiri različita liganda (Slika 6). Ako molekula posjeduje jedan asimetrični ugljikov atom ona je nužno i kiralna, ali ako posjeduje više od jednog asimetričnog ugljikovog atoma, ne mora nužno biti kiralna [4].

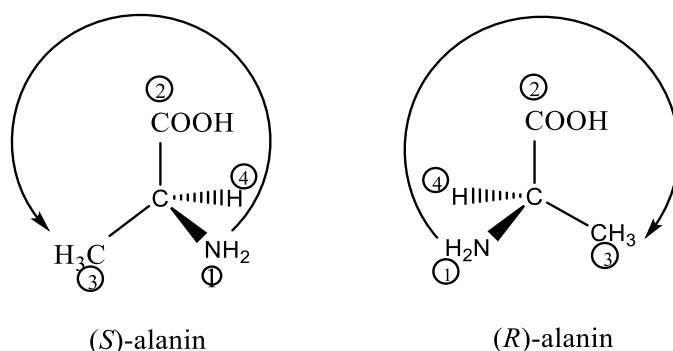


**Slika 6.** Enantiomeri 2-brombutana s asimetričnim ugljikovim atomom (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 172)

Obzirom na trodimenzijski raspored četiriju liganada pripojenih na jedan asimetrični ugljikov atom razlikujemo dva enantiomera, odnosno dvije različite zrcalne slike koje nazivamo konfiguracijama [4].

Uvriježeni sustav za imenovanje apsolutnih konfiguracija kiralnog centra je Cahn-Ingold-Prelogova konvencija [1]. Obzirom na raspored liganada, svakom se kiralnom ugljikovom

atomu dodjeljuje slovo (*R*)- (lat. *rectus* - desno) ili slovo (*S*)- (lat. *sinister* - lijevo). Pri imenovanju konfiguracije, svakom ligandu vezanom na kiralni ugljikov atom se dodjeljuje „prioritet“ – broj 1 se dodjeljuje skupini takozvanog najvišeg prioriteta, a broj 4 se dodjeljuje skupini takozvanog najnižeg prioriteta. Prioriteti se dodjeljuju po opadajućim atomskim brojevima prvog atoma skupine (atoma direktno vezanog na asimetrični ugljikov atom). Najviši atomski broj prvog atoma skupine dobiva broj 1 - najviši prioritet, a najniži atomski broj prvog atoma skupine dobiva broj 4 - najniži prioritet. Ako su prvi atomi skupina jednaki, uspoređuju se sljedeći atomi u skupini. Dvostruke i trostruke veze se smatraju kao odvojene veze (dvostruka veza se promatra kao dvije jednostruke veze, a trostruka kao tri jednostruke veze). Nakon određivanja prioriteta atoma liganada, skupina najmanjeg prioriteta se usmjeri od sebe, a sama molekula se promatra duž veze od kiralnog ugljikovog atoma prema skupini najnižeg prioriteta. Nacrta se strelica na trodimenzijskom crtežu, počevši od najvišeg prema najnižem prioritetu. Ako strelica pokazuje smjer kazaljke na satu, asimetričnom ugljikovom atomu se dodjeljuje oznaka (*R*)- (lat. *rectus* - desno), a ako strelica pokazuje smjer obrnut od kazaljke na satu, asimetričnom ugljikovom atomu se dodjeljuje oznaka (*S*)- (lat. *sinister* - lijevo) (Slika 7) [4].

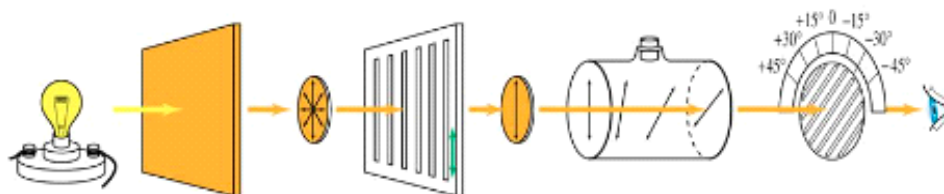


**Slika 7.** Imenovanje enantiomera alanina po CIP konvenciji (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 179)

Obzirom na broj asimetričnih ugljikovih atoma, spoj može imati različit broj stereoizomera. Općenito vrijedi, ako spoj sadrži  $n$  asimetričnih ugljikovih atoma, isti može imati  $2^n$  stereoizomera [4].

Enantiomeri posjeduju gotovo jednaka fizikalna svojstva (temperatura vrelišta, temperatura tališta, gustoća...). Glavna razlika enantiomera je u njihovoj sposobnosti zakretanja ravnine linearno polariziranog svjetla. Elektromagnetski valovi prirodnog svjetla titraju u svim smjerovima. U trenutku prolaska kroz polarizator, odnosno polarizirajući filter, elektromagnetski valovi počinju titrati samo u jednoj ravnini (jednome smjeru). Smjer titranja

elektromagnetskog vala se naziva os filtra. Kada se tako polarizirano svjetlo propusti kroz otopinu kiralnog spoja, kiralni spoj zakreće ravninu titranja elektromagnetskog vala svjetlosti što se naziva optičkom aktivnošću (Slika 8). Enantiomeri su optički aktivne tvari koje zakreću ravninu linearno polariziranog svjetla za isti iznos, ali u suprotnim smjerovima - ili u lijevo ili u desno. Smjer zakretanja polarizirane svjetlosti se određuje eksperimentalno, polarimetrijom te se ne može predvidjeti. Ako enantiomer zakreće ravninu polariziranog svjetla udesno (u smjeru kazaljke na satu), on se naziva desnozакрећућим. Ako enantiomer pak zakreće ravninu polariziranog svjetla ulijevo (u smjeru suprotnom od kazaljke na satu), on se naziva lijevozakrećućim. U nomenklaturi smjer zakretanja se označuje oznakama (+) za desnozакрећуće spojeve, a (-) za lijevozakrećuće spojeve [4].



natrijeva lampa    monokromator    polarizator    ćelija s uzorkom    analizator    detektor

**Slika 8.** Shematski prikaz polarimetra (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 183)

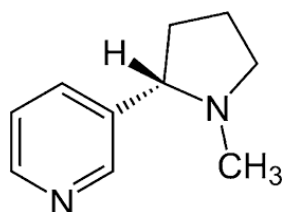
Biološki sustavi imaju mogućnost raspoznavanja enantiomera. Vrlo često jedan enantiomer ima potpuno drugačiji učinak od drugog enantiomera, obzirom da enantiomeri drugačije stupaju u interakciju s drugim kiralnim molekulama [4]. Enzimi su kiralne molekule u čije aktivno mjesto pristaje samo određeni enantiomer. Primjerice, desnozакрећуći oblik adrenalina ne pristaje u aktivno mjesto enzima te je blago toksičan, dok lijevozakrećući oblik ima stimulativno djelovanje kao i „prirodni“ hormon adrenalin kojeg luči srž nadbubrežne žlijezde [4].

Raspoznavanje enantiomera je ključno u farmakologiji kako bi se osiguralo ispravno liječenje i rizik od nuspojava na lijekove maksimalno smanjio. Primjerice, (*S*)-enantiomer talidomida, koji je nekoć često pripisivan trudnicama, uzrokovao je povećanu učestalost srčanih poremećaja i poremećaj u razvoju ekstremiteta, dok je (*R*)-enantiomer djelotvoran i siguran sedativ. [6] Također, (*R*)-enantiomer ketamina snažan je halucinogen poznat i po zloupotrebi („Special K“ droga), dok se (*S*)-enantiomer koristi kao anestetik [7].

### 2.3. Amini

Spojeve koji u svom sastavu posjeduju atom dušika na koji je vezana jedna ili nekoliko alkilnih ili arilnih skupina, nazivamo aminima [4]. Amini su derivati amonijaka koji imaju brojne funkcije u biološkim organizmima, primjerice održavanje standardnih metaboličkih funkcija i sudjelovanje u neurotransmisiji. U skupinu amina spadaju spojevi poput histamina koji je zaslužan za širenje krvnih žila, dopamina koji je neurotransmitor u biološkim sustavima i piridoksina (vitamin B6) [4].

Zbog svoje izričite biološke aktivnosti, velika je primjena amina u farmakologiji i medicini. U medicini se koriste analgetici iz skupine alkaloida - biološki aktivnih amina koji su toksični te u većim količinama uzrokuju ili trovanje ili smrt. Česti su uzrok i ovisnosti te halucinacija, obzirom da u skupinu alkaloida pripadaju kokain, nikotin i morfin [4] (Slika 9.).



Slika 9. Struktura molekule nikotina (izvor:

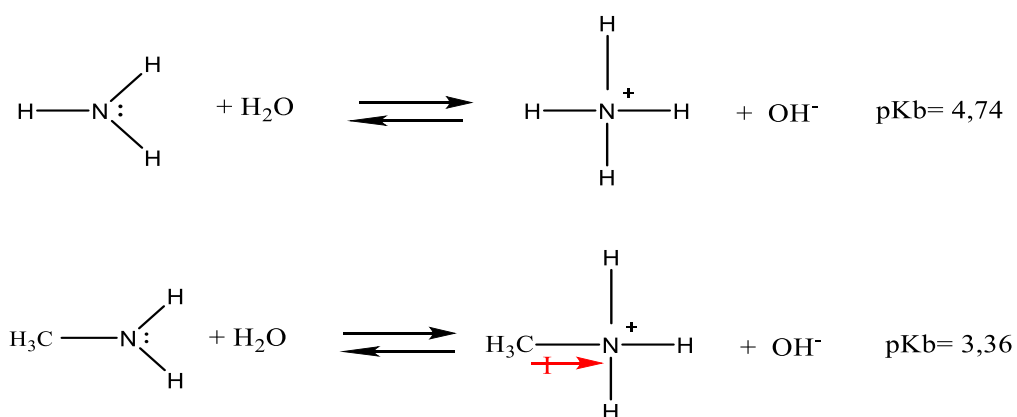
<https://repositorij.mefst.unist.hr/islandora/object/mefst%3A841/datastream/PDF/view>)

Postoje mnogobrojni načini sinteze amina. Najčešća metoda je reduktivno aminiranje gdje se u amonijak ili amin uvodi alkilna ili arilna skupina. Reduktivnim aminiranjem amonijak se prevodi u primarni amin (amin u kojem je samo jedna skupina vezana za dušikov atom), primarni amin se prevodi u sekundarni (amin u kojem su dvije skupine vezane za dušikov atom), a sekundarni se prevodi u tercijarni (amin u kojem su tri skupine vezane za dušikov atom) [4].

Imenovanje amina po IUPAC nomenklaturi provodi se tako da se kao osnova imena uzima najdulji lanac (lanac s najvećim brojem ugljikovih atoma) koji nužno sadrži amino skupinu. Kao prefiks se upotrebljava *N*- za supstituent na dušikovu atomu, a ostali supstituenti koji se nalaze na atomima ugljika se označavaju brojevima ovisno o položaju u lancu. Kao sufiks se dodaje riječ -amin te se brojem označi i položaj amino skupine u lancu. Ako se imenuju amini složenijih struktura, odnosno amini u kojima se pojavljuje funkcijska skupina višeg prioriteta, onda se amino skupina imenuje kao supstituent prefiksom amino uz odgovarajući broj koji označava položaj amino skupine u lancu [4].

Dušikov atom je u molekuli amina  $sp^3$  hibridiziran, ali zbog postojanja slobodnog elektronskog para, „idealni“ kut od  $109,5^\circ$  koji je karakterističan za tetraedarski oblik molekule je smanjen [4]. Amini su zbog geometrije molekule te zbog razlike u elektronegativnosti atoma koja uzrokuje dipolni moment polarni. Primarni i sekundarni amini mogu biti akceptori i donori vodikove veze, dok su tercijarni amini samo akceptori vodikove veze. Zbog mogućnosti intermolekulskog povezivanja vodikovim vezama, amini imaju visoke temperature tališta i vrelišta. No, u usporedbi s molekulom vode ili pak s alkoholima, amini imaju niže temperature vrelišta i tališta zbog manje polarne N-H veze u odnosu na O-H vezu [4].

Za amine je karakterističan i izrazito neugodan miris [4]. pH vrijednost vodenih otopina amina je iznad 7 jer su amini relativno jake baze koje u reakciji s kiselinom primaju proton. Pri tome nastaju amonijev kation i hidroksidni ion koji uzrokuje povišenje pH vrijednosti iznad 7. Kod supstituiranih amina, alkilna skupina donira elektrone protoniranome aminu i pri tome ga stabilizira. Stabilizacija kationa uzrok je većoj bazičnosti supstituiranih amina u odnosu na amonijak (Slika 10). Primarni, sekundarni i tercijarni amini su relativno slične bazičnosti obzirom da kod sekundarnih i tercijarnih amina, alkilne skupine ometaju solvataciju iona i time smanjuju bazičnost, a induktivna stabilizacija je kod njih izraženija pri čemu se bazičnost povećava. Aromatski su pak amini slabije baze od alifatskih amina zbog prekrivanja elektrona aromatskog prstena s elektronima neveznog para. Također, kod nezasićenih amina, nevezni elektroni se nalaze u  $sp^2$  orbitali čime su jače privučeni jezgri što za posljedicu ima njihov manji afinitet prema protonu. Kod zasićenih amina, nevezni elektroni se nalaze u  $sp^3$  orbitali što povećava njihov afinitet prema protonu i samim time i bazičnost [4].



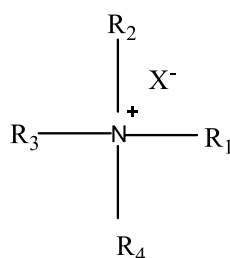
**Slika 10.** Stabilizacija metilamina alkilnom skupinom u odnosu na amonijak (izvor: L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 881)



Kod jednostavnih kiralnih amina, enantiomeri se brzo izmjenjuju pa se enantiomeri ne mogu odijeliti [4]. Izmjena enantiomera se događa zbog inverzija dušika. Pri inverziji dušika, slobodni elektronski par se premješta s jedne na drugu stranu molekule amina. Prije inverzije, dušikov atom je  $sp^3$  hibridiziran. Nakon toga nastupa prijelazno stanje u kojem je dušikov atom  $sp^2$  hibridizacije, a nevezni elektronski par zauzima p orbitalu. Nakon inverzije, dušikov atom je opet  $sp^3$  hibridiziran, ali njegova apsolutna konfiguracija je izmijenjena. Ipak, kod nekih kiralnih amina, enantiomeri se mogu odijeliti. Primjer su amini čiji se kiralni centar ne nalazi na dušikovom atomu, zatim amini koji nemaju  $sp^2$  hibridizaciju dušikova atoma u prijelaznom stanju te kvarterne amonijeve soli koje imaju kiralni ugljikov atom [4].

## 2.4. Kvarterne amonijeve soli

Kvarterne amonijeve soli, opće formule  $R_4N^+X^-$ , su kemijski spojevi koji posjeduju dušikov atom za koji su vezane četiri alkilne ili pak arilne skupine. Pri tome, atom dušika je protoniran, odnosno nosi pozitivni naboj. Osim protoniranog dijela molekule, točnije amonijevog iona, kvarterne amonijeve soli sadrže i anionski dio nastao iz kiseline (Slika 11).

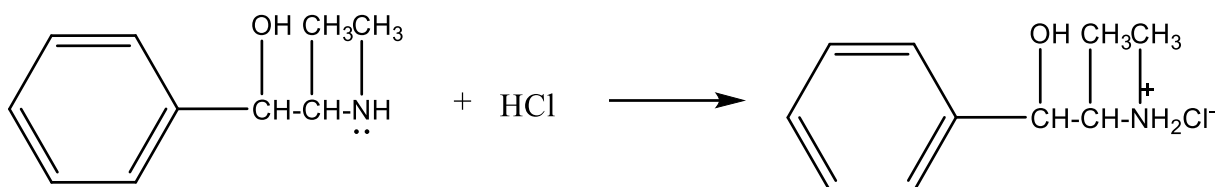


**Slika 11.** Struktura kvarterne amonijeve soli

Pri imenovanju kvarternih amonijevih soli, prvo se imenuje kationski dio, u obliku posvojnog pridjeva izvedenog od imena amina, a zatim se imenuje anionski dio izveden od kiseline iz koje je nastao. Najčešći anionski dio čine kloridni ili pak bromidni anioni.

Kvarterne amonijeve soli, čvrste su ionske strukture čija su tališta visoka, a same soli su nehlapljive. Za razliku od amina, kvarterne amonijeve soli su dobro topljive u vodi [4]. Osim toga, kvarterne amonijeve soli su mnogo pogodnije za primjenu u farmakološke i medicinske svrhe od samih amina zbog veće stabilnosti (u manjoj mjeri se raspadaju oksidacijom) i blažeg mirisa. Primjer je efedrin, koji se upotrebljava za liječenje astme. Efedrin se na zraku oksidacijom raspada na neželjene produkte, dok njegova kvarterna sol – efedrin-hidroklorid ne podliježe oksidaciji u tolikoj mjeri (Slika 12). Također, njegovo talište je znatno više. Ali, soli

amina su često korištene i kao narkotici. Najpoznatiji je primjer kokaina-hidroklorida koji se zbog svoje stabilnosti i blagog mirisa koristi umjesto kokaina što otežava njegovu detekciju u krijumčarenju [4].

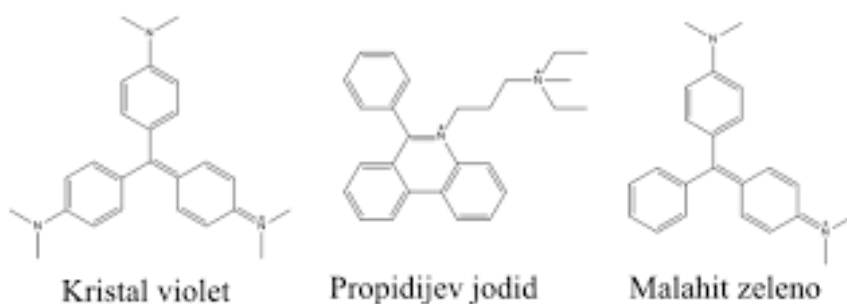


**Slika 12.** Dobivanje efedrin-hidroklorida iz efedrina (L. G. Wade, ml., Organska kemija, str. 884)

Obzirom da su građene od pozitivno nabijenog kationa (koji čini hidrofilni dio molekule) te od alkilnog lanca (koji čini hidrofobni dio molekule), kvarterne amonijeve soli su amfifilnog karaktera. Zbog toga, imaju sposobnost formiranja micela – nakupina amfifilnih molekula, odnosno površinski aktivnih tvari [1].

Zbog svojih fizikalnih svojstava, kvarterne amonijeve soli su široke primjene. Koriste se kao antiseptici, surfaktanti, biološki indikatori te su sastavni dio mnogih kozmetičkih proizvoda – sapuna, šampona, otopina za kontaktne leće i mnogih drugih.

Najpoznatiji biološki indikatori su kristal violet, malahitno zelenilo te propidijev jodid (Slika 13). Kristal violet se koristi u bojanju po Gramu, jednoj od najvažnijih i najučestalijih metoda razlikovanja i klasifikacije bakterija u dvije glavne skupine (Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije). Pri tome dolazi do interakcije između kvarternih amonijevih soli u kristal violetu i komponenti stanične membrane bakterije.

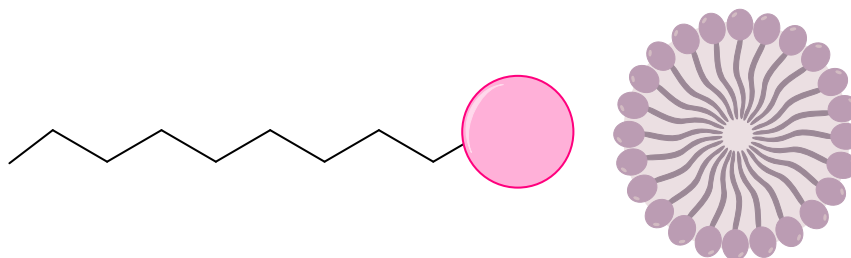


**Slika 13.** Struktura kvarternih amonijevih soli korištenih kao biološki indikatori (izvor:

[\*Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance | ACS Infectious Diseases\*](#))

Jedna od najučestalijih primjena kvarternih amonijevih soli je surfaktantska primjena [1]. Surfaktanti, odnosno površinski aktivne tvari (PAT) su kemijski spojevi koji zbog svoje amfifilne strukture imaju sposobnost smanjivanja površinske napetosti između dviju tekućina koje se ne miješaju. Površinski aktivne tvari su građene od dva dijela – “glave” i “repa”. Glava je hidrofilni dio, koji stvara elektrostatske interakcije s polarnim molekulama koje je okružuju, dok je rep hidrofobni dio koji je u interakciji s nepolarnim molekulama u svom okruženju. Glava je najčešće polarna ili pak ionska skupina dok je rep najučestalije lanac građen od ugljikovih atoma [8] (Slika 14).

Obzirom na hidrofilni dio molekule, surfaktanti se dijele na kationske, anionske, neionske te amfoterne. Anionski surfaktanti su najbrojnija skupina u kojoj se kao hidrofilna skupina pojavljuju anioni s negativnim nabojem. Najčešće su ti anioni sulfatni ili pak sulfonatni. U drugu skupinu spadaju neionski surfaktanti kod kojih hidrofilna skupina nema naboja. Površinska aktivnost je u tom slučaju karakterizirana polarnošću i veličinom hidrofilne skupine. U slučaju amfoternih surfaktanata, hidrofilna skupina može posjedovati i pozitivan, ali i negativan naboj ovisno o uvjetima. Kationski surfaktanti sadrže pozitivan naboj na hidrofilnoj skupini, najčešće lokaliziran na dušikovom atomu ili pak na amidnoj skupini. Protuanion je najčešće halogeni ion, sulfatna ili acetatna skupina [8]. U ovu skupinu spadaju i kvarterne amonijeve soli koje u vodenim otopinama formiraju micide koje pokazuju visoku moć raspršivanja (Slika 14). Upotrebljavaju se najčešće u kozmetičkim proizvodima [9].

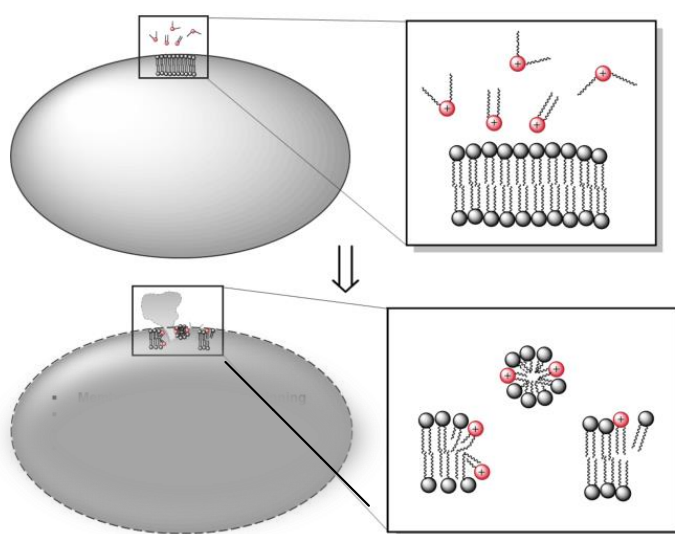


**Slika 14.** Lijevo: shematski prikaz građe surfaktanta

Desno: shematski prikaz micide

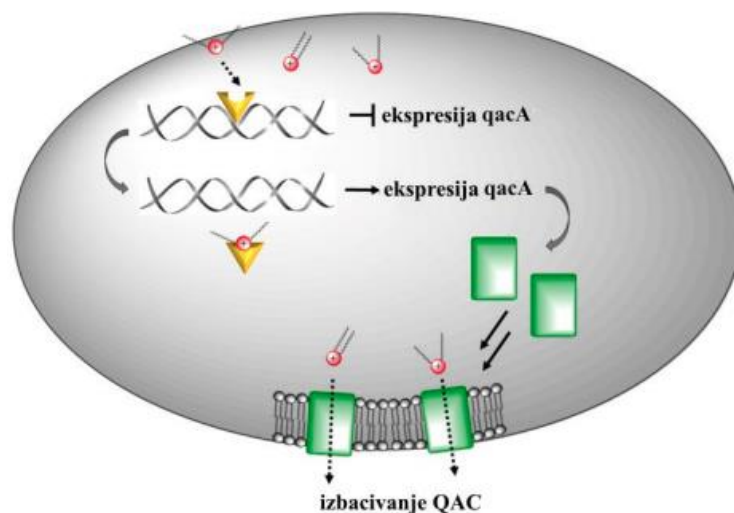
Antimikrobna aktivnost kvarternih amonijevih soli je od sve većeg interesa, pogotovo u trenutnim razdobljima pandemije. Zbog svoje strukture, kvarterne soli imaju mogućnost narušavanja osnovne strukture i organizacije stanične membrane bakterija. Elektrostatsko privlačenje pozitivno nabijene „glave“ kvarternih amonijevih soli i negativno nabijene membrane bakterija dovodi do permeacije alkilnih lanaca kvarternih soli u intramembranski prostor. Konačni rezultat je liza bakterijske stanice (Slika 15). Uočena je povećana antimikrobna aktivnost kvarternih soli kod Gram-pozitivnih bakterija za razliku od Gram-

negativnih bakterija. Uzrok tome je što kod Gram-pozitivnih bakterija nailazimo na samo jednu staničnu membranu i deblji sloj peptidoglikana, dok kod Gram-negativnih bakterija nailazimo na dvije stanične membrane i nešto tanji sloj peptidoglikana [1]. Drugi način na koji se očituje antimikrobna aktivnost je denaturacijom strukturnih proteina koji su ključni za održavanje metabolizma mikroorganizama [10]. Najistaknutiji je utjecaj kvarternih amonijevih soli na takozvane ESKAPE bakterije (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*) Osim antimikrobne aktivnosti, kvarterne amonijeve soli pokazuju i antigljivičnu aktivnost.



**Slika 15.** Mehanizam djelovanja kvarternih amonijevih spojeva na bakterijsku stanicu (izvor: [Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance | ACS Infectious Diseases](#))

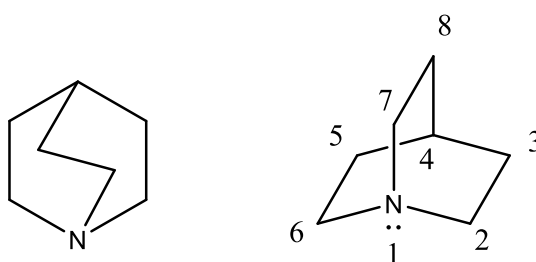
Obzirom na povećanu upotrebu antiseptika koji sadrže kvarterne amonijeve soli, vidljiv je i porast bakterijske rezistencije na takve antiseptike. Takozvani „qac“ geni su zabilježeni kod bakterija koje pokazuju veću stopu rezistencije. Ti geni su povezani s radom efluks pumpi koje imaju sposobnost izbacivanja kvarternih amonijevih spojeva iz bakterijskih stanica (Slika 16). Osim toga, ti geni se prenose horizontalnim prijenosom pomoću plazmida iz jedne u drugu bakteriju. Osim „qac“ gena, horizontalno se prenose i geni koji su ključni za rezistenciju bakterija na antibiotike, što predstavlja veliku opasnost za ljudski organizam. Zbog toga je sve veća potražnja za novim kvarternim amonijevim spojevima [1].



**Slika 16.** Shematski prikaz mehanizma rezistencije bakterijske stanice na kvarterne amonijeve spojeve (izvor: [Figure 17 from Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance.](#) / [Semantic Scholar](#))

## 2.5. Kinuklidin

Kinuklidin je zasićeni biciklički spoj koji u premoštenju sadrži dušikov atom [3]. Numeriranje atoma započinje od heteroatoma dušika koji čini jednu glavu mosta, pa se stoga u IUPAC-ovo ime spoja nadodaje ispred prefiksa biciklo prefiks aza-. Stoga ime spoja glasi 1-azabicyklo[2.2.2]oktan [11] (Slika 17).



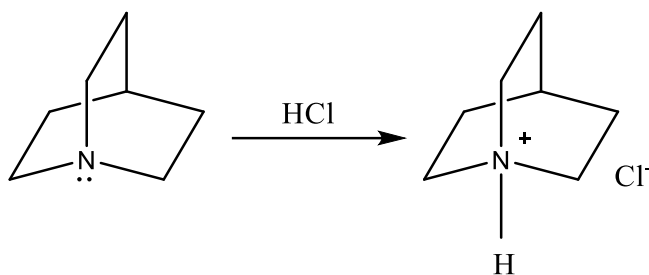
**Slika 17.** Desno: struktura molekule kinuklidina

Lijevo: numeriranje atoma u kinuklidinu

Šesteročlani prstenovi zauzimaju oblik izvijene kolijevke te ne postoji mogućnost rotacije oko jednostrukih veza prstenova [12]. Kinuklidin je vrlo stabilna molekula zahvaljujući velikoj simetriji molekule te neznatnoj napetosti među prstenovima. Stabilnost se očituje u raznim fizikalnim i kemijskim svojstvima. Primjerice, molekula kinuklidina ne podliježe promjenama

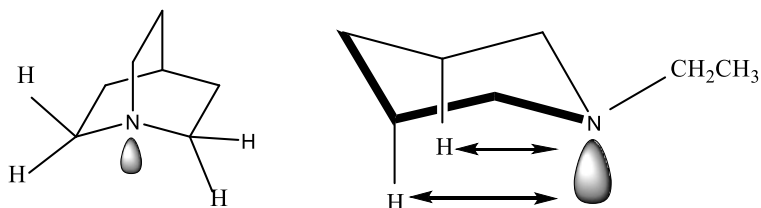
pri zagrijavanju s koncentriranim kiselinama poput klorovodične, sumporne i dušične niti pri reakciji s kalijevim permanganatom [3].

Slobodni elektronski par dušikova atoma  $sp^3$  je hibridizacije te su steričke smetnje zanemarive. Zbog toga, česta je tvorba soli s mineralnim, ali i organskim kiselinama (Slika 18). Osim toga, s alkilnim, odnosno arilnim halogenidima vrlo je česta tvorba kvarternih amonijevih spojeva [3].



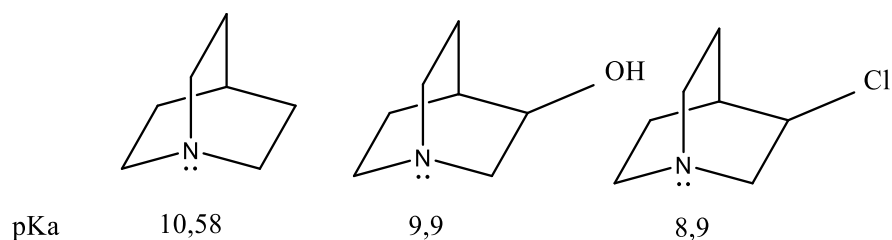
**Slika 18.** Reakcija kinuklidina s klorovodičnom kiselinom

Gustoća slobodnog elektronskog para na dušikovu atomu utječe na njegovu bazičnost [12]. Kinuklidin je jako bazična molekula na što upućuje  $pK_a$  vrijednost molekule koja iznosi 10,58. Kao jaka baza, donor je slobodnog elektronskog para dušikova atoma, odnosno u kiselobaznim reakcijama s Lewisovom kiselinom koja je akceptor elektronskog para, kinuklidin predstavlja nukleofil. Zbog podložnosti ovakvim reakcijama, kinuklidin sudjeluje u reakcijama nastanka kvarternih amonijevih soli [9]. Alifatski amini su manje podložni reakcijama kvaternizacije, jer kod kinuklidina izostaje nevezna reakcija susjednih atoma vodika s neveznim elektronskim parom dušikova atoma, koja je kod alifatskih amina značajna [3] (Slika 19).



**Slika 19.** Utjecaj vezne reakcije susjednih atoma vodika s neveznim elektronskim parom dušikova atoma na nukleofilnost *N*-etilpiperidina u odnosu na kinuklidin

Za razliku od kinuklidina, supstituirani derivati kinuklidina su manje bazični (Slika 20). Uzrok njihovoj smanjenoj bazičnosti je induktivni efekt supstituenta [3].



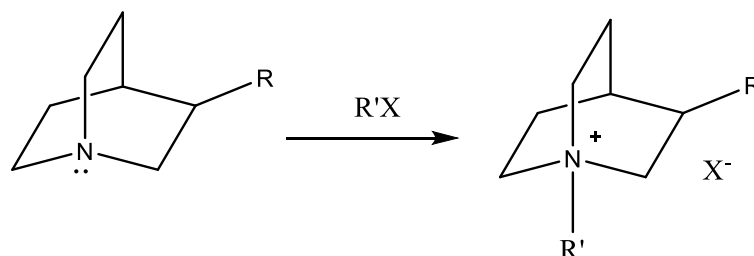
**Slika 20.** pKa vrijednosti kinuklidina i 3-supstituiranih derivata kinuklidina

### 2.5.1. 3-supstituirani derivati kinuklidina

Derivati kinuklidina pokazuju široki spektar biološke aktivnosti što je uzrok i sve većeg interesa znanstvenika za istraživanje ovakvih spojeva. Najznačajnija je njihova antioksidativna, antiparazitska, antitumorska te antibakterijska aktivnost.

Uvođenjem supstituenta u molekulu kinuklidina, dolazi do narušavanja simetrije molekule, pa samim time i do promjene svojstava [3]. Primjerice, temperatura vrelišta 4-metilkinuklidina iznosi 49 °C - 50 °C, dok je temperatura vrelišta samog kinuklidina znatno viša - 158 °C [13].

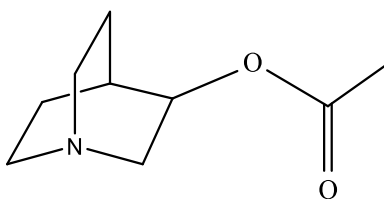
Kvaternizacija (Slika 21) pospješuje biološku aktivnost kinuklidina. Pri tome, kinuklidini s alkilnim supstituentima pokazuju bolju biološku aktivnost od onih s arilnim supstituentima. 3-Supstituirani derivati kinuklidina s alkinim supstituentom pokazuju antibakterijsku aktivnost koja ovisi o duljini alkilnog lanca. Alkilni lanac predstavlja značajan dio molekule obzirom da se pomoću njega odvija penetracija u bakterijsku membranu. Derivati koji posjeduju duže alkilne lance pokazuju i veću antimikrobnu aktivnost i na Gram-pozitivnim, ali i na Gram-negativnim bakterijama. Znatno veća biološka aktivnost je zabilježena kod derivata koji posjeduju 12 ugljikovih atoma u alkilnom lancu, obzirom da veći broj ugljikovih atoma smanjuje topljivost samog derivata [3].



**Slika 21.** Kvaternizacija 3-supstituiranog kinuklidina

Zbog svojih različitih farmakoloških aktivnosti, 3-supstituirani derivati kinuklidina su sve veći predmet istraživanja. *Temekhin* je primjer 3-supstituiranog derivata kinuklidina, koji se u farmakološke svrhe koristi kao ganglijski inhibitor [3]. Spojevi koji pokazuju antimuskarinsku, ali i muskarinsku aktivnost su esteri kinuklidin-3-ola koji je i sve češće komercijalno dostupan terapeutik [14]. Osim toga, značajan je utjecaj estera kinuklidin-3-ola pri liječenju Alzheimerove bolesti koja uzrokuje propadanje mozga stvaranjem nakupina amiloidnog plaka [15].

*Aceklidin* (Slika 22), odnosno 3-acetiloksikinuklidin koristi se pri liječenju glaukoma, smanjujući pri tome očni tlak. Znatni je napredak i kod liječenja Parkinsonove bolesti pomoću kinuklidinijevih derivata [3].



**Slika 22.** Struktura aceklidina

Obzirom na posjedovanje asimetričnog ugljikovog atoma, 3-supstituirani derivati kinuklidina se mogu sintetizirati kao enantiomeri ili pak kao racemične smjese. Zbog mogućih različitih bioloških djelovanja jednog od enantiomera, većinski se racemične smjese pokušavaju razdvojiti na pojedinačne enantiomere. Acetilkinolinesteraza i butirilkolinesteraza su biokatalizatori koji su česti predmet istraživanja pri razdvajanju racemične smjese na enantiomere. 3-supstituirani derivati kinuklidina su ili reaktivatori ili pak inhibitori navedenih biokatalizatora. Stoga se ove molekule mogu koristiti kao protulijekovi za trovanje uzrokovano organofosforinim kemikalijama.

Sve je veći interes i za proučavanje antimikrobne aktivnosti enantiomera 3-supstituiranih derivata kinuklidina [3].



### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Kemikalije

Za izradu ovog završnog rada, korištene su komercijalno dostupne kemikalije: (*R*)-(+)-3-aminokinuklidinijev dihidroklorid ( $C_7H_{14}N_2 \cdot 2HCl$ , 98%), proizvođača *Sigma Aldrich*, (*S*)-(-)-3-aminokinuklidinijev dihidroklorid ( $C_7H_{14}N_2 \cdot 2HCl$ , 98%), proizvođača *Sigma Aldrich* te 1-bromtetradekan ( $CH_3(CH_2)_{13}Br$ , 97%) proizvođača *Sigma Aldrich*.

#### 3.2. Otapala

Kao organska otapala korišteni su kloroform ( $CHCl_3$ ), proizvođača *Lachner*, dietil-eter ( $CH_3CH_2OCH_2CH_3$ ) proizvođača *VWR Chemicals*, aceton ( $C_3H_6O$ ) i metanol ( $CH_3OH$ ) proizvođača *Kemika* te etanol ( $C_2H_5OH$ ) proizvođača *Carlo Erba*.

Otapala dietil-eter i aceton su prije korištenja za sintezu kvarternih amonijevih soli podvrgnuta destilaciji, kako bi se dobila čista, („suha“) otapala.

Za provjeru čistoće spojeva korištena je tehnika tankoslojne kromatografije sa sustavom otapala kloroform ( $CHCl_3$ ):metanol ( $CH_3OH$ ) = 5:1.

#### 3.3. Uklanjanje hidroklorida s polaznih amina

Odgovarajući enantiomer 3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida dodaje se u prethodno pripravljenu zasićenu vodenu otopinu kalijeva hidroksida (1,00 g, 17,82 mmol u 1,00 mL mili-Q- $H_2O$ ) uz miješanje na magnetnoj miješalici do otapanja. U otopinu se dodaje i minimalni volumen kloroforma te destilirane vode. Kloroformski sloj u kojem je otopljen polazni enantiomer odvoji se od vodenog sloja ekstrakcijom s kloroformom (10x3 mL). Potom se u kloroformski ekstrakt dodaje sredstvo za sušenje - bezvodni natrijev karbonat ( $Na_2CO_3$ ) kako bi se uklonila zaostala voda. Nakon sušenja natrijev karbonat se ukloni filtriranjem preko vate, a kloroformski ekstrakt se prebaci u tikvicu s okruglim dnom te se upari do suha na rotavaporu. Produkt reakcije je mukozni talog kojeg je potrebno isprati „suhim“ eterom te upariti zaostalo otapalo (uz povremeno zagrijavanje) sve do pojave kristala. Čistoća dobivenog produkta ispita se tankoslojnom kromatografijom. Iskorištenje reakcije prelazi 90%.

### 3.4. Kvaternizacija 3-aminokinuklidina

Odgovarajući enantiomer 3-aminokinuklidina otopi se u približno 1 mL suhog acetona u tikvici s okruglim dnom. U tikvicu se direktno mikropipetom doda ekvimolarni volumen 1-bromtetradekana. Tikvica se ostavi u mraku 48 sati, na sobnoj temperaturi, uz miješanje na magnetnoj miješalici. Nakon 48 sati reakcijska smjesa se upari do suha. Novonastali kristali se isperu "suhim" eterom nekoliko puta, a preostalo otapalo se upari na rotavaporu (Slika 23). Čistoća produkta ispita se tankoslojnom kromatografijom. Iskorištenje reakcije prelazi 90%.



**Slika 23.** Büchi Rotavapor R-200 - uređaj za uparavanje

### 3.5. Praćenje tijekom reakcije tehnikom tankoslojne kromatografije

Tankoslojna kromatografija česta je tehnika koja se koristi u kemijskim laboratorijima, a služi praćenju tijekom reakcije, identifikaciji i ispitivanju čistoće spojeva te razdvajanju komponenti smjesa. Metoda je brza te zahtjeva male količine uzoraka [16].

Kromatografija se provodi na stacionarnoj fazi, odnosno adsorbensu. Najčešće se kao stacionarna faza koristi silika gel ili pak aluminijev oksid [16]. Za potrebe ovog završnog rada, kao polarna stacionarna faza korišten je aluminijev oksid na nosaču od aluminija, proizvođača *Macherey-Nagel*. Mobilna faza je zaslužna za prijenos uzorka kroz stacionarnu fazu [16], a za potrebe ovog završnog rada, kao mobilna faza je korišten sustav otapala kloroforma i metanola u omjeru 5:1. Mobilna faza se, zbog kapilarosti, „penje“ kroz adsorbens. Udaljenost koju uzorak nošen mobilnom fazom prijeđe ovisi o polarnosti samog uzorka [16].

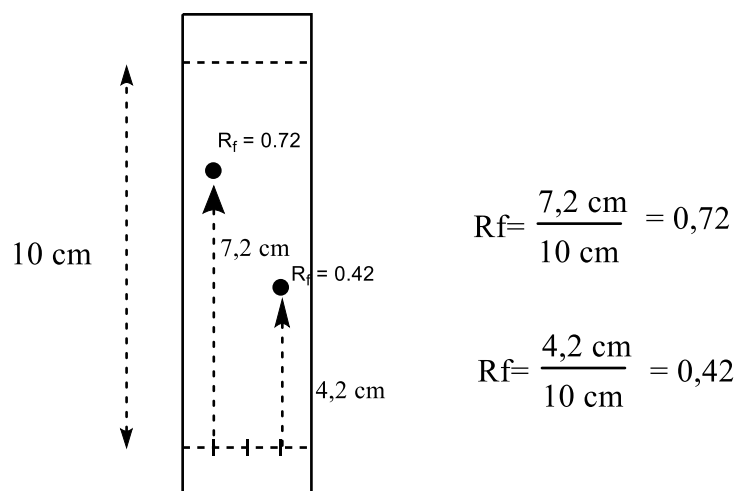
Na pločicu se prvo grafitnom olovkom nanese linija na koju će se nanositi uzorci. Linija se označi iznad razine sustava otapala koji služi kao mobilna faza. Također se i na kraj pločice grafitnom olovkom nanese linija koja označava visinu koju je poželjno da otapalo dosegne. Kapilaram se zatim na liniju nanese uzorak, a potom se pločica pincetom prenese u posudu u kojoj se nalazi sustav željenog otapala. Pločica se ni u jednom trenutku ne dodiruje rukama. Nakon postavljanja pločice u posudu, posuda se zatvori satnim staklom (Slika 24). U trenutku kada mobilna faza dosegne gornju liniju označenu olovkom, pločica se izvadi van iz posude. te se ostavi kako bi sustav otapala potpuno ishlapio. Nakon što otapalo ishlapi slijedi detekcija mrlja uzorka. Za uzorke koji sadrže dvostruke veze, detekcija se vrši obasjavanjem pločice s UV lampom. Za uzorke bez dvostrukih veza, detekcija se vrši primjerice parama joda [16]. Za potrebe detekcije spojeva dobivenih u ovom završnom radu, korištena je metoda detekcija mrlje parama joda pri čemu su nastale smeđe mrlje.



**Slika 24.** Tankoslojna kromatografija

Spojevi, vidljivi kao mrlje na kromatografskoj pločici se identificiraju uspoređujući takozvane retencijske faktore. Izmjeri se udaljenost od početne do konačne linije – takozvana

fronta otapala te se izmjeri udaljenost od početne linije do točke našeg uzorka. Zatim se druga vrijednost podijeli s prvom i dobije se retencijski faktor (Slika 25). Vrijednosti retencijskog faktora su između 0 i 1 [16].



**Slika 25.** Shematski prikaz kromatografske pločice i izračun retencijske vrijednosti

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

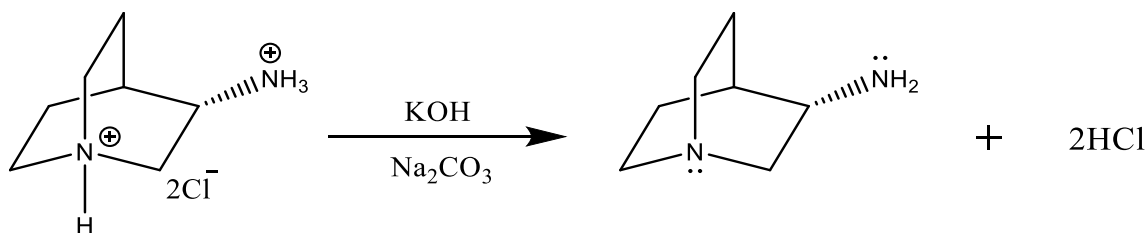
### 4.1. Rezultati

#### 4.1.1. Sinteza (*S*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidnijeva bromida

##### 4.1.1.1. Uklanjanje hidroklorida sa (*S*)-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida

Na analitičkoj vagi odvagano je 100,0 mg (*S*)-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida ( $M=199,12$  g/mol,  $n=0,5022$  mmol). Odvagana masa dodana je u zasićenu otopinu kalijeva hidroksida do otapanja uz minimalni dodatak destilirane vode i kloroforma. Otopina je miješana na magnetnoj miješalici približno 2 sata. Nakon ekstrakcije s kloroformom te sušenja kloroformskog ekstrakta približno 2 sata, ekstrakt je prebačen u tikvicu s okruglim dnom te uparavan do suha na rotavaporu uz povremeno zagrijavanje ( $t=40$  °C,  $p=30$  mbar).

Produkt reakcije je žuti mukozni talog koji je ispran "suhim" eterom te uparavan sve do pojave bijelih kristala (*S*)-3-aminokinuklidina ( $M=126,20$  g/mol,  $m=59,20$  mg,  $n=0,4691$ ,  $\eta=93,82\%$ ).

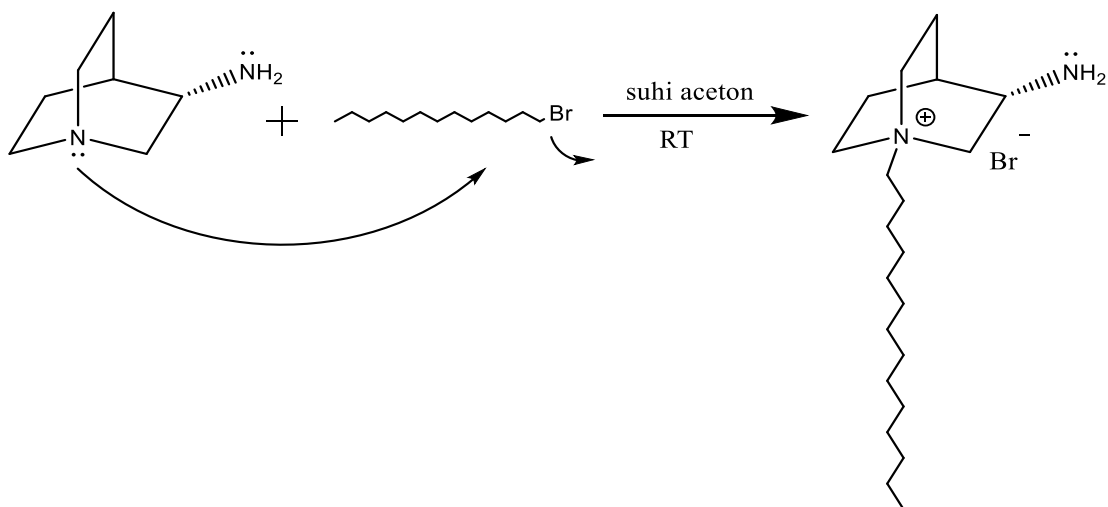


**Slika 26.** Reakcija uklanjanja hidroklorida sa (*S*)-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida

##### 4.1.1.2. Reakcija kvaternizacije (*S*)-3-aminokinuklidina

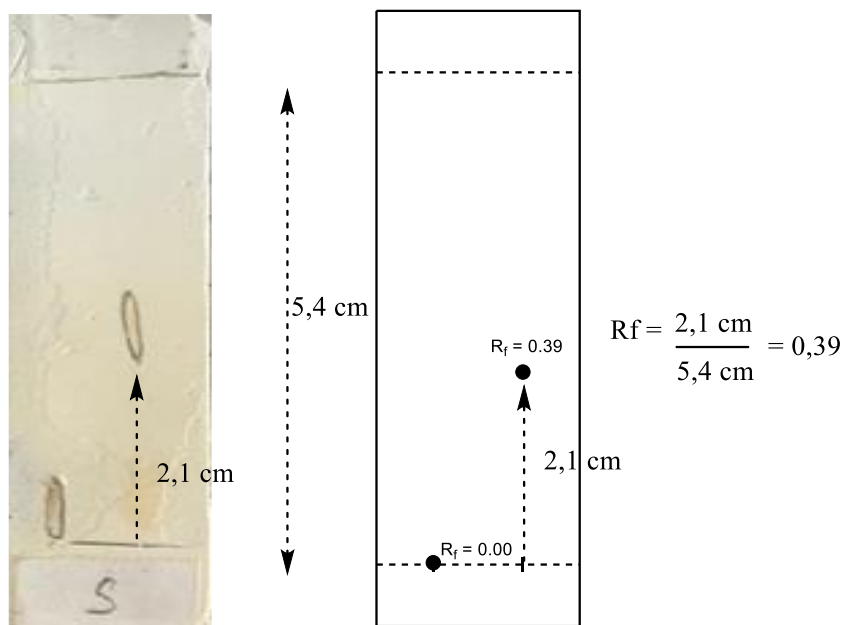
Na analitičkoj vagi odvagano je 20,00 mg (*S*)-3-aminokinuklidina ( $M=126,20$  g/mol,  $n=0,1585$  mmol) te je navedena masa prebačena u tikvicu s okruglim dnom i otopljena u približno 1 mL suhog acetona. U tikvicu je direktno mikropipetom dodano 43,2  $\mu\text{L}$  1-bromtetradekana ( $M=277,30$  g/mol,  $n=0,1585$  mol,  $\rho=1,018$  g/mL). Tikvica je ostavljena bez pristupa svjetla 48 sati, uz miješanje na magnetnoj miješalici.

Nakon 2 dana, reakcijska smjesa je uparena do suha, a bijeli novonastali kristali su isprani "suhim" eterom te je preostalo otapalo upareno ( $t=40$  °C,  $p=30$  mbar); ( $M=403,49$  g/mol,  $m=60,58$  mg,  $n=0,1501$  mmol,  $\eta=94,73\%$ ).



**Slika 27.** Reakcija kvaternizacije (*S*)-3-aminokinuklidina s 1-bromtetradekanom

Čistoća novosintetizirane kvarterne amonijeve soli (*S*)-*N*-tetradezil-3-aminokinuklidinijev bromida ispitana je tehnikom tankoslojne kromatografije. Na pločicu tankog sloja nanesen je početni uzorak (*S*)-3-aminokinuklidina otopljenog u kloroformu te produkt dobiven kvaternizacijom - (*S*)-*N*-tetradezil-3-aminokinuklidinijev bromid, također otopljen u kloroformu (Slika 28).



**Slika 28.** Tankoslojna kromatografija (i shematski prikaz) uzoraka

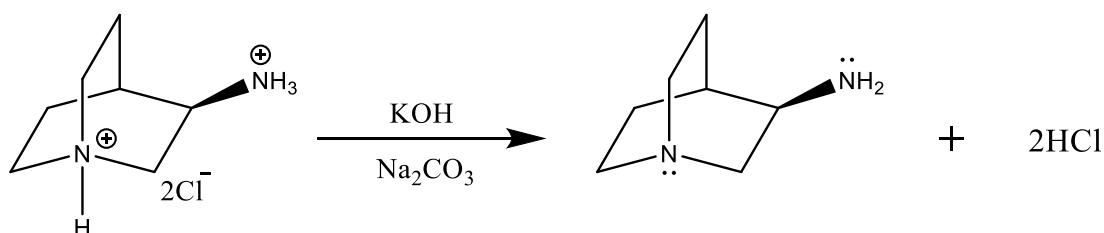
Lijevi uzorak: (*S*)-3-aminokinuklidin otopljen u kloroformu. Desni uzorak: (*S*)-*N*-tetradezil-3-aminokinuklidinijev bromid otopljen u kloroformu. Sustav otapala - kloroform:metanol= 5:1

## 4.1.2. Sinteza (*R*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidnijeva bromida

### 4.1.2.1. Uklanjanje hidroklorida s (*R*)-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida

Na analitičkoj vagi odvagano je 100,0 mg (*R*)-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida ( $M=199,12$  g/mol,  $n=0,5022$  mmol). Odvagani 3-aminokinuklidinijev dihidroklorid je uz minimalni dodatak vode i kloroforma (3 mL) otopljen u zasićenoj otopini kalijeva hidroksida. Erlenmeyerova tikvica s otopinom miješana je na magnetnoj miješalici približno 2 sata. Nakon ekstrakcije s kloroformom te sušenja ekstrakta približno dva sata, kloroformski ekstrakt je uparavan do suha u tikvici s okruglim dnom. Tikvica je povremeno zagrijavana ( $t=40$  °C,  $p=30$  mbar).

Produkt reakcije je žuti mukozni talog nakon čijeg je ispiranja “suhim“ eterom i uparavanja otapala došlo do pojave bijelih kristala (*R*)-3-aminokinuklidina ( $M=126,20$  g/mol,  $m=58,70$  mg,  $n=0,4651$  mmol,  $\eta=93,03\%$ ).

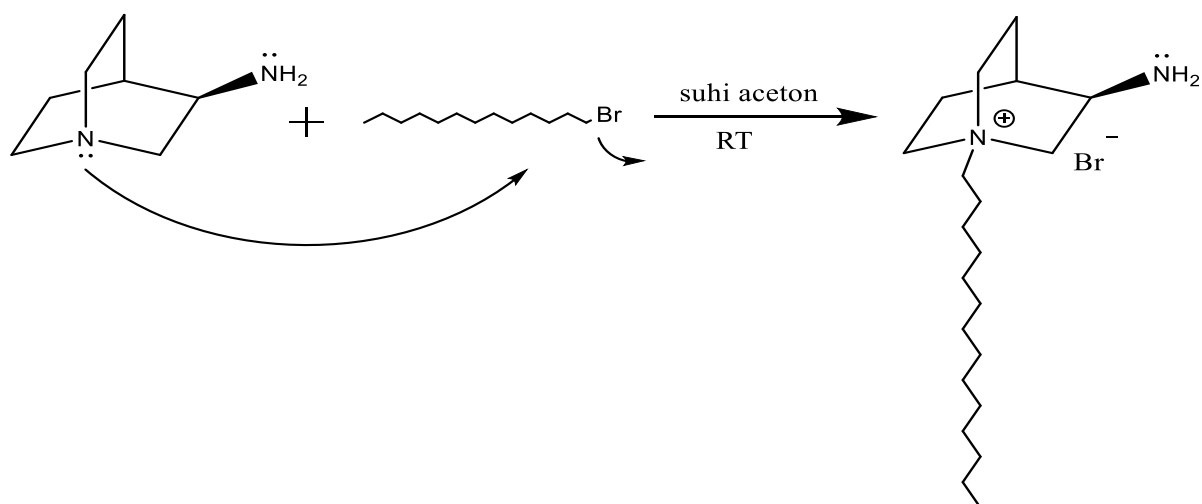


Slika 29. Reakcija uklanjanja hidroklorida s (*R*)-3-aminokinuklidinijeva dihidroklorida

### 4.1.2.2. Reakcija kvaternizacije (*R*)-3-aminokinuklidina

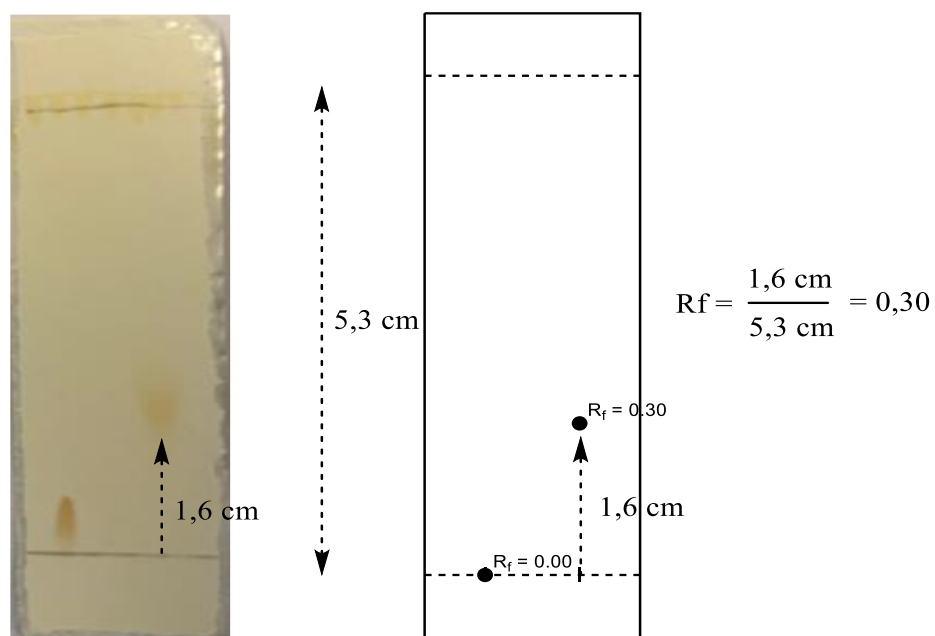
Na analitičkoj vagi odvagano je 30,00 mg (*R*)-3-aminokinuklidina ( $M=126,20$  g/mol,  $n=0,2377$  mmol) te prebačeno u tikvicu s okruglim dnom i otopljeno u približno 1 mL suhog acetona. U tikvicu je mikropipetom dodano 64,8  $\mu\text{L}$  1-bromtetradekana ( $M=277,30$  g/mol,  $n=0,2377$  mmol,  $\rho=1,018$  g/mL). Tikvica je ostavljena 48 sati bez pristupa svjetla na sobnoj temperaturi, uz miješanje na magnetnoj miješalici.

Reakcijska smjesa je zatim uparena do suha. Bijeli novonastali kristali su isprani “suhim” eterom nekoliko puta, a zaostalo otapalo je upareno ( $t=40$  °C,  $p=30$  mbar); ( $M=403,49$  g/mol,  $m=90,84$  mg,  $n=0,2251$  mmol,  $\eta=94,71\%$ ).



**Slika 30.** Reakcija kvaternizacije (*R*)-3-aminokinuklidina s 1-bromtetradekanom

Čistoća novosintetizirane kvarterne amonijeve soli (*R*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidinijev bromida ispitana je tankoslojnom kromatografijom. Na pločicu za tanki sloj nanesen je početni uzorak (*R*)-3-aminokinuklidina koji je prethodno otopljen u kloroformu te produkt dobiven kvaternizacijom - (*R*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidinijev bromid, također prethodno otopljen u kloroformu (Slika 31).



**Slika 31.** Tankoslojna kromatografija (i shematski prikaz) uzoraka

Lijevi uzorak: (*R*)-3-aminokinuklidin otopljen u kloroformu. Desni uzorak: (*R*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidinijev bromid otopljen u kloroformu. Sustav otapala - kloroform:metanol = 5:1.



## 4.2. Rasprava

U cilju sinteze kvarternih amonijevih soli, (*R*)- odnosno (*S*)-enantiomera 3-aminokinuklidinijeva bromida uklonjen je hidroklorid s polaznih enantiomera 3-aminokinuklidina. Dobiveni enantiomeri 3-aminokinuklidina posjeduju tercijski, bazični dušikov atom koji je podložan kvaternizaciji koja pospješuje biološku aktivnost spoja [3]. Za kvaternizaciju dušikova atoma korišten je 1-bromtetradekan u ekvimolarnom omjeru. Produkti su dobiveni u obliku bijelih kristala s dobrim iskorištenjem.

Čistoća dobivenih spojeva provjerena je tankoslojnom kromatografijom, a spojevi su sintetizirani s ciljem daljnjih bioloških istraživanja.

Biološka istraživanja razmatrat će eventualno različitu aktivnost sintetiziranih enantiomera kvarternih amonijevih soli 3-aminokinuklidina obzirom da je poznato da su većina lijekova u uporabi, kao i citostatici, enantiomeri s različitim biološkim djelovanjem.

Razni su primjeri spojeva u kojima enantiomeri imaju različito biološko djelovanje, pogotovo u farmakologiji – često jedan enantiomer ima povoljno biološko djelovanje, dok pak drugi enantiomer pokazuje letalnu aktivnost [6]. Zbog toga, postavlja se pitanje kakvu će biološku aktivnost pokazivati enantiomeri kvarterne amonijeve soli 3-aminokinuklidina, odnosno hoće li se primjerice njihova antimikrobna aktivnost razlikovati i u kojoj mjeri. Obzirom na veliki porast bakterijske rezistencije na postojeće kvarterne amonijeve soli, cilj je pronaći nove kvarterne soli na koje će bakterije teže postići rezistenciju [3], a možda su enantiomeri zbog svoje različite biološke aktivnosti ključ u pronalasku tih odgovora.

Obzirom na duljinu supstituiranog ugljikovodičnog lanca kvarterne amonijeve soli 3-aminokinuklidina, nameće se pitanje je li alkilni lanac od 14 ugljikovih atoma optimalan za biološku aktivnost sintetiziranih enantiomera.

## 5. ZAKLJUČAK

U izradi ovog rada sintetizirani su (*R*)- i (*S*)-enantiomeri kvarterne amonijeve soli 3-aminokinuklidina u dobrom iskorištenju. Čistoća sintetiziranih spojeva provjerena je tehnikom tankoslojne kromatografije.

(*R*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidinijev bromid i njegov enantiomer (*S*)-*N*-tetradecil-3-aminokinuklidinijev bromid sintetizirani su u svrhu daljnjih bioloških istraživanja obzirom da kvarterni amonijevi spojevi imaju široku primjenu, prvenstveno u farmaceutskoj industriji.

## 6. LITERATURA

- [1] M. C. Jennings, W. M. Wuest and K. P. C. Minbiole, "Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance," *ACS Infectious Diseases*, 2015.
- [2] S. Buffet-Bataillon, P. Tattevin, M. Bonnaure-Mallet and A. Jolivet-Gougeon, "Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds—a critical review," *International Journal of Antimicrobial Agents*, pp. 381-389, 2012.
- [3] R. Odžak and M. Šprung, "Biological activity of monoquaternary ammonium compounds based on 3-substituted quinuclidine: A short review," *Periodicum Biologorum*, pp. 16-19, 2020.
- [4] L.G. Wade, *Organska kemija*, 7 ed., Zagreb: Školska knjiga, 2017.
- [5] C. Guyton and E. Hall, *Medicinska fiziologija*, 13 ed., Zagreb: Medicinska naklada, 2017.
- [6] M. Sertić, B. Nigović and J. Mario, "Analiza kiralnih lijekova kapilarnom elektroforezom," *Farmaceutski glasnik*, pp. 467 - 476, 2010.
- [7] J. Muller, S. Pentyala, J. Dilger and S. Pentyala, "Ketamine enantiomers in the rapid and sustained antidepressant effects," *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, pp. 185-192, 2016.
- [8] T. Jurkin and M. Gotić, "Uvod u mikroemulzije," *Kemija u industriji*, pp. 389-399, 2013.
- [9] D. Crnčević, "Synthesis of quaternary ammonium salts based on quinuclidin-3-ol and pyridine-4-aldoxime with alkyl chains," *ST-open*, 2020.
- [10] D. L. Fredell, *Biological Properties and Applications of Cationic Surfactants (Analytical and Biological Evaluation)*, CRC Press, 1994.
- [11] S.H.Pine, *Organska kemija*, 5. ed., Zagreb: Školska knjiga, 1994..

- [12] W. S. Hamama, O. M. Abd El-Magid and H. H. Zoorob, "Chemistry of Quinuclidines as Nitrogen Bicyclic Bridged-ring Structures," *Journal of Heterocyclic Chemistry*, pp. 1397-1418, 2006.
- [13] L. Yakhontov, "Quinuclidine Chemistry," in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 1970, pp. 473-523.
- [14] G. A. Bohme, S. R. Letchworth, O. Piot-Grosjean, G. J. Gatto, M. -C. Obinu, W. S. Caldwell, M. Laville, P. Brunel, R. Pellerin and J. -P. Leconte, "Drug Dev. Res.," no. 62, pp. 26-40, 2004.
- [15] W. S. Hamama, O. M. Abd El-Magid and H. H. Zoorob, "Fused and spiro nitrogen heterocycles of quinuclidine and its C-nucleosides," *European Journal of Chemistry*, pp. 552-557, 2011.
- [16] [Mrežno]. Available: <https://www.chem.ucla.edu/~bacher/General/30BL/tips/TLC1.html>. [Pristupljeno 1. 9. 2022.].