

Enantioselektivna kromatografija β -aminoalkohola na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

Šporec, Anita

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:927553>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Anita Šporec

**ENANTIOSELECTIVE
CHROMATOGRAPHY OF β -AMINO
ALCOHOLS ON POLYSACCHARIDE
BASED CHIRAL STATIONARY PHASES**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015.



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Anita Šporec

**ENANTIOSELEKTIVNA
KROMATOGRAFIJA
 β -AMINOALKOHOLA NA
POLISAHARIDNIM KIRALNIM
NEPOKRETNIM FAZAMA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:
Dr. sc. Vladimir Vinković

Zagreb, 2015.



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Anita Šporec

**ENANTIOSELECTIVE
CHROMATOGRAPHY OF β -AMINO
ALCOHOLS ON POLYSACCHARIDE
BASED CHIRAL STATIONARY PHASES**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:
Dr. Vladimir Vinković

Zagreb, 2015.

Zahvaljujem svom mentoru dr. sc. Vladimiru Vinkoviću na svim savjetima i smjernicama prilikom izrade rada.

Eksperimentalni dio rada izrađen je u ugodnoj radnoj atmosferi laboratorija Službe istraživanja „Belupa d.d.“ Zahvaljujem svim suradnicima na pomoći, a ponajviše dr. sc. Ivici Cepancu i mr. sc. Anamariji Bartolinčić.

Od srca zahvaljujem svojoj dragoj kolegici dr. sc. Mariji Lovrić za nesebičnu pomoć pri izradi rada.

Veliko hvala mojoj mami na upornosti i čvrstini, a posebno hvala jer se, uz moju svekrvu, brinula za moje anđele Mihaela i Doru kako bih se mogla neometano posvetiti izradi rada.

Hvala mom dragom suprugu Marku za pruženu ljubav, podršku i strpljivost.

Posvećujem ovaj rad mome ocu koji je umro od bolesti srca.

Dragi tata,

znam da me vidiš i da si ponosan na mene. Hvala ti što sam ti bila mezimica, tvoja tica. Zbog te ljubavi imam snagu za život.

Tvoja Nana

SADRŽAJ

SAŽETAK	XIII
ABSTRACT.....	XV
1. UVOD.....	1
2. LITERATURNI PREGLED.....	3
2.1 KIRALNOST LIJEKOVA	3
2.1.1 Primjeri kiralnih lijekova	4
2.1.2 Prednosti enantiomerno čistih lijekova.....	9
2.2 β -AMINOALKOHOLI - BIOLOŠKI AKTIVNI SPOJEVI	11
2.2.1 Rasprostranjenost i primjena β -aminoalkohola prirodnog porijekla.....	11
2.2.2 Primjene β -aminoalkohola sintetskog porijekla.....	13
2.2.3 Sintetski putevi priprave β -aminoalkohola	15
2.2.4 Katalitička asimetrična amonoliza epoksida.....	16
2.2.4.1 Asimetrična amonoliza epoksida katalizirana metalnim triflatima.....	18
2.3 ENANTIOSELEKTIVNE KROMATOGRFSKE METODE.....	23
2.3.1 Polisaharidne kiralne nepokretne faze.....	27
2.3.2 Mehanizam kiralnog prepoznavanja na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama	28
3. EKSPERIMENTALNI DIO	33
3.1 MATERIJALI.....	33
3.1.1 Kemikalije.....	33
3.1.2 Otopine uzoraka za enantioselektivnu analizu	34
3.1.2.1 Otopine modelnih β -aminoalkohola.....	34
3.1.2.2 Otopine kardiovaskularnih lijekova	34
3.1.3 Pribor	35
3.1.4 Uređaji	35
3.2 METODE	36
3.2.1 Priprava β -aminoalkohola 1. skupine.....	36
3.2.1.1 Priprava <i>p</i> -metilstiren-oksida	37
3.2.1.2 Priprava <i>p</i> -bromstiren-oksida	37

3.2.1.3 Priprava katalizatora kalcijevog trifluormetansulfonata	39
3.2.1.4 Opći postupak priprave β -aminoalkohola 1. skupine.....	39
3.2.1.5 Postupci priprave pojedinačnih β -aminoalkohola 1. skupine	43
3.2.2 Priprava β -aminoalkohola 2. skupine.....	47
3.2.2.1 Priprava glicidil-fenil-etera.....	47
3.2.2.2 Postupci priprave pojedinačnih β -aminoalkohola 2. skupine	50
3.2.3 Priprava β -aminoalkohola 3. skupine.....	53
3.2.3.1 Opći postupak priprave β -aminoalkohola 3. skupine.....	53
3.2.3.2 Postupci priprave pojedinačnih β -aminoalkohola 3. skupine	55
3.2.4 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola	60
3.2.4.1 Priprava enantiomerno čistih epoksida.....	60
3.2.4.2 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola 1. skupine	62
3.2.4.3 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola 2. skupine	64
3.2.4.4 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola 3. skupine	66
3.2.5 Radni uvjeti tekućinsko kromatografskih analiza.....	68
3.2.5.1 Radni uvjeti pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 1. skupine	69
3.2.5.2 Radni uvjeti pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 2. skupine	70
3.2.5.3 Radni uvjeti pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 3. skupine	71
3.2.5.4 Radni uvjeti pri analizi enantiomera kardiovaskularnih lijekova.....	72
4. REZULTATI I RASPRAVA	73
4.1 ODJELJIVANJE ENANTIOMERA MODELNIH β -AMINOALKOHOLA NA POLISAHARIDNIM NEPOKRETNIM FAZAMA.....	73
4.1.1 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola 1. skupine.....	74
4.1.1.1 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1A	76
4.1.1.2 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1B	80
4.1.1.3 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1C.....	84
4.1.2 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola 2. skupine.....	88
4.1.2.1 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2A	89
4.1.2.2 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2B	95
4.1.2.3 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2C.....	100
4.1.3 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola 3. skupine.....	107

4.1.3.1	Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3A ..	108
4.1.3.2	Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3B ..	113
4.1.3.3	Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3C ..	121
4.2	MEHANIZAM KIRALNOG PREPOZNAVANJA MODELNIH β -AMINOALKOHOLA NA POLISAHARIDNIM NEPOKRETNIM FAZAMA ...	127
4.3	ENANTIOSELEKTIVNA ANALIZA KARDIOVASKULARNIH LIJEKOVA ČIJA JE DJELATNA TVAR β -AMINOALKOHOL	134
5.	ZAKLJUČAK	141
6.	POPIS KRATICA	143
7.	LITERATURNI IZVORI	144
8.	ŽIVOTOPIS	151
	DODATAK	XVII



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

ENANTIOSELEKTIVNA KROMATOGRAFIJA β -AMINOALKOHOLA NA POLISAHARIDNIM KIRALNIM NEPOKRETNIM FAZAMA

Anita Šporec

Genera Analitika d.o.o., Svetonedeljska 2, Kalinovica

Pripravljeno je dvadeset i pet modelnih β -aminoalkohola (β -aa) podijeljenih u tri skupine s obzirom na način sinteze. Prva skupina spojeva sintetizirana je katalitičkom amonolizom racemičnih derivata stiren-oksida (**43a-50a**), druga skupina amonolizom glicidil-fenil-etera (**57-65**), a treća amonolizom simetričnih *meso*-epoksida (**71-78**). Sintetizirani spojevi su racemične smjese *R*- i *S*- enantiomera. Razvijene su enantioselektivne tekućinsko kromatografske metode za njihovo odjeljivanje na četiri „kiralne kolone“, uz detekciju spojeva UV-detektorom s nizom fotodioda. Za svaku kombinaciju sastava pokretne faze i polisaharidne kiralne nepokretne faze razmatrani su enantio-kromatografski pokazatelji (k_1 , α , R_s). Za potvrdu redoslijeda ispiranja enantiomera (*R*- ili *S*-) s kolone, pripremljeni su enantiomerno čisti predstavnici triju skupina β -aa. Na temelju rezultata enantioselektivne analize predloženi su mogući mehanizmi kiralnog prepoznavanja modelnih β -aa. Primjenjivost razvijenih metoda potvrđena je odjeljivanjem enantiomera četiriju kardiovaskularnih lijekova čija je djelatna tvar po sastavu β -aa: atenolola, sotalola, bisoprolola i karvedilola. Kolona *Chiralcel OD* pokazala se učinkovitom za odvajanje enantiomera kako modelnih β -aa tako i kardiovaskularnih lijekova.

(153 + LII stranica, 71 slika, 12 tablica, 13 shema, 3 priloga, 152 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

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

Ključne riječi: β -aminoalkoholi / enantioselektivna kromatografija / polisaharidne kiralne nepokretne faze / kardiovaskularni lijekovi

Mentor: Dr. sc. Vladimir Vinković, znan. savj.

Ocjenitelji: Prof. dr. sc. Vlasta Drevenkar, znan. savj. i nasl. red. prof.

Dr. sc. Vladimir Vinković, znan. savj.

Prof. dr. sc. Srđanka Tomić-Pisarović

Rad prihvaćen: 27. svibnja 2015.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

ENANTIOSELECTIVE CHROMATOGRAPHY OF β -AMINO ALCOHOLS ON POLYSACCHARIDE CHIRAL STATIONARY PHASES

Anita Šporec

Genera Analitika d.o.o., Svetonedeljska 2, Kalinovica

Synthesis of twenty five model β -amino alcohols (β -aa) is described. Based on the synthetic approach applied for preparation, three classes of β -aa are identified: the first class is made by catalytic amonolysis of racemic derivatives of styrene oxide (**43a-50a**), the second by amonolysis of ethyl glycidyl ether (**57-65**) and the third by amonolysis of symmetric *meso*-epoxides (**71-78**). Prepared compounds were racemic mixtures of *R*- and *S*- enantiomers and efficient analytical methods for enantioseparation were developed using “chiral columns” connected with high performance liquid chromatograph and UV diode-array detector. For each combination of mobile phase composition and polysaccharide-based stationary phase, enantio-chromatographic parameters were studied (k_1 , R_s , α). For confirmation of enantiomer elution order (*R*- or *S*-) from the column, enantioenriched representative compounds were synthesized. Based on the enantioselective chromatography results mechanisms of chiral recognition of β -aa were proposed. Applicability of developed enantioselective methods was confirmed on four cardiovascular drugs with β -aa moiety: atenolol, sotalol, bisoprolol, carvedilol. It was found that the best enantioseparation of model β -amino alcohols and tested cardiovascular drugs was obtained with *Chiralcel OD* column.

(153 + LII pages, 71 figures, 12 tables, 13 schemes, 3 appendix, 152 references, original in Croatian)

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

Keywords: enantioselective chromatography / β -amino alcohols / polysaccharide-based stationary phases / cardiovascular drugs

Supervisor: Dr. Vladimir Vinković, Senior Scientist

Reviewers: Dr. Vlasta Drevenkar, Senior Scientist and Professor
Dr. Vladimir Vinković, Senior Scientist
Dr. Srđanka Tomić-Pisarović, Professor

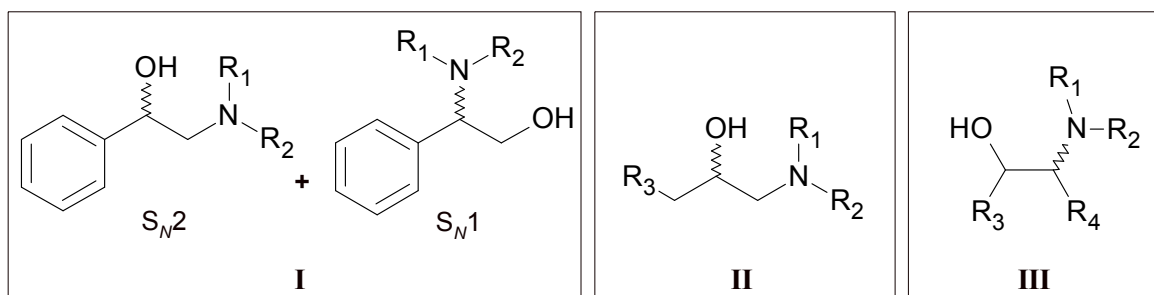
Thesis accepted: 27th May 2015.

1. UVOD

Više od polovice lijekova na tržištu su kiralni, što znači da njihove molekule sadrže jedan ili više kiralnih centara. U živom organizmu kiralni lijekovi dolaze u doticaj sa stereoselektivnim makromolekulama: šećerima, proteinima, enzimima i receptorima, zbog čega se razlikuju u farmakodinamičkim, farmakokinetičkim i toksikološkim djelovanjima. Regulatorna tijela zahtijevaju od farmaceutskih tvrtki da pri postupku registracije lijeka prilože dokaze o provedenim kemijskim, predkliničkim i kliničkim ispitivanjima svih stereoizomernih oblika kiralnog lijeka.^{1,2} Premda postoji više analitičkih metoda za odjeljivanje enantiomera, u praksi se najčešće za kontrolu kvalitete lijekova i farmakokinetička istraživanja koristi tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC).³ S obzirom na činjenicu da su u zapadnim zemljama Europe, a i u Hrvatskoj, bolesti krvožilnog sustava vodeći uzrok smrtnosti, uočen je trend porasta proizvodnje i prodaje kardiovaskularnih lijekova.^{4,5} Pri tome veliku ulogu igraju spojevi s β -aminoalkoholnom strukturom koji terapijski djeluju kao vazokonstriktori (sužavaju krvne žile), antihipertenzivi (smanjuju povišen krvni tlak), β -blokatori (najraširenija skupina za liječenje niza različitih srčanih oboljenja te oboljenja štitnjače), α -blokatori (za liječenje kožnih oboljenja) te bronhodilatatori (za liječenje alergija i astme). U kliničkoj praksi β -blokatori su zastupljeni zadnjih pedesetak godina, a u Hrvatskoj se redovito primjenjuju za liječenje različitih srčanih tegoba.⁶ Većina ih je na tržištu prisutna kao racemične smjese, premda je njihovo djelovanje enantioselektivno. U cilju proizvodnje lijeka s točnim farmakokinetičkim i farmakodinamičkim svojstvima, odnosno željenim terapijskim djelovanjem, potrebne su brze i osjetljive enantioselektivne analitičke metode. Glavna karakteristika takve metode jest mogućnost kontrole enantiomerne čistoće intermedijarnih i konačnih spojeva, ali i njihovih metabolita.⁷

Cilj ovog rada bio je:

- Pripraviti tri skupine modelnih kiralnih β -aminoalkohola općih struktura **I**, **II** i **III**:



- Provesti postupak sinteze katalitičkom amonolizom derivata stiren-oksida (spojevi tipa **I**) i niza racemičnih epoksida (spojevi tipa **II** i **III**) s različitim aminima, prema metodi razvijenoj u laboratoriju Službe istraživanja, Belupo, lijekovi i kozmetika, d.d. U slučaju katalitičke amonolize derivata stiren-oksida nastaje smjesa regioizomernih β -aminoalkohola koja sadrži različite omjere S_N2 i S_N1 produkata (**I**).
- Ispitati uvjete odjeljivanja enantiomera pripremljenih spojeva tehnikom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti uz detekciju UV-detektorom s nizom fotodioda. Mijenjanjem kromatografskih uvjeta na četiri kolone s polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama tržišnih imena *Chiralpak AD*, *Chiralpak AS*, *Chiralcel OJ*, *Chiralcel OD*, odrediti koji selektor pokazuje najbolje kiralno prepoznavanje za većinu ispitivanih spojeva iz tri skupine modelnih β -aminoalkohola.
- Prema rezultatima enantioselektivne kromatografije uočiti ulogu kemijske strukture β -aminoalkohola u stereoselektivnom prepoznavanju sa selektorom nepokretne faze, što će omogućiti predlaganje mogućeg mehanizma kiralnog prepoznavanja analita i selektora.
- U cilju potvrde koliko su razvijene metode analize primjenjive za analizu realnih lijekova, ispitati odjeljivanje enantiomera četiriju kardiovaskularnih lijekova koji su po sastavu β -aminoalkoholi: atenolol, sotalol, bisoprolol i karvedilol.

2. LITERATURNI PREGLED

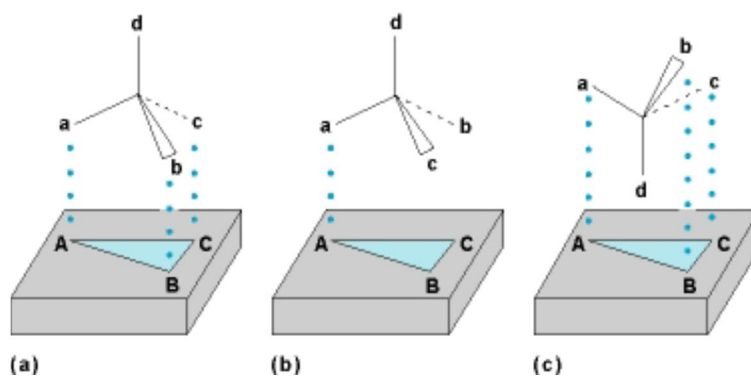
2.1 Kiralnost lijekova

Na molekularnom nivou, ljudsko tijelo složeni je kiralni sustav izgrađen od kiralnih osnovnih jedinica: aminokiselina, šećera, nukleinskih kiselina DNA i RNA, kao i lipida. Njihovim vezivanjem nastaju složene kiralne jedinice: peptidi, proteini (receptori i enzimi), polisaharidi, hormoni, vitamini i biomembrane (fosfolipidi i glikolipidi). Zahvaljujući tome, omogućena su dva temeljna životna procesa: sinteza specifičnih proteina isključivo iz L- α -aminokiselina, te replikacija DNA isključivo iz D-monosaharida.⁸

Enantiomeri kiralnog lijeka u akiralnom okruženju imaju identična fizička i kemijska svojstva, ali prelaskom u kiralno okruženje *in vivo* mogu djelovati kemijski i farmakološki drugačije. Djelovanje lijekova započinje vezivanjem lijeka na receptore - specifična mjesta sastavljena od homokiralnih biomolekula složene trodimenzionalne strukture. Receptori selektivno prepoznaju svaki enantiomer lijeka, a posljedica je različita integracija enantiomera kroz složen biokemijski sustav ljudskog tijela. Stoga je prikladno promatrati dva enantiomera lijeka kao dva zasebna lijeka s različitim svojstvima. Farmakodinamička svojstva lijeka opisuju način kojim svaki od enantiomera ulazi u interakciju s „ciljanim“ receptorima. Pokreće se kaskadni niz reakcija enzima i receptora, steroida i hormona. Dolazi do prijenosa proteina u krvnu plazmu, a potom i do specifičnih tkiva, te do karakteristične pojave „doza-odgovor“. Sve navedeno očituje se u terapijskom i/ili toksičnom djelovanju svakog od enantiomera lijeka. Farmakokinetička svojstva lijeka opisuju što tijelo „radi“ s lijekom, odnosno kazuju u kojem vremenu lijek i njegovi metaboliti podliježu nizu događaja poput apsorpcije, raspodjele, metabolizma i izlučivanja iz tijela. Od navedenih procesa, za stereoselektivnost farmakokinetike lijeka vrlo je bitan metabolizam lijeka, jer metabolički enzimi pokazuju prioritet ka jednom od enantiomera kiralnog lijeka. Pri tome su strukturne značajke enzima ključan faktor za razlikovanje enantiomera. Klinička farmakologija objedinjuje farmakodinamiku i farmakokinetiku kiralnog lijeka te ima ključan doprinos pri odabiru terapije.⁹

Arthur R. Cushny, škotski liječnik, prvi je 1912. godine iznio pretpostavku da je receptor u organizmu kiralan te da enantiomeri lijeka prave diastereomerne komplekse lijek-receptor.¹⁰ Smatrao je da kiralni receptori u ljudskom organizmu ulaze u interakciju s onom

molekulom lijeka koja ima odgovarajuću apsolutnu konfiguraciju, a rezultat je različita farmakološka aktivnost enantiomera. Danas je poznato, na temelju Eason-Stedmanovog principa, da je za željenu farmakološku reakciju potrebna stereoselektivna tropoložajna interakcija lijeka s receptorom (Slika 1).¹¹ Mesecar i Koshland su objavili da je potrebna još i četvrta interakcija kako bi u organizmu došlo do razlikovanja para enantiomera. To može biti zahtjev za usmjerenjem veze ili dodatno vezujuće mjesto. Također navode da je tropoložajni model primjenjiv samo ukoliko ne postoji pretpostavka da je jedna od funkcionalnih grupa planarna.¹²



Izvor slike: ref.10.

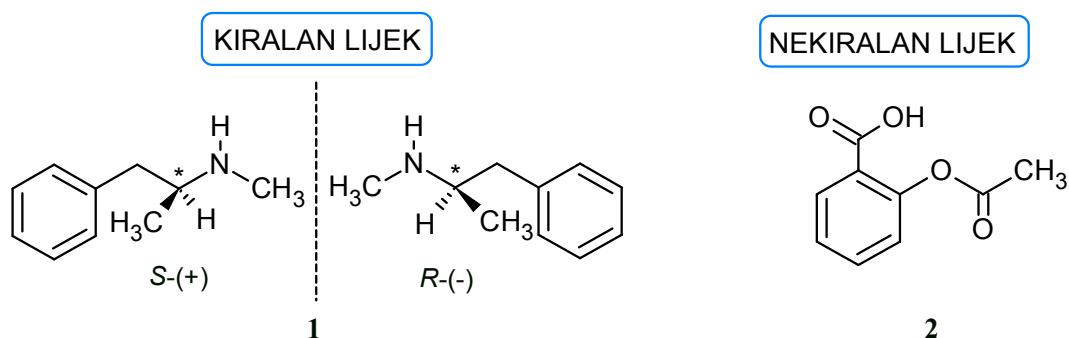
Slika 1. Eason-Stedmanov princip tropoložajne interakcije:

- a) „*Idealno*“: istovremena stereoselektivna interakcija triju različitih funkcionalnih grupa (a, b, c) i triju mjesta na površini receptora (A, B, C) \Rightarrow potpuna biološka aktivnost lijeka.
- b) „*Ne-idealno*“: nastajanje samo jedne interakcije \Rightarrow smanjena biološka aktivnost lijeka ili potpuna odsutnost biološke aktivnosti.
- c) „*Ne-idealno*“: tri nepotpune ili manje izražene interakcije s mjestima na površini receptora \Rightarrow smanjena biološka aktivnost lijeka ili potpuna odsutnost biološke aktivnosti.

2.1.1 Primjeri kiralnih lijekova

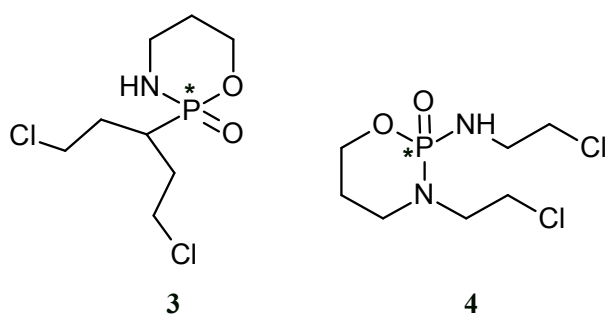
Obzirom na svojstvo kiralnosti lijekovi mogu biti akiralni (nekiralni), racemični i enantiomerno čisti. Pri tome mogu posjedovati jedan ili više kiralnih centara. Enantiomerno čisti ili homokiralni lijekovi kemijske su jedinice koje se nalaze isključivo u jednom enantiomernom obliku. Takvi se lijekovi vrlo često izoliraju iz prirodnih izvora, primjerice levotiroksin, morfij, levodopa, (-)-brucin, itd. Ukoliko posjeduju jedan kiralni centar, postoje u dva enantiomerna oblika. Farmakološki aktivniji enantiomer naziva se eutomer, dok se manje aktivan ili neaktivan enantiomer naziva distomer. S druge strane, kemijski sintetizirani farmaceutski lijekovi većinom su racemični - primjerice Ibuprofen®, Atenolol®, Varfarin®,

Fluoksetin®, Omeprazol®, Metamfetamin®, itd., ili akiralni - Aspirin®, piridoksin-vitamin B₆, neurotransmitter dopamin, itd.^{13,14} Na Slici 2 prikazani su enantiomeri kiralnog lijeka *Metamfetamina*® (1) te nekiralnog lijeka *Aspirina*® (2).



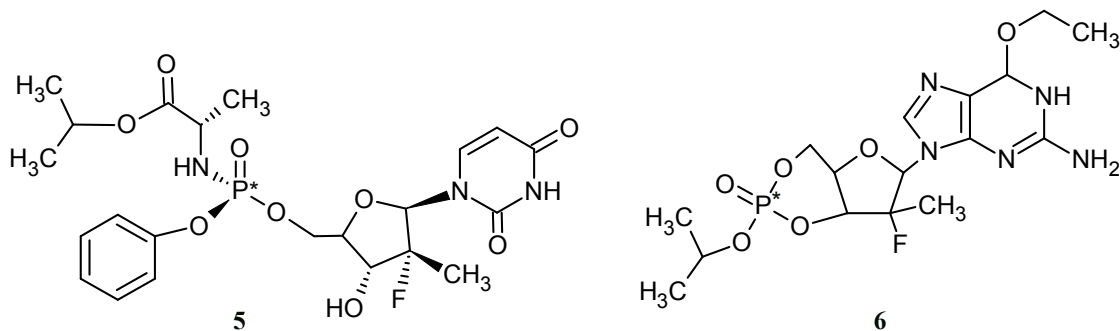
Slika 2. Strukture kiralnog lijeka *Metamfetamina*® (1) i nekiralnog lijeka *Aspirina*® (2)

Kiralni centar ili centar asimetrije kod lijekova najčešće je ugljikov atom, ali može biti sumpor, dušik ili fosfor. Enantiomeri koji sadrže fosfor kao centar asimetrije mogu sadržavati fosfin, fosfin oksid, fosfinat ili fosfonijev ion. Na Slici 3 prikazani su primjeri lijekova koji sadrže fosforu grupu. *Ciklofosfamid*® (3) je antineoplastični (antitumorski) lijek koji se u jetri prevodi u aktivni oblik koji ima kemoterapeutsko djelovanje, a koristi se za liječenje limfoma, nekih oblika tumora mozga i leukemije. *Ifosfamid*® (4) je lijek koji nespecifično djeluje alkilacijom DNA i time povoljno djeluje pri liječenju različitih tumora.^{15,16}



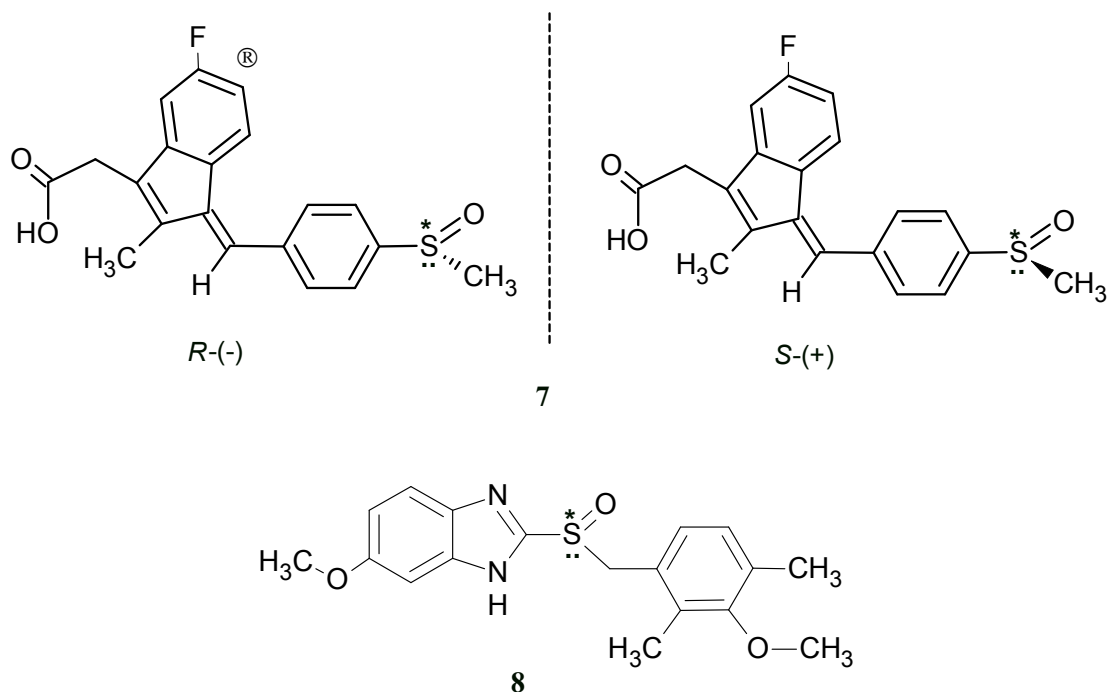
Slika 3. *Ciklofosfamid*® (3) i *Ifosfamid*® (4) - antitumorski lijekovi koji sadrže kiralni fosfor

Postoje lijekovi koji se primjenjuju u inaktivnom ili manje aktivnom obliku, a koji potom u tijelu prelaze u svoj aktivni oblik. Takvi se lijekovi nazivaju prolijekovi. Na Slici 4 prikazana su dva primjera kiralnih prolijekova, koji sadrže fosfor kao centar kiralnosti, a koriste se za liječenje hepatitisa C, ali za sada samo u uvjetima *in vitro*. To su *Sofosbuvir*® (5) - nukleotid omotan na fosforamidat, te novi ciklički fosfatni prolijek β -D-2-deoksi-2'- α -fluor-2'- β -C-metilgvanozin-5'-monofosfat (6).^{17,18}



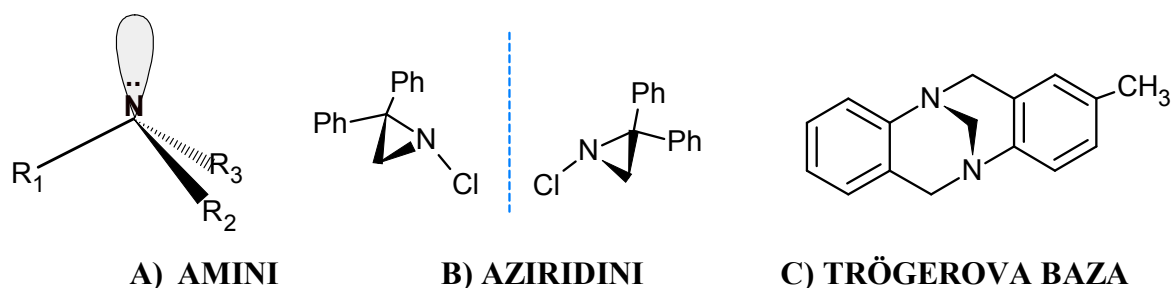
Slika 4. Sofosbuvir® (5) i β -D-2-deoksi-2'- α -fluor-2'- β -C-metilgvanozin-5'-monofosfat (6) - prolijekovi koji sadrže kiralni fosfor, a koriste se za liječenje hepatitisa C

Enantiomeri koji sadrže sumpor kao centar asimetrije mogu sadržavati sljedeće funkcionalne skupine ili ione: sulfoksid, sulfinate, sulfite, sulfonijeve soli ili sulfone. *Sulindak*® ili *Clinoril*® (7), kemijskog imena $\{(1Z)$ -5-fluor-2-metil-1-[4-(metilsulfonyl)benziliden]-1*H*-inden-3-il]octena kiselina, nesteroidni je protuupalni lijek. Na Slici 5 prikazana je njegova struktura gdje je sumporni atom vezan s četiri različita supstituenta, od kojih je jedan slobodni elektronski par. Na Slici 5 prikazan je i *S*-enantiomer omeprazola, kiralni lijek *Esomeprazol*® ili *Nexium*® (8), kao drugi primjer lijeka s kiralnim sumporom, a koji se koristi pri liječenju bolesti probavnih organa: primjerice dispepsije, Zollinger-Ellisonova sindroma i refluksa.^{19,20}



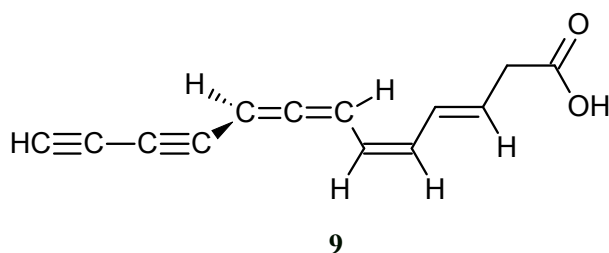
Slika 5. *Sulindak*® (ili *Clinoril*®) (7), te *Esomeprazol*® (ili *Nexium*®) (8) - primjeri lijekova s kiralnim sumporom

Dušikovi derivati (tercijarni amini) obično brzo interkonvertiraju kroz trigonalno planarno prijelazno stanje (piramidalna inverzija) te stoga nisu konfiguracijski dovoljno stabilni da se mogu razdvojiti u enantiomere (Slika 6A). Amonijak interkonvertira 2×10^{11} puta u sekundi i, iako je taj proces sporiji za supstituirane amine, još uvijek je vrlo brz pri sobnoj temperaturi. Iznimka su dušikovi atomi u malim prstenovima poput aziridina (Slika 6B). Kod njih trigonalno planarno prijelazno stanje inverzije razvija energiju napetosti u prstenu. Drugi primjeri konfiguracijski stabilnih amina su biciklički prstenasti sustavi gdje je dušik smješten kao most između prstenova. Geometrijska ograničenja u takvim prstenastim sustavima mogu spriječiti inverziju. Tipičan primjer je Trögerova baza (Slika 6C). Iz navedenih razloga lijekovi sa stereogenim centrom dušikom vrlo su rijetki.²¹



Slika 6. Strukturni prikaz: A) tercijarnih amina; B) enantiomera aziridina; C) Trögerove baze

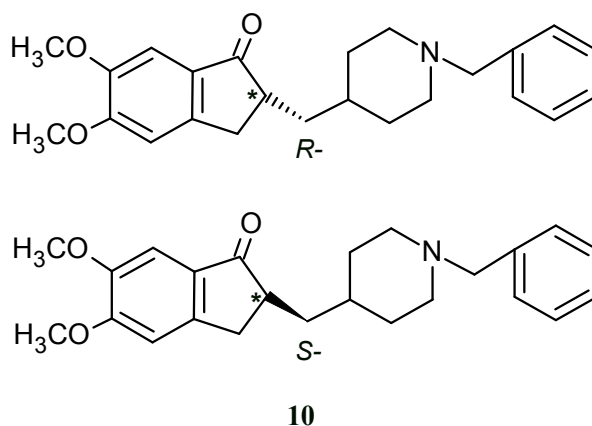
Kod svih navedenih primjera lijekova izvor kiralnosti je jedan atom, centar asimetrije ili centar kiralnosti: ugljik, dušik, fosfor ili sumpor. Takva kiralnost naziva se središnja kiralnost i kod kemijski sintetiziranih lijekova najčešći je taj tip kiralnosti. Postoje i drugi izvori kiralnosti: osna, planarna i helikoidalna kiralnost. Mnogi prirodni produkti s biarilnim prstenovima posjeduju osnu kiralnost, primjerice alkaloidi, flavonoidi, kumarini, tanini i terpeni. Osna kiralnost se također pojavljuje i kod prirodnih alena $abC=C=Cab$. Na Slici 7 prikazan je prirodni alen - antibiotik mikomicin (**9**), izoliran iz *Nocardia acidophilus* 1951. godine. Primarno se farmakološki koristi pri liječenju tuberkuloze, premda je u novije vrijeme vrlo uspješan pri liječenju neoperabilnog tumora jetre.²²



Slika 7. Antibiotik mikomicin (**9**) izoliran iz *Nocardia acidophilus*

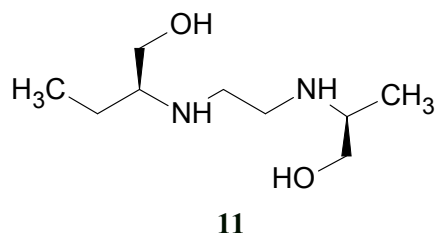
U prirodi se rjeđe pojavljuju spojevi s farmakološkom aktivnošću koji posjeduju planarnu kiralnost. Pronađena je kod (+)-galeona, spoja izoliranog iz biljke *Myrica gale*, a elementi planarne kiralnosti pojavljuju se i kod antibiotika vankomicina te njemu srodnih spojeva.²³ Kiralnost vankomicina je složena, jer taj spoj ima čak osamnaest kiralnih centara. Aglikoni sadrže heptapeptide koji posjeduju središnju kiralnost, biarilne jedinice osnu kiralnost, a dvije kiralne ravnine nalaze se u makrociklima. Zbog navedenih kiralnih svojstava vankomicin se pokazao izvrsnom kiralnom nepokretnom fazom, posebice u kapilarnoj elektroforezi.

Primjer lijeka koji sadrži planarnu i helikalnu kiralnost jest *Donepezil*® ili *Aricept*®, prikazan na Slici 8. *Donepezil*® (**10**), kemijskog imena (*R,S*)-2-[(1-benzil-4-piperidil)metil]-5,6-dimetoksi-2,3-dihidroinden-1-on reverzibilni je inhibitor acetilkolinesteraze, a koristi se pri liječenju Alzheimerove bolesti.²⁴



Slika 8. *R*- i *S*-enantiomer *Donepezila*® (**10**) koji sadrži planarnu i helikalnu kiralnost

Na Slici 9 prikazan je antituberkulotik (*S,S*)-(+)-*Etambutol*® (**11**), kemijskog imena (*S,S*)-(+)-2,2'-(etilendiimino)-di-1-butanol, koji je 1961. godine na tržište stavljen kao prvi lijek u enantiomerno čistom obliku. Vrlo brzo nakon otkrića uočeno je da dijastereomer (*R,R*)-*etambutol* uzrokuje sljepoću te da je terapijski djelotvoran u liječenju tuberkuloze samo eutomer (*S,S*)-*etambutol* (**11**).²⁵



Slika 9. (*S,S*)-(+)-*Etambutol*® (11) - prvi enantiomerno čisti lijek, koji se pojavio na tržištu 1961. godine

2.1.2 Prednosti enantiomerno čistih lijekova

Usporedbom djelovanja enantiomerno čistih lijekova u odnosu na lijekove koji su smjesa dvaju ili više enantiomera, uočeno je nekoliko prednosti primjene enantiomerno čistih lijekova (Slika 10). Te se prednosti razlikuju od slučaja do slučaja.²⁶

MOGUĆE PREDNOSTI PRIMJENE ENANTIOMERNO ČISTIH LIJEKOVA

- Selektivniji i jednostavniji:
 - farmakodinamički i
 - farmakokinetički profil
- Manje popratnih (nus)pojava lijeka zbog:
 - eliminacije distomera
 - manje mogućih interakcija s drugim lijekovima
- Jednostavniji odnos: koncentracija lijeka u plazmi / učinak lijeka
- Niža ukupna doza lijeka

Slika 10. Moguće prednosti primjene enantiomerno čistih lijekova u odnosu na racemične lijekove

Neki lijekovi za optimalnu aktivnost trebaju biti u racemičnom obliku, primjerice β -blokatori *Labetalol*® i *Nebivolol*®. Tada oba enantiomera kiralnog lijeka zajednički doprinose ukupnom terapijskom djelovanju. U tom slučaju formulacija enantiomerno čistog lijeka nije potrebna, jer je manje djelotvorna, a ponekad i manje sigurna od racemičnog oblika.²⁷ U većini drugih slučajeva pokazalo se da racemični lijekovi trebaju biti u enantiomerno čistom obliku. Jedan enantiomer može djelovati povoljno, dok drugi može djelovati antagonistički, slabije ili biti neaktivan. Primjer lijeka kod kojeg je jedan enantiomer

farmakodinamički aktivan, a drugi neaktivan jest atenolol. (*S*)-atenolol ima β -blokirajuće djelovanje, dok (*R*)-atenolol nema to svojstvo. Farmakokinetičke razlike, u smislu pojačanog ili oslabljenog metaboliziranja u organizmu, pokazale su se značajnim kod kiralnih lijekova (*R*)-pantoprazola i (*R*)-metoprazola u odnosu na njihove (*S*)-enantiomere. Primjer antagonističkog djelovanja enantiomera je *Salbutamol*®, gdje (*S*)-salbutamol ima bronhodilatatorsko djelovanje, ali i indirektno antagonistički djeluje na (*R*)-salbutamol koji ima protuupalno djelovanje.²⁸

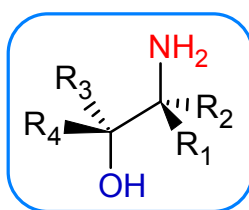
Postoje i mnogi primjeri gdje enantiomeri imaju potpuno drugačije terapijsko djelovanje. Primjerice (*S*)-propranolol ima β -blokirajuće djelovanje te djeluje stabilizirajuće na membranu srčanog mišića, dok (*R*)-propranolol ima spermicidno djelovanje, a terapijski djeluje i kod hipertiroidizma.²⁹ Primjer lijeka kod kojeg jedan enantiomer ima pozitivno djelovanje, a drugi suprotnu aktivnost jest (*S*)-metoprolol. (*S*)-metoprolol djeluje kao β_1 -blokator, dok je (*R*)-metoprolol gotovo neselektivan i može uzrokovati suprotan efekt kao i dodatnu β_2 -blokadu.³⁰

Pri ispitivanju različitih bioloških djelovanja enantiomera posebno se ispituje potencijalna toksičnost svakog enantiomera. Tako se lijek *Dilevalol*®, s djelatnom tvari *R,R*-labetalolom, koristi pri liječenju povišenog krvnog tlaka. Farmaceutska industrija i znanstvenici smatrali su da će primjena enantiomerno čistog *R,R*-labetalola pokazati prednosti u odnosu na smjesu diastereoizomera labetalola. Lijek je povučen s japanskog tržišta jer uzrokuje oštećenje jetre (hepatotoksičnost). Također je pronađeno da je DOPA (dihidroksi-3,4-fenilalanin) preteča dopamina i djelotvoran lijek za liječenje Parkinsonove bolesti. Njegov lijevorotirajući izomer L-DOPA je koristan u liječenju, dok D-DOPA uzrokuje agranulocitozu - potpuni nedostatak ili manjak neutrofila.^{31,32}

U literaturi su opisani brojni primjeri lijekova koji u organizmu podliježu kiralnoj inverziji. Tako profeni, porodica spojeva derivata 2-arilpropionske kiseline: ibuprofen, ketoprofen, itd., podliježu jednosmjernoj metaboličkoj biokonverziji inaktivnog *R*-enantiomera u aktivni *S*-enantiomer. Fenoprofen, 2-[3-fenoksi)fenil]propanska kiselina, lijek iz porodice nesteroidnih protuupalnih lijekova za liječenje reumatskog artritisa, kiralnom inverzijom *R*-(-)-fenoprofena u jetri prelazi u *S*-(+)-fenoprofen. Istraživanja su pokazala da je *S*-(+)-fenoprofen trideset i pet puta aktivniji od *R*-(-)-fenoprofena u inhibiciji enzima ciklooksigenaze.³³

2.2 β -Aminoalkoholi - biološki aktivni spojevi

β -Aminoalkoholi obuhvaćaju brojčano bogatu porodicu organskih spojeva čiji značaj proizlazi iz strukture koja sadrži dvije funkcionalne skupine. U istom spoju prisutne su amino ($-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{NR}_2$) i hidroksilna ($-\text{OH}$) funkcionalna skupina koje se mogu acilirati, alkilirati ili biti dio prstena (Slika 11). β -Aminoalkoholi nazivaju se još i vicinalni aminoalkoholi ili 1,2-aminoalkoholi. Prisutnost ovakvog strukturnog dijela u molekuli, uz relativnu i apsolutnu stereokemijsku orijentiranost, važan je čimbenik za posjedovanje biološke aktivnosti. Stoga su razvijene brojne stereoselektivne metode za njihovu sintezu. Izuzev velikog broja spojeva nastalih u sintetskim laboratorijima za proizvodnju lijekova, primjenjuju se i kao posrednici pri sintezi mirisa, bojila, insekticida i fotorazvijača.^{34,35}

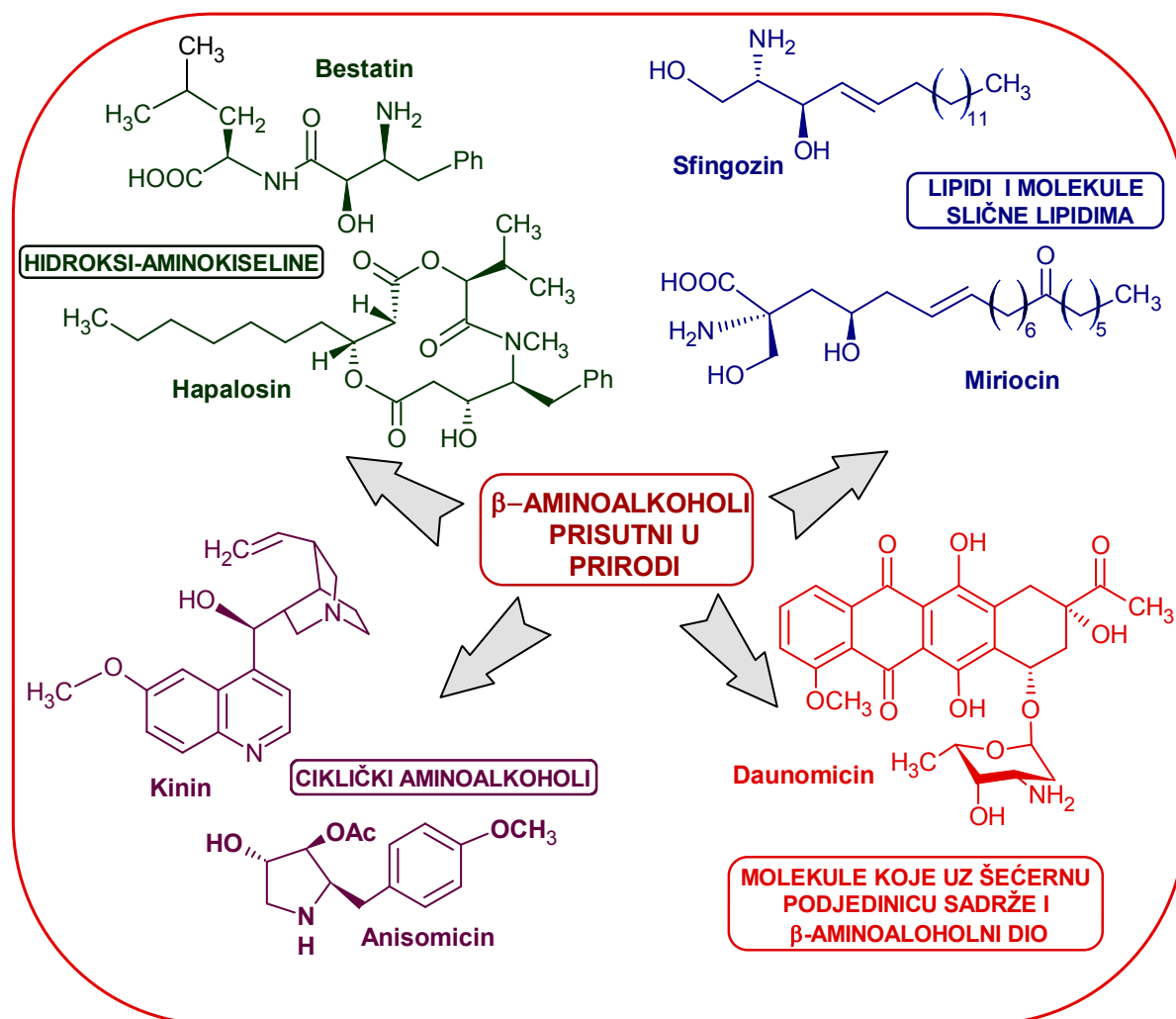


Slika 11. Temeljna strukturna okosnica β -aminoalkohola

2.2.1 Rasprostranjenost i primjena β -aminoalkohola prirodnog porijekla

U prirodi se aminoalkoholna skupina može pronaći kao strukturni dio hidroksi-aminokiselina, lipida i u molekula sličnih lipidima, cikličkih aminoalkohola, te molekula koje uz šećernu okosnicu sadrže i β -aminoalkoholni strukturni motiv (Slika 12). Kao primjer hidroksi-aminokiseline, na Slici 12 prikazan je dipeptid bestatin koji je strukturno *sin*- α -hidroksi- β -aminokiselina. Bestatin je inhibitor aminopeptidaze, te stoga pokazuje imunomodulatorno djelovanje. Klinički se primjenjuje kao pomoćno sredstvo (adjuvans) u kemoterapiji pri liječenju tumora.³⁶ Grupi hidroksi-aminokiseline pripada i hapalosin, spoj izoliran iz modrozelenih algi, koji je strukturno *anti*- β -hidroksi- γ -aminokiselina. Ovaj spoj se također pokazao djelotvoran pri liječenju tumora, jer inhibira otpornost tumorskih stanica na djelovanje različitih lijekova (engl. *multi drug resistance*).³⁷ Lipidi i molekule slične lipidima druga su velika skupina spojeva s β -aminoalkoholnim motivom koji se pojavljuju u prirodi. Primjerice sfingozin je spoj koji čini okosnicu glikosfingolipida i ključan je u događajima staničnog prepoznavanja, poput rasta, diferencijacije i imunog odgovora. Sfingozin i njegovi analozi strukturno su 2-amino-1,3-diol.³⁸ U molekule slične lipidima pripada snažan imunostimulans miriocin, čija struktura, osim aminoalkoholne i hidroksilne grupe, sadrži i

karboksilnu kiselinsku skupinu. Posebno veliku skupinu aminoalkohola čine ciklički aminoalkoholi. Strukturna karakteristika takvih spojeva jest da se amino skupina nalazi unutar prstena. Na Slici 12 prikazan je kinin, najpoznatiji predstavnik cikličkih aminoalkohola, lijek za liječenje malarije, visoke temperature i različitih drugih bolesti. Prolidinski aminoalkohol anizomicin, izoliran iz *Streptomyces sp.*, snažan je inhibitor biosinteze proteina, te također djeluje kao antitumorski agens.³⁹



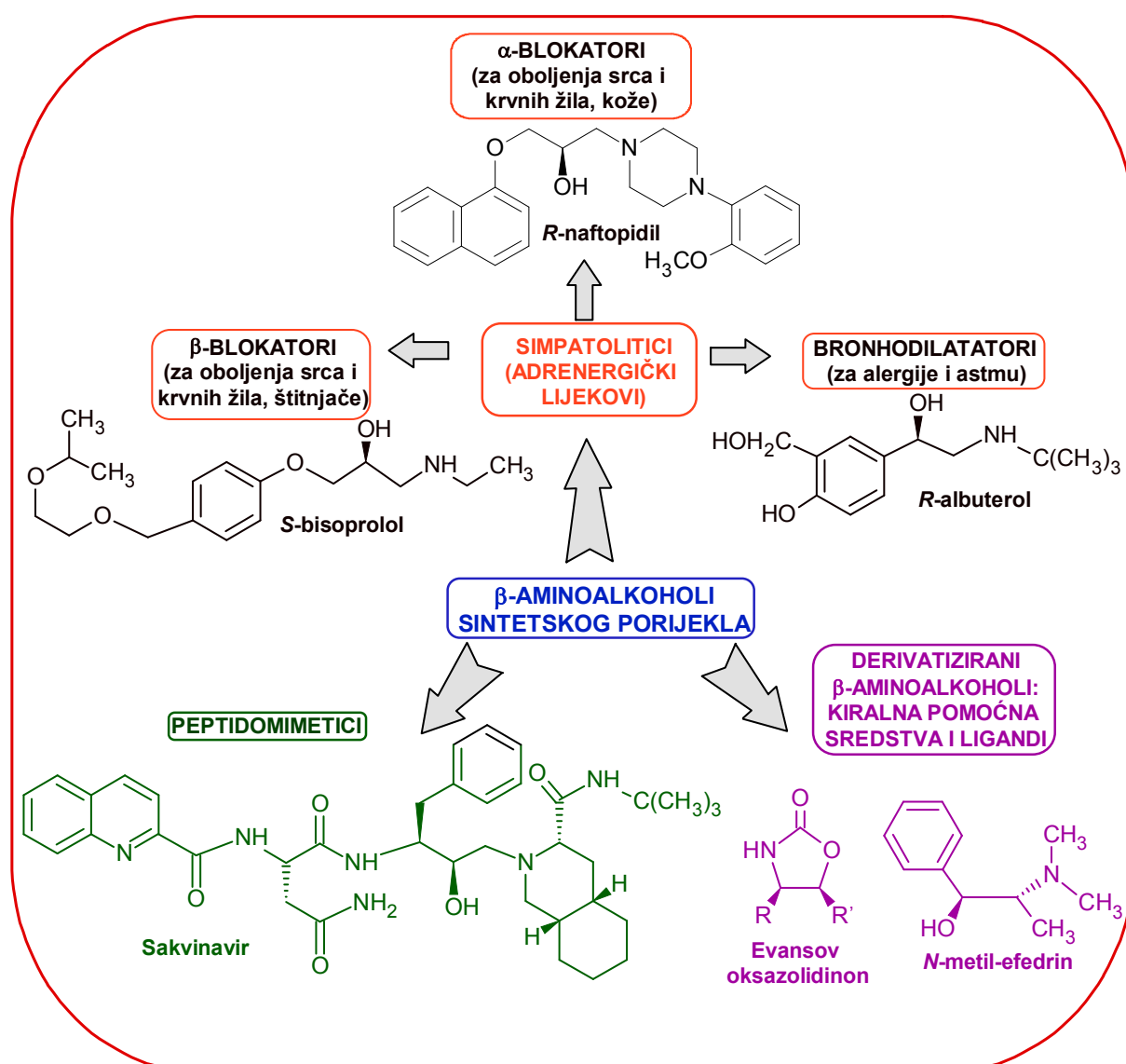
Slika 12. Primjeri prirodnih produkata koji u svojoj strukturi sadrže β -aminoalkoholni strukturni motiv

Četvrta porodica molekula koji sadrže β -aminoalkoholni motiv su složene šećerne molekule. Daunomicin je član velike porodice glikoziliranih antracikličkih prirodnih produkata. Kao i kod mnogih glikoliziranih prirodnih produkata, šećerni dio je nužan za biološku aktivnost. U ovu skupinu pripadaju i aminoglikozidni antibiotici, primjerice

neomicin B. Ovi se spojevi koriste za liječenje brojnih gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterijskih infekcija.⁴⁰

2.2.2 Primjene β -aminoalkohola sintetskog porijekla

Sintetski β -aminoalkoholi su poznati lijekovi sa širokim spektrom farmakološkog djelovanja, posebice u liječenju bolesti srca i krvožilnog sustava. Derivatizacijom postaju pomoćna kiralna sredstva i ligandi u katalitičkim asimetričnim sintezama (Slika 13).



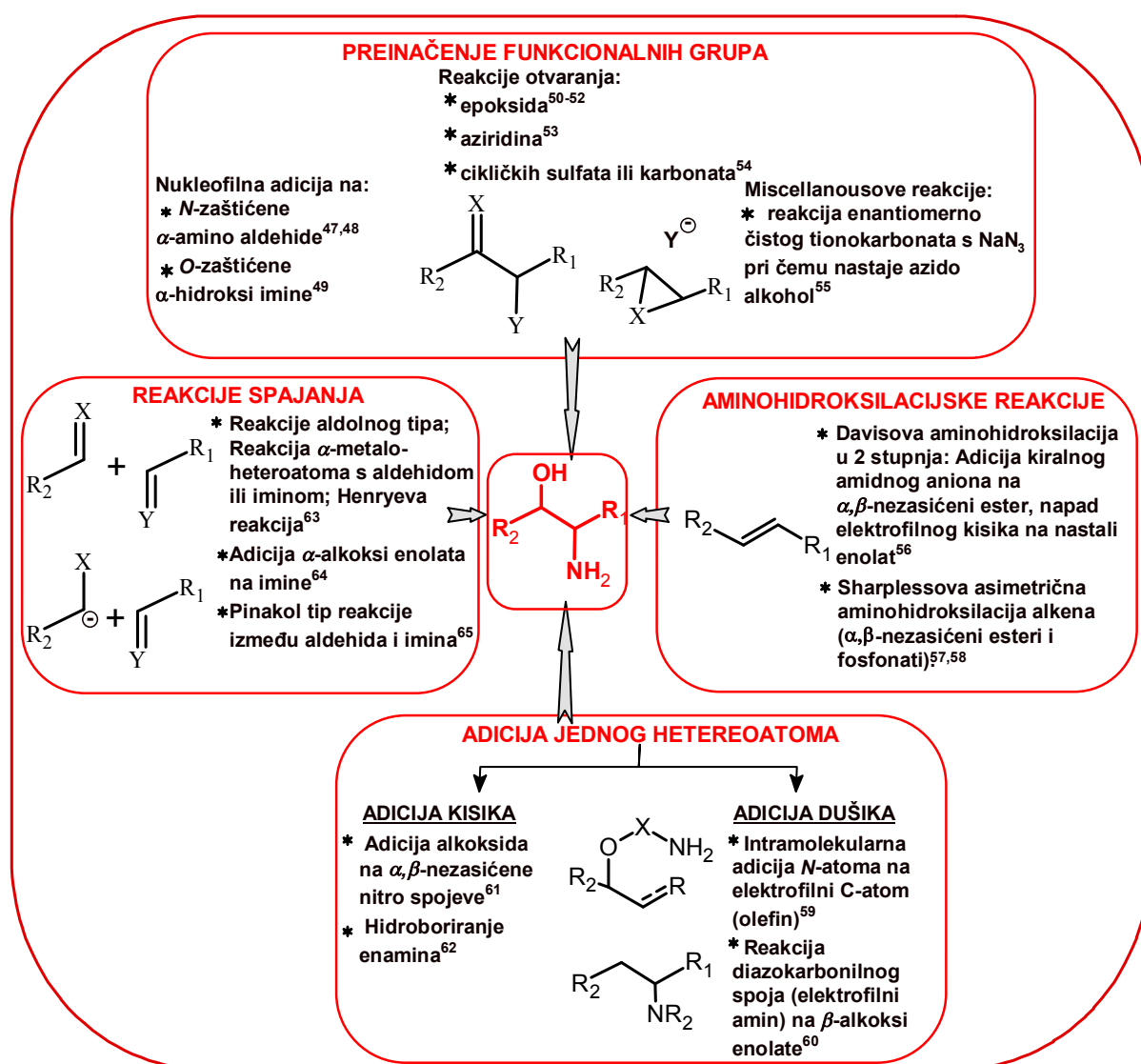
Slika 13. Primjene β -aminoalkohola sintetskog porijekla

Zyvoxid® je oksazolidinonski antibiotik koji se koristi za liječenje bakterijske infekcije kože i mekog tkiva te upale pluća, a aktivna tvar je linezolid. (+)-*N*-Metil-efedrin koristi se u reakcijama enantioselektivnog protoniranja koje uključuju enole, a može djelovati i kao katalizator prijenosa faza, reducirajući agens ili kiralni modifikator pri asimetričnim redukcijama ketona djelovanjem litijeva aluminijska hidrida.⁴¹ Peptidomimetici su mali lančani spojevi slični proteinima, dizajnirani za oponašanje djelovanje peptida. Najpoznatiji primjer peptidomimetika je sakvinavir. To je inhibitor HIV-1 proteaze, aktivne tvari antiretrovirusnog lijeka *Invirase*® i koristi se za liječenje HIV-a. To je bio prvi lijek koji je FDA 1995. godine odobrila za liječenje HIV-a.⁴²

Drugu veliku grupu sintetskih β -aminoalkohola čine adrenergički ili simpatetički lijekovi, koji se još nazivaju i simpatolitici. Utjecajem na α - ili β -podjedinicu simpatičkog živčanog sustava, simpatolitici blokiraju (antagonisti) ili stimuliraju (agonisti) djelovanje adrenergičkih receptora u mozgu. U *Prilogu I*, Tablica A, prikazana je raspodjela i fiziološki utjecaj različitih adrenergičkih receptora u tijelu. β -Adrenergički agonisti, lijekovi koji stimuliraju β -receptore, farmakološki djeluju kao lijekovi za liječenje kroničnih plućnih bolesti. U ovu skupinu pripadaju lijekovi za liječenje astme, alergija i bronhodilatatori. Lijekovi koji su α - ili β -adrenergički antagonisti, tzv. selektivni blokatori, uspješno se koriste za liječenje različitih bolesti krvožilnog sustava. Kod lijekova koji djeluju neselektivno blokirajuće na α - i β -podjedinicu iznimno je važno doziranje lijeka.⁴³⁻⁴⁵ Iz navedenih primjera simpatetičkih lijekova može se uočiti da je temelj strukture β -blokatora ariloksipropanolaminski derivat s jednim ili više kiralnih centara. Kod većine navedenih lijekova farmakološki je aktivniji *S*-enantiomer, koji ima 50 do 500 puta bolje djelovanje od *R*-enantiomera. No, većina lijekova na tržištu prisutni su kao racemati. Na stereoselektivnost β -blokatora utječu: doza lijeka, spol, dob i genetički faktori. Kao i ostali sintetski pripremljeni lijekovi i ovi lijekovi uzrokuju nuspojave poput: probavnih smetnji, umora, ošamućenosti, depresije, bolova u mišićima, astmatičnih napadaja. U nekim slučajevima dokazano je da popratne nuspojave potječu od prisutnog *R*-enantiomera lijeka.⁴⁶

2.2.3 Sintetski putevi priprave β -aminoalkohola

Standardni sintetski putevi priprave enantiomerno čistih aminoalkohola temelje se na redukciji prirodno dostupnih α -aminokiselina ili α -aminoketona, no pri tome je moguće pripremiti ograničeni broj spojeva. U cilju sinteze većeg broja strukturno različitih β -aminoalkohola, drugačijeg farmakološkog djelovanja, istraživači su otkrili niz sintetskih puteva (Slika 14). Svaki od navedenih načina sinteze ima jedan ili više nedostataka: nisku stereoselektivnost, ograničenu primjenu u praksi, uporabu skupih ili štetnih kemikalija za ljude ili okoliš, itd. Reaktanti koji se pri tome koriste su alkeni ili derivati alkena, a reakcije se u velikom broju slučajeva odvijaju stereospecifično.⁴⁷⁻⁶⁵

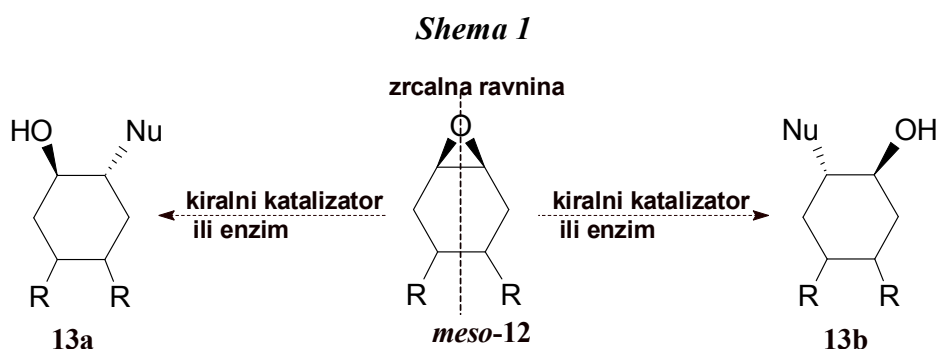


Slika 14. Sintetski putevi priprave β -aminoalkohola

2.2.4 Katalitička asimetrična amonoliza epoksida

U farmaceutskoj industriji amonoliza epoksida - proces otvaranja epoksida dušikovim nukleofilima aminima, jedna je od najčešće primjenjivanih metoda za sintezu β -aminoalkohola. Razlog tome je laka tržišna dostupnost i pristupačnost cijena polaznih spojeva, te što takvom reakcijom ne nastaju neželjeni produkti ili nastaju u vrlo maloj količini. Alternativnom metodom sinteze β -aminoalkohola reakcijom amina i halogenog alkohola, uz β -aminoalkohol nastaje i neželjeni produkt - halogena kiselina, koja se mora neutralizirati ekvimolarnom količinom baze. Time nastaje značajna količina soli, koja se mora na neki način eliminirati iz procesa, što je nepoželjno sa stajališta „zelene kemije“.^{66,67}

Aminolitičkom kinetičkom resolucijom racemičnih epoksida, uz amin kao nukleofil, nastaju β -aminoalkoholi i enantiomerno čisti polazni epoksidi, uz visoku enantio- i regio-selektivnost. *Meso*-epoksidi sačinjavaju relativno ograničen broj *cis*-supstituiranih i tetrasupstituiranih epoksida. Desimetrizacijom *meso*-epoksida **12** različitim nukleofilima, uz prisutnost kiralnog katalizatora ili enzima, nastaju enantiomerno čisti produkti **13a** i **13b** (Shema 1). Ukoliko je nukleofil amin, nastaju odgovarajući aminoalkoholi.^{68,69}



U klasičnom pristupu reakciji amonolize epoksida, epoksid se grije u protičnom otapalu uz suvišak amina. U većini slučajeva reakcija se odvija bez primjene katalizatora, no tada je produljeno vrijeme reakcije. U cilju ubrzanja reakcije slabije nukleofilnih i sterički ometenih amina, primjenom povišenih temperatura, postižu se zadovoljavajući reakcijski prinosi, ali pri tom se u većini slučajeva gubi regioselektivnost. Pri uporabi epoksida osjetljivih na kisele uvjete (epoksidi enolnih estera, laktona i etera) pojavljuju se neželjene popratne reakcije, poput pregradnji ili polimerizacije.⁷⁰

Radi prevladavanja navedenih nedostataka, istraživači su isprobali više različitih metalnih i nemetalnih aktivatora, da bi razvili nove ili bolje katalitičke procese (Tablica 1). Prva istraživanja bila su usmjerena na primjenu metalnih amida za otvaranje epoksidnih

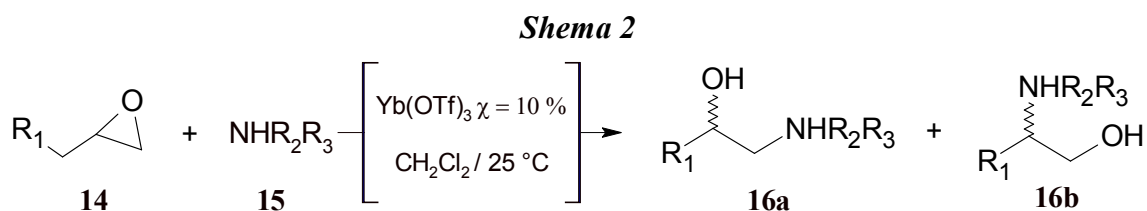
prstena, pri čemu nastaju produkti u zadovoljavajućim reakcijskim prinosima, ali metoda zahtijeva stehiometrijsku količinu metala za pripremu metalnog amida.⁷¹ Metalne soli djeluju kao Lewisove kiseline, pri čemu metalni atom djeluje kao akceptor elektronskog para, praveći adukt sa slobodnim elektronskim parom na kisikovom atomu epoksida. Nastaje kompleks i proces ima djelomični karakter prijenosa naboja, što donora elektronskog para (kisikov atom epoksida) čini elektronegativnijim. Time se povećava reaktivnost epoksida za nukleofilni napad amina. Na Lewisov karakter metalne soli jako utječe tip pridruženog aniona. Stoga su metalne soli jačih protičnih kiselina bolje Lewisove kiseline i mogu biti djelotvornije u poticanju elektrofilne aktivacije epoksidnog prstena (kisikova atoma). Budući je triflormetansulfonska kiselina među najjačim protičnim kiselinama ($pK_a = -14$), metalni trifluormetansulfonati (metalni triflati) postaju dobri kandidati za katalizatore na bazi Lewisove kiseline.⁷²⁻⁷⁴

Tablica 1. Metalni i nemetalni aktivatori pri reakciji amonolize epoksida

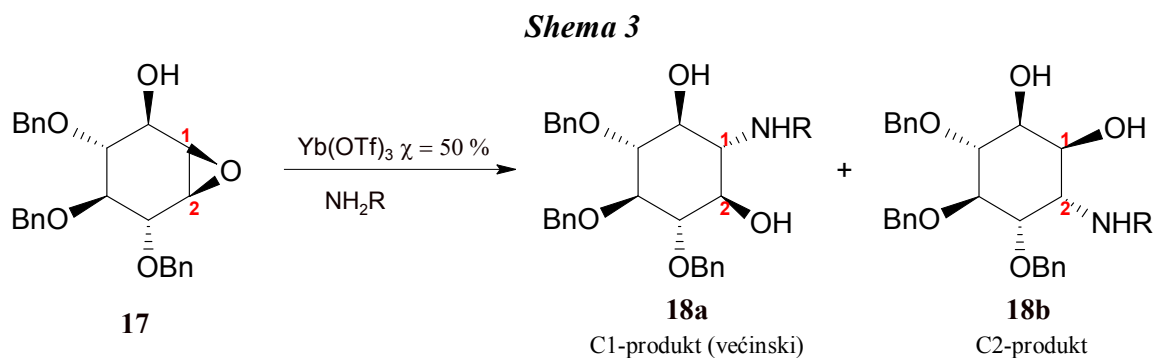
METALNI AKTIVATORI		NEMETALNI AKTIVATORI
TRIFLATI	Ca(OTf) ₂ , Cu(OTf) ₂ , Sn(OTf) ₂ , Zn(OTf) ₂ , Bi(OTf) ₃ , Al(OTf) ₃ , LiOTf, Sc(OTf) ₃ , ZrO(OTf) ₂ , Ph ₄ SbOTf, Ln(OTf) ₃ (Ln=Yb, Er, Gd, Nd, Sm, Eu)	- voda - β-ciklodekstrin - silikagel - sulfaminska kiselina (NH ₂ SO ₃ H)
KLORIDI	CaCl ₂ , CuCl ₂ , MgCl ₂ , CoCl ₂ , CdCl ₂ , ZnCl ₂ , AlCl ₃ , FeCl ₃ , CeCl ₃ x 7H ₂ O, RuCl ₃ , BiCl ₃ , InCl ₃ , SmCl ₃ , VCl ₃ , ZrCl ₄ , TaCl ₅ , SnCl ₄ x 5H ₂ O, HgCl ₂	- 1,1,1,3,3,3-heksafluor-2- propanol - 2,2,2-trifluoretanol - tributilfosfin - <i>N,N</i> -bis[3,5-
BROMIDI	LiBr, InBr, NaBr	bis(trifluormetil)fenil]tiourea
PERKLORATI	LiClO ₄ , NaClO ₄ , Mg(ClO ₄) ₂ , Zn(ClO ₄) ₂ x 6H ₂ O	- H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ (heteropolikiselina)
TETRA- FLUORBORATI	LiBF ₄ , Zn(BF ₄) ₂ x XH ₂ O, Cu(BF ₄) ₂ x XH ₂ O, Co(BF ₄) ₂ x 6H ₂ O, Fe(BF ₄) ₂ x 6H ₂ O	- 4,12- dihidroksi[2.2]paraciklofanediol (PHANOL)
OSTALI SPOJEVI	[(CH ₃) ₂ CHO] ₂ AlOCCF ₃ , Zn(CH ₃ COO) ₂ x 2H ₂ O, Ti(O- <i>i</i> -Pr) ₄ , SmI ₂ , bakrov(II) acetilacetonat	- <i>meta</i> - i <i>para</i> -supstituirani fenoli i bifenilendioli - <i>N</i> -tosil urea

2.2.4.1 Asimetrična amonoliza epoksida katalizirana metalnim triflatima

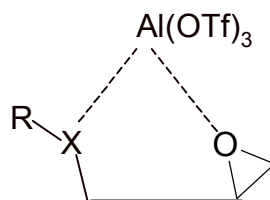
Korištenje triflata rijetkih zemnih metala kao katalizatora pri otvaranju epoksida aminima prvi je puta objavljeno 1991. godine. Dvije skupine istraživača neovisno su objavile da $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ uspješno katalizira reakcije otvaranja prstena.^{75,76} U tetrahidrofuranu većinski nastaje produkt **16a**, dok u diklormetanu ovisno o supstuentima R_1 , R_2 i R_3 , nastaje smjesa reakcijskih produkata **16a** i **16b** (Shema 2). U katalitičke svrhe ispitani su $\text{Yb}(i\text{-PrO})_3$, $\text{Yb}(\text{NBn}_2)_3$, $\text{Yb}(\text{CN})_3$, YbF_3 , no njihovom primjenom nisu nastali produkti reakcije ili je reakcijski prinos bio umjeren (YbCl_3). To pokazuje važnost triflatnog aniona za djelotvornost katalizatora pri otvaranju epoksidnog prstena.



Za postizanje zadovoljavajućih reakcijskih prinosa pogodnijim su se pokazala bezvodna nepolarna otapala. Od ispitanih polarnijih otapala, jedino su u tetrahidrofuranu (THF) postignuti kvantitativni reakcijski prinosi ($\eta = 97$ do 100%) i viša enantioselektivnost nego u diklormetanu, ali samo primjenom viših temperatura reakcije. Autori smatraju da se katalizator deaktivira koordinacijom $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ s THF. Povišenjem temperature nastali kompleks se raspada i katalizator ponovno postaje aktivan. Serrano i suradnici pronašli su djelotvornost katalitičkog djelovanja $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ pri amonolizi i azidolizi cikličkih epoksida (Shema 3).⁷⁷ Regioselektivno otvaranje epoksida **17** kontrolirano je mehanizmom gdje većinski nastaje C1-produkt **18a** kao posljedica nastajanja kelatnog kompleksa $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ i slobodne hidroksilne skupine na cikloalkanu.



Sekar i suradnici su opisali katalitičko djelovanje Lewisovih kiselina $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ i $\text{Sn}(\text{OTf})_2$ pri amonolizi epoksida aromatskim aminima, dok primjenom alifatskih amina katalitičko djelovanje izostaje.⁷⁸ Reakcijom otvaranja epoksidnog prstena s *p*-nitroanilinom u dietileteru postižu se osrednji reakcijski prinosi. Autori pretpostavljaju da povećanje bazične prirode alifatskih amina pogoduje nastajanju kompleksa između metalnog triflata i amina, zbog čega se deaktiviraju katalitička svojstva metalnih triflata. Objavljen je i rad o katalitičkom djelovanju $\text{Al}(\text{OTf})_3$ pri amonolizi stiren-oksida, cikloheksan-oksida i različitih glicidiletera s nizom aromatskih i alifatskih amina.⁷⁹ Reakcijom u toluenu, uz množinski udio katalizatora od 5 %, postižu se visoki reakcijski prinosi ($\eta = 80$ do 90 %), uz nastajanje sekundarnog aminoalkohola kao glavnog produkta reakcije. U manje polarnim otapalima dolazi do koordinacije $\text{Al}(\text{OTf})_3$ i smanjenja Lewisove kiselosti, a time i katalitičke aktivnosti. U takvom sustavu, aromatski amini vrlo dobro otvaraju epoksidni prsten, dok je pri primjeni alifatskih amina potrebno povećati količinu katalizatora kako bi nastali produkti u niskim do srednjim prinosima ($\eta = 33$ do 50 %). Autori za katalitičko djelovanje $\text{Al}(\text{OTf})_3$ predlažu mehanizam prijenosa naboja: nastaje kelatna vrsta između heteroatoma glicidiletera i aluminijeva katalizatora (Slika 15).



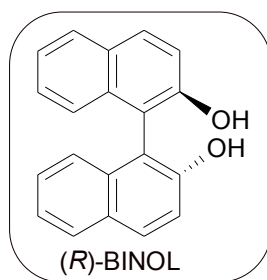
Slika 15. Predložena metal kelatna struktura $\text{Al}(\text{OTf})_3$ katalizatora i heteroatoma glicidiletera

Sa stanovišta stereoselektivnosti reakcije amonolize epoksida, LiOTf u acetonitrilu slično katalitički djeluje kao $\text{Ca}(\text{OTf})_2$.^{80,81} Uz katalitičko djelovanje jednog od navedenih metalnih triflata, reakcijom cikloheksan-oksida s benzilaminom nastaje isključivo *trans*-1,2-aminoalkohol, dok reakcijom stiren-oksida s benzil i dibenzilaminom nastaje smjesa regioizomera. U oba je slučaja omjer regioizomera β -aminoalkohola nastalih $\text{S}_{\text{N}}2$ reakcijom i $\text{S}_{\text{N}}1$ reakcijom približno 85:15, što je određeno HPLC-analizom primjenom polisaharidnih nepokretnih faza. Cirkonil-triflat, $\text{ZrO}(\text{OTf})_2$ također povoljno katalitički djeluje na otvaranje epoksidnog prstena aromatskim aminima u acetonitrilu pri sobnoj temperaturi. Potrebno je svega 1,25 % množinskog udjela katalizatora za nastajanje produkata u visokim reakcijskim prinosima.⁸² Katalitičkim djelovanjem lantanidnih trifluormetansulfonata, primjerice samarijeva triflata, $\text{Sm}(\text{OTf})_3$, epoksid se regioselektivno otvara djelovanjem aromatskih

amina u acetonitrilu pri 0°C ili sobnoj temperaturi. Nastaju β -aminoalkoholi u visokom reakcijskom prinosu i visoke enantiomerne čistoće. Postupak sinteze može se primijeniti za sintezu β -blokatora atenolola i propranolola.⁸³

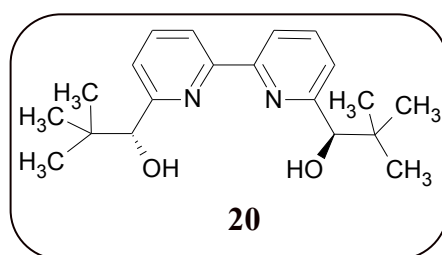
Korištenje bizmutovog(III) triflata, $\text{Bi}(\text{OTf})_3$, u vodenim uvjetima za amonolizu epoksida, bilo je važno otkriće u smislu stabilnosti katalizatora u vodi.⁸⁴ Bizmutov(III) triflat katalizira reakciju cikloheksan-oksida s *p*-bromanilinom, u vodenim uvjetima, pri čemu nastaje β -aminoalkohol u 84 %-tnom prinosu. U ovom primjeru, da bi se polazni spojevi otopili u vodi, potrebna je otopina natrijevog dodecilsulfata. U slučaju amina topljivijih u vodi, dovoljno je primijeniti samo vodu i $\text{Bi}(\text{OTf})_3$. Budući postoji mogućnost da metalni triflati u prisutnosti vode hidroliziraju u triflatnu kiselinu (TfOH), autori su postavili pitanje je li TfOH odgovoran za katalitičku aktivnost. Reakcije su izvedene s ekvivalentnom količinom triflatne kiseline, ali su prinosi produkata bili značajno niži nego primjenom $\text{Bi}(\text{OTf})_3$. To ukazuje na važnost Lewisove kiseline u ovim reakcijama te dokazuje da je mala vjerojatnost da je nastala TfOH odgovorna za katalitičku aktivnost.

Objavljen je veliki broj radova na temu enantioselektivne desimetrizacije *meso*-epoksida s aminima, uz katalitičko djelovanje visoko stabilnih kiralnih liganada. Na Slici 16 prikazan je (*R*)-(+)-1,1'-bi-2-naftol, (*R*)-BINOL **19**, koji se u kombinaciji s lantanidnim triflatima koristi kao katalizator pri asimetričnom otvaranju cikloheksan epoksida s anilinom.

**19****Slika 16.** Struktura kiralnog liganda (*R*)-(+)-1,1'-bi-2-naftola, (*R*)-BINOL-a **19**

Ispitano je katalitičko djelovanje niza kompleksa lantanidnih soli uz primjenu (*R*)-BINOL-a **19**.^{85,86} Otkriveno je da iterbijev triflat, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, u kombinaciji s **19** pokazuje izvrsnu enantioselektivnost u reakciji otvaranja epoksidnog prstena s anilinom. Nastaju željeni β -aminoalkoholi u visokim prinosima, izuzev u slučaju elektron-donirajuće metoksi skupine ili *ortho*-etilne skupine. Više enantioselektivnosti postižu se primjenom tercijernog amina nego primarnog ili sekundarnog. Reakcija se izvodi u toluenu, uz dodatak molekularnih

sita 4Å, pri vrlo niskoj temperaturi od -78 °C, kako bi se smanjile ili izbjegle neželjene popratne reakcije. Izuzev (*R*)-BINOL-a, često se koristi i bipiridinski ligand (*S,S*)-6,6'-bis(1-hidroksi-2,2-dimetilpropil)-2,2'-bipiridin (**20**) koji također djelotvorno katalitički djeluje pri enantioselektivnoj amonolizi *meso*-epoksida (Slika 17). Uz množinski udio od 10 % Sc(OTf)₃ te 12 % bipiridinskog liganda **20**, nastaju β-aminoalkoholi u srednjim do visokim prinosima i enantioselektivnostima. Rezultati ukazuju da amonolizom *meso*-epoksida s vezanim alifatskim pograničnim lancem nastaju produkti niže enantioselektivnosti nego amonolizom *meso*-epoksida s vezanim aromatskim skupinama.⁸⁷



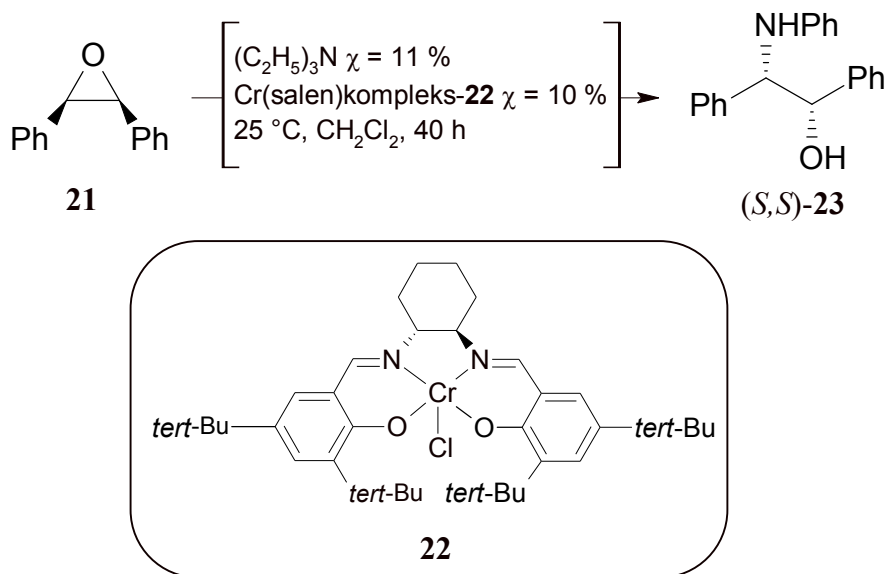
Slika 17. Struktura kiralnog bipiridinskog liganda (*S,S*)-6,6'-bis(1-hidroksi-2,2-dimetilpropil)-2,2'-bipiridina (**20**).

Kobayashi i suradnici objavili su da se u katalitičkom sustavu koji objedinjuje Lewisovu kiselinu i površinski aktivnu tvar dodecil-sulfat, reakcijom amonolize uspješno postiže desimetrizacija jako hidrofobnih *meso*-epoksida s aromatskim aminima u vodi.⁸⁸ Primjenom kiralnog bipiridinskog liganda **20**, u kombinaciji sa skandijem(III), odnosno bizmutom(III) i dodecil-sulfatom, tijekom 30 do 48 sati, pri sobnoj temperaturi, nastaju produkti uz $\eta = 61$ do 89 % i enantiomerni višak (e.v.) od 60 do 96 %. U takvom katalitičkom sustavu Lewisova je kiselina potrebna za aktivaciju bazičnog centra, dok hidrofobna površinski aktivna tvar pogoduje približavanju reaktanata poboljšavanjem topljivosti organskih tvari u vodi. Isti autori kasnije objavljuju da primjena cinka(II) ili bakra(II), u koordinaciji s bipiridinskim ligandom **20**, rezultira izvrsnim enantioselektivnostima (e.v. 90 do 95 %).⁸⁹

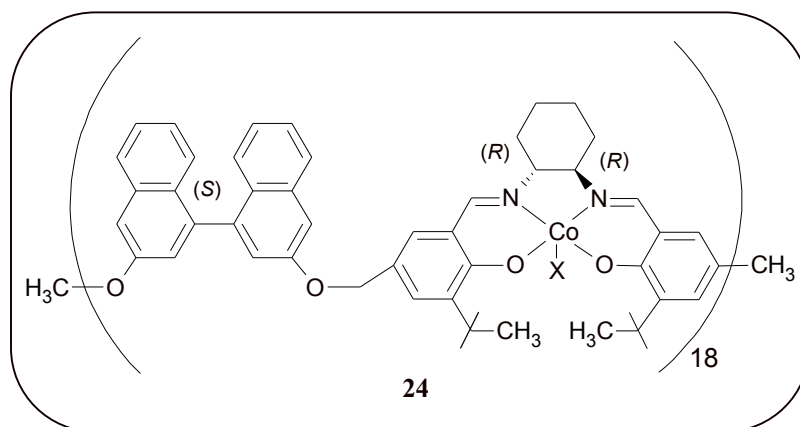
Jacobsen i Katsuki su 1990.-tih godina objavili da kiralni salenski ligandi, uz različite metalne centre, djeluju kao odlični katalizatori u brojnim asimetričnim organskim transformacijama.^{90,91} Bartoli i suradnici su 2004. godine prvi objavili primjenu kiralnih monomernih kobalt(III) i krom(III)-salen kompleksa kao katalizatora pri asimetričnoj kinetičkoj resoluciji racemičnih terminalnih i *trans*-aromatskih epoksida, pri čemu nastaju *anti*-β-aminoalkoholi⁹². Reakcija asimetrične amonolize *cis*-stilben-oksida **21**, uz katalitičko

djelovanje monomernog krom(III)-salen kompleksa **22**, tijekom 40 sati rezultira odgovarajućim β -aminoalkoholima (*S,S*)-**23**, uz izvrsne reakcijske prinose od 98 % i e.v. od 90 % (Shema 4). Uočeno je da se dodatkom malih količina trietilamina u reakcijsku smjesu enantioselektivnost povećava za oko 25 %. Ovakav katalitički sustav prikazuje djelotvornu amonolitičku kinetičku resoluciju racemičnih epoksida sa C2-tipom simetrije.⁹²

Shema 4

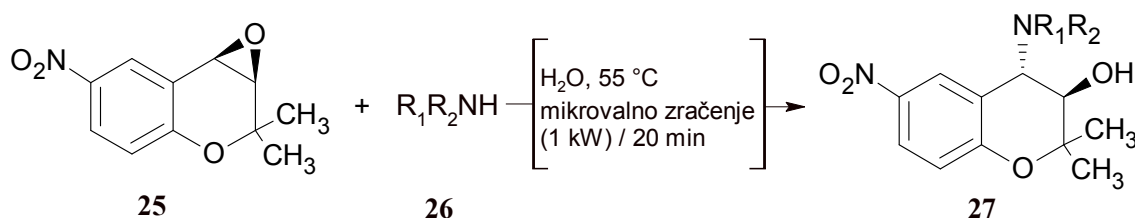


Monomerne kiralne metal-salen komplekse sve više zamjenjuju polimerne inačice. Kumar i suradnici opisali su složeni katalitički sustav za amonolitičku kinetičku resoluciju različitih racemičnih terminalnih epoksida.⁹³ Nastaju enantiomerno čisti (*S*)-epoksidi (e.v. 99 %) i *N*-zaštićeni (*R*)- β -aminoalkoholi (e.v. 99 %), tijekom 16 do 20 sati, pri sobnoj temperaturi. Sličnim postupkom sintetizirana su dva enantiomerno čista lijeka s (*R*)-naftopidilom koji djeluje kao α_1 -blokator, te (*S*)-propranololom koji djeluje kao β -blokator.⁹⁴

Slika 18. Struktura polimernog kobalt(III)-salen kompleksa **24**

Istraživanja su pokazala povoljno djelovanje mikrovalnog zračenja na ubrzanje reakcije amonolize epoksida, povećanje reakcijskih prinosa, poboljšanje stereoselektivnosti te smanjenje reakcijskog vremena.⁹⁵⁻⁹⁷ Primjerice, Zuo i suradnici objavili su djelotvornu i praktičnu metodu za pripremu β -aminoalkohola u vodi djelovanjem mikrovalnog zračenja i povišene temperature.⁹⁸ Reakcijom asimetričnog otvaranja epoksidnog prstena **25** sa suspsituiranim aril-piperazinima **26** nastaju odgovarajući β -aminoalkoholi **27**, bez primjene katalizatora ili organskih otapala (Shema 5). Pri sobnoj temperaturi reakcija traje 3 dana uz vrlo niske prinose, dok primjenom mikrovalnog zračenja (1 kW) i povišene temperature (55 °C) produkti nastaju unutar 20 min, uz prinose 80 do 90 %.

Shema 5

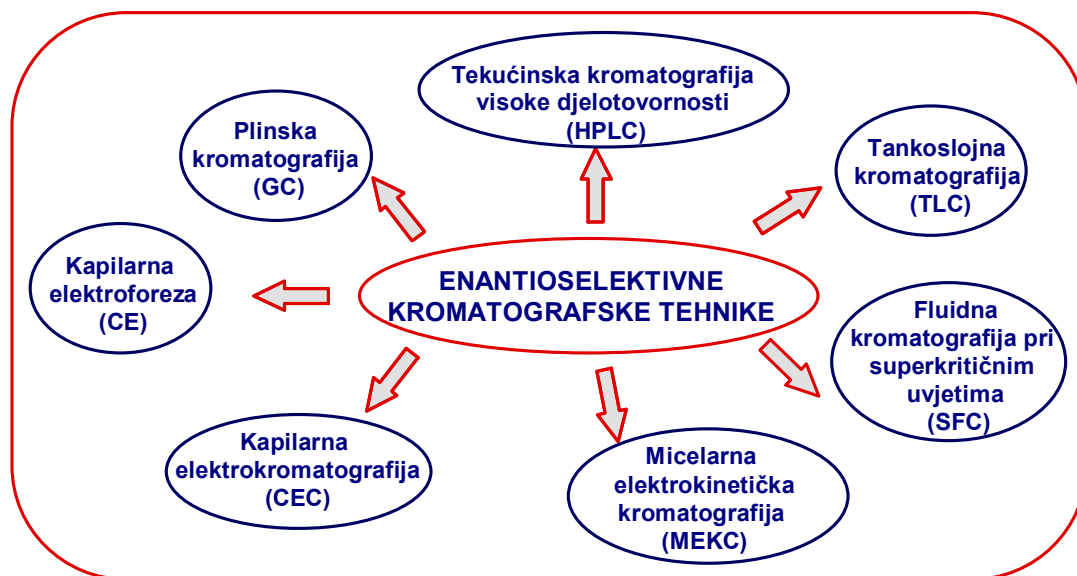


2.3 Enantioselektivne kromatografske metode

U farmaceutskoj industriji cilj je pronaći kiralne analitičke metode sa sposobnošću razlikovanja i odvajanja enantiomera pri različitim koncentracijskim nivoima. U analitičkoj praksi na odabir metode utječu prvenstveno fizikalno-kemijske karakteristike analita, ali i cijena instrumenta i kemikalija, zbrinjavanje otpada, vrijeme analize, mogućnost međulaboratorijskog prenošenja metode, te robusnost metode.⁹⁹ Pri istraživanju i razvoju novog kiralnog lijeka, enantioselektivne metode koriste se za kontrolu enantiomerne čistoće, provjeru procesa racemizacije te za stereoselektivna farmakološka ispitivanja. Kod kontrole kvalitete već postojećeg kiralnog lijeka na tržištu potrebna je provjera optičke čistoće i određivanje sadržaja manje aktivnog, inaktivnog ili toksičnog enantiomera, koji se smatra onečišćenjem.

Danas su u praksi najviše zastupljene enantioselektivne spektroskopske i kromatografske metode. Kromatografske metode mogu uključivati i elektromigracijska svojstva analita (Slika 19). Enantiomernoj analizi tragova značajno su doprinjeli vezani sustavi, primjerice plinske i tekućinske kromatografije sa spektrometrijom masa.

Spektroskopske metode: infracrvena spektroskopija (IR), nuklearna magnetska rezonancija (NMR) i optička rotacija, nemaju mogućnost detektiranja enantiomera u vrlo niskim koncentracijama te vrlo teško razlikuju različite izomere spojeva koji sadrže više kiralnih centara. No, u kombinaciji s kromatografskim metodama, spektroskopske metode daju informacije potrebne za enantioselektivnu karakterizaciju kiralnog lijeka.^{100,101}



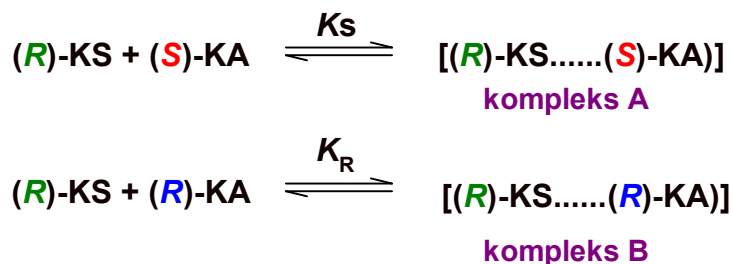
Slika 19. Enantioselektivne kromatografske tehnike

Mogući enantioselektivni (kiralni) selektori koji omogućavaju odjeljivanje enantiomera prikazani su na Slici 20. Prema podacima iz 2009. godine, približno 90 % objavljenih radova iz područja odjeljivanja enantiomera temelji se na metodama tekućinske kromatografije uz primjenu polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza.¹⁰²



Slika 20. Vrste enantioselektivnih kiralnih selektora

Izravno odjeljivanje enantiomera primjenom kiralnih nepokretnih faza jest dinamički proces reverzibilnog nastajanja prijelaznih diastereomernih kompleksa. Na sferični porozni silikagel fizički se adsorbiraju ili se kovalentno vežu kiralni selektori. Nekovalentni kompleksi nastaju između otopljenog kiralnog analita (KA) s adsorbiranim, kovalentno vezanim ili imobiliziranim kiralnim selektorom (KS) na površini silikagela, prema reakciji prikazanoj na Slici 21.^{103,104}



Slika 21. Pojednostavljeni prikaz nastajanja diastereomernih kompleksa A i B.

(R)-KA i (S)-KA su enantiomeri analita koji se nalaze u pokretnoj fazi, prije interakcije s kiralnom nepokretnom fazom (R)-KS

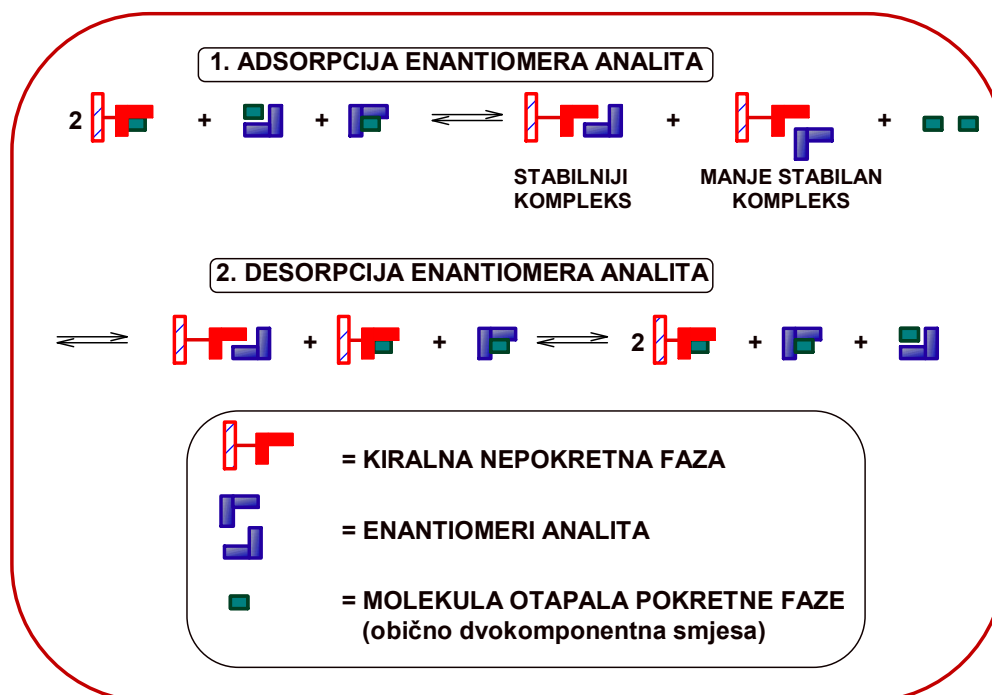
Fizikalna osnova na kojoj se temelji različito stereoselektivno zadržavanje enantiomera u kromatografskom sustavu, jest razlika stabilnosti nastalih diastereomernih kompleksa A i B. Enantiomer koji pravi manje stabilan kompleks zadržava se kraće i ispire prvi iz kromatografske kolone. Stoga da bi se zapazilo odvajanje enantiomera, nastali diastereomerni kompleksi moraju se dovoljno razlikovati u slobodnoj energiji ($\Delta G = -RT \ln K$). Enantioselektivnost (α) je mjera termodinamičke stabilnosti ($\Delta \Delta G$) dvaju diastereomernih kompleksa, a uključuje entalpiju ($\Delta \Delta H$) i entropiju ($\Delta \Delta S$), što je prikazano jednadžbom:

$$\Delta \Delta G = \Delta \Delta H - T \Delta \Delta S = -RT \ln \alpha \quad (1a)$$

Enantioselektivnost opisuje selektivne interakcije enantiomera s kiralnom nepokretnom fazom, kada je $k_R > k_S$:

$$\alpha = k_R / k_S \quad (1b)$$

Kiralno odjeljivanje enantiomera na kiralnoj nepokretnoj fazi je adsorpcijsko-desorpcijski proces. Pirkle i Welch opisali su niz adsorpcijsko-desorpcijskih ravnoteža koje se događaju tijekom enantioseparacije u kiralnoj koloni.¹⁰⁵ Autori su naveli trinaest shema adsorpcijsko-desorpcijskog procesa, no sumarni proces prikazan je na Slici 22.



Slika 22. Adsorpcijsko-desorpcijska ravnotežna reakcija interakcije enantiomera analita, kiralne nepokretne faze i molekula otapala tijekom enantioseparacijskog procesa

U prvom stupnju, molekule otapala adsorbiraju se na aktivna mjesta kiralne nepokretne faze i enantiomere analita. U kromatografiji normalnih faza, pokretna faza je dvokomponentna smjesa heksana i alkoholnog modifikatora. Alkoholni modifikator natječe se s analitom za interakcijska mjesta na nepokretnoj fazi. Kako se analit kreće kroz kolonu, događa se prvi u nizu procesa adsorpcije analita. Molekule analita se zamjenjuju s molekulama otapala na površini kiralne nepokretne faze. Nastaju više i manje stabilni diastereomerni kompleksi, s različitim sadržajem slobodne energije. Potom ostale molekule otapala selektivno solvatiraju manje stabilni kompleks, npr. *R*-enantiomer-kiralna nepokretna faza. Kompleks se raspada, a u otopini ostaje solvatirana molekula *R*-enantiomera odvojena od *S*-enantiomera, koja se prva ispire s kolone u vremenu $t_{R(R)}$. Drugi *S*-enantiomer ostaje duže vezan u stabilnijem kompleksu *S*-enantiomer-kiralna nepokretna faza, a zatim i on biva solvatiran, i ispire se s kolone u vremenu $t_{R(S)}$. Zbog razlike u slobodnoj Gibbsovoj energiji ($\Delta\Delta G$) nastajanja dvaju diastereomernih kompleksa, različito je ukupno vrijeme postojanja dvaju kompleksa, a time su različita i vremena zadržavanja enantiomera u koloni ($t_{R(R)}$ i $t_{R(S)}$).¹⁰⁵

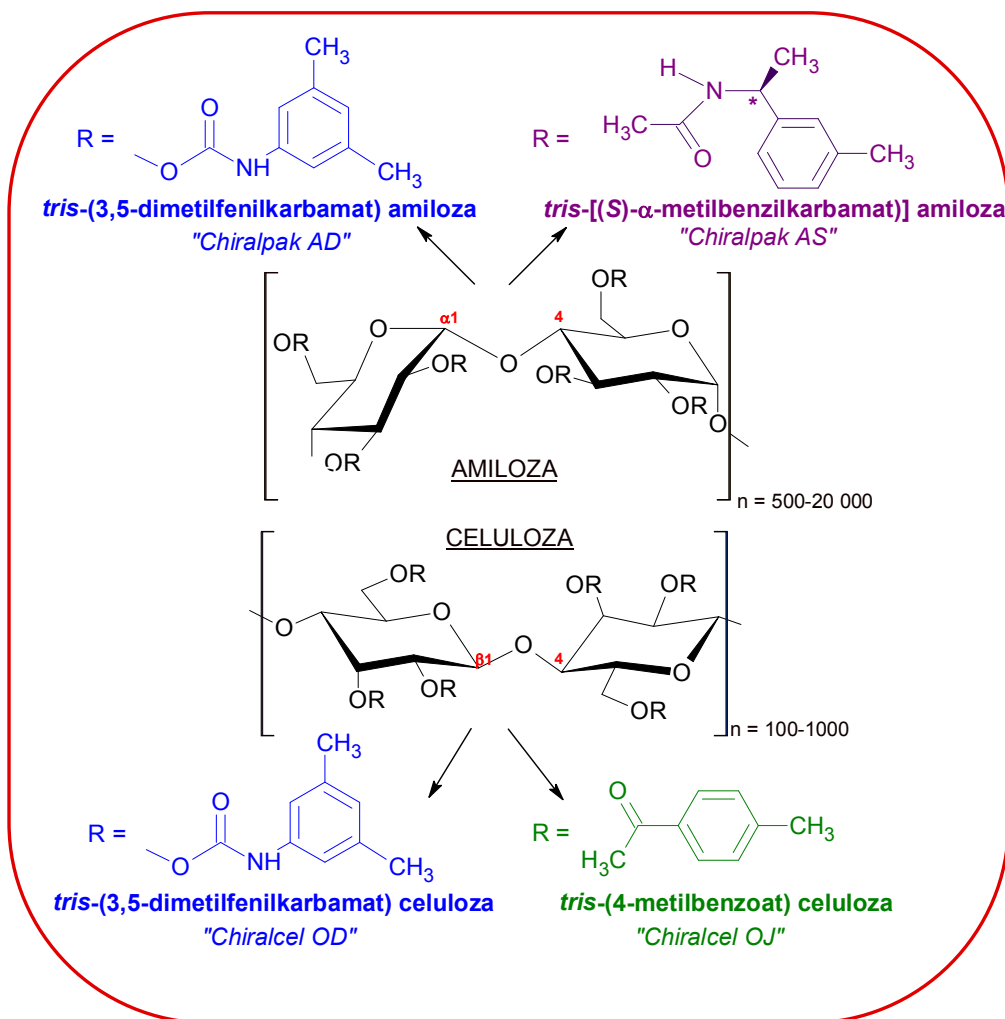
2.3.1 *Polisaharidne kiralne nepokretne faze*

Polisaharidni selektori imaju dugu tradiciju u enantioselektivnoj tekućinskoj kromatografiji. Hesse i Hagel su 1970.-tih objavili prve radove s polimernim selektorom koji je bio mikrokristalinična celuloza-triacetat i nije bio vezan na akiralni nosač.¹⁰⁶ Uz primjenu smjese voda-etanol kao pokretne faze, autori su uspješno razdvojili enantiomere aromatskih i alifatskih spojeva, u analitičkom i preparativnom mjerilu.¹⁰⁷ Nakon toga, uslijedili su radovi i s ostalim polisaharidnim derivatima celuloze, amiloze, hitosana, ksilana, kurdiana, dekstrana i inulina. No, u praktičnom radu uočeni su nedostaci u hidrodinamičkim i kinetičkim svojstvima. Problem su riješili 1984. godine Okamoto i suradnici.¹⁰⁸ Objavili su postupak nanošenja derivata celuloze ili amiloze u masenom udjelu od približno 20 % u tankom sloju na makroporozne kuglice silikagela, veličine pora 1000 Å. Tako pripravljene kiralne polisaharidne nepokretne faze, temeljene na celuloznim i amiloznim esterima i karbamatima adsorbiranim na silikagelnom nosaču, pokazale su izvrsnu enantioselektivnost i dobra kromatografska svojstva.

Od trenutka otkrića 1984. godine do danas, ovakve polisaharidne kiralne nepokretne faze s adsorbiranim kiralnim selektorom na silikagelu, predstavljaju svojevrsno remek-djelo i temeljni su analitički „alat“ farmaceutskih laboratorija. U literaturi se ističe visoka djelotvornost i međusobna komplementarnost u enantioselektivnom djelovanju četiriju polisaharidnih kiralnih kolona pri enantioseparaciji strukturno različitih spojeva. Riječ je o tzv. „zlatnoj četvorci“ japanske tvrtke Daicel Chemical Industries koje su prikazane na Slici 23. Navedene kolone odlikuju se visokim kapacitetom nanošenja analita na kolonu, a prikladne su za primjenu u analitičke i preparativne svrhe.

Polisaharidne nepokretne faze najčešće se koriste u kromatografiji normalnih faza s pokretnim fazama na bazi alkan-alkohol. Mogu se koristiti i u polarno-organskim uvjetima, uz primjenu polarnijih otapala poput acetonitrila i metanola, te u fluidnoj kromatografiji pri superkritičnim uvjetima. U kromatografiji obrnutih faza, s pokretnim fazama na bazi voda-organsko otapalo, u kolonama je drugačiji sastav akiralnog nosača. Ostala otapala poput diklormetana, kloroforma, etil-acetata, tetrahidrofurana, dioksana, toluena i acetona, nepovoljno djeluju na polisaharide uzrokujući bubrenje i/ili otapanje adsorbiranih polimernih slojeva. Tako se nepovratno uništava kolona, jer se ispire kiralni selektor sa silikagela, te se smanjuje djelotvornost kiralne kolone.¹⁰⁹ Ukoliko se kiralni selektor ne adsorbira već imobilizira na silikagel, nastali analozi postaju kompatibilni s navedenim „neprikladnim“

otapalima. Stoga su od 2005. godine na tržištu kolone s imobiliziranim kiralnim selektorima. Tvrtka Daicel Chemical Industries registrirala je tri kolone ovog tipa: kolona *Chiralpak IA* (analog koloni *Chiralpak AD*), kolona *Chiralpak IB* (analog koloni *Chiralcel OD*), te kolona *Chiralpak IC* koja sadrži kiralni selektor *tris*-(3,5-diklorfenilkarbamat) celulozu. Navedene kolone također se mogu primjenjivati u analitičke i preparativne svrhe.¹⁰⁹

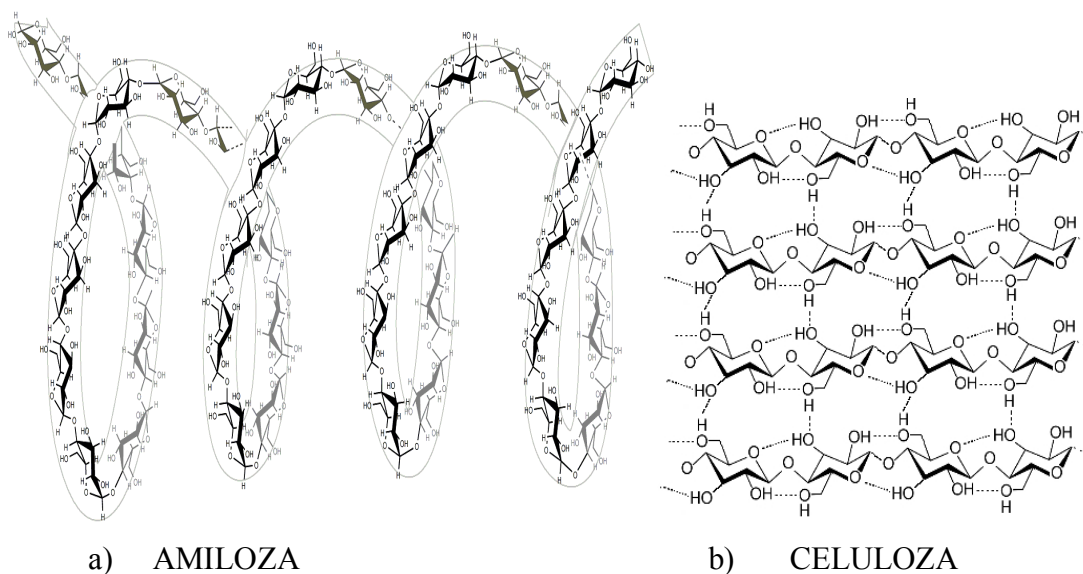


Slika 23. „Zlatna četvorka“ - najčešće korištene polisaharidne kiralne nepokretne faze. Navedena su tržišna imena kiralnih kolona tvrtke Daicel Chemical Industries

2.3.2 Mehanizam kiralnog prepoznavanja na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

Jedinstvena svojstva kiralnog prepoznavanja polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza posljedica su strukturnih osobina derivatiziranih polisaharida. Hijerarhijski uređena kiralnost derivatiziranih polisaharida polazi od molekularne, zatim konformacijske, te konačno supramolekularne kiralnosti. Izvor molekularne kiralnosti su četiri stereogena centra pojedine

D-(+)-glukoze jedinice amiloze, odnosno celuloze. U amilozi, geometrija α -1,4-glikozidne veze između D-(+)-glukoza jedinica uzrokuje prirodno savijanje povezanih glukopiranoza u šuplju spiralnu zavojnicu. Takvom prostornom organiziranosti glukoze jedinice pravilno su raspoređene i prave dobro definirane kiralne šupljine (Slika 24a). Celuloza sadrži polimerne lance D-glukoza jedinica povezanih β -1,4-glikozidnim vezama u snopove paralelnih niti, koje s inter- i intramolekularnim vodikovim vezama oblikuju ploče (Slika 24b).¹¹⁰



Slika 24. a) α -konfiguracija glikozidne veze u amilozi uzrokuje prirodno savijanje u šuplju spiralnu zavojnicu
b) β -konfiguracija glikozidne veze u celulozi pravi snop paralelnih niti koje su međusobno povezane brojnim vodikovim vezama u ploče

Cik-cak naslagivanjem ploča približno na polovici strukture glukoze jedinice, dolazi do blagog savijanja u uzvojnica i nastajanja kiralnih šupljina, ali manje izraženih nego u amilozi. Hidroksilne skupine na glukoznim jedinicama amiloze i celuloze mogu biti kemijski preinačene čime se remeti struktura postojećih vodikovih veza, ali omogućava nastajanje novih interakcija između susstituenta. Nastaju nove, spiralno savijene šuplje preinačene polisaharidne okosnice, koje uzrokuju konformacijsku kiralnost. Supramolekulska kiralnost nastaje zbog prostornog usklađivanja susjednih polimernih lanaca preinačene celuloze, odnosno uzvojnica preinačene amiloze. Nastala uređena struktura višeg reda kiralne nepokretne faze preduvjet je za sposobnost kiralnog prepoznavanja.^{111,112}

Za razumijevanje mehanizma kiralnog prepoznavanja potrebno je primijeniti analitičke i računalne metode za istraživanje veze između strukture kiralnih polisaharidnih selektora nepokretne faze i njenih enantioselektivnih svojstava. U tu svrhu najviše se

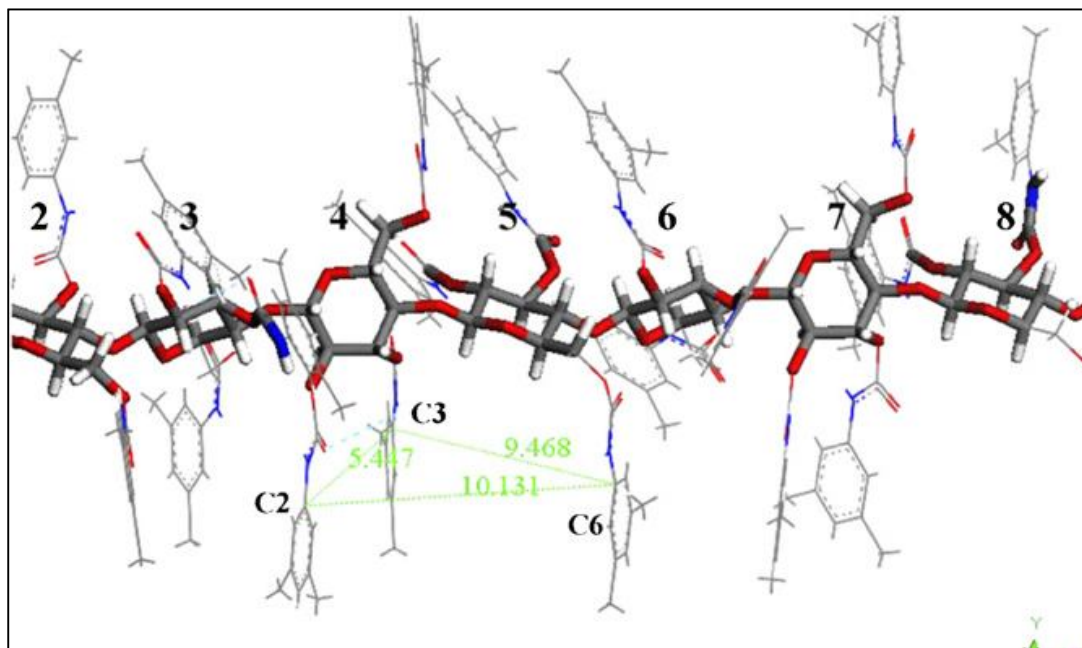
primjenjuju difrakcija rendgenskih zraka i nuklearna magnetska rezonancija bilo otopina ili čvrstog stanja, zatim ^{13}C , ^1H , CP/MAS. Infracrvena spektroskopija, uz primjenu atenuirane totalne refleksije (IR-ATR), a i vibracijski cirkularni dikroizam (VCD) sve se češće koriste za ovaj tip istraživanja. Yamamoto i suradnici su na temelju NMR 2D-NOESY spektara i komputacijskih istraživanja, objavili da je struktura višeg reda kolone *Chiralpak AD*, odnosno *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbammat) amiloze, lijeva četverostruka (4/1) spiralna zavojnica.¹¹³ Analizom spektara vibracijskog cirkularnog dikroizma i infracrvene spektroskopije, uočeno je da je kolona *Chiralcel OD*, odnosno *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbammat) celuloza, lijeva trostruka (3/2) spiralna zavojnica.¹¹⁴ Premda obje nepokretne faze sadrže isti 3,5-dimetilfenilkarbammatni suspsituent, navedene strukturne razlike uzrokuju često opaženu komplementarnost u sposobnosti enantioprepoznavanja različitih spojeva. U oba kiralna biopolimera postoje šupljine nastale od polarnih karbamatnih ostataka i 3,5-dimetilfenilnih grupa, enantiomeri „sjedaju“ u te šupljine i nastaju interakcije s kiralnom nepokretnom fazom. Analizom spektara vibracijskog cirkularnog dikroizma kiralnih nepokretnih faza uočene su konformacijske promjene polisaharidnih okosnica. Pojavljuju se ukoliko se promijeni sastav alkanske (heksan) pokretne faze s promjenom volumnog udjela ili tipa alkoholnog modifikatora (etanol ili 2-propanol), što uzrokuje promjenu polarosti pokretne faze. Razlog im može biti i povišena temperatura, ali i dodatak primjesa (aditiva).¹¹⁵⁻¹¹⁸

Wang i suradnici su istraživali utjecaj otapala na strukturu i kiralno prepoznavanje kolone *Chiralpak AD* primjenjujući NMR čvrstog stanja. Rezultati su pokazali da razgranati alkoholi (2-propanol, *tert*-butil-alkohol) uzrokuju jače savijanje glukoznih jedinica nego linearni alkoholi (etanol, 1-propanol, 1-butanol). Te strukturne razlike mogu uzrokovati promjene u sposobnosti enantioprepoznavanja.^{119,120} Grinberg i suradnici su na temelju rezultata vibracijskog cirkularnog dikroizma (VCD) uočili konformacijske promjene polisaharidnih nepokretnih faza u prisutnosti polarnih otapala.¹²¹ Konformacije se drastično mijenjaju ovisno o koncentraciji etanola i 2-propanola u pokretnoj fazi, a utječu na mehanizam kiralnog prepoznavanja.

U kiralnoj tekućinskoj kromatografiji normalnih faza se pri analizi bazičnih analita u pokretnu fazu alkan-alkohol dodaje amin (dietilamini ili trietilamin), a pri analizi kiselih analita trifluoroctena kiselina. U kiralnoj tekućinskoj kromatografiji obrnutih faza dodaju se perklorati ili heksafluorofosfati. Dodatak aditiva u pokretnu fazu povoljno djeluje na oštrinu (simetričnost) pikova, a ponekad utječe i na poboljšanje razlučivanja enantiomera. No, aditivi mogu uzrokovati privremene, ali ponekad i trajne konformacijske promjene u polisaharidnoj

strukturi. Stoga se u nekim slučajevima poboljšava odjeljivanje enantiomera ili produljuje vrijeme zadržavanja enantiomera, u odnosu na uvjete kada nije bio dodan aditiv u pokretnu fazu - *efekt pamćenja*.^{122,123}

Na sposobnost kiralnog prepoznavanja polisaharidnih nepokretnih faza značajno utječu supstituenti na fenilu ugljikohidratnog polimera. Oni mijenjaju kiselost vodikova atoma u N-H skupini i polarnost C=O karbamatne skupine. Uvođenje elektron donirajuće metilne skupine ili elektron-odvlačećeg halogena u *meta*- ili *para*- položaju fenilnog prstena poboljšava sposobnost kiralnog prepoznavanja kiralne nepokretne faze. Upravo stoga, različito derivatizirane polisaharidne nepokretne faze pokazuju komplementarnost u enantioselektivnosti. U ovakvom supstitucijskom obrascu, nastaju pravilno razmještene kiralne šupljine duž ugljikohidratnog lanca, koje služe kao enantioselektivni „džepovi“ (Slika 25). Polarne karbamatne skupine su vodikovim interakcijama obično „ukopane“ duboko unutar kiralnih šupljina u blizini polisaharidne okosnice. Hidrofobni voluminozni aromatski supstituenti smješteni su pri površini te tako mogu kontrolirati pristup analita ka vezujućem mjestu steričkim interakcijama. Karbamatne i esterske funkcionalne skupine s aromatskim jedinicama racemata prave π - π interakcije, dipol-dipol interakcije, fleksibilno se konformacijski prilagođuju, te tako stabiliziraju kompleks analit-selektor.¹²⁴ Navedeni opći mehanizam vezivanja i razlikovanja enantiomera analita na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama, dopunjuju privlačne i odbojne interakcije uključene u proces odjeljivanja enantiomera. Privlačne interakcije uključuju vodikove veze, elektrostatske i dipol-dipol interakcije te interakcije prijenosa naboja. Hidrofobne interakcije više su izražene u vodenim sustavima, pri kromatografiji obrnutih faza. Odbojne interakcije obično su steričke, no mogu se javiti i dipol-dipol odbijanja. Ukoliko enantiomeri nekog spoja nose samo jedan supstituent koji ima svojstvo pravljenja vodikove veze, i enantiomeri se razdvoje na kiralnoj nepokretnoj fazi, to je dokaz da je samo jedna privlačna sila dovoljna za kiralno prepoznavanje pod tim kromatografskim uvjetima. U tom slučaju može se govoriti o modelu "jednopoložajne interakcije", za razliku od "tropoložajne interakcije", kada su potrebne tri neovisne interakcije između enantiomera i kiralne nepokretne faze. Interakcije mogu biti privlačne i odbojne, mogu biti jednostruke (primjerice vodikove veze), ili višestruke (primjerice dipolna međudjelovanja, π - π interakcije), ali najmanje jedna od njih mora biti stereokemijski ovisna.¹²⁵⁻¹²⁸



Slika 25. Trodimenzionalni prikaz strukture *tris*-(3,5-dimetilfenilkarbamata) celuloze – kolone *Chiralcel OD*. Monomerne jedinice su označene brojevima 2 do 8. Udaljenost između atoma C2, C3 i C6 pograničnih lanaca, daju približne dimenzije (nm) nastale kiralne šupljine

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Materijali

3.1.1 Kemikalije

Sljedeće su kemikalije korištene prilikom postupaka sinteze triju skupina modelnih β -aminoalkohola:

- Otapala za organsku sintezu, čistoće $\geq 98,0$ %, proizvođača Merck, Darmstadt, Njemačka: metanol, etanol, etil-acetat, diklormetan, aceton, tetrahidrofuran, propan-2-ol, acetonitril, toluen, heksan, dietil-eter, kloroform.
- Kemikalije čistoće 95,0 % do 98,0 %, proizvođača Merck, Darmstadt, Njemačka: dietilamin, trietilamin, benzilamin, dibenzilamin, anilin, *p*-nitroanilin, *tert*-butilamin, izopropilamin, 4-metoksianilin (*p*-anisidin), 2-aminopiridin, 2-aminofenol, fenol, epiklorhidrin, jod, trifluormetansulfonska kiselina, 4-metilstiren, kalijev karbonat natrijev borhidrid, acetil-bromid, kalcijev hidrid.
- Kemikalije *p.a.* čistoće, proizvođača Kemika, Hrvatska: natrijev hidrogen karbonat, natrijev sulfat bezvodni, kalcijev karbonat, kalijev hidroksid, klorovodična kiselina *min.* 36,5 %, ledena octena kiselina.
- Kemikalije čistoće *min.* 97,0 %, proizvođača Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD: bakrov sulfat monohidrat, ciklopentan-1,2-epoksid, cikloheksan-1,2-epoksid, *p*-bromstiren, *p*-klorperbenzojeva kiselina (čistoće ≥ 77 %).
- Enantiomerno čiste kemikalije, proizvođača Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD: (*S*)-(-)-glicidol (e.v. = 98 %, čistoće 97 %), (*R*)-(+)-stiren-oksid (e.v. = 97 %, čistoće 97 %), *N*-izopropilbenzilamin (čistoće 97 %), *N-tert*-butilbenzilamin (čistoće 97 %).

Za pripravu pokretnih faza za tekućinsku kromatografiju korištena su LiChrosolv® otapala proizvođača Merck, Darmstadt, Njemačka: etanol, propan-2-ol, heksan te dietilamin.

U istraživanjima su korišteni sljedeći kardiovaskularni lijekovi registrirani na hrvatskom tržištu:

- *Darob mite*® 80 mg, proizvođač Abbott GMBH, Njemačka, djelatna tvar: sotalol
- *Atenolol*® 50 mg, proizvođač Pliva Hrvatska, djelatna tvar: atenolol

- *Carvedol*® 25 mg, proizvođač Belupo, lijekovi i kozmetika d.d., djelatna tvar: karvedilol
- *Bisobel*® 10 mg, proizvođač Belupo, lijekovi i kozmetika d.d., djelatna tvar: bisoprolol

3.1.2 Otopine uzoraka za enantioselektivnu analizu

3.1.2.1 Otopine modelnih β -aminoalkohola

- A) Neposredno prije enantioselektivne analize pripravljene su otopine modelnih β -aminoalkohola otapanjem 5,0 mg pojedinog spoja u otopini 2,0 ml propan-2-ola i 23,0 ml smjese Ψ (heksan, dietilamin) = 99,9 : 0,1. Približna masena koncentracija analita bila je 0,2 mg ml⁻¹.
- B) U slučaju jakog UV odziva analita, izvorne otopine analita A) su razrijeđene: 2,0 ml izvorne otopine A) u otopini 0,4 ml propan-2-ola i 4,6 ml smjese Ψ (heksan, dietilamin) = 99,9 : 0,1. Približna masena koncentracija analita bila je 0,08 mg ml⁻¹.

3.1.2.2 Otopine kardiovaskularnih lijekova

- A) Neposredno prije enantioselektivne analize pripravljene su otopine kardiovaskularnih lijekova sljedećim postupkom:
U porculanskom tarioniku smrvljeno je 5 do 10 tableta u homogeni prah. Na analitičkoj vagi odvagana je količina smrvljenog praha ekvivalentna 5 mg djelatne tvari u odmjernu tikvicu od 20 ml. U tikvicu je pipetirano 5,0 ml etanola za tekućinsku kromatografiju. Tikvica sa sadržajem stavljena je 2 minute u ultrazvučnu kupelj, a potom pažljivo dopunjena do oznake smjesom Ψ (heksan, dietilamin) = 99,9 : 0,1. Tikvica je začepljena i sadržaj je promiješan mućkanjem, te filtriran kroz filter veličine pora 0,45 μ m. Približna masena koncentracija analita bila je 0,25 mg ml⁻¹.
- B) U slučaju jakog UV odziva analita, izvorne otopine A) su razrijeđene: 2,0 ml izvorne u otopini 0,4 ml propan-2-ola i 4,6 ml smjese Ψ (heksan, dietilamin) = 99,9 : 0,1. Približna masena koncentracija analita bila je 0,1 mg ml⁻¹.

3.1.3 Pribor

U svim postupcima sinteze i analize modelnih β -aminoalkohola, kao i pri analizi lijekova, upotrebjeno je stakleno laboratorijsko posuđe. Izuzetak je porculanski tarionik s tučkom, te plastične kapalice. Pri tankoslojnoj kromatografiji upotrebjene su TLC-ploče silikagela, Al-folije, 60 F254, proizvođača Merck. Kolonska kromatografija rađena je na silikagelu, veličine čestica $\phi=0,063-0,2$ mm, proizvođača Merck. Za pripremu radnih otopina analita korištene su staklene trbušaste pipete volumena 2,0 ml i 5,0 ml. Za filtriranje radnih otopina lijekova prije injektiranja u HPLC-sustav, korišten je politetrafluoretilenski (PTFE) filtar koji se spaja na plastičnu injekcijsku špricu.

Enantioselektivna analiza pripremljenih modelnih β -aminoalkohola i lijekova, provedena je korištenjem sljedećih „kiralnih“ kolona za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti, proizvođača Daicel Chemical Industries, Japan:

- *Chiralpak AD* (250 mm x 4,6 mm, veličina čestica 10 μm)
- *Chiralpak AS-H* (250 mm x 4,6 mm, veličina čestica 5 μm)
- *Chiralcel OD* (250 mm x 4,6 mm, veličina čestica 10 μm)
- *Chiralcel OJ* (250 mm x 4,6 mm, veličina čestica 10 μm)

3.1.4 Uređaji

Pri sintezi i enantioselektivnoj analizi modelnih β -aminoalkohola, te enantioselektivnoj analizi kardiovaskularnih lijekova, korišteni su sljedeći uređaji:

- Precizna (tehnička) vaga CPA-623-S, proizvođača Sartorius, Göttingen, Njemačka
- Analitička vaga Mettler XP 205 DR/A, proizvođača Mettler Toledo, Columbus, SAD
- Magnetska mješalica IKA® RCT, proizvođača IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka
- Ultrazvučna kupelj Elma TS 540, proizvođača Elma Hans Schmidbauer GmbH & Co.KG, Singen (Hohentwiel), Njemačka
- UV-lampa za tankoslojnu kromatografiju UV-4B (254 nm), proizvođača Sigma Aldrich Chemie, Buchs SG, Švicarska
- Vakuum sušionik Memmert UFE 500, proizvođača Memmert GmbH, Schwabach Bavaria, Njemačka

- Vakuumski uparivač (rotavapor) Büchi Rotavapor R215, proizvođača Büchi Labortechnik AG, Švicarska
- Uređaj za mjerenje tališta Büchi Melting Point B 540, proizvođača Büchi Labortechnik AG, Švicarska
- Uređaj za mjerenje optičkog skretanja: polarimetar P 1000, opremljen natrijevom lampom (589 nm), proizvođača A. Krüss Optronic, Hamburg, Njemačka
- IR-spektrofotometar Perkin-Elmer 297, proizvođača Perkin-Elmer, Waltham, SAD
- NMR-spektrometar Bruker AV 300, proizvođača Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts, SAD (NMR mjerenja su uslužno rađena u Institutu “Ruđer Bošković”, Zagreb. Mjerenja su provedena pri 300 MHz; kemijski pomaci δ izraženi su u ppm, prema tetrametilsilanu kao unutarnjem standardu, konstante sprege izražene su u Hz)
- Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, Thermo Separation Products (TSP), sastavljen od sljedećih dijelova: vakuumski membranski degaser SCM 1000, kvarterna gradijentna pumpa P 4000, automatski uzorkivač AS 3000, skenirajući UV/VIS detektor 3000 HR, kontroler SN 4000, program za obradu podataka ChromQuest (Ver. 2.51)
- Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti Agilent 1200, sastavljen od sljedećih dijelova: vakuumski membranski degaser G1322, kvarterna gradijentna pumpa G1311A, automatski uzorkivač G1329A, skenirajući UV/VIS detektor G13115D, računalni program za obradu podataka *ChemStation ver. B.03.02*.

3.2 Metode

3.2.1 Priprava β -aminoalkohola 1. skupine

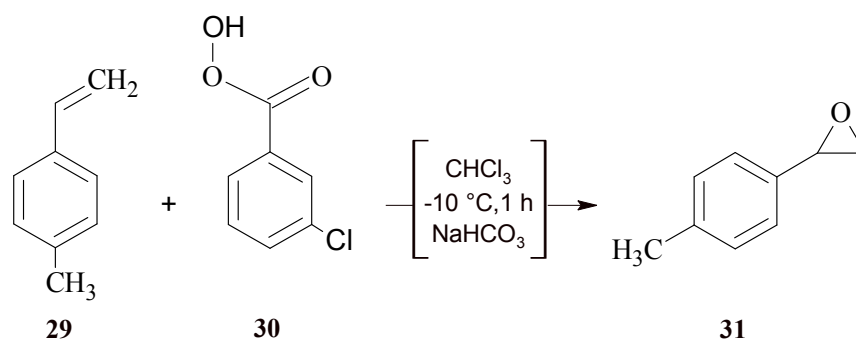
β -Aminoalkoholi 1. skupine pripremljeni su reakcijom stiren-oksida (**28**) i njegovih derivata **29** i **30** s aminima, uz katalizator kalcijev trifluormetansulfonat (**36**), prema metodi razvijenoj u laboratoriju Službe istraživanja, Belupo, lijekovi i kozmetika d.d.⁸¹ Prvi stupanj sinteze jest priprava reaktanata *p*-metilstiren-oksida i *p*-bromstiren-oksida, te katalizatora kalcijevog trifluormetansulfonata (**36**), koji će u reakciji s nizom amina dati odgovarajuće β -aminoalkohole. Produkti reakcija identificirani su na temelju IR-spektra, te ¹H-NMR i ¹³C-

NMR-spektra. Odgovarajući valni brojevi, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$, te kemijski pomaci (δ/ppm) prikazani su u *Prilogu II*.

3.2.1.1 Priprava *p*-metilstiren-oksida

Otopini *p*-metilstirena (**29**; 11,8 g; 0,1 mol) u 60 ml kloroforma ohlađenoj na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokapana je otopina *m*-klorperoksibenzojeve kiseline (**30**) u kloroformu, tijekom 1 h (Shema 6). Otopina *m*-klorperoksibenzojeve kiseline u kloroformu pripravljena je otapanjem kiseline (23,1 g; $\eta = 77\%$) u 120 ml kloroforma, a zatim osušena nad bezvodnim natrijevim sulfatom. Dobiveni bijeli talog je profiltriran i ispran kloroformom ($2 \times 20\text{ ml}$). Filtrat je pomiješan s otopinom natrijeva hidrogenkarbonata (2,5 g u 50 ml vode) i miješan oko 10 minuta na sobnoj temperaturi. Nastala smjesa je profiltrirana i uparena. Nakon sušenja dobiveno je 7,7 g (57,3 %) spoja *p*-metilstiren-oksida (**31**) u obliku bijelog ulja; jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,59$ uz diklormetan kao eluens.

Shema 6

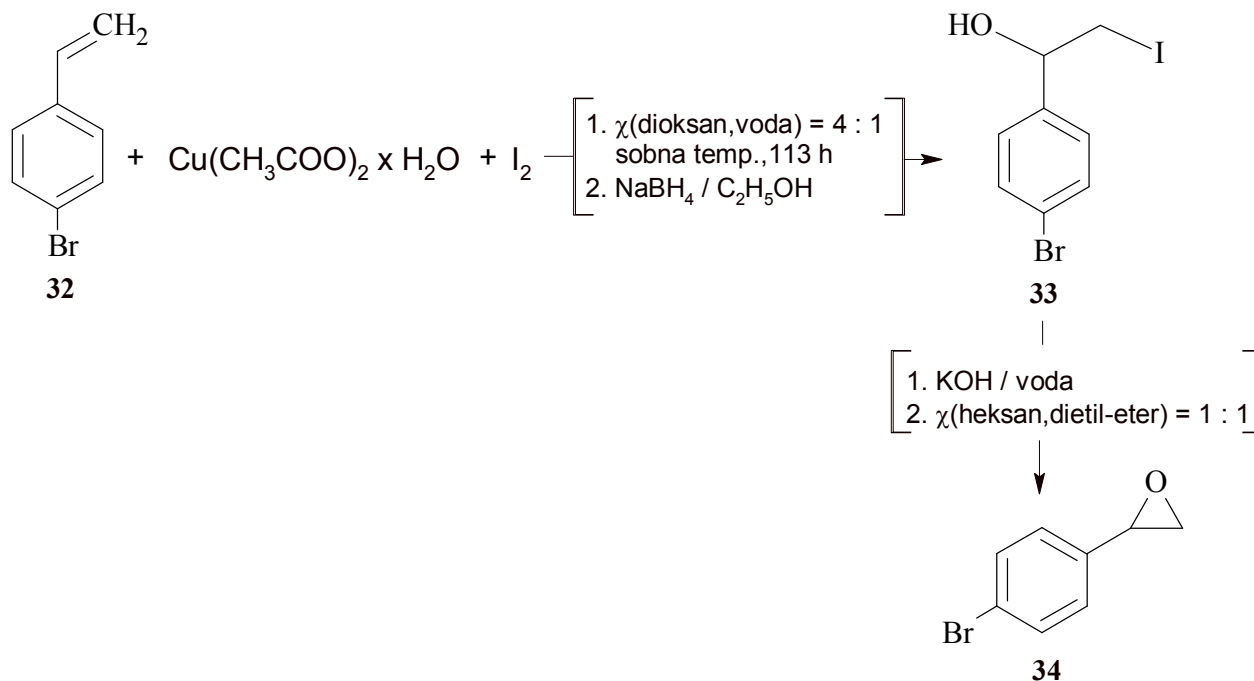


3.2.1.2 Priprava *p*-bromstiren-oksida

Prikaz reakcija priprave *p*-bromstiren-oksida (**34**) je na Shemi 7. Otopini *p*-bromstirena (**32**, 4,6 g; 25,0 mmol) u 25 ml smjese dioksana i vode ($\Psi = 4:1$) dodan je bakrov(II) acetat monohidrat (2,5 g; 12,5 mmol; 0,5 ekv.) i jod (4,8 g; 18,8 mmol; $\chi = 75\%$). Reakcijska smjesa miješana je tijekom 5 dana pri sobnoj temperaturi. Potom je sadržaj tikvice dva puta profiltriran preko celita. Otopini je dodana 1 %-tna otopina natrijeva borhidrida u 96 %-tnom etanolu. Nastala smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi do obezbojenja joda (cca. 5 minuta). Potom je otopina ekstrahirana s $4 \times 30\text{ ml}$ destilirane vode. Organski sloj je odvojen i

sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Dobiveno je 7,5 g ($\eta = 92,0$ %) sirovog 1-(*p*-bromfenil)-2-jodetanola (**33**) u obliku svijetložutog ulja.

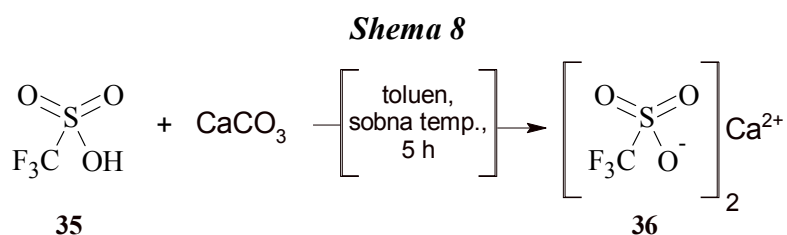
Shema 7



Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, heksan) = 7 : 3. Nakon sušenja dobiveno je 2,2 g ($\eta = 26,4$ %) čistog spoja (**33**) u obliku žutih kristala $t_t = 89,8$ do $90,9$ °C; jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,42$, uz isti eluens. U drugom stupnju reakcije otopini kalijeva hidroksida (384 mg; 6,9 mmol) u 15 ml vode dodana je otopina 1-(*p*-bromfenil)-2-jodetanola (**33**, 2,0 g; 6,12 mmol) u 50 ml smjese Ψ (heksan, dietil-eter) = 1 : 1. Reakcijska smjesa miješana je tijekom 24 h, slojevi su odvojeni, te je organski sloj ispran vodom (3 × 7 ml), sušen nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltriran i uparen. Nakon sušenja pod sniženim tlakom dobiveno je 1,1 g *p*-bromstiren-oksida (**34**) [87,0 % prema spoju (**33**); 22,9 % prema spoju (**32**)], u obliku svijetložute tekućine koja kristalizira pri 4 °C.

3.2.1.3 Priprava katalizatora kalcijevog trifluormetansulfonata

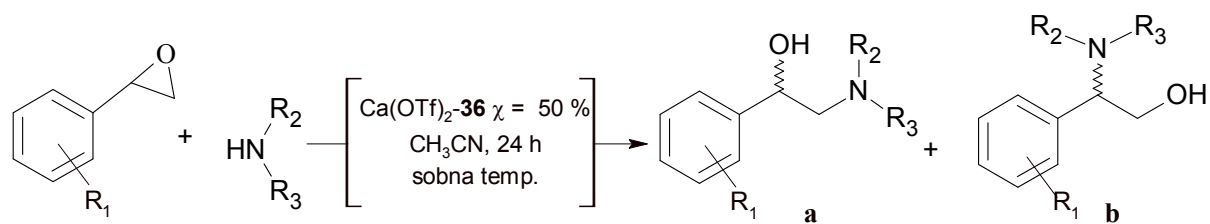
Suspenciji kalcijeva karbonata (143,0 g; 1,43 mol) u 1000 ml toluena dokapana je trifluormetansulfonska kiselina (**35**, 250,0 ml; 427,5 g; 2,86 mol) tijekom 2 h. Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi sljedeća 3 h. Nastali talog je profiltriran, ispran s 300 ml toluena i sušen pod sniženim tlakom tijekom 5 sati. Dobiveno je 465,0 g ($\eta = 97,0\%$) produkta kalcijeva trifluormetansulfonata (**36**) u obliku bijelog praha koji je korišten kao katalizator amonolize epoksida bez daljnjeg pročišćavanja (Shema 8).

3.2.1.4 Opći postupak priprave β -aminoalkohola 1. skupine

β -Aminoalkoholi 1. skupine **43-50** pripremljeni su miješanjem ekvimolarnih količina (0,01 mol) epoksida **28**, **31**, **34**, i amina **37-42** u 30 ml acetonitrila kao otapala, pri sobnoj temperaturi ili temperaturi povrata otapala (80 °C), tijekom minimalno 24 sata. Reakcija je katalizirana s množinskim udjelom od 50 % (0,005 mol) kalcijeva trifluormetansulfonata (**36**). Nakon toga, reakcijska smjesa je uparena do suha, a uparnom ostatku dodano je 30 ml destilirane vode. Organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Produkti u obliku baze su pročišćeni kolonskom kromatografijom i nisu prevedeni u hidrokloride.

Reakcijom amina s derivatima stiren-oksida nastaje smjesa dva regioizomerna produkta (Shema 9). Prvi produkt je 2-(*N*-supstituirani-amino)-1-supstituirani-fenil-etanol **43a-50a**, nastao otvaranjem epoksida na manje supstituiranom C-atomu S_N2 reakcijom. Drugi produkt je 2-(*N*-supstituirani-fenil)amino-2-supstituirani-etanol **43b-50b** nastao otvaranjem epoksida na više supstituiranom C-atomu S_N1 reakcijom. U regioizomernoj smjesi veći je udio S_N2 produkata **43a-50a**, nego S_N1 produkata **43b-50b**. Reakcijski prinosi nastalih β -aminoalkohola, kao i omjeri regioizomernih produkata **a:b** u smjesi, prikazani su u Tablici 2.

Shema 9



28: R₁=H

37: R₂=H, R₃=Ph

38: R₂=H, R₃=*p*-(O₂N)-Ph

39: R₂=H, R₃=*p*-(MeO)-Ph

40: R₂=Bn, R₃=*i*-Pro

41: R₂=Bn, R₃=*tert*-Bu

42: R₂=R₃=Bn

31: R₁=*p*-CH₃, *p*-Br

-II-

34: R₁=*p*-Br

-II-

43a,b: R₁=H, R₂=H, R₃=Ph

44a,b: R₁=H, R₂=H, R₃=*p*-(O₂N)-Ph

45a,b: R₁=H, R₂=H, R₃=*p*-(MeO)-Ph

46a,b: R₁=H, R₂=Bn, R₃=*i*-Pro

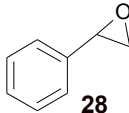
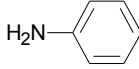
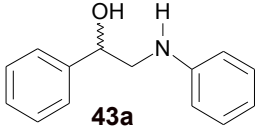
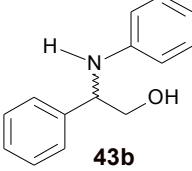

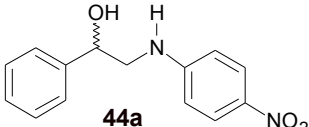
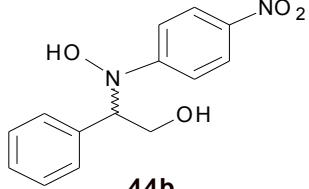
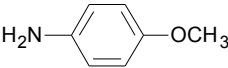
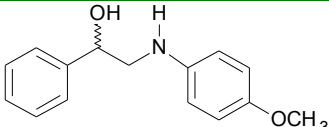
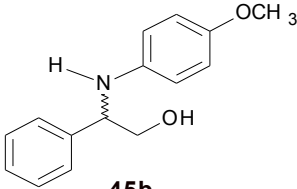
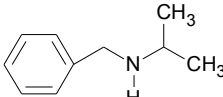
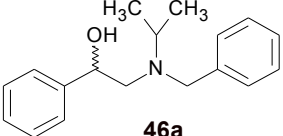
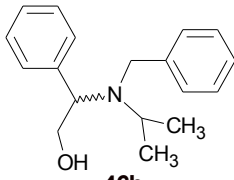
47a,b: R₁=H, R₂=Bn, R₃=*tert*-Bu

48a,b: R₁=H, R₂=R₃=Bn

49a,b: R₁=*p*-CH₃, R₂=R₃=Bn

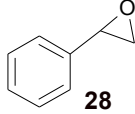
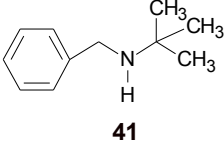
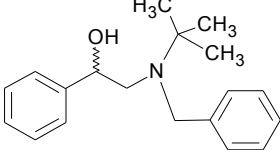
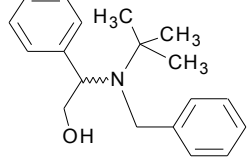
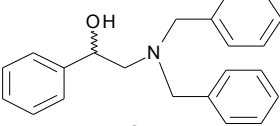
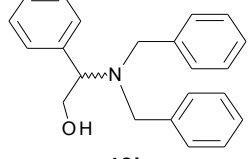
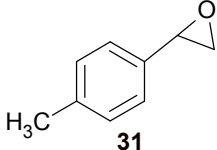
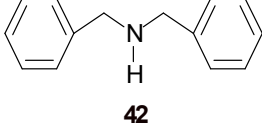
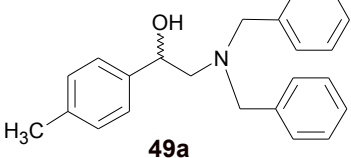
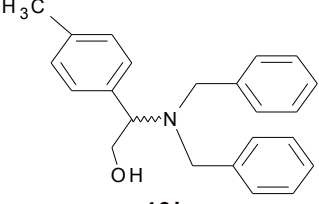
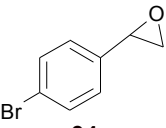
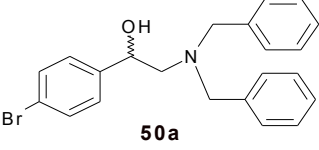
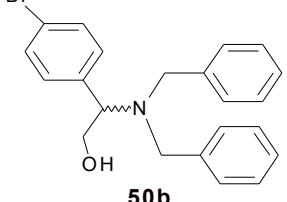
50a,b: R₁=*p*-Br, R₂=R₃=Bn

Tablica 2. Rezultati pripreve β -aminoalkohola prema metodi prikazanoj na Shemi 9

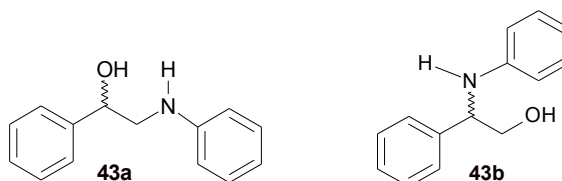
EPOKSID	AMIN	β -AMINOALKOHOL	a:b η / %
 28	 37	 43a  43b	72 : 28 73 %
	 38	 44a  44b	97 : 3 *52 %
	 39	 45a  45b	96 : 4 56 %
	 40	 46a  46b	96 : 4 48 %

* Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 25 dana.

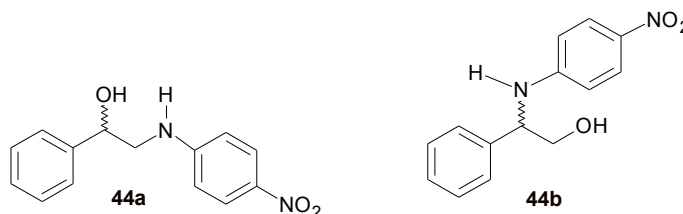
Tablica 2. Nastavak

EPOKSID	AMIN	β -AMINOALKOHOL	a:b η / %
 28	 41	 47a  47b	99 : 1 **13 %
		 48a  48b	96 : 4 85 %
 31	 42	 49a  49b	91 : 9 71 %
 34		 50a  50b	85 : 15 69 %

**Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 48 sati.

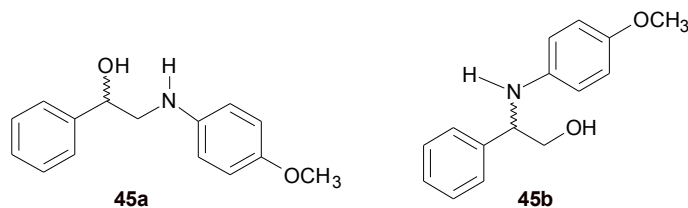
3.2.1.5 Postupci pripreve pojedinačnih β -aminoalkohola 1. skupine**(*RS*)-2-(*N*-fenil)amino-1-fenil-etanol (43a) i (*RS*)-2-(*N*-fenil)amino-2-fenil-etanol (43b)**

Pripravljen je prema općem postupku iz stiren-oksida (**28**, 1,20 g; 0,01 mol) i anilina (**37**, 0,93 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi, tijekom 24 h. Sirovi produkt (1,90 g; $\eta = 92,9\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05. Nakon sušenja dobiveno je 1,5 g ($\eta = 72,8\%$) produkta koji stajanjem prelazi u smjesu ljubičastog i smeđeg ulja. Analizom produkta TLC-om, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05, uočavaju se dvije bliske mrlje, $R_F(1) = 0,38$ i $R_F(2) = 0,35$. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da se izolirana smjesa sastoji od 71,9 % spoja (**43a**) i 28,1 % izomernog 2-(*N*-fenil)amino-2-fenil-etanola (**43b**).

(*RS*)-2-(*N-p*-nitrofenil)amino-1-fenil-etanol (44a) i (*RS*)-2-(*N-p*-nitrofenil)amino-2-fenil-etanol (44b)

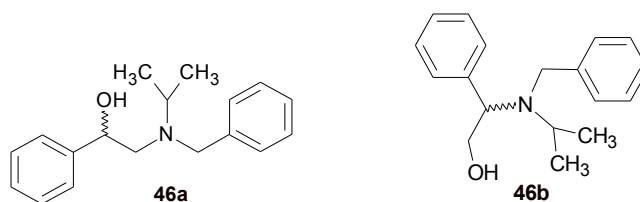
Pripravljen je prema općem postupku iz stiren-oksida (**28**, 1,20 g; 0,01 mol) i *p*-nitroanilina (**38**, 1,38 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi tijekom 25 dana. Sirovi produkt (2,4 g; $\eta = 91,9\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol) = 9,5 : 0,5. Dobiveno je 1,3 g ($\eta = 51,9\%$) spoja (**44a**) u obliku žutog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,33$, uz isti eluens. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 2,9 % izomernog 2-(*N-p*-nitrofenil)amino-2-fenil-etanola (**44b**).

(*RS*)-2-(*N-p*-metoksifenil)amino-1-fenil-etanol (45a) i (*RS*)-2-(*N-p*-metoksifenil)amino-2-fenil-etanol (45b)

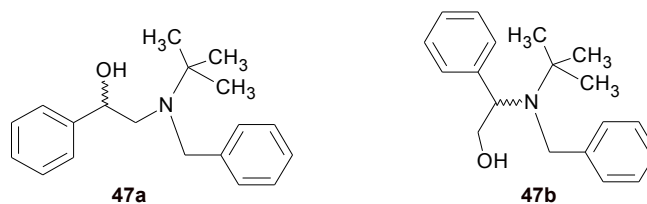


Pripravljen je prema općem postupku iz stiren-oksida (**28**, 1,20 g; 0,01 mol) i *p*-metoksianilina (**39**, 1,23 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt (2,4 g; $\eta = 97,0\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05. Dobiveno je 1,4 g ($\eta = 55,6\%$) čistog spoja (**45a**) u obliku tamnosmeđeg ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,58$, uz isti eluens. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 3,5 % izomernog 2-(*N-p*-metoksifenil)amino-2-fenil-etanola (**45b**).

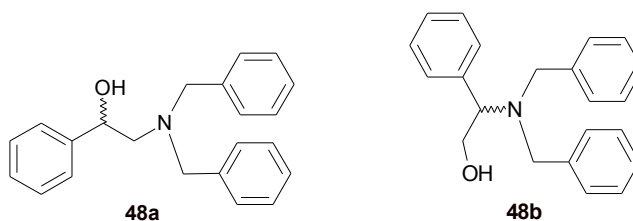
(*RS*)-2-(*N*-benzil-*N*-izopropil)amino-1-fenil-etanol (46a) i (*RS*)-2-(*N*-benzil-*N*-izopropilfenil)amino-2-fenil-etanol (46b)



Pripravljen je prema općem postupku iz stiren-oksida (**28**, 1,20 g; 0,01 mol) i *N*-benzil-izopropilamina (**40**, 0,59 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt (2,20 g; $\eta = 81,8\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol) = 9,5 : 0,5. Nakon sušenja dobiveno je 1,3 g ($\eta = 48,3\%$) čistog spoja (**46a**) u obliku svjetložutog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,57$, uz isti eluens. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 4,3 % izomernog 2-(*N*-benzil-*N*-izopropil)amino-2-fenil-etanola (**46b**).

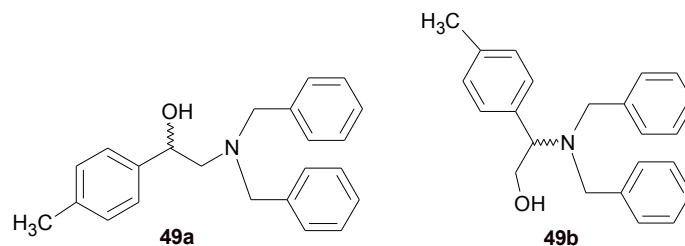
(*RS*)-2-(*N*-benzil-*N*-*tert*-butil)amino-1-fenil-etanol (47a) i (*RS*)-2-(*N*-benzil-*N*-*tert*-butil)amino-2-fenil-etanol (47b)

Pripravljen je prema općem postupku iz stiren-oksida (**28**, 1,20 g; 0,01 mol) i *N*-benzil-*tert*-butilamina (**41**, 0,73 g; 0,01 mol), pri temperaturi povrata otapala tijekom 48 h. Reakcijskoj smjesi dodano je 9,2 ml toluena u volumnom omjeru 1 : 4, homogenizirano laganim zagrijavanjem iznad vodene kupelji, te ostavljeno pri +4 °C tijekom 30 minuta. Dobiveni kristali su odsisani, isprani toluenom, te sušeni do konstantne mase. Dobiveno je 0,4 g ($\eta = 13,1$ %) čistog spoja (**47a**) u obliku sivo-bijelih igličastih kristala, $t_f = 81,8$ do 83,2 °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,45$, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol) = 9,5 : 0,5. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 0,9 % izomernog 2-(*N*-benzil-*N*-*tert*-butil)amino-2-fenil-etanola (**47b**).

(*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-1-fenil-etanol (48a) i (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-2-fenil-etanol (48b)

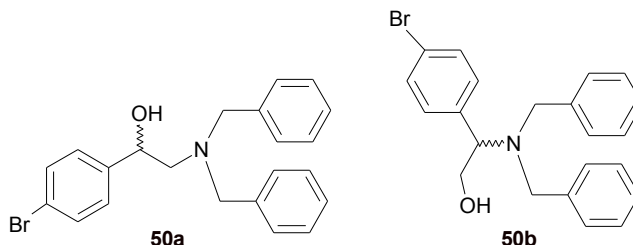
Pripravljen je prema općem postupku iz stiren-oksida (**28**, 1,20 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**40**, 1,97 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt, (3,0 g; $\eta = 95,8$ %) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, trietilamin) = 9,9 : 0,1. Nakon sušenja dobiveno je 2,7 g ($\eta = 84,9$ %) čistog spoja (**48**) u obliku svjetložutog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,37$, uz isti eluens. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 4 % izomernog 2-(*N,N*-dibenzil)amino-2-fenil-etanola (**48b**) nastalog kao produkt S_N1 reakcije.

(*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-1-*p*-metilfenil-etanol (49a) i (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-2-*p*-metilfenil-etanol (49b)



Pripravljen je prema općem postupku iz *p*-metilstiren-oksida (**31**, 1,34 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**42**, 1,97 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt (2,8 g; $\eta = 83,1\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9 : 1 : 0,1. Nakon sušenja dobiveno je 2,4 g ($\eta = 71,2\%$) čistog spoja (**49a**) u obliku tamnoljubičastog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,40$, uz isti eluens. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 8,7 % izomernog 2-(*N,N*-dibenzil)amino-2-*p*-metilfenil-etanola (**49b**) nastalog kao produkt S_N1 reakcije.

(*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-1-*p*-bromfenil-etanol (50a) i (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-2-*p*-bromfenil-etanol (50b)



Pripravljen je prema općem postupku iz *p*-bromstiren-oksida (**34**, 1,54 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**42**, 1,97 g; 0,01 mol), pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Pročišćavanje sirovog produkta 1,9 g ($\eta = 86,3\%$) kromatografijom na stupcu silikagela nije bilo moguće budući da se spoj nije ispirao sa silikagela. Spoj (**50a**) izoliran je trostrukim digeriranjem silikagela na koji je vezan sirovi produkt iz etanola tijekom 15 minuta. Nakon uparavanja etanola dobiveno je 1,5 g ($\eta = 68,9\%$) čistog spoja (**50a**) u obliku žutosmeđeg ulja koje stajanjem kristalizira, $t_t = 71,5$ do $74,2$ °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,22$, eluens sastava Ψ (diklormetan, heksan) = 7 : 3. Na temelju HPLC-analize utvrđeno je da uzorak sadrži i 15,0 % izomernog 2-(*N,N*-dibenzil)amino-2-*p*-bromfenil-etanola (**50b**), produkta S_N1 reakcije.

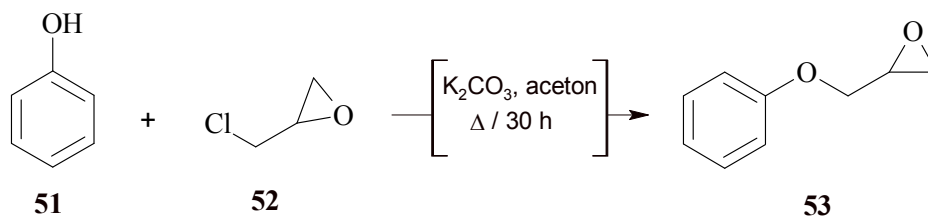
3.2.2 Priprava β -aminoalkohola 2. skupine

β -Aminoalkoholi 2. skupine **57-65** pripremljeni su reakcijom epoksida glicidil-fenil-etera (**53**) s aminima **37-42**, te **54-56**, uz katalizator kalcijev trifluormetansulfonat (**36**), prema metodi razvijenoj u laboratoriju Službe istraživanja, Belupo, lijekovi i kozmetika d.d.⁸¹ Pripremljeni sirovi β -aminoalkoholi u obliku baze, pročišćeni su kolonskom kromatografijom i nisu prevođeni u hidrokloride, izuzev spoja (**61**). Prvi korak u sintezi jest priprava epoksida glicidil-fenil-etera (**53**) (Shema 10), koji reakcijom s nizom amina daje odgovarajuće β -aminoalkohole. Prema HPLC-analizi, reakcijom glicidil-fenil-etera s aminima, nastaju isključivo produkti S_N2 reakcije (Shema 11, Tablica 3). Svi produkti reakcija su identificirani na temelju IR-spektra, te $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ -spektra. Odgovarajući valni brojevi, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$, te kemijski pomaci (δ/ppm) prikazani su u *Prilogu II*.

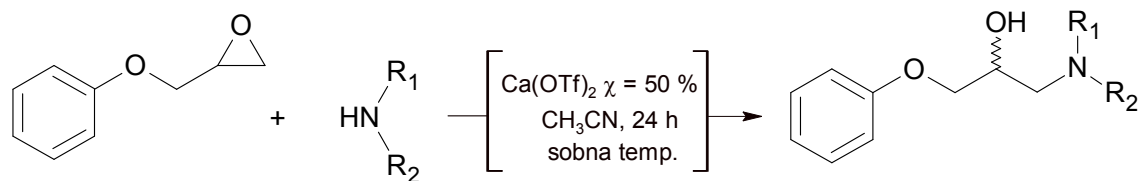
3.2.2.1 Priprava glicidil-fenil-etera

Otopini fenola (**51**, 94,0 g; 1 mol) u 500 ml acetona dodan je prvo kalijev karbonat (140,0 g; 1,01 mol), a zatim epiklorhidrin (**52**, 200 ml; 236,0 g; 2,55 mol). Reakcijska smjesa grijana je pri temperaturi povrata acetona uz miješanje tijekom 30 h. Nakon hlađenja reakcijske smjese, talog je odsisan i ispran acetonom (200 ml). Filtrat je uparen, a ostatak podvrgnut destilaciji pod sniženim tlakom, $t_v = 98,0$ do $101,0$ °C, pri tlaku od 0,8 mm Hg. Dobiveno je 101,1 g ($\eta = 67,4$ %) čistog glicidil-fenil-etera (**53**) u obliku bezbojnog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,36$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, heksan}) = 1 : 1$.

Shema 10



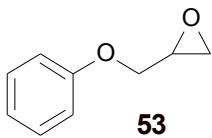
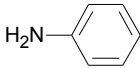
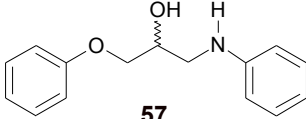
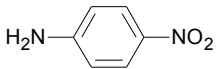
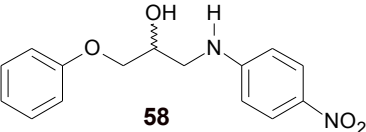
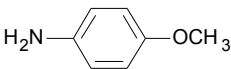
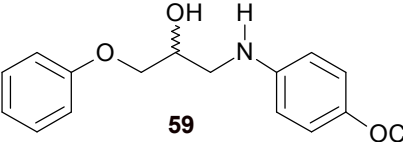
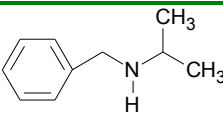
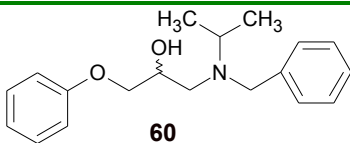
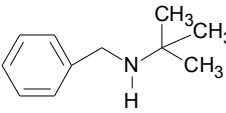
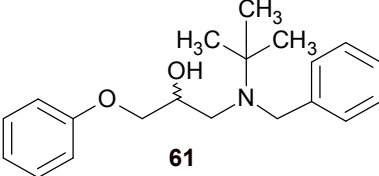
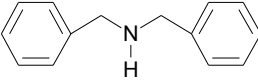
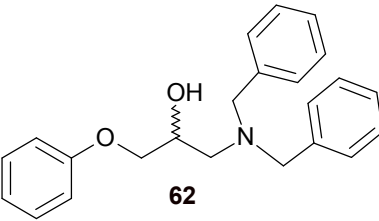
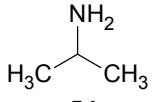
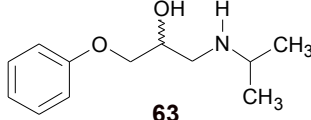
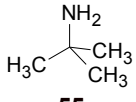
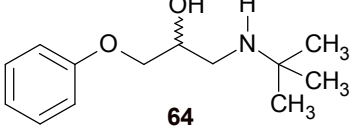
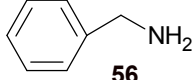
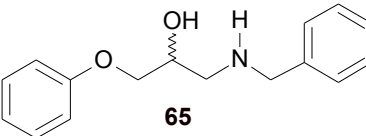
Shema 11

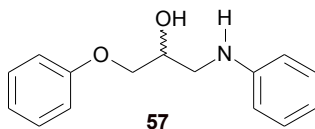


53

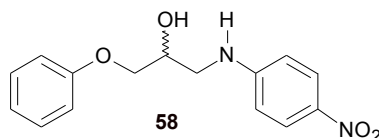
37: R₁=H, R₂=Ph38: R₁=H, R₂=*p*-(O₂N)-Ph39: R₁=H, R₂=*p*-(MeO)-Ph40: R₁=Bn, R₂=*i*-Pro41: R₁=Bn, R₂=*tert*-Bu42: R₁=R₂=Bn54: R₁=H, R₂=*i*-Pro55: R₁=H, R₂=*tert*-Bu56: R₁=H, R₂=Bn57: R₁=H, R₂=Ph58: R₁=H, R₂=*p*-(O₂N)-Ph59: R₁=H, R₂=*p*-(MeO)-Ph60: R₁=Bn, R₂=*i*-Pro61: R₁=Bn, R₂=*tert*-Bu62: R₁=R₂=Bn63: R₁=H, R₂=*i*-Pro64: R₁=H, R₂=*tert*-Bu65: R₁=H, R₂=Bn

Tablica 3. Rezultati pripreve β -aminoalkohola 2. skupine prema reakciji prikazanoj na Shemi 11

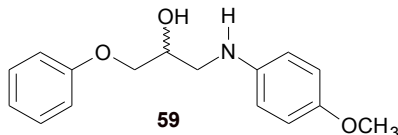
EPOKSID	AMIN	β -AMINOALKOHOL	η / % vrijeme reakcije / h
 53	 37	 57	68 % 48 h
	 38	 58	37 % 48 h
	 39	 59	33 % 24 h
	 40	 60	51 % 30 h
	 41	 61	64 % 24 h
	 42	 62	38 % 24 h
	 54	 63	52 % 0,5 h
	 55	 64	78 % 5 h
	 56	 65	69 % 24 h

3.2.2.2 Postupci pripreve pojedinačnih β -aminoalkohola 2. skupine**(*RS*)-1-(*N*-fenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (57)**

Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i anilina (**37**, 0,93 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 48 h. Dobiveno je 1,7 g ($\eta = 68,0\%$) čistog spoja (**57**) u obliku smeđeg ulja, $R_F = 0,57$, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol) = 9,5 : 0,5. Prema TLC-analizi sadrži tek tragove polaznih spojeva, te je korišten bez dodatnog pročišćavanja kolonskom kromatografijom.

(*RS*)-1-(*N-p*-nitrofenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (58)

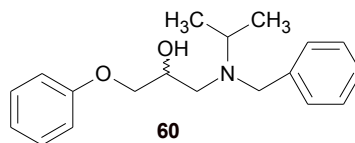
Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i *p*-nitroanilina (**38**, 1,38 g; 0,01 mol) pri temperaturi povrata acetonitrila, tijekom 48 h. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, = 9,5 : 0,5. Dobiveno je 1,0 g ($\eta = 36,8\%$) čistog spoja (**58**) u obliku žutonarančastog gustog ulja koje stajanjem kristalizira u žučkaste kristale, $t_f = 97,5$ do $99,5$ °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,37$, uz isti eluens. Prema TLC-analizi sadrži tek tragove polaznih spojeva, te je korišten bez dodatnog pročišćavanja kolonskom kromatografijom.

(*RS*)-1-(*N-p*-metoksifenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (59)

Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i *p*-metoksianilina (*p*-anisidina) (**39**) (1,23 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi, tijekom 24 h. Sirovi produkt (2,7 g; $\eta = 97,4\%$) u obliku smeđih kristala dodatno je pročišćen miješanjem u 16 ml dietil-etera pri sobnoj temperaturi tijekom 3 h. Nastali talog je odsisan, ispran je s 5 ml dietil-etera, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 0,9 g ($\eta = 32,6\%$) čistog spoja (**59**) u

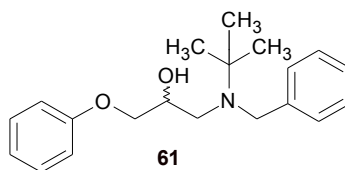
obliku bijelih kristalića, $t_f = 81,1$ do $82,1$ °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,52$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$.

(*RS*)-1-(*N*-benzil-*N*-izopropil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (60)



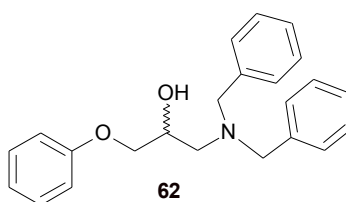
Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i *N*-benzil-izopropilamina (**40**, 1,49 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi, tijekom 30 h. Nakon kromatografskog pročišćavanja na stupcu silikagela, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$, dobiveno je 1,51 g ($\eta = 50,5$ %) čistog spoja (**60**) u obliku žutog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,49$, uz isti eluens.

(*RS*)-1-(*N*-benzil-*N*-*tert*-butil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (61)



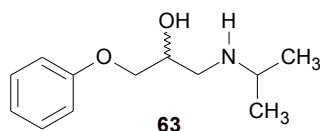
Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i *N*-benzil-*tert*-butilamina (**41**, 1,63 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt (3,7 g; $\eta = 117,6$ %) u obliku žutog ulja preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu pri 80 °C. Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 21 ml etil-acetata pri 77 °C tijekom 1 h. Nastali talog je odsisan, ispran etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 2,0 g ($\eta = 64,2$ %) hidroklorida spoja (**61**) u obliku bijelih kristalića, $t_f = 160,1$ do $161,1$ °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,75$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$.

(*RS*)-1-(*N,N*-dibenzil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (62)



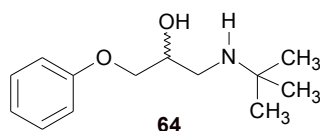
Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**42**, 1,97 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi, tijekom 24 h. Sirovi produkt (2,0 g; $\eta = 79,7\%$) u obliku blijedožućkastog ulja stajanjem kristalizira u bezbojne masne kristale, $t_t = 63,0$ do $64,7\text{ }^\circ\text{C}$, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,52$, uz diklormetan kao eluens. Sirovi produkt pročišćen je miješanjem kristaliziranog uzorka 1,8 g, u smjesi sastava $\Psi(\text{heksan, dietil-eter}) = 1 : 1$, pri sobnoj temperaturi tijekom 24 sata. Nastali bezbojni kristali su odsisani i isprani smjesom $\Psi(\text{heksan, dietileter}) = 1 : 1$, te sušeni pod sniženim tlakom. Dobiveno je 680 mg (38,0 %) čistog spoja (**62**), $t_t = 67,2$ do $68,0\text{ }^\circ\text{C}$.

(*RS*)-1-(*N*-izopropil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (63**)**

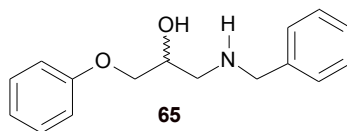


Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i izopropilamina (**54**, 0,59 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 30 minuta. Sirovi produkt (1,9 g; $\eta = 92,4\%$) u obliku bezbojnih kristala pročišćen je prekrizacijom iz 20 ml toluena nakon čega je dobiveno 1,2 g ($\eta = 51,8\%$) čistog spoja (**63**) u obliku bezbojnih kristala, $t_t = 94,0$ do $95,5\text{ }^\circ\text{C}$, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,35$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, metanol}) = 9 : 1$.

(*RS*)-1-(*N*-*tert*-butil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (64**)**



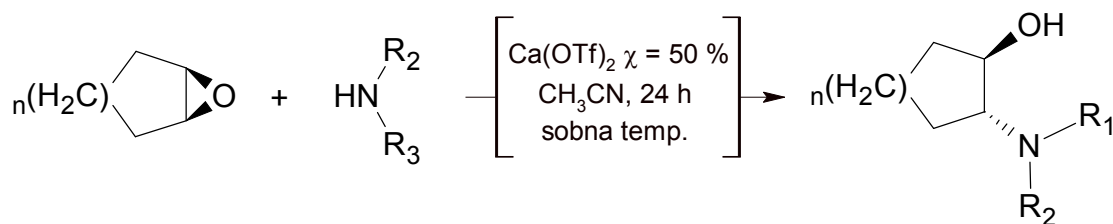
Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i *tert*-butilamina (**55**, 0,73 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt (1,9 g; $\eta = 79,2\%$) u obliku bezbojnih kristala pročišćen je prekrizacijom iz 20 ml toluena nakon čega je dobiveno 1,7 g ($\eta = 68,5\%$) čistog spoja (**64**) u obliku bezbojnih kristala, $t_t = 98,0$ do $99,5\text{ }^\circ\text{C}$, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,17$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, metanol}) = 9 : 1$.

(*RS*)-1-(*N*-benzil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (65)

Pripravljen je prema općem postupku iz glicidil-fenil-etera (**53**, 1,50 g; 0,01 mol) i benzilamina (**56**, 1,07 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 5 h. Sirovi produkt (2,0 g; $\eta = 77,8\%$) stajanjem kristalizira u bezbojne masne kristale, $t_t = 69,0$ do $72,5^\circ\text{C}$, $R_F = 0,37$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, metanol}) = 9 : 1$. Prema TLC-analizi sirovi produkt sadrži tek tragove polaznih spojeva, te je korišten bez dodatnog pročišćavanja kolonskom kromatografijom.

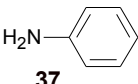
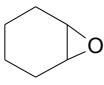
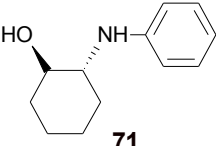
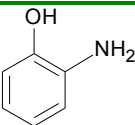
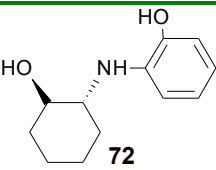
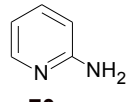
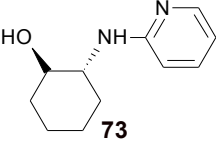
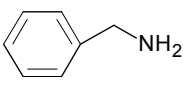
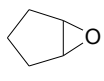
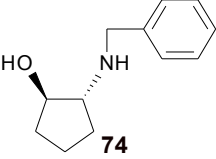
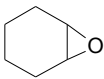
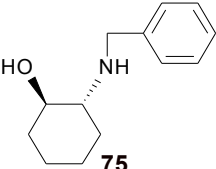
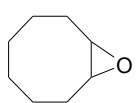
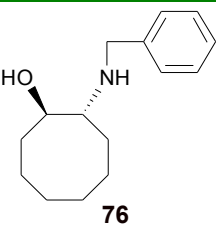
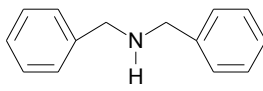
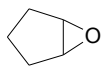
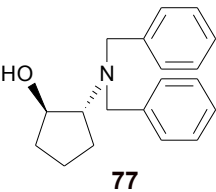
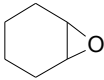
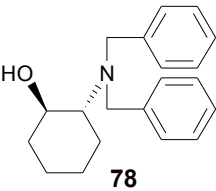
3.2.3 Priprava β -aminoalkohola 3. skupine**3.2.3.1 Opći postupak priprave β -aminoalkohola 3. skupine**

Reakcijom tržišno dostupnih simetričnih *meso*-epoksida **66-68** s aminima **37**, **42**, **56**, **69**, **70** uz katalizator kalcijev trifluormetansulfonat (**36**) nastaju β -aminoalkoholi 3. skupine **71-78** (Shema 12, Tablica 4). Reakcija katalitičke amonolize ciklooktan-1,2-epoksida (**68**) sa dibenzilaminom (**42**) nije bila uspješna - nije nastao produkt (**79**). Svi produkti reakcija su identificirani na temelju IR-spektra, te $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ -spektra. Odgovarajući valni brojevi, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$, te kemijski pomaci (δ/ppm) prikazani su u *Prilogu II*.

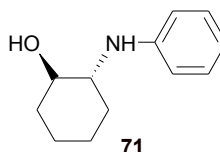
Shema 12**66:** $n=1$, $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}$ **67:** $n=2$, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$ **68:** $n=3$, $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}$ **37:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{Ph}$ **42:** $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{Bn}$ **56:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{Bn}$ **69:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ **70:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$ **71:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{Ph}$, $n=2$ **72:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$, $n=2$ **73:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$, $n=2$ **74:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{Bn}$, $n=1$ **75:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{Bn}$, $n=2$ **76:** $\text{R}_1=\text{H}$, $\text{R}_2=\text{Bn}$, $n=3$ **77:** $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{Bn}$, $n=1$ **78:** $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{Bn}$, $n=2$ ***79:** $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{Bn}$, $n=3$

*neuspješna sinteza

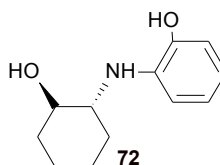
Tablica 4. Rezultati pripreve β -aminoalkohola 3. skupine prema reakciji prikazanoj na Shemi 12

AMIN	EPOKSID	β -AMINOALKOHOL	η / % vrijeme reakcije / h
 37	 67	 71	86 % 24 h
 69		 72	75 % 5 h
 70		 73	24 % 72 h
 56	 66	 74	66 % 5 h
	 67	 75	86 % 4 h
	 68	 76	*38 % 24 h
 42	 66	 77	9 % 24 h
	 67	 78	68 % 5 h

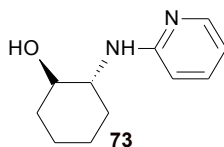
* Reakcija je provedena pri temperaturi povrata otapala.

3.2.3.2 Postupci pripreve pojedinačnih β -aminoalkohola 3. skupine**(*RS*)-2-(*N*-fenil)amino-cikloheksanol (71)**

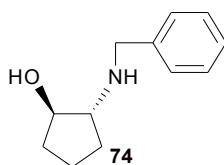
Pripravljen je prema općem postupku iz cikloheksan-1,2-epoksida (**67**, 0,98 g; 0,01 mol) i anilina (**37**, 0,93 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol) = 9 : 1. Dobiveno je 1,64 g ($\eta = 85,8\%$) čistog spoja (**71**) u obliku ulja koje stajanjem kristalizira u narančaste masne kristaliće, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,70$, uz isti eluens. Prema TLC-analizi sadrži tek tragove polaznih spojeva, te je dobiveni spoj (**71**) korišten bez dodatnog pročišćavanja kolonskom kromatografijom.

(*RS*)-2-(*N*-hidroksifenil)amino-cikloheksanol (72)

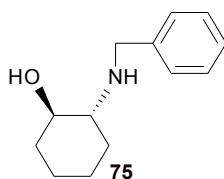
Pripravljen je prema općem postupku iz cikloheksan-1,2-epoksida (**67**, 0,98 g; 0,01 mol) i 2-aminofenola (**69**, 1,10 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 5 h. Sirovi produkt (2,02 g; $\eta = 97,6\%$) u obliku tamnosmeđih kristala preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu pri 80 °C. Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 6 ml etil-acetata pri 77 °C tijekom 30 minuta. Nastali talog je odsisan, ispran etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 1,54 g ($\eta = 74,4\%$) hidroklorida spoja (**72**) u obliku smeđih kristalića, $t_f = 166,1$ do 198,3 °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,64$, uz eluens sastava Ψ (diklormetan, metanol, trietilamin) = 9 : 1 : 0,05.

(*RS*)-*trans*-2-(*N*-piridil)amino-cikloheksanol (73)

Pripravljen je prema općem postupku iz cikloheksan-1,2-epoksida (**67**, 0,98 g; 0,01 mol) i 2-aminopiridina (**70**, 0,95 g; 0,01 mol) pri temperaturi povrata acetonitrila (80 °C) tijekom 72 h. Sirovi produkt (1,05 g; $\eta = 62,5$ %) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, metanol, trietilamin}) = 9 : 1 : 0,05$. Dobiveno je 0,40 g ($\eta = 23,8$ %) čistog spoja (**73**) u obliku ulja koje stajanjem kristalizira u svijetložute masne kristaliće, jedna mrlja na TLC-ploči ($R_F = 0,49$) uz isti eluens. Budući je dobivena vrlo mala količina spoja (**73**), spoj je korišten bez dodatnog pročišćavanja.

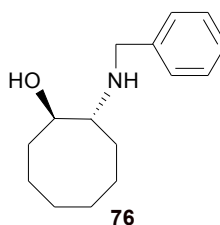
(*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-ciklopentanol (74)

Pripravljen je prema općem postupku iz ciklopentan-1,2-epoksida (**66**, 0,85 g; 0,01 mol) i benzilamina (**56**, 1,07 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 5 h. Sirovi produkt (1,51 g; $\eta = 79,1$ %) u obliku žutog ulja preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu, pri 80 °C. Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 15 ml etil-acetata pri 77 °C tijekom 1 h. Nastali talog je odsisan, ispran etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 1,25 g ($\eta = 65,5$ %) hidroklorida spoja (**74**) u obliku bijelih kristalića, $t_f = 134,8$ do 204,2 °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,62$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$.

***trans*-(*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-cikloheksanol (75)**

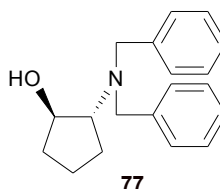
Pripravljen je prema općem postupku iz cikloheksan-1,2-epoksida (**67**, 0,98 g; 0,01 mol) i benzilamina (**56**, 1,07 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 4 h. Sirovi produkt (2,03 g; $\eta = 99,0\%$) u obliku narančastog ulja preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu pri 80 °C. Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 13 ml etil-acetata pri 77 °C tijekom 1 h. Nastali talog je odsisan, ispran s etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 1,77 g ($\eta = 86,3\%$) hidroklorida spoja (**75**) u obliku bijelih kristalića, $t_f = 163,3$ do 179,0 °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,74$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$.

(RS)- 2-(N-benzil)amino-ciklooktanol (76)



Pripravljen je prema općem postupku iz ciklooktan-1,2-epoksida (**68**, 1,26 g; 0,01 mol) i benzilamina (**56**, 1,07 g; 0,01 mol) pri temperaturi povrata acetonitrila (80 °C) tijekom 72 h. Sirovi produkt (0,92 g; $\eta = 38,0\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$. Dobiveno je 0,17 g ($\eta = 6,8\%$) čistog spoja (**76**) u obliku smeđeg ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,66$, uz isti eluens. Budući je dobivena vrlo mala količina spoja (**76**), spoj je korišten bez dodatnog pročišćavanja kolonskom kromatografijom.

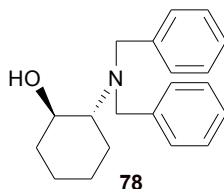
(RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-ciklopentanol (77)



Pripravljen je prema općem postupku iz ciklopentan-1,2-epoksida (**66**, 0,85 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**42**, 1,97 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt (1,61 g; $\eta = 57,0\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$. Dobiveno je 0,24 g ($\eta = 8,5\%$) čistog spoja (**77**) u obliku žutog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,66$, uz isti eluens. Budući je dobivena vrlo

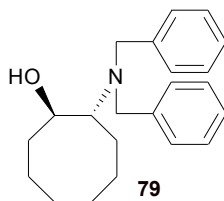
mala količina spoja (77), spoj je korišten bez dodatnog pročišćavanja kolonskom kromatografijom.

(*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-cikloheksanol (78)



Pripravljen je prema općem postupku iz cikloheksan-1,2-epoksida (**67**, 0,98 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**42**, 1,97 g; 0,01 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 5 h. Sirovi produkt (2,43 g; $\eta = 82,4\%$) u obliku žutog ulja preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu pri 80 °C. Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 15 ml etil-acetata pri 77 °C tijekom 1 h. Nastali talog je odsisan, ispran etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 2,0 g ($\eta = 67,8\%$) hidroklorida spoja (**78**) u obliku bijelih kristalića, $t_f = 249,5$ do 253,0 °C, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,36$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$.

Pokušaji pripreve (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-ciklooktanol (79)



Reakcija ciklooktan-1,2-epoksida (**68**, 1,26 g; 0,01 mol) i dibenzilamina (**42**, 1,97 g; 0,01 mol), pri temperaturi povrata acetonitrila (80 °C), tijekom 72 sata, nije rezultirala produktom (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-ciklooktanolom (**79**). Provjerom napretka reakcije pomoću TLC-analize, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$, uočene su mrlje polaznih spojeva, ali ne i bilo kakva druga mrlja koja bi naznačila nastanak željenog produkta (**79**).

U cilju pripreve spoja (**79**), isprobana je i Swamyeva metoda,¹²⁹ miješanjem ekvimolarnih količina epoksida ciklooktan-1,2-epoksida (**68**, 0,126 g; 0,001 mol) i dibenzilamina (**42**, 0,197 g; 0,001 mol) u 10 ml acetonitrila kao otapala, pri temperaturi povrata otapala (80 °C), u prisustvu ZrCl_4 , $\chi = 10\%$, tijekom 72 sata. Nakon toga reakcijska smjesa uparena je do suha, a uparnom ostatku dodano je 10 ml destilirane vode. Organski sloj

je odvojen, a vodeni ekstrahirani miješanjem s 3×20 ml etil-acetata. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Sirovi produkt (0,161 g; $\eta = 50,5$ %) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,8 : 2$. Uparene su frakcije na kojim se na TLC-ploči, uz mrlje polaznih spojeva, nazire i mrlja produkta s $R_F = 0,56$, uz isti eluens. Dobiveni produkt 0,066 g ($\eta = 20,7$ %) u obliku žutog ulja analiziran je HPLC-om, na koloni *Chiralpak AD*, uz pokretnu fazu sastava $\Psi(\text{heksan, propan-2-ol, dietilamin}) = 80 : 20 : 0,1$. Na kromatogramu je vidljivo da je dobiveni produkt onečišćen velikom količinom polaznih spojeva, a sadržaj produkta u reakcijskoj smjesi, iznosi svega 0,9 %. Takva mala količina onečišćenog produkta (**79**) nije bila dovoljna za provođenje daljnjih istraživanja u ovom radu.

Zatim je isprobana sintetska metoda koju su objavili Chini i suradnici.¹³⁰ Reakcija je provedena miješanjem ekvimolarnih količina epoksida ciklooktan-1,2-epoksida (**68**, 0,126 g; 0,001 mol) i dibenzilamina (**42**, 0,197 g; 0,001 mol) u 10 ml acetonitrila kao otapala, pri temperaturi povrata otapala (80 °C), u prisustvu $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, $\chi = 10$ %, tijekom 72 sata. Nakon toga reakcijska smjesa uparena je do suha, a uparnom ostatku dodano je 10 ml destilirane vode. Organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahirani miješanjem s 3×20 ml etil-acetata. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Sirovi produkt 0,083 g ($\eta = 26,0$ %) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,8 : 2$. Uparene su frakcije koje sadržavaju mrlju produkta ($R_F = 0,56$, uz isti eluens), te je dobiveno 0,036 g ($\eta = 11,3$ %) produkta. HPLC-analizom produkta, na koloni *Chiralpak AD*, uz pokretnu fazu sastava $\Psi(\text{heksan, propan-2-ol, dietilamin}) = 80 : 20 : 0,1$, uočena je velika količina prisutnih polaznih spojeva, a sadržaj produkta u reakcijskoj smjesi, iznosi samo 0,8 %. Mala količina onečišćenog produkta (**79**) je bila nedovoljna za provođenje daljnjih istraživanja u ovom radu.

3.2.4 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola

U cilju priprave enantiomerno čistih (obogaćenih) β -aminoalkohola, sintetizirani su enantiomerno čisti epoksidi: (*R*)-(+)-glicidil-fenil-eter (**R-53**), (*R,R*)-*meso*-ciklopentan-1,2-epoksid (**R,R-66**), te (*R,R*)-*meso*-cikloheksan-1,2-epoksid (**R,R-67**), koji će u reakciji s aminima dati odgovarajuće enantiomerno čiste (obogaćene) β -aminoalkohole. Produkti reakcija su identificirani na temelju IR-spektra, te $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ -spektra. Odgovarajući valni brojevi, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$, te kemijski pomaci (δ/ppm) prikazani su u *Prilogu II*.

3.2.4.1 Priprava enantiomerno čistih epoksida

Priprava (*R*)-(+)-glicidil-fenil-etera (**R-53**)

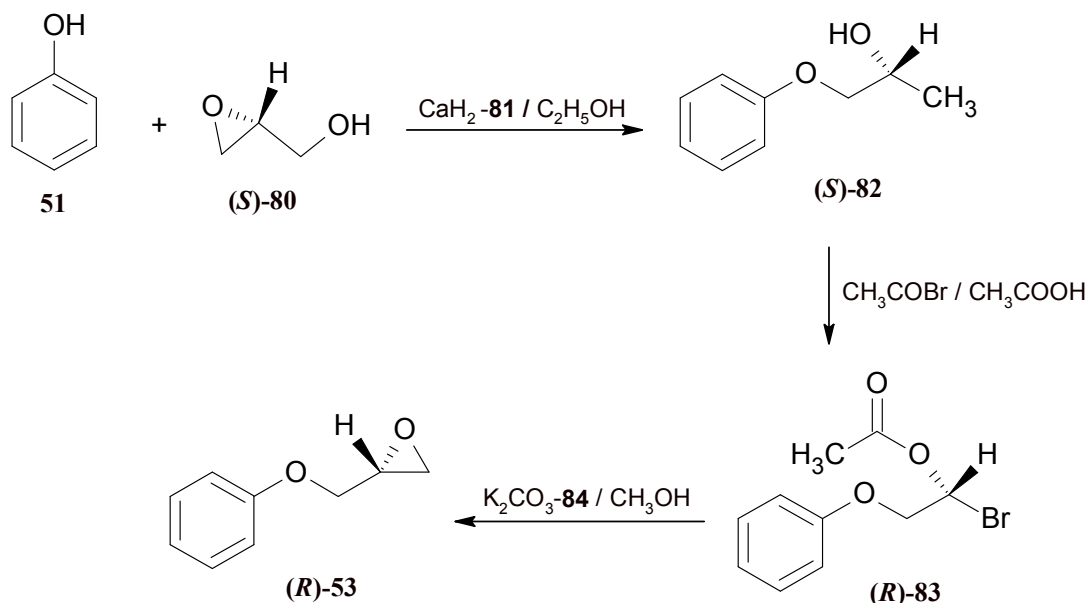
Priprava (*R*)-glicidil-fenil-etera (**R-53**) se sastoji od tri uzastopna stupnja reakcije - postupci A, B i C (Shema 13). Postupkom A se iz fenola (**51**), (*S*)-(-)-glicidola (**S-80**) i kalcijevog hidrida (**81**) u etanolu pripravi (*S*)-3-fenoksi-1,2-propandiol (**S-82**). U postupku B se u reakcijsku smjesu acetil-bromida i ledene oetene kiseline dodaje spoj (**S-82**), pri čemu nastaje (*R*)-3-fenoksi-2-acetoksi-1-brompropan (**R-83**). U postupku C spoj (**R-83**) u reakciji s kalijevim karbonatom (**84**) u metanolu daje (*R*)-(+)-glicidil-fenil-eter (**R-53**).

Postupak A) Priprava (*S*)-(-)-3-fenoksi-1,2-propandiola (**S-82**)

Otopini (*S*)-(-)-glicidola [(**S-80**), 10 g; 0,135 mol] u 100 ml apsolutnog etanola dodan je fenol (**51**, 12,7 g; 0,135 mol), te kalcijev hidrid (**81**, 1,14 g; 0,027 mol) u malim obrocima tijekom 30 minuta. Reakcijska smjesa grijana je pri temperaturi povrata otapala (81 °C) tijekom 48 h. Nakon toga smjesa je ohlađena, u nju je dokapano 20 ml vode tijekom 30 minuta. Nakon miješanja pri sobnoj temperaturi tijekom sljedećih 30 minuta, nastali talog je odsisan, a filtrat uparen. Ostatak otapala azeotropno je uklonjen acetonitrilom (2×100 ml), a zatim pod sniženim tlakom sušen do konstantne mase. Dobiveno je 13,6 g ($\eta = 59,7\%$) čistog spoja (**S-82**) u obliku narančastog ulja, $R_F = 0,24$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$. Pripravljeni spoj (*S*)-(-)-3-fenoksi-1,2-propandiol (**S-82**) korišten je za sintezu (*R*)-3-fenoksi-2-acetoksi-1-brompropana (**R-83**) bez dodatnog pročišćavanja. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = -12,6^\circ$ ($c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

Postupak B) Priprava (*R*)-3-fenoksi-2-acetoksi-1-brompropana (*R*)-83

Smjesi acetil-bromida (20 ml; 0,268 mol) i ledene octene kiseline (20 ml) ohlađenoj na 0 °C dokapana je voda (4,8 ml; 0,27 mol) tijekom 15 minuta. Dobivena otopina miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 1 h. Zatim je reakcijskoj smjesi dokapana otopina (*S*)-(-)-3-fenoksi-1,2-propandiola [(*S*)-82, 13,05 g; 0,0776 mol] u 20 ml ledene octene kiseline tijekom 20 minuta, te je miješanje nastavljeno pri temperaturi 35 do 40 °C tijekom 1 h. Nakon toga reakcijska smjesa je ulivena u smjesu 500 ml vode, 50 ml diklormetana i 50 g leda. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran s 2×50 ml diklormetana. Spojeni organski ekstrakti miješani su s 5 g natrijeva hidrogenkarbonata i natrijeva sulfata tijekom 1 h, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja pod sniženim tlakom dobiveno je 19,2 g ($\eta = 90,6\%$) čistog spoja (*R*)-3-fenoksi-2-acetoksi-1-brompropana, (*R*)-83 u obliku svijetlosmeđeg ulja. Pripravljeni spoj (*R*)-83 korišten je za sintezu (*R*)-glicidil-fenil-etera (*R*)-53 bez dodatnog pročišćavanja.

Shema 13**Postupak C) Priprava (*R*)-glicidil-fenil-etera (*R*)-53a**

Otopini (*R*)-3-fenoksi-2-acetoksi-1-brompropana [(*R*)-83, 16,2 g; 0,06 mol] u 30 ml metanola dodan je kalijev karbonat (84, 9,0 g; 0,065 mol) te je nastala smjesa miješana pri sobnoj temperaturi tijekom 2,5 h. Nakon toga reakcijska smjesa ulivena je u 50 ml zasićene vodene otopine amonijeva klorida. Nastala smjesa ekstrahirana je s 3×50 ml diklormetana. Spojeni

organski ekstrakti sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 7,1 g ($\eta = 93,5\%$) čistog spoja **(R)-83**.

Priprava **(R,R)**-meso-ciklopentan-1,2-epoksida **(R,R)**-66

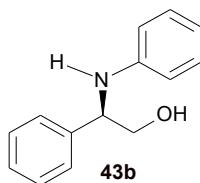
Otopini ciklopentena (**88**, 1,6 g; 0,024 mol) u 20 ml diklormetana dodan je **(R,R)**-Jacobensenov katalizator **(R,R)**-**86** (310 mg; 0,0005 mol). Nastala smjesa miješana je 10 min pri 0 °C, a zatim je polagano dodano 33 ml natrijevog perklorata (**87**, 5,36 g; 0,072 mol). Nakon miješanja organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran s 3×20 ml heksana. Spojeni organski ekstrakti sušeni su nad natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nastali produkt (1,5 g; $\eta = 74,6\%$) otopljen je u 2 ml heksana i pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, uz heksan kao eluens. Nakon uparavanja skupljenih frakcija dobiveno je 0,68 g ($\eta = 34,0\%$) čistog spoja **(R,R)**-**66** u obliku žućkaste tekućine.

Priprava **(R,R)**-meso-cikloheksan-1,2-epoksida **(R,R)**-67

Otopini cikloheksena (**85**, 2,0 g; 0,024 mol) u 20 ml diklormetana ohlađenoj na 0 °C dodan je **(R,R)**-Jacobensenov katalizator **(R,R)**-**86** (310 mg; 0,0005 mol). Nakon toga reakcijskoj smjesi je polagano dodano 33 ml natrijevog perklorata **87** (5,4 g; 0,072 mol), te je smjesa nastavljena miješati još 4 h pri 0 °C, a potom još 24 h pri sobnoj temperaturi. Nakon miješanja organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran s 3×20 ml heksana. Spojeni organski ekstrakti sušeni su nad natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nastali produkt (1,6 g; $\eta = 67,8\%$) otopljen je u 2 ml heksana i pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela, uz heksan kao eluens. Nakon uparavanja skupljenih frakcija dobiveno je 0,78 g ($\eta = 33,1\%$) čistog spoja **(R,R)**-**67** u obliku bezbojne tekućine.

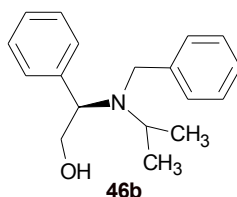
3.2.4.2 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola 1. skupine

(R)-(+)-1-(*N*-fenil)amino-1-fenil-etanol **(R)**-43b

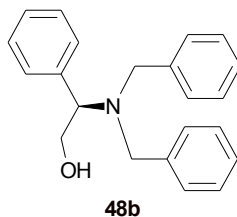


Otopini (*R*)-(+)-stiren-oksida (**(R)-28**, 1,20 g; 0,01 mol) dodan je anilin (**(37)**, 0,93 g, 0,01 mol) u 30 ml acetonitrila. Dobivenoj smjesi je uz miješanje u obrocima dodavan kalcijev trifluormetansulfonat (**(36)**, 1,70 g; 0,005 mol). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h, uparena do suha te je uparnom ostatku dodano 30 ml destilirane vode. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran miješanjem s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 1,30 g ($\eta = 61,0\%$) sirovog produkta koji je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05. Nakon sušenja dobiveno je 0,7 g ($\eta = 32,9\%$) čistog spoja **(R)-43b** u obliku tamnosmeđeg ulja. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +31,3^\circ$ ($c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

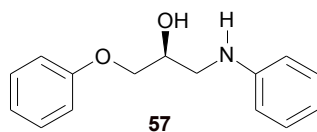
(R)-(+)-1-(*N*-benzil-*N*-izopropil)amino-1-fenil-etanola (*R*)-46b



Otopini (*R*)-(+)-stiren-oksida [**(R)-28**, 1,20 g; 0,01 mol] dodan je *N*-benzil-izopropilamin (**(40)**, 1,49 g; 0,01 mol) u 30 ml acetonitrila. Dobivenoj smjesi je uz miješanje u obrocima dodavan kalcijev trifluormetansulfonat (**(36)**, 1,70 g; 0,005 mol). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h, uparena do suha te je uparnom ostatku dodano 30 ml destilirane vode. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran miješanjem s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 1,15 g ($\eta = 47,5\%$) sirovog produkta koji je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05. Nakon sušenja dobiveno je 0,65 g ($\eta = 26,9\%$) čistog spoja **(R)-46b** u obliku smeđeg ulja. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +75,9^\circ$ ($c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

(R)-(+)-1-(N,N-dibenzil)amino-1-fenil-etanol, (R)-48b

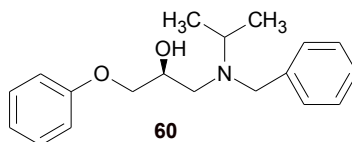
Otopini (*R*)-(+)-stiren-oksida [(*R*)-**28**, 1,20 g; 0,01 mol] dodan je dibenzilamin (**42**, 1,97 g; 0,01 mol) u 30 ml acetonitrila. Dobivenoj smjesi je uz miješanje u obrocima dodavan kalcijev trifluormetansulfonat (**36**, 1,70 g; 0,005 mol). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h, a zatim uparena do suha. Uparnom ostatku dodano je 30 ml destilirane vode. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran miješanjem s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 2,60 g ($\eta = 82,0\%$) sirovog produkta koji je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05. Nakon sušenja dobiveno je 1,95 g ($\eta = 61,5\%$) čistog spoja (*R*)-**48b** u obliku svijetložutog ulja. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +60,5^\circ$ ($c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

3.2.4.3 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola 2. skupine**(R)-(+)-1-(N-fenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (R)-57**

Otopini (*R*)-glicidil-fenil-etera [(*R*)-**53**, 1,51 g; 0,01 mol] dodan je anilin (**37**, 0,93 g; 0,01 mol) u 30 ml acetonitrila. Dobivenoj smjesi je uz miješanje u obrocima dodavan kalcijev trifluormetansulfonat (**36**, 1,70 g; 0,005 mol). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 30 h, uparena do suha te je uparnom ostatku dodano 30 ml destilirane vode. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran miješanjem s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 1,95 g ($\eta = 159,8\%$) sirovog produkta koji je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-

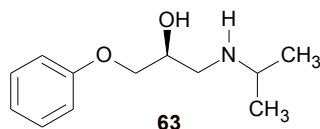
ol, trietilamin) = 9,5 : 0,5 : 0,05. Nakon sušenja dobiveno je 0,95 g ($\eta = 77,9\%$) čistog spoja **(R)-57** u obliku smeđeg ulja. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +9,4^\circ$ ($c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

(R)-(+)-1-(N-benzil-N-izopropil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (R)-60



Otopini (*R*)-glicidil-fenil-etera [**(R)-53**, 1,51 g; 0,01 mol] dodan je *N*-benzil-izopropilamin (**40**, 1,49 g; 0,01 mol) u 30 ml acetonitrila. Dobivenoj smjesi je uz miješanje u obrocima dodavan kalcijev trifluormetansulfonat (**36**, 1,70 g; 0,005 mol). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 30 h, a zatim uparena do suha. Uparnom ostatku dodano je 30 ml destilirane vode. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran miješanjem s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 2,09 g ($\eta = 67,4\%$) sirovog produkta koji je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava Ψ (diklormetan, propan-2-ol, trietilamin) = 9,7 : 0,3 : 0,05. Nakon sušenja dobiveno je 1,7 g ($\eta = 54,8\%$) čistog spoja **(R)-60** u obliku žutog ulja. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +10,8^\circ$ ($c = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

(R)-(+)-1-(N-izopropil)amino-3-fenoksi-propan-2-ol (R)-63

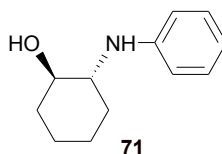


Otopini (*R*)-glicidil-fenil-etera [**(R)-53**, 0,76 g; 0,005 mol] dodan je *N*-izopropilamin (**54**, 0,30 g; 0,005 mol) u 30 ml acetonitrila. Dobivenoj smjesi je uz miješanje u obrocima dodavan kalcijev trifluormetansulfonat (**36**, 0,85 g; 0,0025 mol). Reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h, uparena do suha te je uparnom ostatku dodano 30 ml destilirane vode. Nakon ekstrakcije organski sloj je odvojen, a vodeni ekstrahiran miješanjem s 3×20 ml diklormetana. Spojeni organski slojevi sušeni su nad bezvodnim natrijevim sulfatom, profiltrirani i upareni. Nakon sušenja dobiveno je 1,2 g ($\eta = 114,3\%$) sirovog produkta koji je pročišćen prekrizacijom iz toluena. Nakon sušenja dobiveno je 0,8 g ($\eta =$

76,2 %) čistog spoja **(R)-63**. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +40^\circ$ ($c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

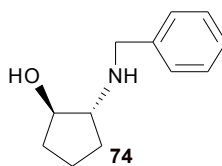
3.2.4.4 Priprava enantiomerno čistih β -aminoalkohola 3. skupine

(1R,2R)-trans-(+)-1-(N-fenil)amino-cikloheksanol (R,R)-71



U tikvicu s *(R,R)*-meso-cikloheksan-1,2-epoksidom **(R,R)-67**, 0,49 g; 0,005 mol) dodana je otopina anilina (**37**, 0,47 g; 0,005 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 5 h. Sirovi produkt 0,79 g ($\eta = 83,0\%$) u obliku žutog ulja preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu, pri 80°C . Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 10 ml etil-acetata pri 77°C tijekom 1 h. Nastali talog je odsisan, ispran etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom. Dobiveno je 1,02 g ($\eta = 86,1\%$) hidroklorida spoja **(R,R)-71** u obliku bijelih kristalića, $t_f = 249,0$ do $252,9^\circ\text{C}$, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,36$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +7,2^\circ$ ($c = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

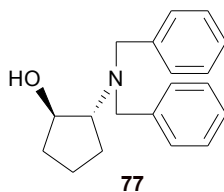
(1R,2R)-trans-(+)-1-(N-benzil)amino-ciklopentanol (R,R)-74



U tikvicu s *(R,R)*-meso-ciklopentan-1,2-epoksidom (**(R,R)-66**, 0,34 g; 0,004 mol) dodana je otopina benzilamina (**56**, 0,43 g; 0,004 mol). Reakcijska smjesa je miješana 10 h pri sobnoj temperaturi. Sirovi produkt 0,62 g ($\eta = 80,5\%$) u obliku žutog ulja, preveden je u hidroklorid dodatkom 5 ml 96 %-tnog etanola, 2 ml *min.* 37 %-tne HCl i 50 ml toluena. Reakcijska smjesa je uparena do suha na rotavaporu pri 80°C . Postupak dodavanja toluena i uparivanja ponavljan je tri puta. Potom je dobiveni produkt digeriran u 15 ml etil-acetata pri 77°C tijekom 1 h. Nastali talog je odsisan, ispran etil-acetatom, te sušen pod sniženim tlakom.

Dobiveno je 0,49 g ($\eta = 63,6\%$) hidroklorida spoja **(R,R)-74** u obliku bijelih kristalića, $t_f = 134,3$ do $139,0\text{ }^\circ\text{C}$, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,62$, uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +10,8^\circ$ ($c = 0,5\text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

(1R,2R)-trans-(+)-1-(N,N-dibenzil)amino-ciklopentanol (R,R)-77



U tikvicu s *(R,R)*-meso-ciklopentan-1,2-epoksidom (**(R,R)-66**, 0,20 g; 0,002 mol) dodana je otopina dibenzilamina (**56**, 0,39 g; 0,002 mol) pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Sirovi produkt 0,42 g ($\eta = 75,0\%$) pročišćen je kromatografijom na stupcu silikagela uz eluens sastava $\Psi(\text{diklormetan, propan-2-ol}) = 9,5 : 0,5$. Dobiveno je 0,20 g ($\eta = 35,7\%$) čistog spoja **(R)-77** u obliku žutog ulja, jedna mrlja na TLC-ploči, $R_F = 0,66$, uz isti eluens. Spoju je izmjereno optičko skretanje koje iznosi $[\alpha]_D = +6,2^\circ$ ($c = 0,5\text{ mol dm}^{-3}$, CHCl_3).

3.2.5 Radni uvjeti tekućinsko-kromatografskih analiza

Tablica 5. Radni uvjeti tekućinsko-kromatografskih analiza modelnih β -aminoalkohola i kardiovaskularnih lijekova

	MODELNI β-AMINOALKOHOLI	KARDIOVASKULARNI LIJEK / DJELATNA TVAR
PRIBLIŽNA MASENA KONCENTRACIJA UZORKA ZA ANALIZU	0,20 mg ml ⁻¹ ili 0,08 mg ml ⁻¹ (vidi poglavlje 3.1.2.1.)	0,25 mg ml ⁻¹ ili 0,10 mg ml ⁻¹ (vidi poglavlje 3.1.2.2.)
PROTOK POKRETNE FAZE	1,0 ml min ⁻¹	1,0 ml min ⁻¹
VOLUMEN INJEKTIRANOG UZORKA	10 μ l	10 μ l
TEMPERATURA PROSTORA S UZORCIMA U HPLC INSTRUMENTU	20 °C	20 °C
TEMPERATURA KOLONE	20 °C	20 °C
RADNA VALNA DULJINA DETEKTORA	vidi Tablice 6-8	vidi Tablicu 9
SASTAV POKRETNE FAZE	vidi Tablice 6-8	vidi Tablicu 9
NEPOKRETNA FAZA / KOLONA		

3.2.5.1 Radni uvjeti pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 1. skupine**Tablica 6.** Sastav pokretne faze i valne duljine pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 1. skupine, primjenom četiriju polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza

VALNA DULJINA*		<i>kolona</i> <i>Chiralpak AD</i>	<i>kolona</i> <i>Chiralpak AS-H</i>	<i>kolona</i> <i>Chiralcel OJ</i>	<i>kolona</i> <i>Chiralcel OD</i>
POKRETNA FAZA					
podskupina 1A	245 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : 0,1$	x = 1 do 20, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 15 za spojeve 44a i 45a	x = 1 do 20, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 1 i x = 10 za spojeve 44a i 45a	x = 15 do 25, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 15 za spojeve 44a i 45a	x = 5 do 20, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 44a i 45a
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : 0,1$	x = 1 do 20, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 44a i 45a	x = 5 do 20, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 44a i 45a	x = 15 do 25, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 20 za spojeve 44a i 45a	x = 1 do 20, za spoj 43a ; odabrana pokretna faza x = 1 za spojeve 44a i 45a
podskupina 1B	215 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : 0,1$	x = 1 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 1 za spojeve 47a i 48a	x = 2 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 2 za spojeve 47a i 48a	x = 5 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 20 i x = 10 za spojeve 47a i 48a	x = 2 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 2 za spojeve 47a i 48a
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : 0,1$	x = 1 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 1 za spojeve 47a i 48a	x = 1 do 10, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 47a i 48a	x = 5 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 20 za spojeve 47a i 48a	x = 1 do 20, za spoj 46a ; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 47a i 48a
podskupina 1C	215 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : 0,1$	x = 20 do 70, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 20 za spojeve 49a i 50a	x = 0,5 do 25, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 1 za spojeve 49a i 50a	x = 10 do 25, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 49a i 50a	x = 18 do 30, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 30 za spojeve 49a i 50a
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : 0,1$	x = 5 do 50, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 49a i 50a	x = 5 do 30, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 49a i 50a	x = 20 do 60, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 25 za spojeve 49a i 50a	x = 25 do 35, za spoj 48a ; odabrana pokretna faza x = 25 za spojeve 49a i 50a

* Valne duljine su određene prema maksimalnom odzivu predstavnika podskupine (1A, 1B i 1C) i iste su za sve spojeve unutar iste podskupine.

3.2.5.2 Radni uvjeti pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 2. skupine**Tablica 7.** Sastav pokretne faze i valne duljine pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 2. skupine, primjenom četiriju polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza

	VALNA DULJINA*		<i>kolona</i> <i>Chiralpak AD</i>	<i>kolona</i> <i>Chiralpak AS-H</i>	<i>kolona</i> <i>Chiralcel OJ</i>	<i>kolona</i> <i>Chiralcel OD</i>
	POKRETNFA FAZA					
podskupina 2A	245 nm Ψ (heksan, IPA, DEA) = (100-x) : x : 0,1		x = 30 do 40, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 35 za spojeve 58 i 59	x = 10 do 35, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 35 za spojeve 58 i 59	x = 20 do 40, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 58 i 59	x = 30 do 70, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 30 za spojeve 58 i 59
	Ψ (heksan, EtOH, DEA) = (100-x) : x : 0,1		x = 5 do 30, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 58 i 59	x = 5 do 20, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 5 i x = 20 za spojeve 58 i 59	x = 20 do 40, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 58 i 59	x = 30 do 50, za spoj 57; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 58 i 59
podskupina 2B	215 nm Ψ (heksan, IPA, DEA) = (100-x) : x : 0,1		x = 10 do 20, za spoj 60a; odabrana pokretna faza x = 15 za spojeve 61 i 62	x = 1 do 20, za spoj 60a; odabrana pokretna faza x = 1 za spojeve 61 i 62	x = 10 do 40, za spoj 60a; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 61 i 62	x = 10 do 20, za spoj 60a; odabrana pokretna faza x = 15 za spojeve 61 i 62
	Ψ (heksan, EtOH, DEA) = (100-x) : x : 0,1		x = 2 do 10, za spoj 60; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 61 i 62	x = 1 do 20, za spoj 60; odabrana pokretna faza x = 1, x = 5 i x = 10 za spojeve 61 i 62	x = 30 do 50, za spoj 60; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 61 i 62	x = 2 do 40, za spoj 60; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 61 i 62
podskupina 2C	270 nm Ψ (heksan, IPA, DEA) = (100-x) : x : 0,1		x = 1 do 20, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 64 i 65	x = 1 do 20, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 1 i x = 20 za spojeve 64 i 65	x = 1 do 20, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 1 i x = 20 za spojeve 64 i 65	x = 20 do 70, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 70 za spojeve 64 i 65
	Ψ (heksan, EtOH, DEA) = (100-x) : x : 0,1		x = 10 do 30, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 15 za spojeve 64 i 65	x = 5 do 30, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 5 i x = 30 za spojeve 64 i 65	x = 1 do 20, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 1 i x = 20 za spojeve 64 i 65	x = 20 do 40, za spoj 63; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 64 i 65

* Valne duljine su određene prema maksimalnom odzivu predstavnika podskupine (2A, 2B i 2C) i iste su za sve spojeve unutar iste podskupine.

3.2.5.3 Radni uvjeti pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 3. skupine**Tablica 8.** Sastav pokretne faze i valne duljine pri odvajanju enantiomera β -aminoalkohola 3. skupine, primjenom četiriju polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza

	VALNA DULJINA* POKRETNNA FAZA	kolona <i>Chiralpak AD</i>	kolona <i>Chiralpak AS-H</i>	kolona <i>Chiralcel OJ</i>	kolona <i>Chiralcel OD</i>
podskupina 3A	250 nm Ψ (heksan, IPA, DEA) = (100-x) : x : 0,1	x = 5 do 20, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 72 i 73	x = 1 do 10, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 3 za spojeve 72 i 73	x = 5 do 20, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 72 i 73	x = 10 do 30, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 15 za spojeve 72 i 73
	Ψ (heksan, EtOH, DEA) = (100-x) : x : 0,1	x = 20 do 50, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 40 za spojeve 72 i 73	x = 5 do 20, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 72 i 73	x = 2 do 20, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 5 i x = 20 za spojeve 72 i 73	x = 2 do 20, za spoj 71; odabrana pokretna faza x = 2 za spojeve 72 i 73
podskupina 3B	230 nm Ψ (heksan, IPA, DEA) = (100-x) : x : 0,1	x = 5 do 20, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 10 i x = 3 za spojeve 75 i 76	x = 5 do 20, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 75 i 76	x = 5 do 30, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 5 i x = 30 za spojeve 75 i 76	x = 2 do 25, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 2 i x = 25 za spojeve 75 i 76
	Ψ (heksan, EtOH, DEA) = (100-x) : x : 0,1	x = 2 do 10, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 10 za spojeve 75 i 76	x = 2 do 20, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 5 za spojeve 75 i 76	x = 2 do 20, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 2 za spojeve 75 i 76	x = 2 do 20, za spoj 74; odabrana pokretna faza x = 10 i x = 5 za spojeve 75 i 76
podskupina 3C	210 nm Ψ (heksan, IPA, DEA) = (100-x) : x : 0,1	x = 1 do 10, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 2 za spoj 78	x = 1 do 10, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 1 za spoj 78	x = 5 do 20, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 10 za spoj 78	x = 2 do 10, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 10 za spoj 78
	Ψ (heksan, EtOH, DEA) = (100-x) : x : 0,1	x = 1 do 10, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 2 za spoj 78	x = 0,5 do 10, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 0,5 za spoj 78	x = 5 do 20, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 5 za spoj 78	x = 1 do 10, za spoj 77; odabrana pokretna faza x = 5 za spoj 78

* Valne duljine su određene prema maksimalnom odzivu predstavnika podskupine (3A, 3B i 3C) i iste su za sve spojeve unutar iste podskupine.

3.2.5.4 Radni uvjeti pri analizi enantiomera kardiovaskularnih lijekova

Tablica 9. Sastav pokretne faze i valne duljine pri odjeljivanju enantiomera kardiovaskularnih lijekova, primjenom četiriju polisaharidnih kiralnih nepokretnih faza

	VALNA DULJINA*	<i>kolona Chiralpak AD</i>	<i>kolona Chiralpak AS-H</i>	<i>kolona Chiralcel OJ</i>	<i>kolona Chiralcel OD</i>
Atenolol	215 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ i $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 25	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ do 20	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 30$
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 30$
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ i $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 5$ do 20	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 5$ do 10	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 30$
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 7$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 30$
Sotalol	270 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ i $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 25	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 20	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ i $x = 30$
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 20$	odabrana pokretna faza 80/20 uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$	odabrana pokretna faza 85/15 uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$	odabrana pokretna faza 85/15 uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ i $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 5$ do 20	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 5$ do 10	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ i $x = 40$
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 7$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 15$
Bisoprolol	225 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ i $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 30	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 20$ i $x = 25$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 30
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 25$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 15$
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ i $x = 15$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 20$ do 40	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ i $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ do 40
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 30$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$
Karvedilol	225 nm $\Psi(\text{heksan, IPA, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 20$ do 50	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 20	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 25	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 40
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 50$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 30$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 40$
	$\Psi(\text{heksan, EtOH, DEA}) = (100-x) : x : (0,1 \text{ ili } 0,5)$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 25$ do 70	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 15$ do 20	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ i $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,1 \%$; $x = 10$ do 30
		pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 70$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 10$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 20$	pokretna faza uz $\Psi(\text{DEA}) = 0,5 \%$; $x = 30$

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1 Odjeljivanje enantiomera modelnih β -aminoalkohola na polisaharidnim nepokretnim fazama

Kiralna diskriminacija primjenom polisaharidnih nepokretnih faza temelji se na složenom fenomenu kiralnih i akiralnih interakcija. Stoga je zapravo nemoguće predvidjeti koji će selektor odijeliti enantiomere nekog spoja, a odabir pogodne kolone prepušta se iskustvu analitičara ili automatskom testiranju seta kolona.¹³¹ Od znatne pomoći su literaturni opisi odjeljivanja spojeva sličnih strukturnih karakteristika. Kako bi se shvatio mehanizam kiralnog prepoznavanja β -aminoalkohola, sintetizirano je ukupno 25 modelnih spojeva iz skupine β -aminoalkohola. U prvoj skupini su spojevi nastali katalitičkom amonolizom racemičnih derivata stiren-oksida (**43a-50a**), u drugoj skupini su oni nastali amonolizom glicidil-fenil-etera (**57-65**), a u trećoj skupini su spojevi nastali amonolizom simetričnih *meso*-epoksida (**71-78**). Sintetizirani spojevi podijeljeni su, prema strukturnim značajkama, u tri podskupine s po tri spoja, što je prikazano Tablicama 10-12. Zajedničko svojstvo spojeva unutar pojedine podskupine je alifatsko-aromska priroda, odnosno mono- / di- supstituiranost aminskog dijela molekule ili fenilnog prstena. Strukturno najjednostavniji spoj (najmanje supstituiran) je imenovan kao predstavnik podskupine, dok su ostala dva spoja njegovi strukturno složeniji analozi.

Brojna istraživanja su pokazala da na enantioselektivnost, vremena zadržavanja i topljivost racemičnih spojeva znatno utječe sastav pokretne faze.¹³² Mijenjanjem volumnog udjela i vrste alkohola (etanola ili propan-2-ola) u heksanskoj pokretnoj fazi, određeni su optimalni kromatografski uvjeti za odjeljivanje enantiomera primjenom četiriju polisaharidnih nepokretnih faza japanske tvrtke Daicel Chemical Industries, tržišnih imena *Chiralpak AD*, *Chiralpak AS-H*, *Chiralcel OJ* i *Chiralcel OD*. Pri istim kromatografskim uvjetima analizirana su i ostala dva spoja iz svake podskupine modelnih β -aminoalkohola. Za odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola koji sadrže bazičnu skupinu, u heksansku pokretnu fazu je dodan dietilamin ($\varphi = 0,1\%$). Dodani amin nema jaki utjecaj na enantioselektivnost i zadržavanje enantiomera analita, ali se njegovim dodatkom bitno poboljšava efikasnost kolone i izgled pikova. Literaturno je poznato da se, osim dietilamina, mogu koristiti sljedeći

amini: etanolamin, trietilamin, *tert*-oktilamin itd.¹³³, no s dietilaminom su kod pripremljenih β -aminoalkohola postignuti najbolji rezultati.

Nakon provedene enantioselektivne analize svakog spoja, kromatogram pokazuje jedan od sljedećih događaja: *R*- i *S*-enantiomeri nisu odvojeni (uočava se samo jedan pik), enantiomeri su djelomično odvojeni pa su vidljiva dva pika s različitim stupnjevima odvojenosti ili postoje dva potpuno odvojena pika do osnovne linije. Svaka promjena u enantioselektivnom sustavu utječe na promjenu kromatografskih parametara: faktora zadržavanja enantiomera k , razlučivanja enantiomera R_s , separacijskog faktora α , te redoslijeda ispiranja enantiomera (*R*- ili *S*-) s kolone.

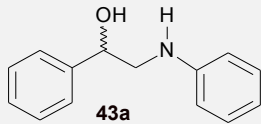
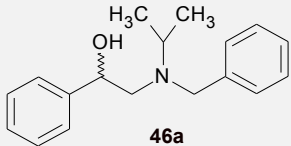
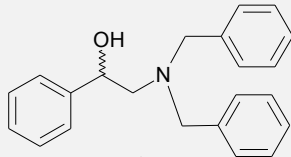
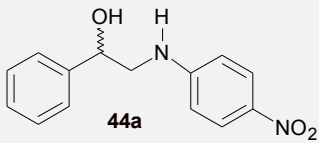
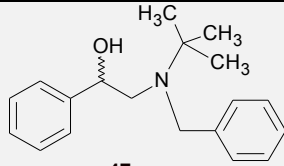
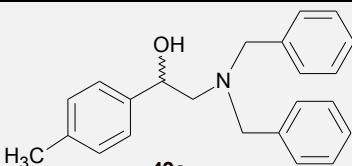
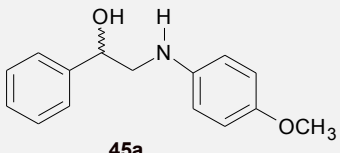
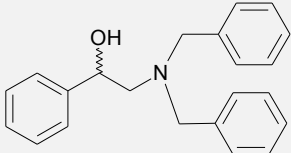
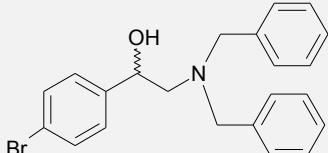
Faktor zadržavanja enantiomera (k) ukazuje na selektivno i neselektivno vezanje enantiomera na kiralne nepokretne faze. Separacijski faktor (α) opisuje razliku u afinitetu pojedinih enantiomera i pokretne faze za interakcijska mjesta na kiralnoj nepokretnoj fazi. Razlučivanje enantiomera R_s pokazuje efikasnost i selektivnost odjeljivanja enantiomera. Redoslijed ispiranja enantiomera (*R*- ili *S*-) s kolone ukazuje na vrstu stereoselektivnog ulaska enantiomera u kiralnu šupljinu. Promjenom tipa polisaharidne kolone ili tipa alkoholnog modifikatora može doći do inverzije redoslijeda izlaženja enantiomera s kolone. Iz tog razloga je nužno pri svakoj promjeni tipa polisaharidne kolone i tipa alkoholnog modifikatora (etanol ili propan-2-ol) provjeriti koji se od enantiomera (*R*- ili *S*-) prvi ispiru s kolone.¹³⁴ U svrhu provjere redoslijeda izlaženja pripremljeni su enantiomerno čisti (obogaćeni) spojevi - predstavnici svake podskupine β -aminoalkohola. Enantioselektivnom analizom racemičnih, a zatim enantiomerno čistih β -aminoalkohola predstavnika svake podskupine, pri istim kromatografskim uvjetima na svakoj od četiri ispitivane nepokretne faze, potvrđen je redoslijed izlaženja enantiomera s kolone.

4.1.1 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola 1. skupine

β -Aminoalkoholi 1. skupine nastali katalitičkom amonolizom derivata stiren-oksida s aminima smjesa su dvaju regioizomernih produkata: 2-(*N*-supstituirani-amino)-1-supstituirani-fenil-etanol (**43a-50a**) nastao je S_N2 reakcijom, a 2-(*N*-supstituirani-fenil)amino-2-supstituirani-etanol (**43b-50b**) S_N1 reakcijom. Produkti S_N2 reakcije većinski su prisutni u smjesi (najmanje 72 %), dok su S_N1 produkti prisutni u manjem udjelu (1 do 28 %), te se u ovom radu smatraju onečišćenjima. Omjer regioizomera prikazan je u Tablici 2.

Tablica 10 prikazuje podjelu β -aminoalkohola 1. skupine na podskupine 1A, 1B i 1C. U podskupini 1A *N*-monosupstituiranih aromatskih spojeva cilj je uočiti kako elektron-odvlačeća skupina *p*-NO₂ fenilnog prstena (**44a**), te elektron-donirajuća skupina *p*-OCH₃ (**45a**) utječu na enantioprepoznavanje s kiralnim selektorom nepokretne faze. Podskupinu 1B čine *N,N*-disupstituirani alifatski spojevi čije skupine na dušikovu atomu posjeduju različitu prostornu usmjerenost i voluminoznost, zbog čega posjeduju različit afinitet ka selektoru kiralne nepokretne faze.

Tablica 10. Podjela β -aminoalkohola 1. skupine u podskupine 1A, 1B i 1C

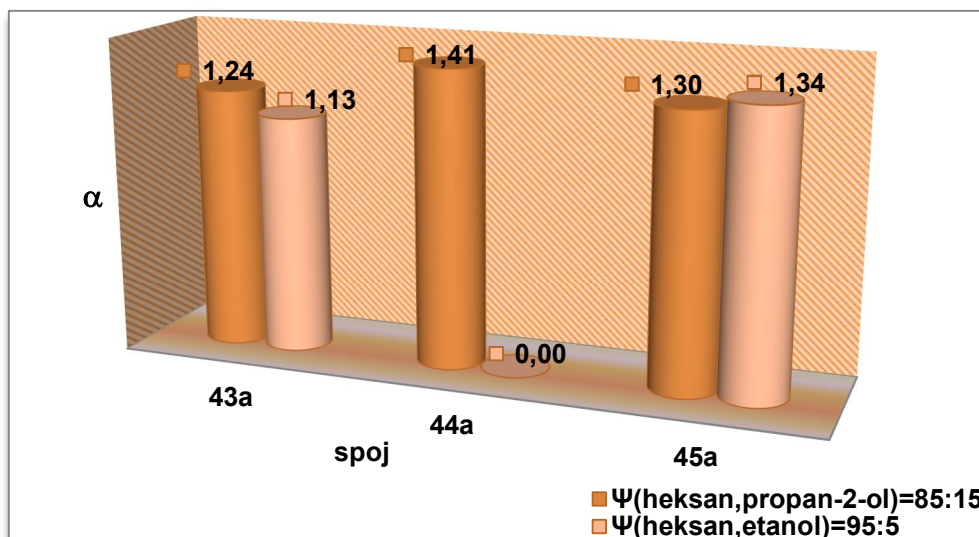
	PODSKUPINA 1A <i>N</i> -monosupstituirani aromatski spojevi	PODSKUPINA 1B <i>N,N</i> -disupstituirani alifatski spojevi	PODSKUPINA 1C <i>N,N</i> -disupstituirani alifatski spojevi - različita supstituiranost fenilnog prstena
PREDSTAVNIK	 43a	 46a	 48a
1. SPOJ	 44a	 47a	 49a
2. SPOJ	 45a	 48a	 50a

Spoj **48a** sa svojim strukturnim karakteristikama pripada i podskupinama 1B i 1C. Kod tog spoja spoja važno je odrediti je li za kiralno prepoznavanje odlučujuća voluminoznost dviju benzilnih skupina [(ne)mogućnost pristajanja u kiralnu šupljinu] ili π - π interakcije sa selektorom nepokretne faze. S druge strane, kod podskupine 1C korelira se supstituiranost fenilnog prstena elektron-donirajućom skupinom *p*-CH₃ (**49a**), odnosno elektron-odvlačećom skupinom *p*-Br (**50a**), u odnosu na nesupstituirani fenilni prsten (**48a**).

4.1.1.1 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1A

Predstavnik podskupine 1A β -aminoalkohola je spoj **43a** sa strukturom koja sadrži dva nesupstituirana fenilna prstena, od kojih je jedan direktno vezan na dušikov atom. Ostala dva spoja unutar podskupine 1A posjeduju *para*-supstituiran fenilni prsten. Strukture višeg reda amiloznih nepokretnih faza, kolone *Chiralpak AD* i *Chiralpak AS-H*, mijenjaju se ovisno o tipu upotrebljenog alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Etanol i propan-2-ol na drugačiji način utječu na tercijernu strukturu polisaharidne nepokretne faze mijenjanjem veličine i oblika kiralnih šupljina u koje se mogu "smjestiti" enantiomeri analita. Kao rezultat tih promjena, drugačije je i kiralno prepoznavanje enantiomera analita sa selektorom kiralne nepokretne faze.¹³⁵ Ispitan je utjecaj alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi s dietilaminom ($\varphi = 0,1 \%$) na odjeljivanje predstavnika podskupine 1A - spoja **43a**, na koloni *Chiralpak AD*. Rezultati su prikazani u *Prilogu III*, Tablica 1A-AD. Iz rezultata se uočava gotovo konstantna vrijednost separacijskog faktora α u cijelom ispitivanom rasponu volumnih udjela alkohola, dok se vrijednosti faktora zadržavanja k_1 prvoizlazećeg enantiomera i razlučivanje enantiomera R_s povećavaju sa smanjenjem udjela alkohola. Ne postoji ovisnost kiralnog prepoznavanja analita i selektora o količini alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi, što ukazuje na postojanje jake kompeticije između analita i alkohola u pokretnoj fazi za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Odabrane su heksanske pokretne faze s volumnim udjelom propan-2-ola od 15 % te etanola od 5 %. Pri istom sastavu pokretnih faza provedena je enantioselektivna analiza spojeva **44a** i **45a**. Na Slici 26 prikazana je usporedba rezultata, gdje se uočava da je propan-2-ol pogodniji alkoholni modifikator od etanola za odjeljivanje enantiomera svih triju spojeva. Dodatkom 5 % etanola pokretnoj fazi izostaje kiralno prepoznavanje spoja **44a** sa selektorom nepokretne faze kolone *Chiralpak AD*. Planarna skupina *p*-NO₂ spoja **44a**, posjeduje relativno veliki dipolni moment i stoga ima veliku solvatacijsku moć. Polarnije molekule etanola okružuju nitro-skupinu analita i ona postaje sterički ometena. Stoga je „sjedanje“ preko nitro-skupine u kiralne šupljine nepokretne faze spriječeno i do interakcija dolazi isključivo preko hidroksilnih i amino skupina. Zamjenom alkoholnog modifikatora manje polarnim propan-2-olom, smanjuje se solvatacijska moć nitro-skupine analita, što rezultira vrlo dobrim kiralnim prepoznavanjem enantiomera spoja **44a**. Spoj **45a** s π -donorskom metoksi-skupinom na fenilnom prstenu pokazuje izvrsno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze. Metoksi-skupina prostorno je manja i neometano „sjeda“ u kiralnu šupljinu. Stoga π - π interakcije između kiralne nepokretne faze i

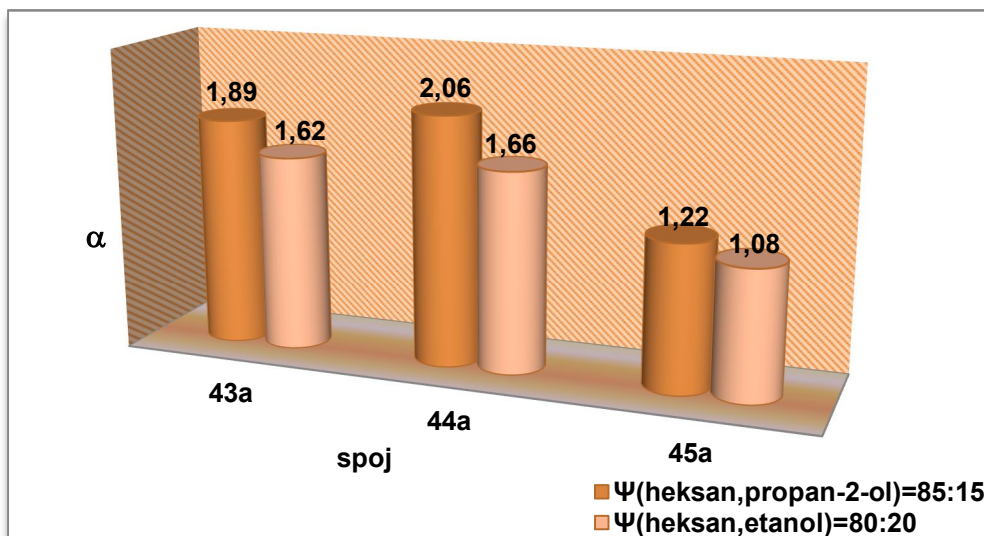
enantiomera spoja **45a** postaju jače, što rezultira potpunim odvajanjem enantiomera. Faktori zadržavanja enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralpak AD*, dodatkom obaju alkoholnih modifikatora u pokretnoj fazi, rastu u nizu: $k_{Ph} < k_{Ph-OCH_3} < k_{Ph-NO_2}$. Pri tome se ponovno ističu enantiomeri spoja **44a** s izuzetno visokim vrijednostima, posebice primjenom propan-2-ola ($k = 27,08$) kao alkoholnog modifikatora.



Slika 26. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralpak AD*

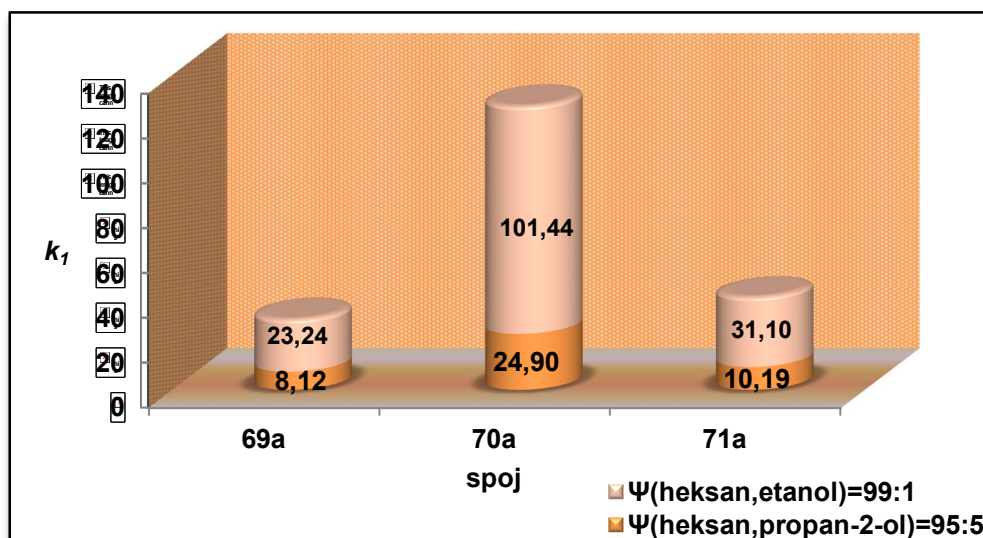
Rezultati enantioselektivne analize spojeva podskupine 1A na drugom tipu amilozne kiralne nepokretne faze - koloni *Chiralpak AS-H*, prikazani su u *Prilogu III*, Tablica 1A-AS. Uočava se slabo enantioprepoznavanje spojeva podskupine 1A s kiralnim selektorom (*S*)- α -metilbenzilkarbamatom, izuzev odjeljivanja enantiomera spoja **44a** primjenom pokretne faze s dodatkom etanola. Enantiomeri spoja **43a** (nesupstituirani fenilni prsten) ne odvajaju se na ovoj koloni, neovisno o vrsti primijenjenog alkoholnog modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi ili o njegovu volumnom udjelu. U odnosu na kiralni selektor kolone *Chiralpak AD*, ovaj tip nepokretne faze sadrži selektor koji posjeduje dodatni kiralni ugljikov atom *S*-konfiguracije. Time karbamatni dio kiralnog selektora postaje voluminozniji te je prostorno smještanje fenilnog prstena analita u kiralnu šupljinu sterički ometeno, što može biti razlog nemogućnosti ostvarenja stereokemijski ovisne interakcije spoja **43a** s nepokretnom fazom. Enantiomeri spoja **44a** (skupina *p*-NO₂ na fenilnom prstenu) dodatkom polarnijeg etanola pokretnoj fazi ostvaruju odlično enantioprepoznavanje sa selektorom te nepokretne faze. Zbog povećanja polarosti pokretne faze povećava se doprinos vodikovih veza u mehanizmu kiralnog prepoznavanja enantiomera spojeva **44a**.

Odjeljivanje enantiomera podskupine 1A ispitano je i primjenom celulozne nepokretne faze tržišnog imena *Chiralcel OJ*. Prema rezultatima prikazanim u *Prilogu III*, Tablica 1A-OJ, uočava se izvrsno odvajanje enantiomera do osnovne linije za sva tri ispitivana spoja. Literaturno je poznato da je jedna od najčešćih interakcija kiralnog selektora kolone *Chiralcel OJ* s analitom π - π interakcija.¹³⁶ U slučaju ispitivanih spojeva, π - π interakcija se ostvaruje između fenilnih prstenova i aromatske jezgre kiralnog selektora 4-metilbenzoata. Ispitivanjem utjecaja različitih volumnih udjela alkohola u pokretnoj fazi na odjeljivanje enantiomera spoja **43a**, uočava se neovisnost kiralnog prepoznavanja analita i nepokretne faze o udjelu i tipu alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Enantiomeri spojeva **43a** i **44a** pokazuju izvrsno kiralno prepoznavanje sa selektorom kiralne nepokretne faze. U mehanizmu kiralnog prepoznavanja spoja **44a** značajnu ulogu ima *p*-nitro-skupina na fenilnom prstenu koja jakim elektron-akceptorskim svojstvima odvlači elektrone iz fenilnog prstena. Time cijeli taj dio molekule β -aminoalkohola postaje siromašan elektronima, dok je kiralni selektor 4-metilbenzoat bogat elektronima. Kao posljedica toga, nastaje jaka π - π interakcija kao glavni čimbenik kiralnog prepoznavanja. Metoksi-skupina spoja **45a** sa svojim elektron-donirajućim svojstvima manje doprinosi π - π interakcijama pa je i odjeljivanje enantiomera toga spoja slabije. Uz visoke vrijednosti separacijskih faktora, u Tablici 1A-OJ *Priloga III*, ističu se i iznimno visoke vrijednosti faktora razlučivanja enantiomera spoja **43a** ($R_s = 8,26$), ali isto tako i spoja **44a** ($R_s = 7,69$). Slika 27 prikazuje usporedbu separacijskih faktora postignutih enantioselektivnom analizom spojeva podskupine 1A na koloni *Chiralcel OJ*.



Slika 27. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralcel OJ*

Kolona *Chiralcel OD* druga je celulozna nepokretna faza na kojoj je provedena enantioselektivna analiza spojeva podskupine 1A. Prema rezultatima prikazanim u *Prilogu III* Tablici 1A-OD, uočava se da je odjeljivanje enantiomera spojeva **43a** i **45a** iznimno dobro. No, enantiomeri spoja **44a** s *p*-nitro-skupinom na fenilnoj jezgri ne odvajaju se do osnovne linije neovisno o tipu ili količini dodanog alkoholnog modifikatora. Primjenom pokretne faze s 1 % etanola postiže se djelomično odvajanje enantiomera, uz izuzetno dugo zadržavanje spojeva na koloni ($k_1 = 101,4$). Enantiomeri spoja **45a** kiralno se prepoznaju sa selektorom nepokretne faze neovisno o vrsti alkoholnog modifikatora, ali uz njegov mali volumni udio. Dugo zadržavanje svih triju spojeva podskupine 1A na koloni *Chiralcel OD* posljedica je hidrofobnosti analita, ali povezano je i s polarnošću pokretne faze. Dodatak alkohola u pokretnu fazu povećava polarnost pokretne faze i skraćuje vrijeme zadržavanja analita na nepokretnoj fazi. Budući je odjeljivanje enantiomera predstavnika podskupine spoja **43a** postignuto uz niski volumni udio alkoholnog modifikatora (5 % propan-2-ola i 1 % etanola), uz iste je pokretne faze ispitano odjeljivanje enantiomera spojeva **44a** i **45a**. Niski udio alkoholne komponente pridonio je duljem zadržavanju enantiomera na kiralnoj nepokretnoj fazi (Slika 28).



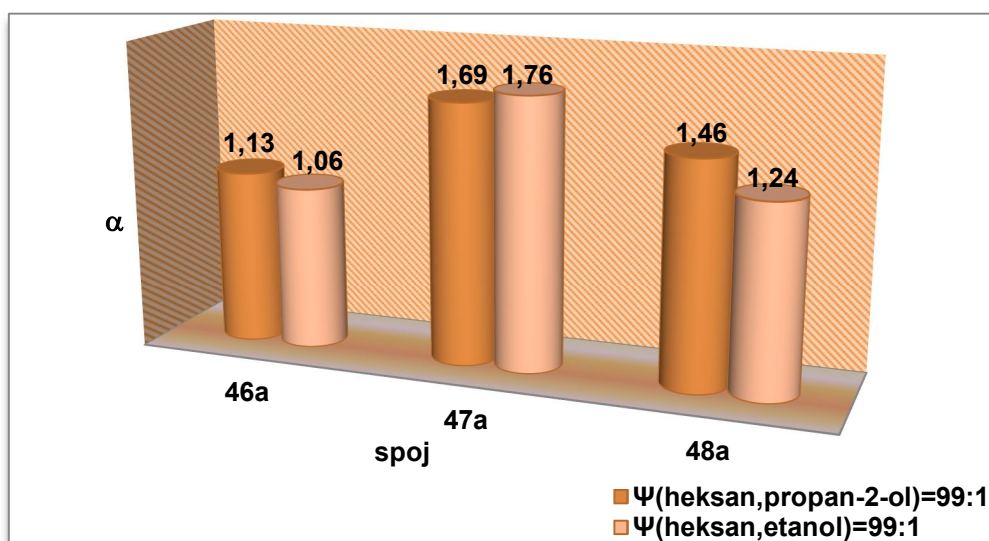
Slika 28. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na faktor zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera k_1 spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralcel OD*

4.1.1.2 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1B

β -Aminoalkoholi podskupine 1B su *N,N*-disupstituirani alifatski spojevi čiji je predstavnik spoj **46a**. Strukturna razlika spojeva podskupine 1B je supstituiranost dušikova atoma; spoj **46a** sadrži benzilnu skupinu i izopropilnu skupinu, spoj **47a** benzilnu skupinu i *tert*-butilnu skupinu, dok spoj **48a** sadrži dvije benzilne skupine. Ispitano je odjeljivanje enantiomera podskupine 1B β -aminoalkohola primjenom četiriju polisaharidnih nepokretnih faza da bi se provjerio utjecaj različite prostorne usmjerenosti i voluminoznosti skupina vezanih na dušikovu atomu na enantioprepoznavanje analita i kiralnog selektora nepokretne faze. Sterički efekti važni su čimbenici za ulazak enantiomera u kiralnu šupljinu i dodatnu stabilizaciju nastalog diastereomernog kompleksa.

Utjecaj volumnog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na odjeljivanje enantiomera predstavnika podskupine 1B, spoja **46a**, ispitan je na koloni *Chiralpak AD*. Iz rezultata prikazanih u *Prilogu III*, Tablica 1B-AD, vidljivo je da se smanjivanjem volumnog udjela od 20 % do 1 % obaju alkoholnih modifikatora u pokretnoj fazi neznatno mijenja faktor enantioselektivnosti spoja **46a**. To upućuje da ne postoji ovisnost kiralnog prepoznavanja analita o udjelu alkohola u pokretnoj fazi. Jednako opažanje primijećeno je i za predstavnika podskupine 1A, spoja **43a**, analiziranog na istoj koloni *Chiralpak AD*. Za ispitivanje enantioselektivnosti ostalih dvaju spojeva podskupine 1B

odabrane su pokretne faze s malim volumnim udjelom (1 %) alkohola. Na Slici 29 prikazana je usporedba separacijskih faktora spojeva **46a**, **47a** i **48a**, čiji su enantiomeri odijeljeni na koloni *Chiralpak AD*. Uočava se vrlo dobro enantioprepoznavanje svih triju spojeva sa selektorom nepokretne faze, neovisno o tipu alkohola u pokretnoj fazi. Takav rezultat ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja β -aminoalkohola podskupine 1B nije prevladavajući sterički efekt supstituenata na dušikovu atomu. Kiralno prepoznavanje s nepokretnom fazom ostvaruje se drugim interakcijama, najvjerojatnije vodikovom vezom i π - π interakcijama slobodnog elektronskog para na dušikovu atomu.

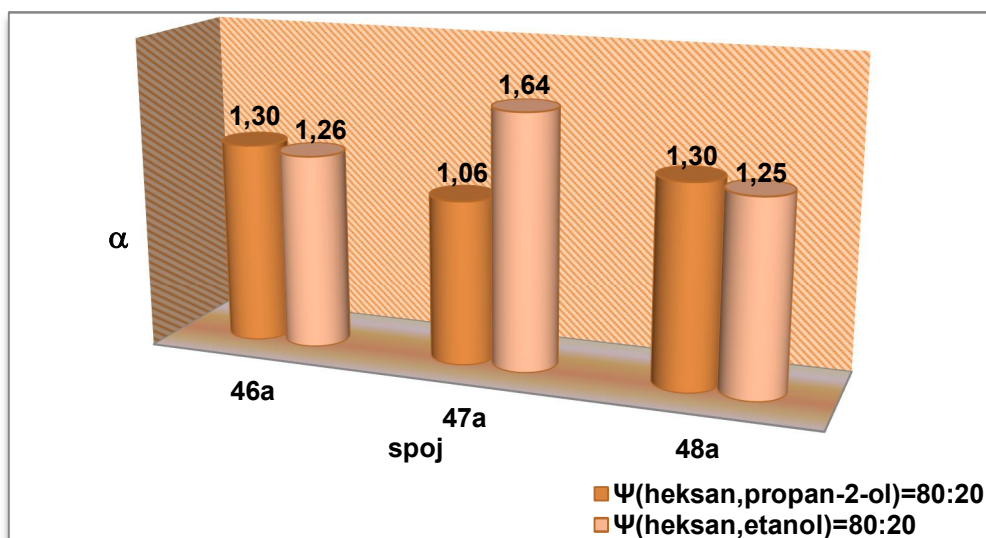


Slika 29. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva podskupine 1B na koloni *Chiralpak AD*

Zadržavanje enantiomera je proces u dva koraka. Prvenstveno postoje interakcije između vanjskog dijela helikalne šupljine kiralnog selektora i neke funkcionalne skupine analita. Ta početna interakcija najčešće je vodikova veza. Nakon toga, u drugom koraku, dolazi do konformacijske prilagodbe i steričkih interakcija, te stabilizacije diastereomernog kompleksa preko preostalih vodikovih veza.¹³⁷ Usporedbom faktora zadržavanja spojeva **46a**, **47a** i **48a** uočava se da njihove vrijednosti separacijskih faktora slijede niz: $k_{N\text{-benzil-}N\text{-izopropil}} < k_{N\text{-benzil-}N\text{-tert-butil}} < k_{N,N\text{-dibenzil}}$. Takvi rezultati doprinose postavljenoj tezi da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominira vodikova veza, najvjerojatnije između H-atoma i C=O nepokretne faze, dok sterički efekt supstituenata na dušikovu atomu ne utječe značajno na kiralno prepoznavanje.

U *Prilogu III*, Tablici 1B-AS, prikazani su rezultati ispitivanja odvajanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1B na koloni *Chiralpak AS-H*. Uočava se značajan učinak volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi na vrijednost faktora enantioselektivnosti spoja **46a**. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi s 20 % na 2 %, vrijednost separacijskog faktora se poveća za približno 10 %. Najvjerojatniji razlog tomu jest pomicanje ravnoteže u smjeru nastajanja kompleksa između enantiomera spoja **46a** i kiralnog selektora. Primjenom pokretne faze s 2 % propan-2-ola, najdulje se na koloni zadržava *S*-enantiomer spoja **46a**, što ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja sterički efekti imaju manji utjecaj, dok π - π interakcija značajnije doprinosi stabilizaciji dijastereomernog kompleksa. Promjenom alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi u etanol, izostaje kiralno prepoznavanje kod spojeva **47a** i **48a**, dok se enantiomeri spoja **46a** samo djelomično razdvajaju. Razlog tome može biti jaka solvatacija analita etanolom, zbog čega se mijenja tercijska struktura nepokretne faze što onemogućava pravilno smještanje dijastereomernog kompleksa *tert*-butilne (spoj **47a**) odnosno dibenzilne skupine (spoj **48a**) u kiralnu šupljinu. U rezultatima se primjećuje neobično dugo zadržavanje prvoizlazećeg enantiomera spoja **48a** na koloni. Obje benzilne skupine spoja **48a** doprinose stabilizaciji nastalog dijastereomernog kompleksa jakim π - π interakcijama s kiralnim selektorom nepokretne faze. U skladu s dosadašnjim rezultatima redosljeda ispiranja enantiomera s kolone, kod spojeva podskupine 1B, jednako kao i kod spojeva podskupine 1A, drugoizlazeći enantiomer je *S*-enantiomer, i to na sve četiri kolone.

Celulozna nepokretna faza tržišnog imena *Chiralcel OJ* pokazala se izvrsnom, kako za odjeljivanje enantiomera spojeva 1A, tako i za odjeljivanje enantiomera podskupine 1B, *Prilog III*, Tablica 1B-OJ. Smanjenjem volumnog udjela obaju alkohola u pokretnoj fazi s 20 % na 5 %, enantiomeri spoja **46a** odlično se odvajaju. Pri tomu je mala promjena vrijednosti α , dok se faktor zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera k_1 i razlučivanje enantiomera R_s lagano povećavaju. Iz toga proizlazi da je kiralno prepoznavanje analita i nepokretne faze neovisno o volumnom udjelu i vrsti alkohola u pokretnoj fazi. Primjenom odabranih heksanskih pokretnih faza s 20 % etanola ili propan-2-ola, postignuti faktori enantioselektivnosti su odlični za sva tri ispitivana spoja **46a**, **47a** i **48a** (Slika 30). Uočava se bolja učinkovitost etanola u pokretnoj fazi za postizanje zadovoljavajućeg kiralnog prepoznavanja. Iz rezultata se može zaključiti da sterički efekt pripadajućih supstituenata β -aminoalkohola podskupine 1B na dušikovu atomu nije prevladavajući u mehanizmu kiralnog prepoznavanja.



Slika 30. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **46a**, **47a** i **48a** na koloni *Chiralcel OJ*

Usporedbom faktora zadržavanja ispitivanih spojeva uočava se drugačiji redoslijed ispiranja spojeva s kolone, ovisno o primjenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi. Tako primjenom pokretne faze s propan-2-olom zadržavanje enantiomera slijedi niz: $k_{Bn,i-Pro} \approx k_{Bn,tert-Bu} < k_{Bn,Bn}$, a uz dodatak etanola niz je $k_{Bn, tert-Bu} < k_{Bn,i-Pro} < k_{Bn,Bn}$. U oba slučaja, benzilne skupine spoja **48a** uzrokuju dulje zadržavanje enantiomera na koloni, najvjerojatnije zbog π - π interakcija sa selektorom koje dodatno stabiliziraju diastereomerni kompleks. Uočena je zanimljivost u redoslijedu ispiranja enantiomera s kolone *Chiralcel OJ*. Drugoizlazeći enantiomer predstavnika podskupine 1B, spoja **46a**, je *S*-enantiomer, neovisno o primjenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi, ali enantiomeri spoja **48a** se ispiru s kolone obrnutim redoslijedom: drugoizlazeći enantiomer je *R*-enantiomer.

Ispitano je odjeljivanje enantiomera podskupine 1B β -aminoalkohola i na četvrtoj polisaharidnoj kiralnoj nepokretnoj fazi na bazi celuloze, na koloni *Chiralcel OD*. Rezultati su bili zadovoljavajući, jer je postignuto kiralno prepoznavanje za sva tri spoja podskupine 1B, neovisno o vrsti i volumnom udjelu alkohola u pokretnoj fazi. Provedeno je ispitivanje odjeljivanja enantiomera predstavnika podskupine 1B spoja **46a**. Prema rezultatima prikazanim u *Prilogu III*, Tablici 1B-OD, uočava se da kiralno prepoznavanje tog spoja, nije ovisno o tipu i volumnom udjelu alkohola u pokretnoj fazi. Smanjenjem volumnog udjela alkohola u pokretnoj fazi s 20 % do 2 % propan-2-ola, te od 10 % do 1 % etanola, povećava se faktor zadržavanja enantiomera i razlučivanje enantiomera, pri čemu se separacijski faktor

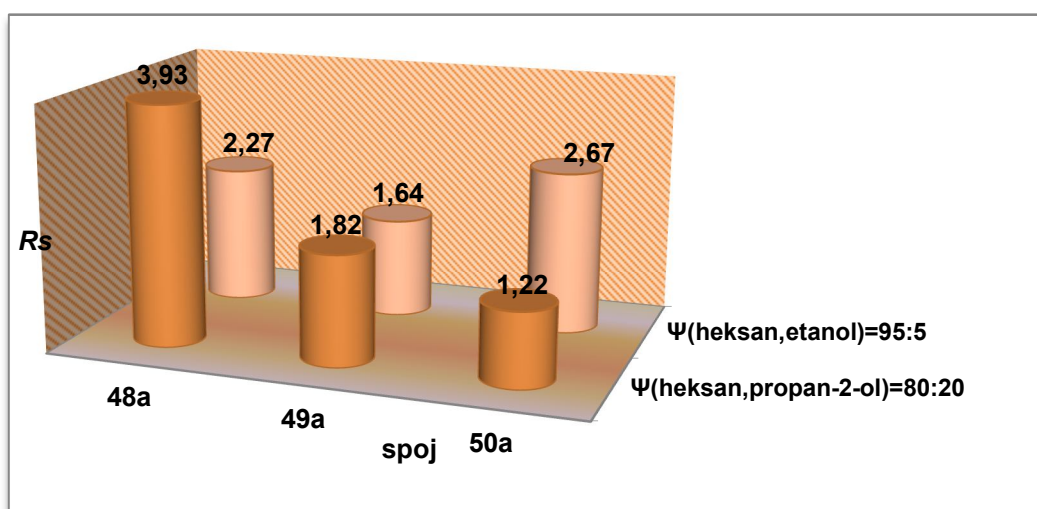
enantiomera gotovo ne mijenja. Usporedbom separacijskih faktora enantiomera spojeva podskupine 1B, uočava se da spoj **48a** ima za ~15 % veći α , u odnosu na ostala dva spoja pri istom sastavu pokretne faze. Moguće je stoga pretpostaviti, da tolikim iznosom dodatna benzilna skupina doprinosi stabilizaciji diasternog kompleksa spoja **48a** putem π - π interakcija. Zato se enantiomeri spoja **48a** dulje zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, te u odnosu na ostala dva spoja u podskupini, imaju najveći faktor zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera, $k_1 = 4,30$. Dulje zadržavanje enantiomera posebno je izraženo primjenom propan-2-ola kao alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. To je u skladu s tezom da se povećanjem molekulske mase alkohola u pokretnoj fazi: metanol > etanol > propan-2-ol, povećava i udio vodikovih veza pri interakcijama analit-kiralna nepokretna faza na račun hidrofobnih interakcija.¹³⁸ Dvije benzilne skupine vezane na dušikovu atomu spoja **48a** povećavaju hidrofobne interakcije, ali uzrokuju jaku stabilizaciju diasternog kompleksa putem π - π interakcija. Budući je potreban relativno mali udio alkohola, 2 % propan-2-ola i 5 % etanola, da se postigne visoki stupanj kiralnog prepoznavanja, može se zaključiti da postoji jaka kompeticija analita i alkohola posebice propan-2-ola, za interakciju s kiralnom nepokretnom fazom.

4.1.1.3 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 1C

Strukturni skelet svih β -aminoalkohola podskupine 1C sadržava dvije benzilne skupine vezane na dušikovu atomu pri čemu je benzenski prsten različito supstituiran s -H, *p*-CH₃ ili *p*-Br. Elektron-donirajuća *para*-CH₃ skupina spoja **49a**, te elektron-odvlačeća *para*-Br skupina spoja **50a** mogu imati različiti utjecaj na enantioprepoznavanje spojeva sa selektorima četiriju polisaharidnih nepokretnih faza, u odnosu na nesupstituirani fenilni prsten predstavnika (spoj **48a**).

Iz rezultata prikazanih u Tablici 1C-AD *Priloga III*, uočava se izvrsno odvajanje enantiomera svih triju spojeva podskupine 1C do osnovne linije primjenom kolone *Chiralpak AD*. Pri odjeljivanju enantiomera predstavnika spoja **48a**, smanjenjem volumnog udjela etanola u pokretnoj fazi (50 % do 5 %) povećavaju se svi ispitivani parametri: k_1 , α i R_s . To je posljedica natjecanja analita i etanola za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Promjenom alkoholnog modifikatora u propan-2-ol, te smanjenjem njegova volumnog udjela u pokretnoj fazi, neznatno se mijenja vrijednost separacijskog faktora, uz istodobno povećanje razlučivanja enantiomera, što ukazuje da ne postoji ovisnost kiralnog prepoznavanja analita i

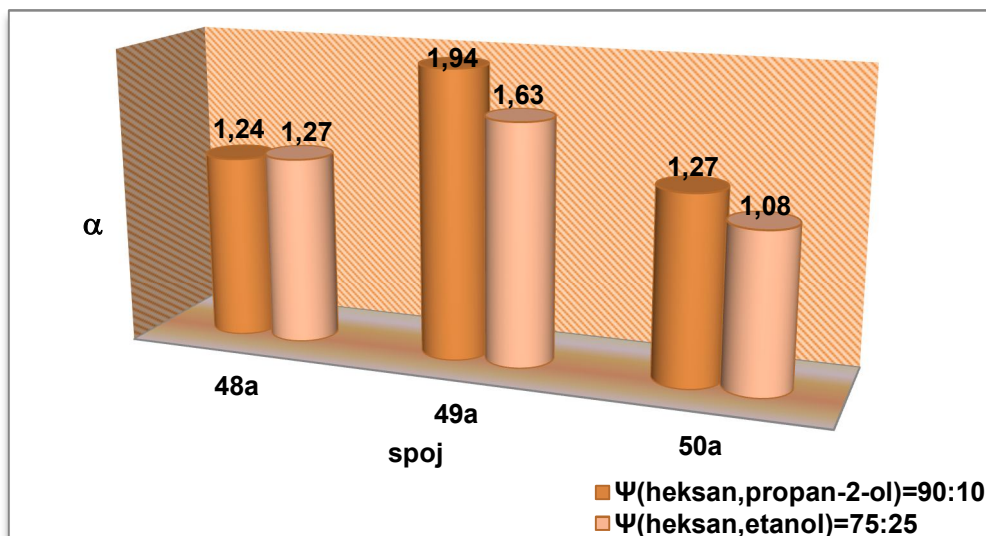
selektora nepokretne faze o udjelu propan-2-ola u pokretnoj fazi. Na temelju rezultata odjeljivanja enantiomera spoja **48a**, odabrane su pokretne faze s 20 % propan-2-ola, odnosno 5 % etanola, te je provedena enantioselektivna analiza spojeva **49a** i **50a**. Usporedbom separacijskih faktora enantiomera svih triju spojeva, uočava se da je stupanj enantioselektivnosti gotovo neovisan o supstituentu (-H, *p*-CH₃, *p*-Br) na fenilnoj jezgri, što ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja ne dominiraju π - π interakcije ili vodikove veze. Najvjerojatnije postoje dipol-dipol i hidrofobne interakcije, a potom inkluzija kompleksa u kiralnu šupljinu na način neovisan o supstituentu na fenilnoj jezgri. Bromidna i metilna skupina zbog kuglaste prostorne strukture sterički ne ometaju smještanje kompleksa u kiralnu šupljinu. Primjenom pokretne faze s dodatkom propan-2-ola, primjećuje se opadanje vrijednosti separacijskog faktora u nizu: $\alpha_{-H} > \alpha_{-CH_3} > \alpha_{-Br}$. Takav rezultat potvrđuje tezu da je doprinos π - π interakcija u procesu kiralne diskriminacije vrlo mali. Faktori zadržavanja enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralpak AD*, pri konstantnom sastavu pokretne faze s dodatkom etanola, slijede niz $k_H < k_{Br} < k_{CH_3}$, dok je s propan-2-olom u pokretnoj fazi niz drugačiji: $k_H = k_{CH_3} < k_{Br}$. Takvi rezultati u skladu su s postavljenom tezom da se stabilizacija diastereomernog kompleksa ostvaruje ulaskom enantiomera u kiralnu šupljinu na način neovisan o supstituentu na fenilnoj jezgri. Pokazatelj razlučivanja enantiomera je pokazatelj učinkovitosti odjeljivanja enantiomera. Na Slici 31 se uočava izvrsno razlučivanje enantiomera spoja **48a** ($R_s = 3,93$) uz primjenu heksanske pokretne faze s dodatkom 20 % propan-2-ola, te enantiomera spoja **50a** ($R_s = 2,67$) uz primjenu pokretne faze s 5 % etanola.



Slika 31. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralpak AD* uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

Iz rezultata prikazanih u Tablici 1C-AS *Priloga III* uočava se da je za odvajanje enantiomera spojeva na koloni *Chiralpak AS-H* prikladnija pokretna faza s propan-2-olom. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola od 25 % do 0,5 % u pokretnoj fazi, rastu vrijednosti separacijskog faktora i razlučivanje enantiomera spoja **48a**. Ovakav trend kromatografskih pokazatelja uzrokuje jaka kompeticija analita i propan-2-ola za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Zamjenom propan-2-ola s etanolom, izostaje enantioselektivnost za spoj **48a**. Mogući razlog je zasićenje interakcijskih mjesta na kiralnom selektoru s alkoholnim modifikatorom. Enantiomeri spoja **50a** (fenilni prsten supstituiran s *p*-Br) niti s jednom pokretnom fazom ne pokazuju kiralno prepoznavanje sa selektorom ove nepokretne faze. Iznenađujući pozitivan obrat u enantiomernom prepoznavanju, u odnosu na spojeve **48a** i **50a**, pokazao je spoj **49a** (fenilni prsten supstituiran s *p*-CH₃) čiji se enantiomeri odjeljuju do osnovne linije dodatkom etanola i propan-2-ola pokretnoj fazi.

Francotte i suradnici su objavili da se primjenom kolone *Chiralcel OJ* vrlo dobro razdvajaju enantiomeri spojeva s fleksibilnim fenilnim prstenovima. Pri tome su za kiralno prepoznavanje najzaslužnije vodikova veza i π - π interakcije s analitom.¹³⁹ Rezultati ispitivanja prikazani u Tablici 1C-OJ *Priloga III*, pokazuju izvrsno odjeljivanje enantiomera svih triju spojeva podskupine 1C što potvrđuje tezu Francottea. Ispitivanjem utjecaja različitih volumnih udjela alkohola u pokretnoj fazi na odjeljivanje enantiomera spoja **48a**, uočava se mala promjena enantioselektivnosti, uz lagano povećanje razlučivanja enantiomera. Stoga, kao i kod većine do sada ispitanih β -aminoalkohola 1. skupine, kiralno prepoznavanje nije ovisno o udjelu alkohola u pokretnoj fazi. Usporedbom separacijskih faktora spojeva **48a**, **49a** i **50a**, pri odabranim pokretnim fazama, ističe se izvrsna enantioselektivnost ($\alpha=1,94$) spoja **49a** uz 10 % propan-2-ola u pokretnoj fazi (Slika 32). Elektron-donirajuća *p*-CH₃ skupina na fenilnom prstenu π - π interakcijama s nepokretnom fazom dodatno stabilizira dijastereomerni kompleks analit–selektor.

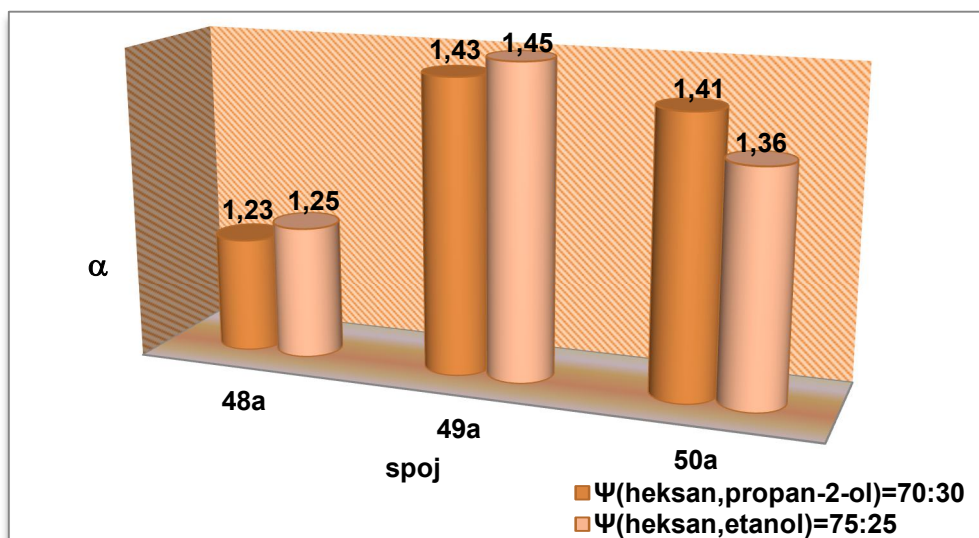


Slika 32. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralcel OJ*

U *Prilogu III*, Tablici 1C-OJ, može se primijetiti neuobičajeni redoslijed ispiranja enantiomera s kolone. U svim do sada ispitivanim slučajevima odvajanja enantiomera β -aminoalkohola podskupina 1A, 1B i 1C, drugi se po redu ispire *S*-enantiomer, dok je u ovom slučaju to *R*-enantiomer. Inverzija redoslijeda ispiranja enantiomera ukazuje na drugi način stereoselektivnog sjedanja analita u šupljine kiralne nepokretne faze.

Objavljeno je da nepokretne faze *Chiralpak AD* i *Chiralcel OD* sa selektorom 3,5-dimetilfenilkarbamatom vezanim na amilozni odnosno celulozni nosač, mogu pokazati komplementarna kiralna prepoznavanja, kao i obrnuti redoslijed ispiranja enantiomera s kolone. To se događa u slučajevima kada se kiralno prepoznavanje analita događa preko karbamatnih skupina dviju ili više susjednih glukočnih jedinica duž polisaharidnog lanca. Različito kiralno prepoznavanje posljedica je nastajanja različitih oblika/veličina kiralnih šupljina koje izgrađuju karbamatne skupine na susjednim glukočnim jedinicama amiloze i celuloze.¹⁴⁰ No, rezultati odjeljivanja enantiomera podskupine 1C na koloni *Chiralcel OD* prikazani u Tablici 1C-OD *Priloga III*, pokazuju da to nije tako u slučaju ispitivane porodice β -aminoalkohola. Obje kolone su pokazale izvrsna enantioselektivna svojstva pri odjeljivanju enantiomera svih triju spojeva. Usporedbom α -vrijednosti spoja supstituiranog s *p*-CH₃ skupinom (**49a**) i *p*-Br skupinom (**50a**) u odnosu na nesupstituirani analog (**48a**), može se uočiti da spojevi **49a** i **50a** imaju slične α -vrijednosti pri obje odabrane pokretne faze (s oba alkoholna modifikatora). Njihova vrijednost je viša nego α -vrijednost za enantiomere spoja

50a, što je vidljivo na Slici 33. To nam kazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja veliku ulogu igraju π - π interakcije s nepokretnom fazom. I ostali pokazatelji, faktori zadržavanja i razlučivanje enantiomera, također su veći za enantiomere spojeva **49a** i **50a** nego za spoj **48a**, posebice upotrebom propan-2-ola kao modifikatora. To može biti posljedica kako povećane enantioselektivnosti, tako i slabijih akiralnih interakcija s nepokretnom fazom, te različite solvatacije analita.



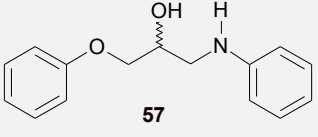
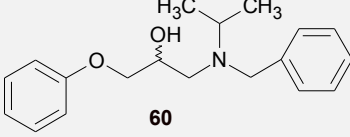
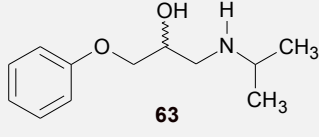
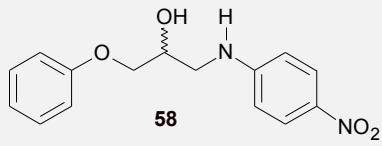
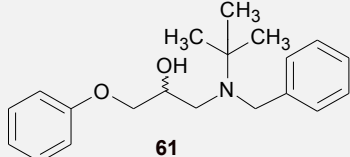
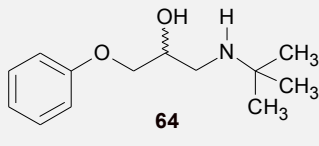
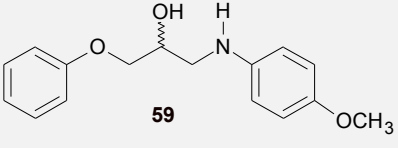
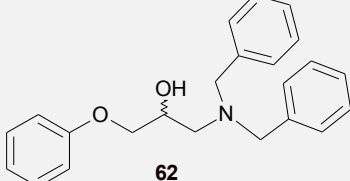
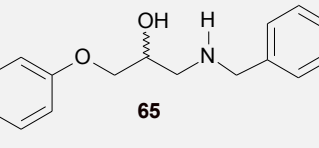
Slika 33. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralcel OD*

4.1.2 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola 2. skupine

β -Aminoalkoholi 2. skupine pripremljeni su reakcijom glicidil-fenil-etera s različitim aminima pri čemu nastaju isključivo produkti S_N2 reakcije, što je potvrđeno rezultatima HPLC-analize. Tablica 11 prikazuje podjelu β -aminoalkohola 2. skupine u podskupine 2A, 2B i 2C. U podskupini 2A, ispitan je utjecaj elektron-odvlačeće skupine p -NO₂ fenilnog prstena spoja **58**, te elektron-donirajuće skupine p -OCH₃ spoja **59** na enantioprepoznavanje s kiralnim selektorom nepokretne faze. Spojevi podskupine 2A strukturno su slični podskupini 1A: spoj **43a** podskupine 1A je analog spoju **57** podskupine 2A, dok je spoj **44a** analog spoju **58**, a spoj **45a** spoju **59**. Razlika je što spojevi podskupine 2A sadrže jedan C-atom više u ugljikovu skeletu, uz posjedovanje fenoksi-skupine. Istu strukturnu sličnost/različitost posjeduju i spojevi podskupine 2B u odnosu na podskupinu 1B; spoj **46a** podskupine 1B analog je spoju **60** podskupine 2B, spoj **47a** spoju **61**, dok je spoj **48a** analog spoju **62**. Spojevi podskupine 2C se značajnije razlikuju od spojeva podskupine 1C: izuzev razlike u ugljikovu skeletu,

postoji i razlika u supstituentu na dušikovu atomu. Spojevi podskupine 2C su monosupstituirani, dok su spojevi podskupine 1C disupstituirani. Monosupstituiranost omogućava bolje smještanje u kiralnu šupljinu te ostvarenje većeg broja π - π i dipol-dipol interakcija sa selektorom nepokretne faze.

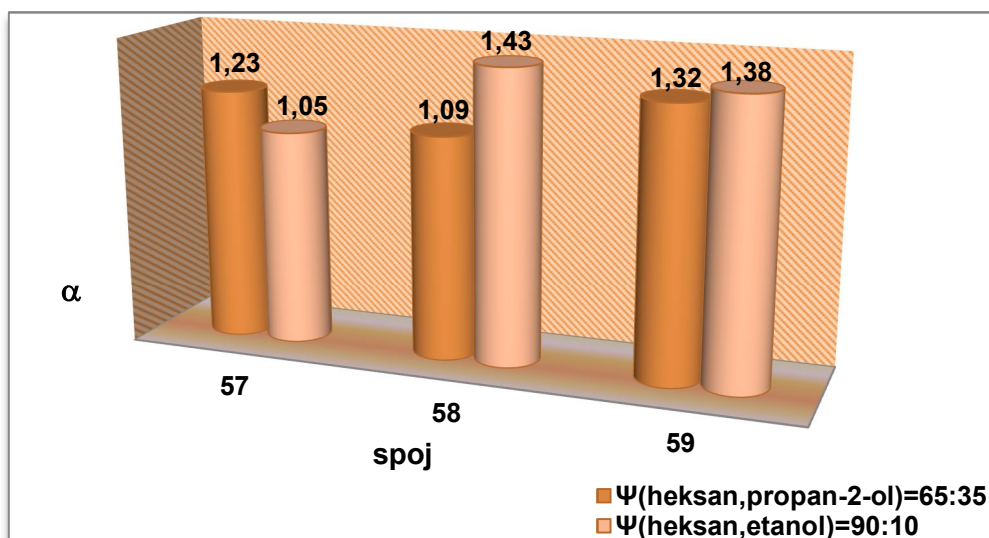
Tablica 11. Podjela β -aminoalkohola 2. skupine u podskupine 2A, 2B i 2C

	PODSKUPINA 2A <i>N</i> -monosupstituirani aromatski spojevi	PODSKUPINA 2B <i>N,N</i> -disupstituirani alifatski spojevi	PODSKUPINA 2C <i>N</i> -monosupstituirani alifatski spojevi
PREDSTAVNIK	 57	 60	 63
1. SPOJ	 58	 61	 64
2. SPOJ	 59	 62	 65

4.1.2.1 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2A

Fenilni prsten direktno vezan na dušikov atom strukturna je značajka spojeva podskupine 2A zbog čega oni posjeduju svojstvo aromatičnosti. Predstavnik podskupine 2A, spoj **57**, sadrži nesupstituirani fenilni prsten, dok spojevi **58** i **59** sadrže *para*-suspsituirani prsten.

Rezultati enantioselektivne analize spojeva podskupine 2A primjenom kolone *Chiralpak AD* prikazani u *Prilogu III*, Tablica 2A-AD, pokazuju izvrsno kiralno prepoznavanje svih ispitivanih spojeva. Odjeljivanje enantiomera spoja **57** nije ovisno o udjelu i tipu alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Separacijski faktor gotovo je konstantan u ispitivanom području volumnih udjela alkohola propan-2-ola (40 % do 30 %), odnosno etanola (30 % do 5 %). Pri tome se faktor zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera i razlučivanje povećavaju smanjenjem udjela alkohola. Slika 34 prikazuje usporedbu separacijskih faktora enantiomera ispitivanih spojeva.

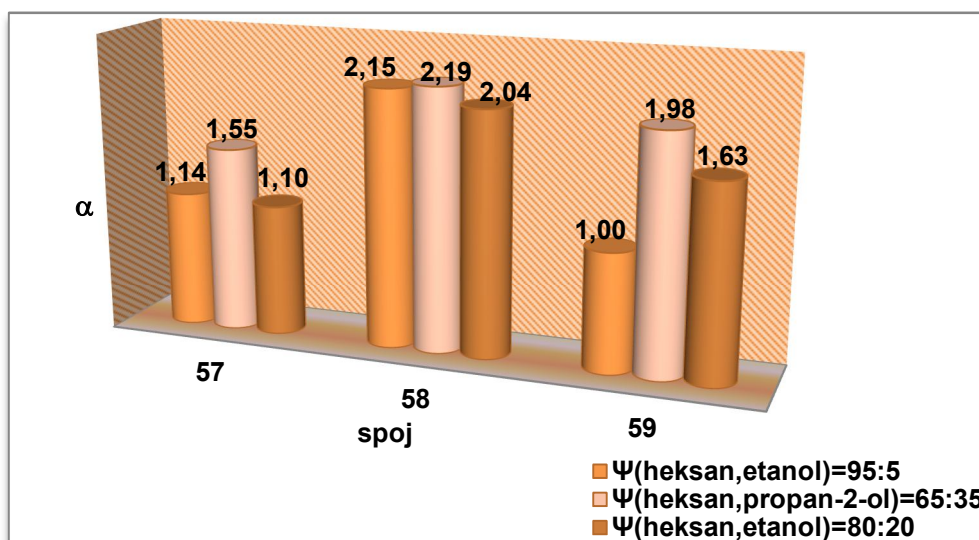


Slika 34. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni *Chiralpak AD*

Uočavaju se približno jednake vrijednosti separacijskih faktora, neovisno o tipu alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Primjenom pokretne faze s dodatkom etanola uočavaju se slične vrijednosti faktora enantioselektivnosti odvajanja enantiomera spoja **58** s *p*-NO₂ supstituentom ($\alpha = 1,43$) i spoja **59** s *p*-OCH₃ supstituentom ($\alpha = 1,38$). U enantioselektivnom sustavu, koji se sastoji od kolone *Chiralpak AD* i heksanske pokretne faze s dodatkom etanola, u mehanizmu kiralnog prepoznavanja spojeva podskupine 2A ne dominiraju interakcije π -akceptorskog i π -donorskog susptituenata na fenilnoj jezgri, nego π - π interakcije fenoksi-skupine te vodikove veze ostalih funkcionalnih skupina sa selektorom nepokretne faze. Zanimljivo je da se enantiomeri spoja **44a** (podskupina 1A), koji sadrži *p*-NO₂ susptituent na fenilnom prstenu, ne odvajaju primjenom kolone *Chiralpak AD* s pokretnom fazom s dodatkom etanola, dok se enantiomeri spoja **58** (podskupina 2A) s istom nitro-skupinom odvajaju. Takav rezultat potvrđuje pretpostavku da do kiralnog prepoznavanja dolazi isključivo preko interakcija fenoksi-skupine, dok su manje izražene interakcije koje ostvaruju susptituenti na fenilnoj jezgri. Zamjena etanola kao alkoholnog modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi u propan-2-ol ($\varphi = 35\%$) rezultira manjim stupnjem enantioprepoznavanja svih triju spojeva sa selektorom kolone *Chiralpak AD*, ali su enantiomeri jednako dobro odvojeni do osnovne linije. Faktori zadržavanja enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** uz volumni udjel etanola u pokretnoj fazi od 10 %, rastu u nizu: $k_{Ph} < k_{Ph-NO_2} < k_{Ph-OCH_3}$. Dugo zadržavanje analita u kontaktu s nepokretnom fazom može biti

posljedica nastajanja dodatnih vodikovih veza ili drugih interakcija p -NO₂ odnosno p -OCH₃ supstituenata na fenilnoj jezgri, no te interakcije ne doprinose značajnijem enantioprepoznavanju analita s kiralnom nepokretnom fazom. Povećanjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi na 35 % povećava se polarnost pokretne faze i smanjuje faktor zadržavanja analita na nepokretnoj fazi u nizu: $k_{Ph} < k_{Ph-OCH_3} < k_{Ph-NO_2}$.

Ispitivanja odjeljivanja enantiomera podskupine 2A su pokazala iznimno dobre rezultate primjenom drugog tipa amilozne nepokretne faze, *Chiralpak AS-H*, posebice za odjeljivanje enantiomera spoja **58** s p -NO₂ susptituentom na fenilnom prstenu. Rezultati ispitivanja prikazani su u *Prilogu III*, Tablici 2A-AS. Vrijednosti svih kromatografskih pokazatelja su za predstavnika podskupine 2A, spoja **57**, u usporedbi s ostala dva spoja, znatno niže neovisno o udjelu i tipu alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Separacijski faktor enantiomera spoja **57** gotovo je konstantan u cijelom ispitanom području volumnih udjela alkohola, od 10 % do 35 % propan-2-ola, odnosno od 5 % do 20 % etanola. Primjenom odabranih pokretnih faza s volumnim udjelima od 35 % propan-2-ola ili 5 % etanola, ispitano je odjeljivanje enantiomera spojeva **58** i **59**. Primjenom pokretne faze s 5 % etanola, izostaje kiralno prepoznavanje spoja **59** s p -OCH₃ skupinom na fenilnom prstenu. Povećanjem volumnog udjela etanola na 20 %, enantiomeri svih triju spojeva se na koloni *Chiralpak AS-H* izvrsno odjeljuju do osnovne linije (Slika 35).



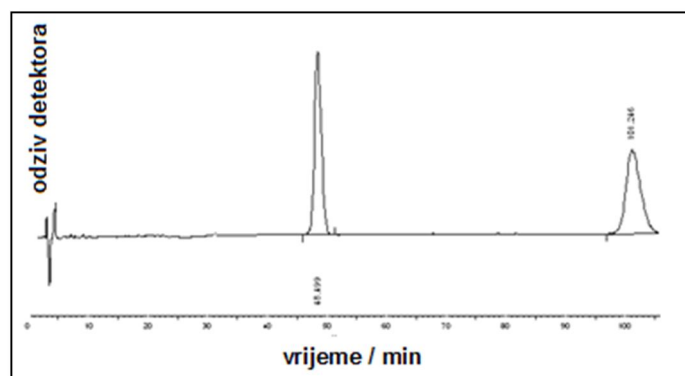
Slika 35. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni *Chiralpak AS-H*

Na Slici 36 prikazani su kromatogrami enantiomera spoja **58** odijeljenih na koloni *Chiralpak AS-H*, uz tri sastava pokretne faze. Neovisno o sastavu pokretne faze (vrsti i/ili

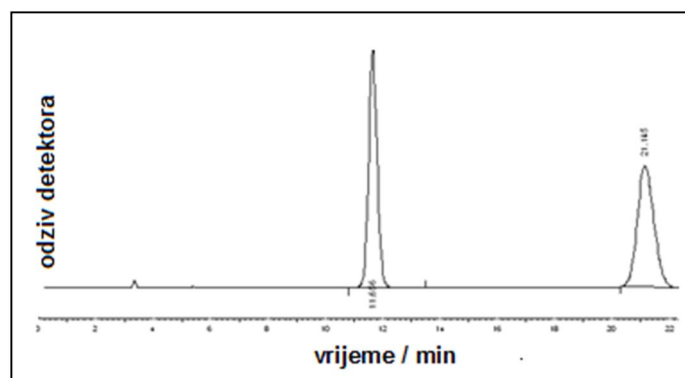
volumnom udjelu alkohola), π -akceptorski supstituent p -NO₂ na fenilnom prstenu ostvaruje niz povoljnih interakcija s kiralnim selektorom nepokretne faze. Stoga se enantiomeri spoja **58** odjeljuju do osnovne linije, uz dugo vrijeme zadržavanja drugoizlazećeg R -enantiomera. Uz manji udjel etanola u pokretnoj fazi ($\varphi = 5\%$), oba enantiomera dulje se zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom ($t_{R2} = 101,25$ min), jer se smanjenjem polarnosti pokretne faze povećavaju hidrofobne interakcije. Povećanjem volumnog udjela alkohola na 35 % propan-2-ola ili 20 % etanola, povećava se polarnost pokretne faze, i enantiomeri se prije ispiru s kolone.

Enantiomeri spojeva podskupine 2A pokazuju vrlo dobro enantioprepoznavanje primjenom celulozne kolone *Chiralcel OJ*. U *Prilogu III*, Tablica 2A-OJ, prikazani su rezultati koji ukazuju da je kiralno prepoznavanje enantiomera spoja **57** neovisno o vrsti alkoholnih modifikatora ili njihovom volumnom udjelu (20 % do 40 %) u pokretnoj fazi. Na Slici 37 uspoređene su enantioselektivnosti spojeva **57**, **58** i **59** primjenom pokretnih faza s visokim volumnim udjelima alkohola: 40 % etanola, odnosno 40 % propan-2-ola. Za sva tri spoja su vrijednosti α približno iste. Enantiomeri spoja **58** postižu nešto više vrijednosti α ($\alpha = 1,35$) primjenom propan-2-ola kao alkoholnog modifikatora. U pokretnoj fazi koja se odlikuje visokom polarnošću zbog visokog volumnog udjela alkohola (40 %), enantiomeri spoja **58** s p -NO₂ skupinom na fenilnoj jezgri ostvaruju vrlo jake vodikove veze i π - π interakcije. Interakcije spoja **58** uzrokuju dulje zadržavanje prvoizlazećeg enantiomera te, neovisno o primijenjenom alkoholu, poprimaju visoke vrijednosti razlučivanja.

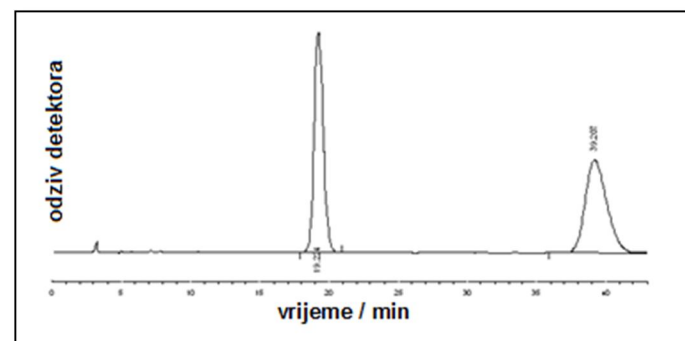
A)



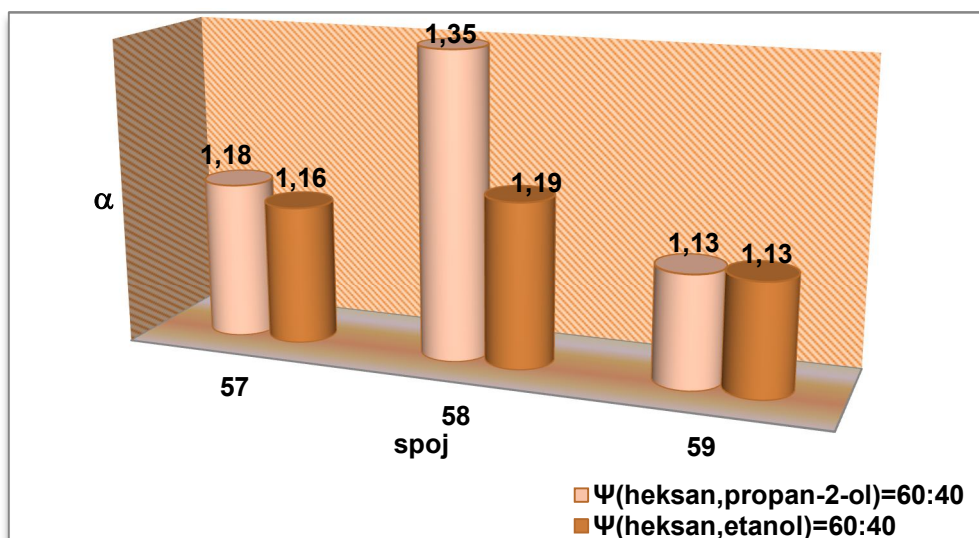
B)



C)

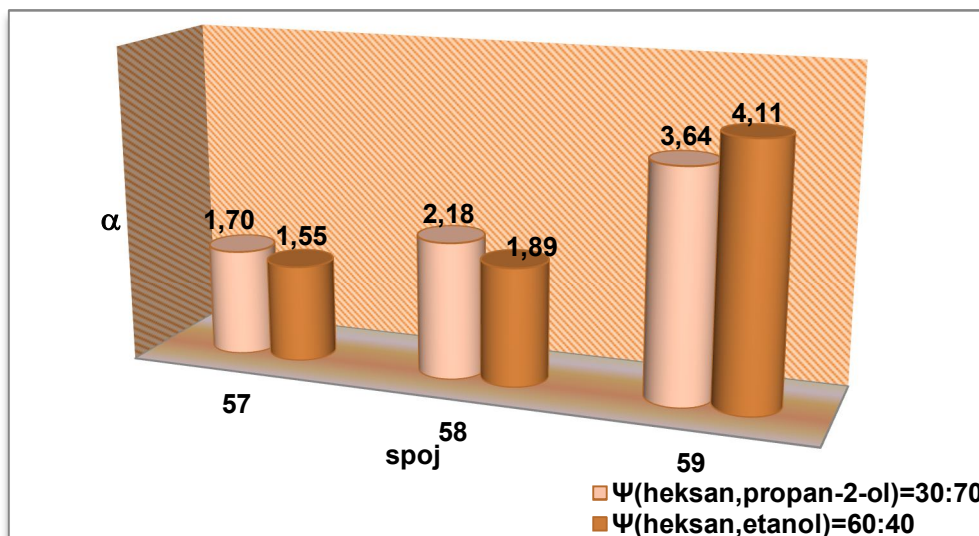


Slika 36. Kromatogrami enantiomera spoja **58** odvojenih na koloni *Chiralpak AS-H*; volumni udio alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$): A) 5 % etanola; B) 20 % etanola; C) 35 % propan-2-ola



Slika 37. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni *Chiralcel OJ*

Primjenom drugog tipa celulozne nepokretne faze - *Chiralcel OD*, spojevi podskupine 2A pokazuju drugačiju sliku odvajanja enantiomera nego na koloni *Chiralcel OJ*. Iz rezultata (Tablica 2A-OD, *Prilog III*) se uočava jaka kompeticija analita i alkohola za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Smanjivanjem volumnog udjela etanola u pokretnoj fazi od 50 % do 30 % i propan-2-ola od 70 % do 30 %, povećavaju se vrijednosti faktora zadržavanja enantiomera, separacijskih faktora enantiomera i razlučivanja enantiomera spoja **57**. Na temelju kromatografskih rezultata odjeljivanja enantiomera spoja **57**, kao najprikladnije odabrane su pokretne faze s vrlo visokim volumnim udjelima alkohola: 70 % propan-2-ola i 40 % etanola. Uz primjenu tih pokretnih faza provedena je enantioselektivna analiza spojeva **58** i **59**. Na Slici 38 uspoređeni su separacijski faktori enantiomera svih triju ispitivanih spojeva podskupine 2A. Uočava se ekstrem: najbolje kiralno prepoznavanje postižu enantiomeri spoja **59**. Iz literature je poznato¹⁴¹ da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja različitih analita s kiralnim selektorom kolone *Chiralcel OD* dominira vodikova veza, što potvrđuju i rezultati ispitivanja provedenih u ovom radu. *p*-Metoksi skupina na fenilnoj jezgri zbog prisutnosti elektronegativnog atoma kisika pravi jaku vodikovu vezu te se svojom kuglastom strukturom prikladno smješta u kiralnu šupljinu nepokretne faze i stabilizira nastali diastereomerni kompleks. Visoki volumni udio alkohola u pokretnoj fazi (70 % propan-2-ola, odnosno 40 % etanola) najvjerojatnije uzrokuje konformacijske promjene kiralne nepokretne faze. Mijenjaju se dimenzije i oblik kiralnih šupljina na način pogodan za smještanje analita. Posljedica je izvrsno razdvajanje enantiomera u vremenu kraćem od 15 minuta.



Slika 38. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni *Chiralcel OD*

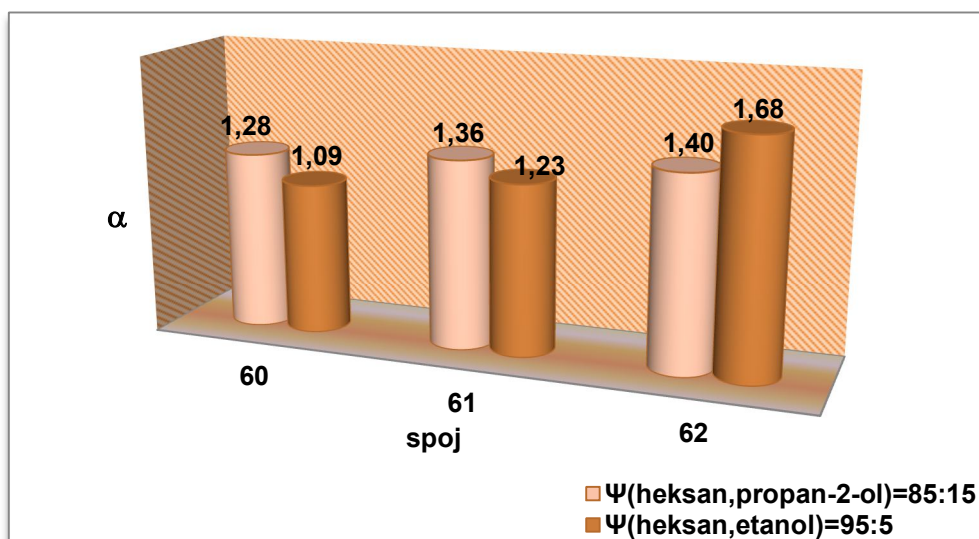
Usporedbom R_s vrijednosti β -aminoalkohola podskupine 2A, kao mjere djelotvornosti odvajanja enantiomera, uz konstantan sastav pokretne faze s volumnim udjelom od 70 % propan-2-ola, ističu se vrijednosti razlučivanja enantiomera spoja **59**. Takav rezultat posljedica je povećane enantioselektivnosti, slabijih akiralnih interakcija s nepokretnom fazom, te različite solvatacije analita.

4.1.2.2 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2B

Predstavnik podskupine 2B je spoj **60** sa strukturom koja na dušikovu atomu sadrži benzilnu i izopropilnu skupinu (Tablica 11). Ostala dva spoja u podskupini 2B imaju na dušikovu atomu uz benzilnu skupinu vezanu i *tert*-butilnu skupinu (spoj **61**) te još jednu benzilnu skupinu (spoj **62**). β -Aminoalkoholi podskupine 1B i 2B strukturno su vrlo slični. Razlika je što β -aminoalkoholi podskupine 2B sadrže u ugljikovu skeletu jedan C-atom više te imaju vezanu fenoksi-skupinu. Funkcionalne skupine na dušikovu atomu su više ili manje voluminozne, te su različito orijentirane u prostoru (planarno ili tetraedrijski), što može različito utjecati na kiralno prepoznavanje sa selektorima kiralnih nepokretnih faza.

Ispitan je utjecaj volumnog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spoja **60** na koloni *Chiralpak AD*. Rezultati su prikazani u *Prilogu III*, Tablici 2B-AD. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi s 20 % na 10 %, enantioselektivnost spoja **60** se neznatno mijenja, iz čega

proizlazi da kiralno prepoznavanje nije ovisno o udjelu propan-2-ola u pokretnoj fazi. S druge strane, smanjenjem volumnog udjela etanola s 10 % na 5 % u pokretnoj fazi, enantioselektivnost naglo opada (za oko 3 puta). Daljnjim smanjenjem volumnog udjela etanola od 5 % do 2 %, stupanj enantioselektivnosti ostaje gotovo nepromijenjen. Povećanjem volumnog udjela etanola od 5 % do 10 % raste kompeticija molekula etanola i molekula spoja **60** za mjesta na kiralnom selektoru. Kao optimalne odabrane su pokretne faze s volumnim udjelom od 15 % propan-2-ola ili 5 % etanola, te je ispitano odjeljivanje enantiomera spojeva **61** i **62**. Slika 39 prikazuje usporedbu separacijskih faktora enantiomera svih triju spojeva podskupine 2B. Uočava se da je etanol prikladniji alkoholni modifikator pokretne faze od propan-2-ola. Također, spoj **62** s dvije benzilne skupine, pokazuje viši stupanj enantioselektivnosti, nego spojevi **60** i **61** s izopropilnom i *tert*-butilnom skupinom kao supstituentima na dušikovu atomu. Iz navedenog se može zaključiti da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja, enantiomeri spoja **62** ostvaruju jake π - π i dipol-dipol interakcije koje stabiliziraju nastali dijasteromerni kompleks, te doprinose dobrom enantioprepoznavanju sa selektorom nepokretne faze.



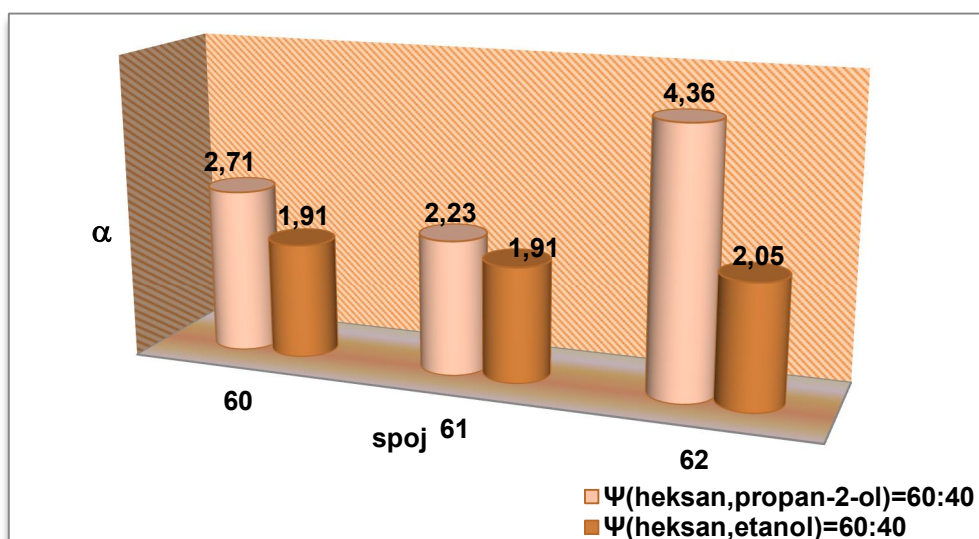
Slika 39. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni *Chiralpak AD*

Uspoređene su vrijednosti faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera spojeva **60**, **61** i **62**, kao mjere različitih doprinosa selektivnih i neselektivnih zadržavanja enantiomera na nepokretnoj fazi. Rezultati pokazuju da dodatkom etanola pokretnoj fazi, zadržavanje enantiomera slijedi niz $k_1(N,N\text{-benzil}) \gg k_1(N\text{-benzi-}N\text{-izopropil}) > k_1(N\text{-benzil-}N\text{-tert-butil})$. Dvije benzilne skupine vezane na dušikov atom povećavaju ukupnu hidrofobnost analita u

odnosu na manje hidrofobnu izopropilnu i *tert*-butilnu skupinu. Povećana hidrofobnost analita pri nižoj polarnosti pokretne faze [$\varphi(\text{etanol}) = 5\%$], uzrokuje jačanje hidrofobnih interakcija što dovodi do duljeg zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera spoja **62** na nepokretnoj fazi ($k_1 = 5,29$). Nastali diastereomerni kompleks se potom stabilizira π - π i dipol-dipol interakcijama i tako ostvaruje izvrsno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze. Uz manje polarni propan-2-ol kao alkoholni modifikator, manje su izražene hidrofobne interakcije i kraće je zadržavanje prvoizlazećeg enantiomera svih triju spojeva.

Prema rezultatima prikazanim u Tablici 2B-AS *Priloga III*, uočava se da kolona *Chiralpak AS-H*, uz primjenu etanola kao alkoholnog modifikatora pokretne faze, nije dobar izbor za odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2B. Primjenom propan-2-ola, posebice pri nižim volumnim udjelima alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi, kiralno prepoznavanje se poboljšava. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi od 20 % do 1 % separacijski faktor enantiomera spoja **60** se blago povećava. Uspoređeni su separacijski faktori enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** primjenom različitih volumnih udjela etanola u heksanskoj pokretnoj fazi, te niskom volumnom udjelu propan-2-ola. Uočava se da se enantiomeri svih triju ispitanih spojeva odjeljuju do osnovne linije. Pri tome enantiomeri spoja **60** imaju malo višu vrijednost separacijskog faktora ($\alpha = 1,28$), nego enantiomeri drugih dvaju spojeva ($\alpha \sim 1,20$). Takvi rezultati ukazuju da primjenom ovog tipa amilozne nepokretne faze, u mehanizmu kiralnog prepoznavanja nisu dominantne π - π i dipol-dipol interakcije, već prevladavaju sterički efekti pri smještanju enantiomera u kiralne šupljine, pri čemu je izopropilna skupina spoja **60** najmanje sterički zahtjevna. Usporedbom faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera spojeva podskupine 2B, vidljivo je da se uz propan-2-ol u pokretnoj fazi na koloni najkraće zadržavaju enantiomeri spoja **60**. To potvrđuje postavljenu tezu da su veličina i oblik izopropilne skupine spoja **60** prikladni za smještanje u kiralne šupljine nepokretne faze. Primjenom pokretne faze s dodatkom etanola, uz smanjenje volumnog udjela etanola od 10 % \rightarrow 5 % \rightarrow 1 %, smanjuje se polarnost pokretne faze i produljuje vrijeme zadržavanja prvoizlazećih enantiomera svih triju spojeva. Analizom spoja **60** uočeno je da je, primjenom kolone *Chiralpak AS-H* uz heksansku pokretnu fazu s različitim volumnim udjelima propan-2-ola od 1 % do 20 %, drugoizlazeći enantiomer *S*-enantiomer. Ova promjena redoslijeda ispiranja ukazuje na drugu vrstu stereoselektivnog ulaska enantiomera u kiralnu šupljinu. Može se pretpostaviti da će enantiomeri spojeva **61** i **62** slijediti svog predstavnika u pogledu redoslijeda izlaženja enantiomera.

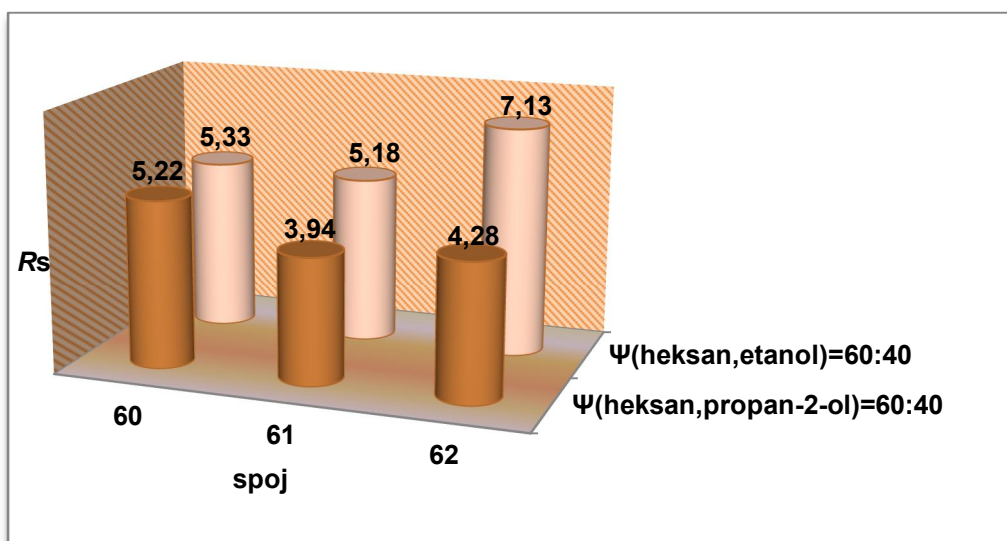
Celulozna nepokretna faza *Chiralcel OJ* pokazala se iznadprosječno dobrom za prepoznavanje enantiomera svih ispitivanih spojeva podskupine 2B. U *Prilogu III*, Tablici 2B-OJ, prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja smanjenja volumnog udjela alkoholnog modifikatora propan-2-ola s 40 % na 10 %, odnosno etanola s 50 % na 30 % na separacijski faktor enantiomera. Uočava se povećanje α sa smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola, ali α ostaje gotovo nepromijenjen smanjenjem etanola u pokretnoj fazi. Veća polarnost pokretne faze (40 % alkohola) pogoduje odjeljivanju enantiomera svih ispitivanih spojeva te se postižu iznimno visoke vrijednosti separacijskih faktora. Najviša vrijednost $\alpha = 4,36$ postiže se za enantiomere spoja **62** s dvije benzilne skupine vezane na dušikovu atomu, primjenom pokretne faze s 40 % propan-2-ola (Slika 40). Iz toga se može zaključiti da se mehanizam kiralnog prepoznavanja spojeva podskupine 2B sa selektorom nepokretne faze temelji na jakim π - π i dipol-dipol interakcijama.



Slika 40. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni *Chiralcel OJ*

Kao potvrda toj pretpostavci je iznimno dugo zadržavanje enantiomera spoja **62** s dvije benzilne skupine. Enantiomeri spoja **60** s planarnom izopropilnom i benzilnom skupinom postižu $\alpha = 2,71$ koji je $\sim 1,6$ puta manji nego enantiomeri spoja **62** ($\alpha = 4,36$). Enantiomeri spoja **61** s tetraedrijski usmjerenom *tert*-butilnom skupinom i planarnom benzilnom skupinom postižu $\alpha = 2,23$ koji je ~ 2 puta manji nego enantiomeri spoja **62** ($\alpha = 4,36$). Promjenom alkohola u pokretnoj fazi iz propan-2-ola u etanol, enantiomeri svih triju spojeva daju gotovo iste iznose separacijskog faktora ($\alpha \sim 2,0$). Takav rezultat govori da se

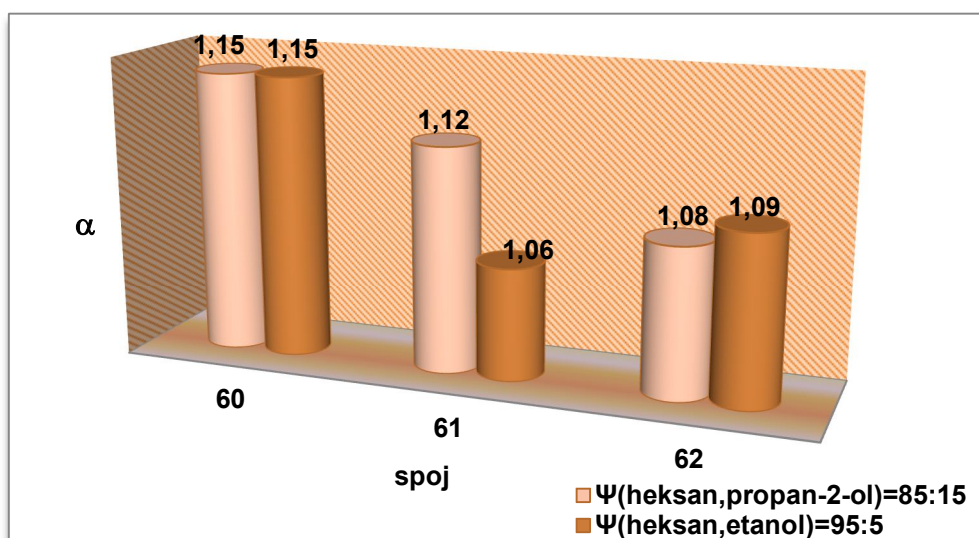
promjenom vrste alkohola mijenja mehanizam kiralnog prepoznavanja spojeva podskupine 2B. Primjenom etanola ostvaruju se interakcije analita i kiralnog selektora na način neovisan o supstituentu na dušikovu atomu. Slika 41 prikazuje usporedbu razlučivanja enantiomera, kao mjere djelotvornosti odvajanja enantiomera spojeva podskupine 2B na koloni *Chiralcel OJ*. Neovisno o vrsti primijenjenog alkohola u pokretnoj fazi, odjeljivanje enantiomera spoja **60** je zadovoljavajuće visoka. Za odjeljivanje enantiomera spojeva **61** i **62** djelotvorniji je etanol kao alkoholni modifikator u pokretnoj fazi.



Slika 41. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni *Chiralcel OJ* uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

Primjenom kolone *Chiralcel OD*, odjeljivanje enantiomera spojeva podskupine 2B pokazuje niži stupanj enantioselektivnosti nego primjenom kolone *Chiralcel OJ* (*Prilog III*, Tablica 2B-OD). Smanjenjem volumnog udjela etanola u pokretnoj fazi od 50 % do 3 %, te propan-2-ola od 40 % do 10 %, separacijski faktor se gotovo ne mijenja. To pokazuje da kiralno prepoznavanje analita i selektora nepokretne faze nije ovisno o volumnom udjelu i vrsti alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Odabrane su pokretne faze s propan-2-olom ($\varphi = 15 \%$) te etanolom ($\varphi = 5 \%$) pri kojima je provedena enantioselektivna analiza spojeva **61** i **62**. Na Slici 42 uspoređeni su separacijski faktori spojeva podskupine 2B. Najviša opažena vrijednost separacijskog faktora iznosi $\alpha = 1,15$ za spoj **60**, neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru. Uz propan-2-ol u pokretnoj fazi, separacijski faktori spojeva slijede niz: $\alpha(N\text{-benzil-}N\text{-izopropil}) > \alpha(N\text{-benzil-}N\text{-tert-butil}) > \alpha(N,N\text{-dibenzil})$. Takav rezultat ukazuje da je u mehanizmu kiralnog prepoznavanja stereoselektivno smještanje

dijastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu dominantniji proces nego π - π ili dipol-dipol interakcije. Promjenom alkoholnog modifikatora u etanol dolazi do promjene veličine i oblika kiralne šupljine pa se mijenja i enantioselektivnost. Separacijski faktori odjeljivanja enantiomera u tom slučaju slijede niz: $\alpha(N\text{-benzil-}N\text{-izopropil}) \gg \alpha(N,N\text{-dibenzil}) > \alpha(N\text{-benzil-}N\text{-tert-butil})$. Rezultat ukazuje da promjena oblika kiralne šupljine ne pogoduje tetraedrijski orijentiranoj *tert*-butilnoj skupini spoja **61** na dušikovu atomu. Analizom enantiomerno obogaćenog predstavnika podskupine 2B - spoja (*R*)-**60**, potvrđen je redosljed ispiranja enantiomera s kolone *Chiralcel OD*. Uočeno je da je drugoizlazeći enantiomer *S*-enantiomer. Neovisno da li je nepokretna faza amiloznog ili celuloznog tipa, redosljed ispiranja enantiomera s kolone spojeva podskupine 2B je drugačiji, što ukazuje na drugačiji tip stereoselektivnog sjedanja u kiralnu šupljinu.

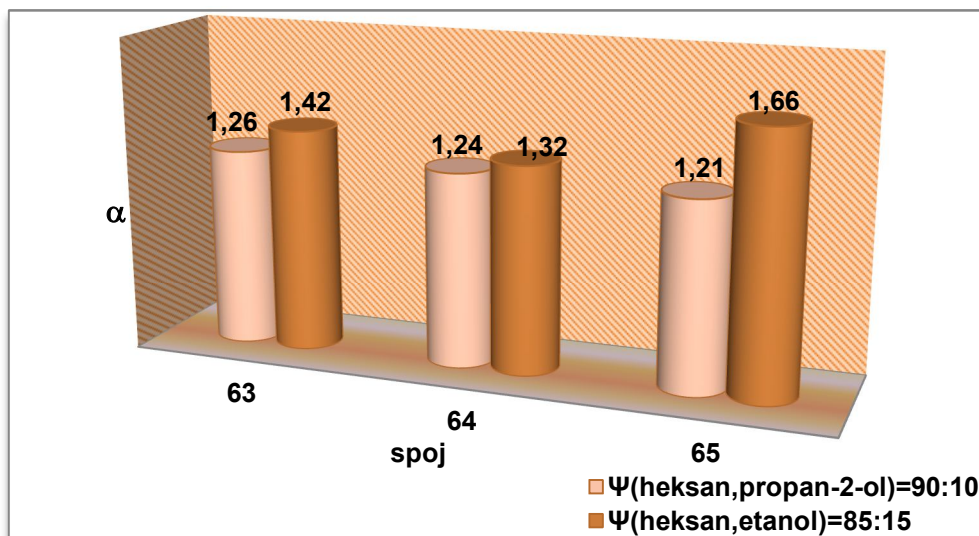


Slika 42. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni *Chiralcel OD*

4.1.2.3 Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 2C

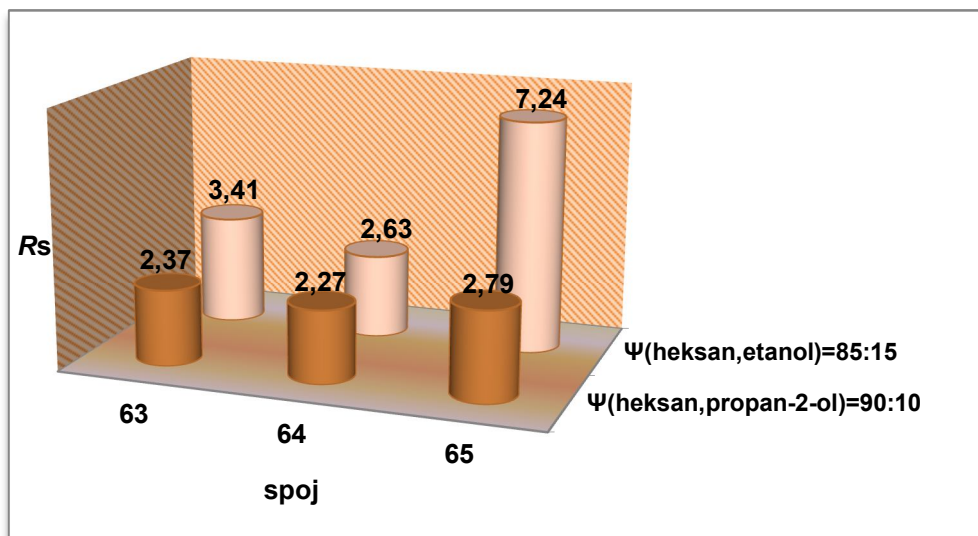
Predstavnik *N*-monosupstituiranih alifatskih spojeva podskupine 2C je spoj **63** koji na dušikovu atomu sadrži vezanu planarnu izopropilnu skupinu (Tablica 11). Ostala dva spoja podskupine 2C na dušikovu atomu sadrže tetraedrijsku *tert*-butilnu skupinu (spoj **64**) odnosno planarnu benzilnu skupinu (spoj **65**). Spojevi podskupine 2C su manje voluminozni od spojeva podskupine 2B jer nemaju dodatnu benzilnu skupinu vezanu na dušikovom atomu. To strukturno svojstvo im daje mogućnost različitog enantioprepoznavanja s kiralnim selektorom celuloznih i amiloznih nepokretnih faza.

Glavna kiralna adsorbirajuća mjesta na koloni *Chiralpak AD* su karbamatne polarne skupine koje stupaju u interakciju s analitom stvarajući vodikove veze preko N-H i C=O skupina, te dipol-dipol interakcije preko C=O skupina. Prisutnost dviju metilnih skupina na fenilkarbamatnoj jedinici kiralnog selektora kolone *Chiralpak AD* povećava elektronsku gustoću na kisiku karbonilne-skupine, što za posljedicu daje intenzivnije stvaranje vodikovih veza. Metilne-skupine na fenilkarbamatnoj jedinici imaju i funkciju kontroliranja steričkog sjedanja β -aminoalkohola u kiralne šupljine nepokretne faze.¹⁴² Rezultati ispitivanja odjeljivanja enantiomera spojeva podskupine 2C na koloni *Chiralpak AD* prikazani su u *Prilogu III*, Tablica 2C-AD. Uočava se izvrsno kiralno prepoznavanje ispitivanih β -aminoalkohola. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi s 20 % na 5 % α -vrijednost spoja **63** se neznatno mijenja. Daljnjim smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola s 5 % na 1 % α -vrijednost naglo se povećava na 3,24. To ukazuje da pri malim volumnim udjelima propan-2-ola dolazi do jake kompeticije analita i alkohola za kiralna mjesta na nepokretnoj fazi. Alkohol sjeda blizu ili unutar same kiralne šupljine na nepokretnoj fazi mijenjajući steričku okolinu šupljine, pa prema tome i stereoselektivnost. S etanolom kao alkoholnim modifikatorom u pokretnoj fazi, α se neznatno mijenja u ispitanom rasponu volumnih udjela etanola od 30 % do 10 %. Na Slici 43 prikazana je usporedba separacijskih faktora svih triju ispitivanih spojeva β -aminoalkohola podskupine 2C. Uočavaju se slične vrijednosti separacijskih faktora primjenom pokretne faze s propan-2-olom. Primjenom etanola nešto je bolje enantioprepoznavanje enantiomera spoja **65** ($\alpha = 1,66$) nego spojeva **64** ($\alpha = 1,32$) i **63** ($\alpha = 1,42$). Struktura spoja **65** s benzilnom skupinom na dušikovu atomu uzrokuje stabilizaciju nastalog diastereomernog kompleksa stvaranjem dipol-dipol i π - π interakcija.



Slika 43. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralpak AD*

Faktor zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera povezuje se s hidrofobnošću analita, a mjera je kombinacije selektivnih i neselektivnih zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera na nepokretnoj fazi. Relativno visoka vrijednost faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera spoja **65** uz primjenu etanola u pokretnoj fazi ($k_1 = 2,94$), ukazuje da posjedovanje benzilne skupine u strukturi spoja utječe na hidrofobnost spoja. Zbog toga se enantiomeri spoja **65** dulje zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom. Usporedba R_s -vrijednosti spojeva podskupine 2C prikazana je u Tablici 2C-AD te na Slici 44. Uočava se da su za sva tri spoja podskupine 2C veće R_s -vrijednosti primjenom etanola u pokretnoj fazi nego propan-2-ola. Enantioselektivni kromatografski sustav s etanolom kao alkoholnim modifikatorom djelotvorniji je za odjeljivanje enantiomera svih triju spojeva. Najbolje razlučivanje enantiomera ($R_s = 7,24$) postižu enantiomeri spoja **65** (benzilni supstituent na dušikovu atomu) uz najvišu vrijednost $\alpha = 1,66$. To potvrđuje stabilizaciju nastalog diastereomernog kompleksa stvaranjem dipol-dipol i π - π interakcija. U takvom sustavu tetraedrijski orijentirana *tert*-butilna skupina spoja **64** najmanje pogoduje postizanju povoljnih interakcija enantiomera sa selektorom nepokretne faze.



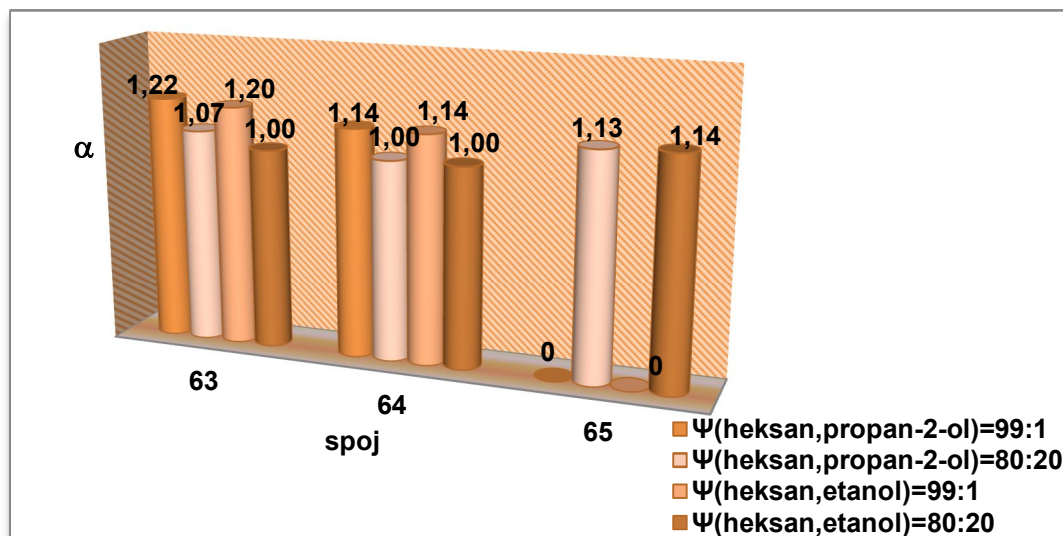
Slika 44. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralpak AD* uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

Primjenom druge amilozne nepokretne faze kolone *Chiralpak AS-H* uočavaju se neobični i međusobno različiti rezultati enantioselektivne analize β -aminoalkohola podskupine 2C (*Prilog III*, Tablica 2C-AS). Ispitivanjem odjeljivanja enantiomera predstavnika podskupine - spoja **63**, uočeno je da se smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi s 20 % na 1 % blago povećavaju separacijski faktor i razlučivanje enantiomera. Zamjenom propan-2-ola u etanol dolazi do izostanka enantioselektivnosti za enantiomere spoja **63**. Uz niski volumni udio od 1 % propan-2-ola u pokretnoj fazi, odvajaju se i enantiomeri spoja **63** s izopropilnom skupinom i spoja **64** s *tert*-butilnom skupinom, ali ne i enantiomeri spoja **65** s benzilnom skupinom. Voluminozan planarni benzilni supstituent spoja **65** sterički nije prikladan za postojeći oblik ili veličinu kiralne šupljine. S druge strane, planarna izopropilna skupina i tetraedrijska *tert*-butilna skupina prikladnije su za smještaj u utore selektora. Pri pokretnoj fazi s alkoholnim modifikatorom propan-2-olom, enantiomeri spoja **65** se nisu isprali s kolone, što ukazuje da je favorizirano nastajanje kompleksa propan-2-ola i selektora, a ne analita i selektora. Povećanjem volumnog udjela propan-2-ola na 20 %, enantiomeri spoja **65** pokazuju izvrsno kiralno prepoznavanje, ali ne i enantiomeri spoja **64** (*Prilog III*, Tablica 2C-AS). Na koloni *Chiralpak AS-H* uz volumni udio etanola u pokretnoj fazi od 5 % odjeljuju se samo enantiomeri spoja **65**. To ukazuje da se u mehanizmu kiralnog prepoznavanja spoja **65** s benzilnom skupinom stabilizacija dijastereomernog kompleksa ostvaruje stvaranjem dipol-dipol i π - π interakcija. Povećanjem volumnog udjela etanola u pokretnoj fazi na 30 % enantiomeri spoja **64** i **65** se djelomično odvajaju, dok se enantiomeri

spoja **63** ne odvajaju. Ispitivanja redosljeda ispiranja enantiomera s kolone *Chiralpak AS-H* su pokazala da je drugoizlazeći enantiomer spoja **63** *R*-enantiomer, jednako kao i na koloni *Chiralpak AD*.

Glavno kiralno adsorbirajuće mjesto na koloni *Chiralcel OJ* su polarne karbonilne skupine smještene duž polimernog lanca celuloze koje mogu ostvarivati vodikove veze s analitom. Aromatske skupine koje su smještene izvan polimernog lanca omogućavaju π - π i steričke interakcije. Kada se u jednom trenutku analit veže na kiralnu nepokretnu fazu navedenim interakcijama, kiralno prepoznavanje se temelji na smještanju asimetričnog dijela analita u kiralnu šupljinu kiralnog diskriminirajućeg mjesta. To smještanje analita je strogo sterički kontrolirano.^{143,144} Rezultati ispitivanja odvajanja enantiomera podskupine 2C primjenom kolone *Chiralcel OJ* prikazani su u *Prilogu III*, Tablica 2C-OJ. Iz rezultata je vidljivo da smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola s 20 % na 1 % u pokretnoj fazi, separacijski faktor enantiomera spoja **63** lagano raste dosežući maksimum pri vrijednosti $\alpha = 1,2$. Zamjenom alkoholnog modifikatora u etanol, pri volumnim udjelima 10 % odnosno 20 %, izostaje kiralno prepoznavanje spoja **63** sa selektorom nepokretne faze. Daljnjim smanjenjem volumnog udjela etanola na 1 %, enantiomeri se odjeljuju do osnovne linije. Iz toga proizlazi da kiralnom prepoznavanju enantiomera spoja **63** i spoja **64** pogoduje niska polarnost pokretne faze neovisno o tipu alkoholnog modifikatora. U mehanizmu kiralnog prepoznavanja spojeva **63** i **64** prevladavaju hidrofobne i dipol-dipol interakcije, te stereoselektivno smještanje dijastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu.

Odvajanje enantiomera predstavnika podskupine 2C (spoja **63**) postignuto je uz mali volumni udio (1 %) obaju alkohola. Pri tim odabranim pokretnim fazama ispitano je i odjeljivanje enantiomera spojeva **64** i **65**. Usporedba separacijskih faktora svih triju spojeva podskupine 2C prikazana je na Slici 45. Veći volumni udio alkohola ($\varphi = 20$ %) u pokretnoj fazi pogoduje enantiomerima spoja **65** koji na dušikovu atomu imaju vezanu benzilnu skupinu. Veća polarnost pokretne faze doprinosi kvalitetnijem ostvarivanju π - π i dipol-dipol interakcija enantiomera spoja **65** s kiralnim selektorom. Ispitivanjem redosljeda ispiranja enantiomera s kolone analizom enantiomerno obogaćenog spoja (*R*)-**63** ponovno je potvrđeno da je drugoizlazeći enantiomer *R*-enantiomer. Do obrata redosljeda ispiranja nije došlo promjenom alkoholnog modifikatora.

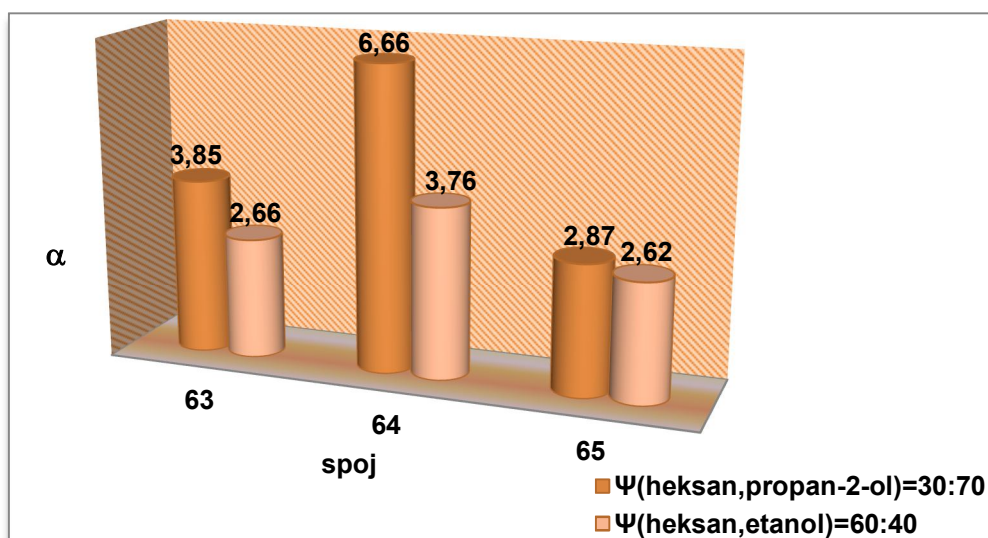


Slika 45. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralcel OJ*

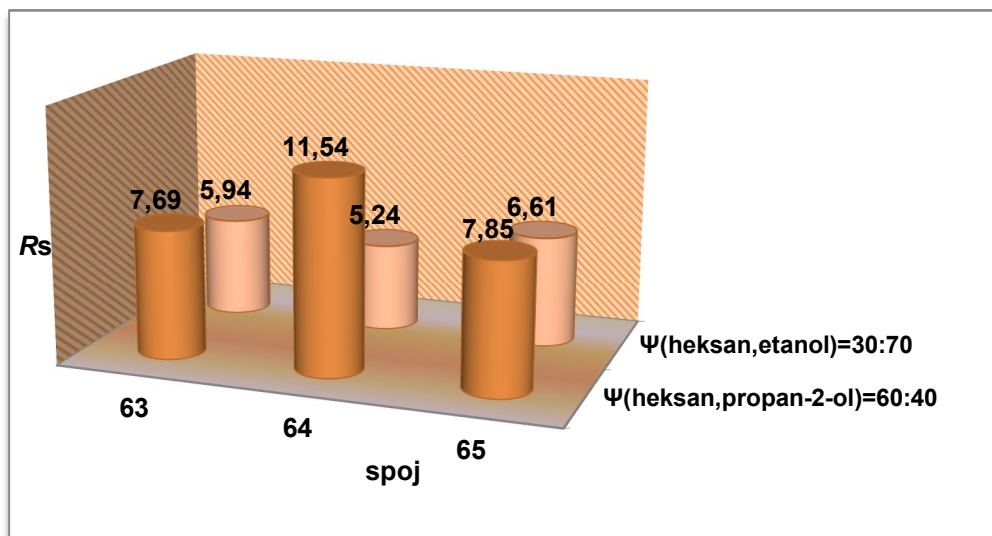
β -Aminoalkoholi podskupine 2C zbog prisustva hidroksilne skupine i slobodnog elektronskog para na dušikovu atomu imaju mogućnost stvaranja donor-akceptor vodikove veze s N-H i C=O skupinom kiralnog selektora kolone *Chiralcel OD*. Vodikove veze mogu se razlikovati u jačini, a broj im može varirati ovisno o broju različitih funkcionalnih skupina u molekuli koje imaju potencijal stvaranja vodikove veze. Stoga će biti različit ukupni doprinos vodikovih veza stabilizaciji nastalog diastereomernog kompleksa. Provedena enantioselektivna analiza na koloni *Chiralcel OD* (Prilog III, Tablica 2C-OD) ukazuje na veliki doprinos nastalih vodikovih veza enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** u mehanizmu kiralnog prepoznavanja sa selektorom nepokretne faze. Uz veliki volumni udio alkohola u pokretnoj fazi: od 20 % do 70 % propan-2-ola, te od 20 % do 40 % etanola, iznimno veliki stupanj enantioprepoznavanja postižu enantiomeri spoja **63** ($2,66 < \alpha < 6,89$).

Slika 46 prikazuje usporedbu separacijskih faktora spojeva podskupine 2C primjenom kolone *Chiralcel OD*. Uočava se da se primjenom pokretne faze s velikim volumnim udjelom propan-2-ola ($\varphi = 70\%$) postiže iznadprosječno visoka vrijednost separacijskog faktora pri odjeljivanju enantiomera spoja **64**. Veliki udio alkohola u pokretnoj fazi mijenja oblik i veličinu kiralne šupljine polisaharidne nepokretne faze na način prikladan tetraedrijski orijentiranoj *tert*-butilnoj skupini spoja **64**. U takvom polarnom enantioselektivnom sustavu do izražaja dolaze jake vodikove veze koje stvaraju kisikov atom fenoksi-skupine, alkoholna hidroksilna skupina i slobodni elektronski par na dušikovu atomu s C=O i N-H skupinom kiralnog selektora. Nastali diastereomerni kompleks se stabilizira i postiže se izvrsno

enantioprepoznavanje analita i selektora. Enantiomeri spoja **63**, koji u strukturi imaju vezanu izopropilnu skupinu na dušikovu atomu, manje su prikladni za oblik i veličinu nastale kiralne šupljine. Uz primjenu propan-2-ola u pokretnoj fazi ostvaruju se slabije vodikove veze enantiomera spoja **63** i kiralnog selektora nepokretne faze. Enantiomeri se kraće zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom ($k_1 \sim 0,50$), a α -vrijednosti su niže. Enantiomeri spoja **65** se s benzilnom skupinom vezanom na dušikovu atomu i dulje zadržavaju ($k_1 = 1,20$) u kontaktu s nepokretnom fazom. Ostvaruju se π - π interakcije enantiomera spoja **63** s nepokretnom fazom i stabilizira se nastali diastereomerni kompleks, ali zbog nepravilnog smještanja u kiralnu šupljinu, slabije je enantioselektivno prepoznavanje enantiomera spoja **63** sa selektorom nepokretne faze. Razlučivanje enantiomera je izuzetno visokih vrijednosti kod svih triju ispitivanih spojeva podskupine 2C (Slika 47). Primjenom pokretne faze s propan-2-olom više su vrijednosti nego primjenom etanola, i to u cijelom ispitivanom području volumnih udjela alkohola. To je posljedica kako povećane enantioselektivnosti, tako i slabijih akiralnih interakcija s nepokretnom fazom, te različite solvatacije analita.



Slika 46. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralcel OD*

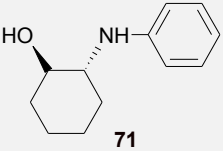
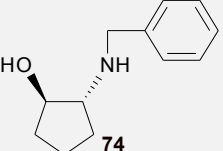
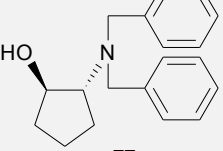
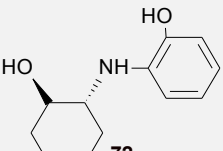
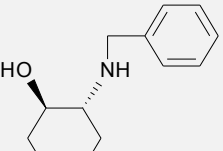
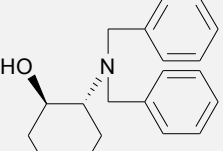
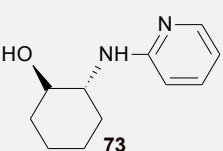
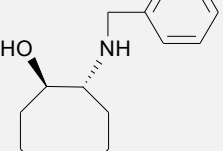
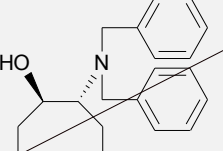


Slika 47. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralcel OD* uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

4.1.3 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola 3. skupine

β -Aminoalkoholi 3. skupine su spojevi **71-78** pripremljeni katalitičkom amonolizom simetričnih cikličkih *meso*-epoksida s različitim aminima. Tablica 12 prikazuje podjelu β -aminoalkohola 3. skupine u tri podskupine 3A, 3B i 3C. U podskupini 3A su β -aminoalkoholi čija je strukturna značajka cikloheksanol na čijem je C-2 položaju različito supstituiran dušikov atom: s fenilnom skupinom (spoj **71**), hidroksifenilnom skupinom (spoj **72**), odnosno piridilnom skupinom (spoj **73**). Cilj ispitivanja je uočiti kako će supstituenti na dušikovu atomu doprinjeti enantioprepoznavanju spojeva podskupine 3A sa selektorima nepokretne faze. U podskupini 3B su ciklički spojevi koji se razlikuju u veličini prstena: peteročlani prsten (spoj **74**), šesteročlani prsten (spoj **75**), odnosno osmeročlani prsten (spoj **76**). Sva tri spoja podskupine 3B sadrže dušikov atom supstituiran benzilnom skupinom. Spojevi podskupine 3C su *N,N*-disupstituirani ciklički spojevi (supstituent dibenzilna-skupina), a koji se razlikuju u veličini prstena. U Tablici 12 u podskupini 3C prikazana je struktura spoja **79**, no njegova sinteza nije bila uspješna pa nije provedena enantioselektivna analiza navedenog spoja.

Tablica 12. Podjela spojeva β -aminoalkohola 3. skupine u podskupine 3A, 3B i 3C

	PODSKUPINA 3A <i>N</i> -monosupstituirani aromatski spojevi	PODSKUPINA 3B <i>N</i> -monosupstituirani alifatski spojevi	PODSKUPINA 3C <i>N,N</i> -disupstituirani alifatski spojevi
PREDSTAVNIK	 71	 74	 77
1. SPOJ	 72	 75	 78
2. SPOJ	 73	 76	 79*

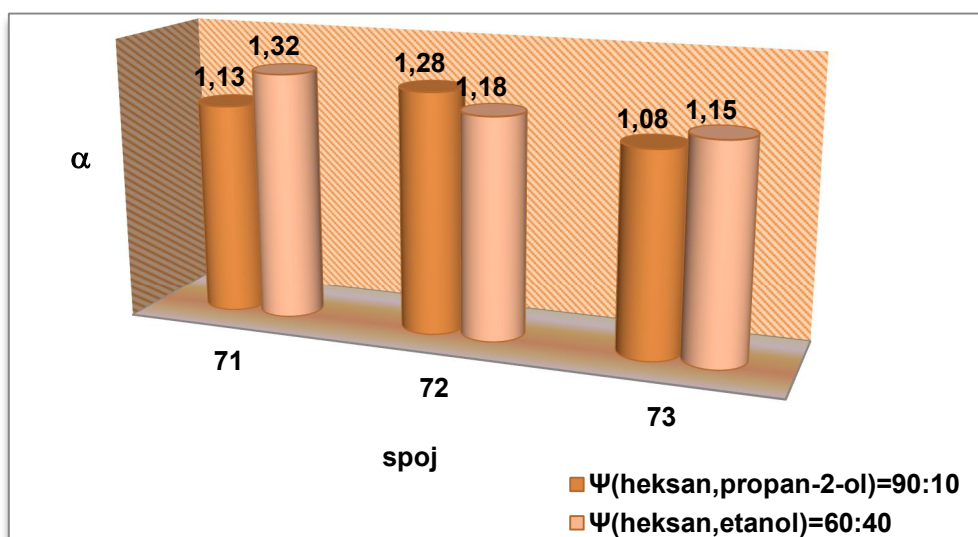
* Neuspješna sinteza spoja 79

4.1.3.1 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3A

Predstavnik β -aminoalkohola podskupine 3A je (*RS*)-2-(*N*-fenil)amino-cikloheksanol (spoj 71). To je *N*-monosupstituirani aromatski spoj dobiven S_N2 reakcijom simetričnog (*R,R*)-*meso*-cikloheksan-1,2-epoksida s anilinom. Reakcijom (*R,R*)-*meso*-cikloheksan-1,2-epoksida s 2-hidroksianilinom nastaje (*RS*)-2-(*N*-hidroksifenil)amino-cikloheksanol (spoj 72), a reakcijom s 2-aminopiridinom nastaje (*RS*)-*trans*-2-(*N*-piridil)amino-cikloheksanol (spoj 73). Utjecaj volumnog udjela alkohola u pokretnoj fazi na vrijeme zadržavanja i odvajanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3A ispitan je s pokretnim fazama koje su sadržavale različite volumne udjele etanola ili propan-2-ola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$). Kao nepokretne faze su primijenjene četiri polisaharidne kiralne faze tržišnih imena: *Chiralpak AD*, *Chiralpak AS-H*, *Chiralcel OJ* i *Chiralcel OD*.

Rezultati ispitivanja utjecaja volumnog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spoja 71 primjenom kolone *Chiralpak AD* prikazani su tablično u *Prilogu III*, Tablica 3A-AD. Odjeljivanju enantiomera spoja 71 više pogoduje propan-2-ol nego etanol kao alkoholni modifikator u pokretnoj fazi.

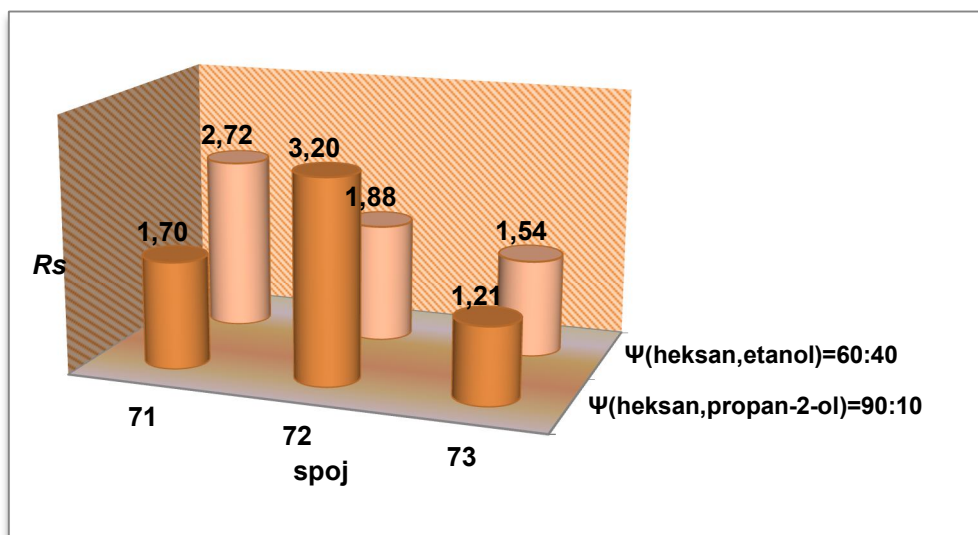
Pri različitim volumnim udjelima propan-2-ola u pokretnoj fazi od 5 % do 20 %, α -vrijednost je gotovo nepromijenjena, a razlučivanje enantiomera i faktor zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera se povećavaju. Isti efekt se postiže primjenom etanola u pokretnoj fazi ($\varphi = 20\%$ do 50 %). No dobivene α -vrijednosti su 1,2 puta niže u odnosu na vrijednosti dobivene uz propan-2-ol u pokretnoj fazi. Stoga proizlazi da je kiralno prepoznavanje spoja **71** s kiralnim selektorom kolone *Chiralpak AD* neovisno o volumnom udjelu alkohola u pokretnoj fazi, ali jest o vrsti alkohola. Na temelju rezultata odjeljivanja enantiomera spoja **71** odabrane su pokretne faze s volumnim udjelima propan-2-ola od 10 % i etanola od 40 %. Pri odabranim pokretnim fazama ispitano je odjeljivanje enantiomera spojeva **72** i **73**. Na Slici 48 prikazana je usporedba separacijskih faktora svih triju spojeva podskupine 3C. Uočava se podjednaki stupanj enantioprepoznavanja svih triju spojeva sa selektorom kolone *Chiralpak AD* neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi.



Slika 48. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralpak AD*

Usporedbom faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera spojeva podskupine 3A, može se uočiti da se enantiomeri spojeva **71** i **73** zadržavaju ~ 2 puta dulje, a spoja **72** čak ~ 5 puta dulje u pokretnoj fazi uz volumni udio propan-2-ola od 10 %, nego etanola od 40 %. Primjenom manje polarnog propan-2-ola u pokretnoj fazi u enantioselektivnom sustavu su izražene hidrofobne interakcije koje su uzrok duljem zadržavanju enantiomera u kontaktu s nepokretnom fazom, ali ne doprinose boljem enantioprepoznavanju s kiralnim selektorom. Dulje zadržavanje enantiomera spoja **72** uzrokuju π - π i dipol-dipol interakcije fenilnog

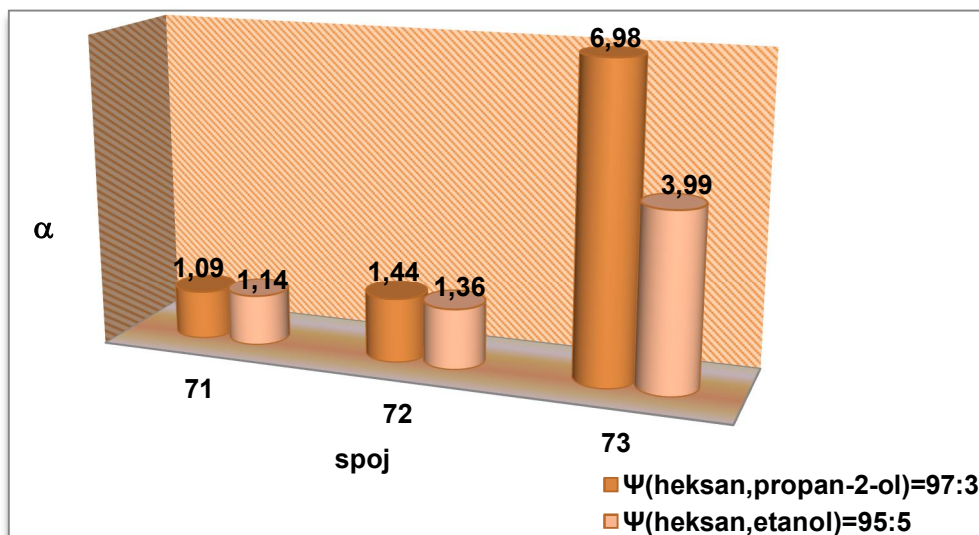
prstena i aromatske jezgre kiralnog selektora, te jake vodikove veze *ortho*-hidroksilne skupine. Spoj **73** ima slične iznose faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera i stupanj enantioselektivnosti kao spoj **71** neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi. Usporedbom razlučivanja enantiomera svih triju spojeva podskupine 3A, kao mjere efikasnosti i selektivnosti odjeljivanja enantiomera, mogu se primijetiti opadajuće vrijednosti R_s faktora uz etanol u pokretnoj fazi: $R_s(\text{spoj } \mathbf{71}) > R_s(\text{spoj } \mathbf{72}) > R_s(\text{spoj } \mathbf{73})$ (Slika 49). Iz toga proizlazi da kiralnim šupljinama kolone *Chiralpak AD* više „odgovaraju“ veličina i oblik nesupstituiranog fenilnog prstena na dušikovu atomu spoja **71**, a najmanje piridilnog prstena spoja **73**. Zamjenom alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi iz etanola u manje polaran propan-2-ol situacija se dramatično mijenja: enantiomeri se dulje zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, ali je i bolje razlučivanje enantiomera. To se posebno odnosi na enantiomere spoja **72** s hidroksifenilnim suspdstituentom na dušikovu atomu.



Slika 49. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralpak AD* uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3A, primjenom druge nepokretne faze amiloznog tipa *Chiralpak AS-H*, prikazani su u Tablici 3A-AS, *Prilog III*. Iz rezultata se može zaključiti da je vrlo dobro enantioprepoznavanje spojeva podskupine 3A sa selektorom nepokretne faze, posebice spojeva **72** i **73**. Ispitivanjem utjecaja smanjenja volumnog udjela alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi na odjeljivanje enantiomera predstavnika podskupine 3A spoja **71** pokazuju da je stupanj enantioselektivnosti neovisan o primijenjenom alkoholnom modifikatoru. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola s 10 % na 1 % odnosno etanola s 20 % na 5 % α -vrijednost iznosi $\sim 1,1$. Odabrane su

pokretne faze koje sadrže volumni udio propan-2-ola od 3 % i etanola od 5 %, te je provedena enantioselektivna analiza spojeva **72** i **73**. Na Slici 50 su uspoređene α -vrijednosti svih triju spojeva. Primjenom propan-2-ola kao alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi enantiomeri spoja **73** postižu ekstremnu vrijednost ($\alpha = 6,98$) što je oko 6 puta veće u odnosu na α -vrijednosti spojeva **71** i **72**. Zamjenom alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi iz propan-2-ola u etanol, stupanj enantioselektivnosti spoja **73** je $\sim 3,5$ puta veći nego spoja **71**.



Slika 50. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koji sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralpak AS-H*

Uspoređeni su faktori zadržavanja enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralpak AS-H* u odnosu na kolonu *Chiralpak AD*. Primjenom obje kolone, enantiomeri spoja **72** dulje se zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, ali se ostvaruje niži stupanj enantioprepoznavanja, posebice uz propan-2-ol kao alkoholni modifikator u pokretnoj fazi.

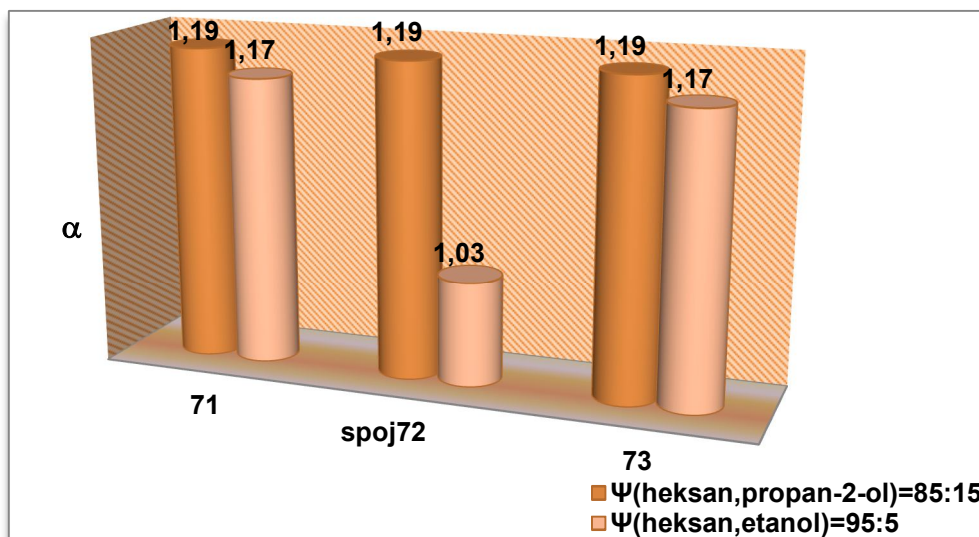
Za razliku od vrlo dobrog enantioprepoznavanja spoja **73** primjenom amiloznih nepokretnih faza (kolone *Chiralpak AD* i *Chiralpak AS-H*), na celuloznoj koloni *Chiralcel OJ* enantiomeri spoja **73** pokazuju vrlo niski stupanj enantioprepoznavnja (*Prilog III*, Tablica 3A-OJ). Predstavnik podskupine 3A - spoj **71**, ostvaruje maksimalni iznos $\alpha = 1,1$ na toj koloni i to neovisno o volumnom udjelu alkohola u pokretnoj fazi. Na temelju rezultata odjeljivanja enantiomera spoja **71** odabrane su pokretne faze s volumnim udjelima propan-2-ola od 10 % i etanola od 5 %. Pri odabranim pokretnim fazama ispitano je odjeljivanje enantiomera spojeva **72** i **73**. Budući je izostalo kiralno prepoznavanje spoja **73** primjenom pokretne faze s etanolom ($\varphi = 5$ %), ispitano je odjeljivanje enantiomera spojeva **72** i **73** s povećanim

udjelom etanola ($\varphi = 20\%$). Povećanje udjela alkohola u pokretnoj fazi nije pridonijelo boljem enantioprepoznavanju spoja **73** sa selektorom *Chiralcel OJ* nepokretne faze.

Primjenom pokretne faze s etanolom, enantiomeri spoja **72** (*N*-hidroksifenilni supstituent na dušikovu atomu) pokazuju najvišu vrijednost faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera, jednako kao što su to pokazali i uz primjenu amiloznih kolona. No, zadržavanje enantiomera na koloni *Chiralcel OJ* rezultira značajno nižim kiralnim prepoznavanjem sa selektorom nepokretne faze. To ukazuje na sličan mehanizam kiralnog prepoznavanja spoja **72** temeljen na stvaranju jakih akiralnih interakcija koje zadržavaju analit u kontaktu s nepokretnom fazom, ali ne doprinose ukupnom kiralnom prepoznavanju.

Odjeljivanje enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3A: spojeva **71**, **72** i **73**, ispitano je i na četvrtoj polisaharidnoj kiralnoj nepokretnoj fazi na bazi celuloze preinačene s *tris*(3,5-dimetilfenil karbamatom) - koloni *Chiralcel OD*. Rezultati su prikazani u Tablici 3A-OD, *Prilog III*. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola (s 30 % na 10 %) ili etanola (s 20 % na 2 %) u heksanskoj pokretnoj fazi vrlo se malo mijenja α -vrijednost. Pri tomu se povećava k_1 i R_s enantiomera spoja **71**, neovisno o volumnom udjelu ili vrsti alkohola u pokretnoj fazi. S obzirom na rezultate odjeljivanja enantiomera spoja **71** odabrane su pokretne faze s volumnim udjelima 15 % propan-2-ola i 2 % etanola. Pri tim pokretnim fazama ispitano je odjeljivanje enantiomera spojeva **72** i **73**. Na Slici 51 uočava se da je uz pokretnu fazu s propan-2-olom separacijski faktor svih triju ispitivanih spojeva identičnog iznosa ($\alpha = 1,19$). To ukazuje da je stupanj enantioselektivnosti neovisan o supstituentu na dušikovu atomu. Može se pretpostaviti da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja ispitivanih spojeva nisu dominantne vodikove veze, nego su to isključivo π - π i dipol-dipol interakcije aromatskih jezgara ispitivanih spojeva i aromatske jezgre kiralnog selektora. Zamjenom alkoholnog modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi u etanol ($\varphi = 2\%$), slabije je enantioprepoznavanje ispitivanih spojeva. Enantiomeri spojeva **71** i **73** odvojeni su do osnovne linije dajući istu vrijednost separacijskog faktora ($\alpha = 1,17$), dok su enantiomeri spoja **72** djelomično razdvojeni s vrijednošću $\alpha = 1,03$. Djelomično razdvajanje enantiomera je posljedica nepotpune stabilizacije diastieromernog kompleksa prouzročene steričkim odbijanjem analita, te neprikladnim ulaženjem u kiralne šupljine nepokretne faze. Uz etanol kao alkoholni modifikator pokretne faze, enantiomeri spoja **72** se i na ovoj koloni *Chiralcel OD*, kao i na prethodne tri kolone, izuzetno dugo zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom dajući iznos faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera $k_1 = 26,82$, te najniži α i R_s . Razlučivanje

enantiomera spoja **71** je zadovoljavajuće visoko, neovisno o vrsti i volumnom udjelu primijenjenog alkoholnog modifikatora. Primjenom etanola kao alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi, enantiomeri spoja **72** se djelomično odvajaju.

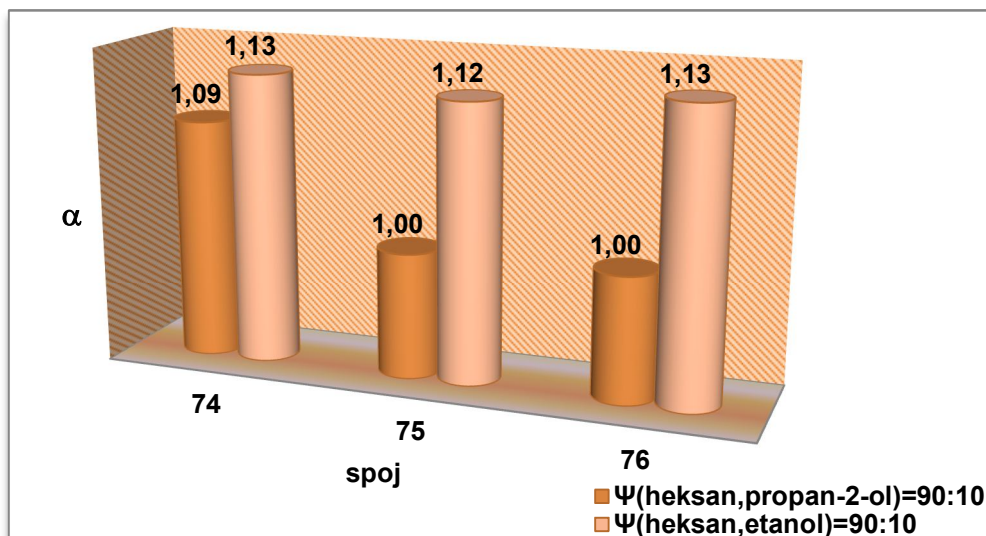


Slika 51. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralcel OD*

4.1.3.2 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3B

β -Aminoalkoholi podskupine 3B nastaju kao rezultat S_N2 reakcije benzilamina i simetričnih cikličkih *meso*-epoksida: (*R,R*)-*meso*-ciklopentan-1,2-epoksid, (*R,R*)-*meso*-cikloheksan-1,2-epoksid i (*R,R*)-*meso*-ciklooktan-1,2-epoksid. Reakcijama nastaju spojevi (*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-ciklopentanol (spoj **74**), (*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-cikloheksanol (spoj **75**) i (*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-ciklooktanol (spoj **76**). Ispitan je utjecaj vrste i volumnog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) na vrijeme zadržavanja i razdvajanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3B na četiri polisaharidne kiralne nepokretne faze. Strukturna značajka spojeva podskupine 3B je prstenasta struktura s alkoholnom hidroksilnom skupinom na položaju C-1, te amino skupina supstituirana benzilnom skupinom na položaju C-2. Spoj **74** je predstavnik podskupine 3B, a sadrži najmanji peteročlani prsten. Spoj **75** je sastavljen od šesteročlanog, a spoj **76** od osmeročlanog prstena. Cilj ispitivanja je uočiti kako će veličina prstena utjecati na mehanizam kiralnog prepoznavanja na celuloznim *Chiralcel OJ* i *Chiralcel OD* i amiloznim *Chiralpak AD* i *Chiralpak AS-H* nepokretnim fazama.

Rezultati ispitivanja utjecaja volumnog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spoja **74** na koloni *Chiralpak AD* prikazani su u *Prilogu III*, Tablica 3B-AD. Uočava se da je za kiralno prepoznavanje svih triju spojeva podskupine 3B bolji propan-2-ol kao alkoholni modifikator. Primjenom etanola u pokretnoj fazi izostaje kiralno prepoznavanje enantiomera spojeva **75** i **76**. Zamjenom alkohola u propan-2-ol u pokretnoj fazi, u ispitanom području volumnih udjela propan-2-ola (20 % do 3 %) dolazi do prepoznavanja enantiomera spoja **74** sa selektorom nepokretne faze. Takvi rezultati ukazuju da promjenom alkoholnog modifikatora dolazi do promjene veličine ili oblika kiralne šupljine, što rezultira različitim mehanizmom kiralnog prepoznavanja analita i selektora nepokretne faze. Na temelju rezultata odjeljivanja predstavnika podskupine 3B - spoja **74**, odabrane su pokretne faze s volumnim udjelima 10 % propan-2-ola i 10 % etanola na kojima je provedena enantioselektivna analiza spojeva **75** i **76**. Uz pokretnu fazu s 10 % propan-2-ola nije došlo do odjeljivanja enantiomera spojeva **75** i **76**. Smanjenje volumnog udjela na 3 % propan-2-ola u pokretnoj fazi nije doprinjelo odjeljivanju enantiomera spojeva **75** i **76** na koloni *Chiralpak AD*. Rezultati separacijskih faktora svih triju spojeva podskupine 3B prikazani su na Slici 52, prema podacima prikazanim u *Prilogu III*, Tablici 3B-AD. Iz slike se uočava da, primjenom etanola kao alkoholnog modifikatora, sva tri spoja postižu vrlo sličnu vrijednost faktora selektivnosti $\alpha \sim 1,1$. Takav rezultat kazuje da se mehanizam kiralnog prepoznavanja ostvaruje interakcijama analita na način neovisan o veličini prstena. Najvjerojatnije, benzilna skupina stvara π - π i dipol-dipol interakcije s aromatskim jezgrama kiralnog selektora nepokretne faze, a hidroksilna skupina doprinosi vodikovim vezama. Promjenom alkohola u pokretnoj fazi u manje polaran propan-2-ol izostaje kiralno prepoznavanje spojeva **75** i **76**. Mogući razlog tome je da u manje polarnom sustavu povećanjem veličine prstena prevladavaju akiralne hidrofobne interakcije, zbog čega dolazi do izostanka enantiomernog prepoznavanja sa selektorom nepokretne faze.



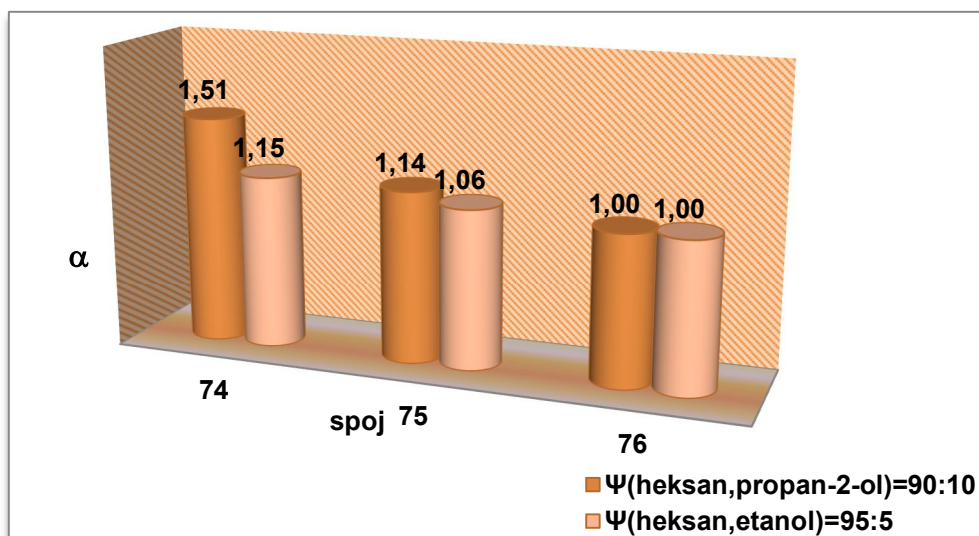
Slika 52. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralpak AD*

Usporedbom faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera spojeva podskupine 3B, primjenom odabranih pokretnih faza na koloni *Chiralpak AD* uočava se najdulje zadržavanje enantiomera spoja **74**, neovisno o vrsti i količini alkohola u pokretnoj fazi. Enantiomeri spoja **74**, uz slabiju polarnost pokretne faze, stvaraju takav skup akiralnih i kiralnih interakcija čija je posljedica dulje zadržavanje analita u kontaktu s nepokretnom fazom. Zbog toga dolazi do kiralnog prepoznavanja sa selektorom nepokretne faze i odjeljivanja enantiomera do osnovne linije. Povećanjem veličine prstena u strukturi (spoj **75** i **76**) do izražaja više dolaze sterička odbijanja i hidrofobne interakcije, posebice u sustavu s propan-2-olom. Spojevi se kraće zadržavaju pa u tom vremenu ne ostvaruju dovoljan broj kiralnih interakcija, što za posljedicu daje izostanak enantioprepoznavanja spojeva **75** i **76** sa selektorom nepokretne faze.

Na koloni *Chiralpak AS-H*, prema rezultatima prikazanim u *Prilogu III*, Tablici 3B-AS, može se zaključiti da enantiomeri ostvaruju drugačiji mehanizam kiralnog prepoznavanja nego na koloni *Chiralpak AD*. Primjećuje se pad enantioselektivnosti povećanjem prstena u strukturi: najbolje se odjeljuju enantiomeri spoja **74** s najmanjim peteročlanim prstenom, a izostaje kiralno prepoznavanje spoja **76** s osmeročlanim prstenom. Razdvajanju enantiomera spojeva **74** i **75** više pogoduje manje polaran propan-2-ol kao alkoholni modifikator u pokretnoj fazi. Smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u heksanskoj pokretnoj fazi s 20 % na 5 % dolazi do povećanja svih parametara spoja **74**. To ukazuje da se analit i propan-2-ol natječu za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru. Zamjenom alkohola u pokretnoj fazi u etanol te smanjenjem njegovog volumnog udjela s 20 % na 2 %, separacijski faktor se gotovo

ne mijenja, ali razlučivanje enantiomera se povećava. To upućuje da kiralno prepoznavanje analita i selektora nepokretne faze nije ovisno o udjelu etanola u pokretnoj fazi.

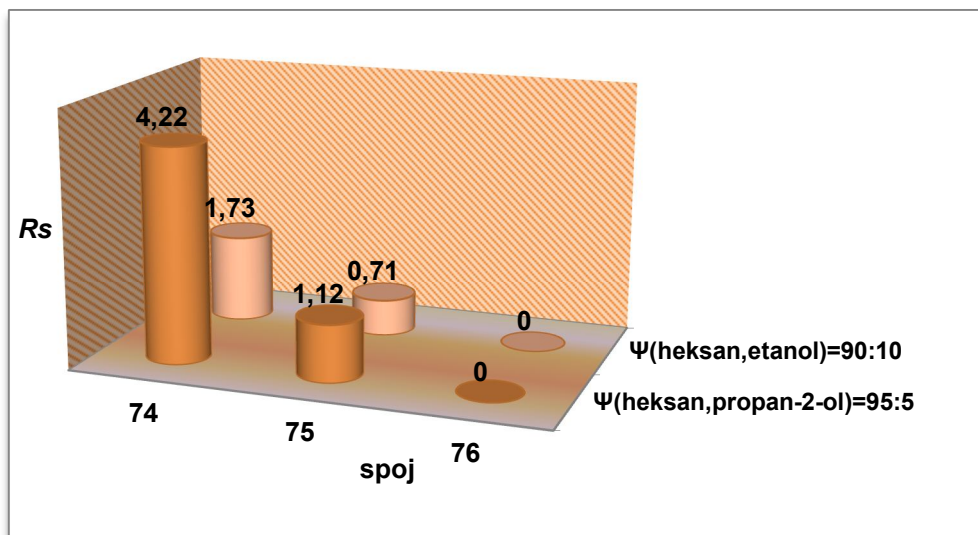
Na temelju rezultata odjeljivanja enantiomera spoja **74**, odabrane su pokretne faze s volumnim udjelima propan-2-ola od 10 % i etanola od 5 %. Pri tim uvjetima provedena je enantioselektivna analiza spojeva **75** i **76**. Slika 53 prikazuje usporedbu separacijskih faktora, a Slika 54 usporedbu faktora razlučivanja enantiomera spojeva **74**, **75** i **76**. Iz oba prikaza vidljivo je da povećanje veličine prstena doprinosi značajnom smanjenju ili potpunom odsustvu kiralnog prepoznavanja ispitivanih spojeva sa selektorom pokretne faze.



Slika 53. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralpak AS-H*

U mehanizmu kiralnog prepoznavanja spoja **74** najvjerojatnije dolazi do smještanja peteročlanog prstena u kiralnu šupljinu nepokretne faze. Potom slijedi stabilizacija nastalog diastereomernog kompleksa s kiralnim interakcijama poput π - π i dipol-dipol interakcije benzilne skupine s aromatskim jezgrama kiralnog selektora nepokretne faze. Moguće je i stvaranje vodikove veze hidroksilne skupine sa selektorom nepokretne faze. Povećanjem veličine prstena na šesteročlani (spoj **75**), kiralno prepoznavanje enantiomera i selektora nepokretne faze je vrlo slabo. Daljnjim povećanjem veličine prstena na osmeročlani (spoj **76**), u potpunosti izostaje kiralno prepoznavanje. Iz toga proizlazi da je veličina kiralne šupljine u odnosu na veličinu prstena odlučujući faktor enantioprepoznavanja cikličkih spojeva. Rezultati ispitivanja faktora zadržavanja prvoizlazećih enantiomera spojeva podskupine 3B pokazuju da se enantiomeri spoja **74** (peteročlani prsten) i spoja **76** (osmeročlani prsten) podjednako dugo zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, neovisno o alkoholnom

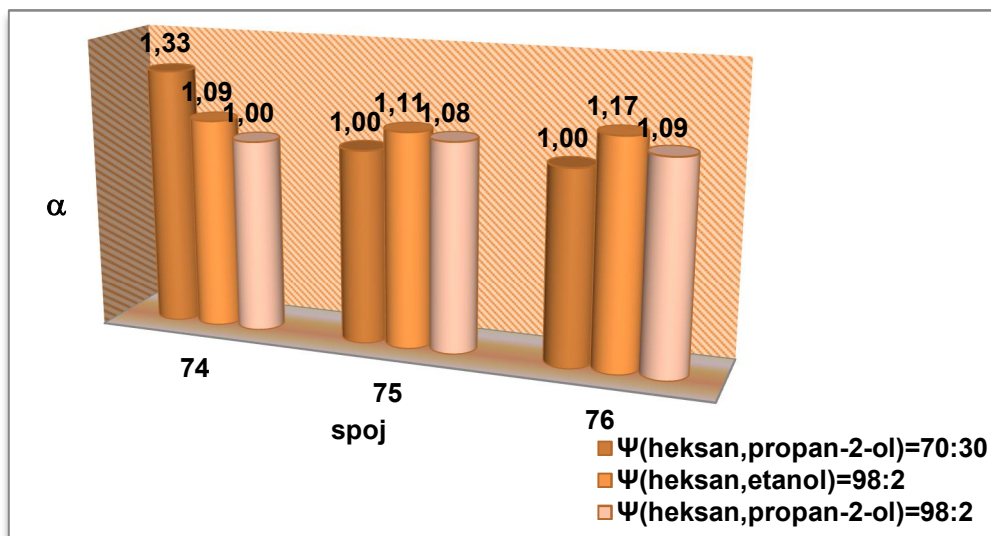
modifikatoru u pokretnoj fazi. Enantiomeri spoja **76** stvaraju veći broj hidrofobnih interakcija zbog čega se dulje zadržavaju, ali je manji broj kiralnih interakcija ili su one nedovoljne jačine, pa uz sterička odbijanja te interakcije ne dovode do kiralnog prepoznavanja sa selektorom nepokretne faze.



Slika 54. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na razlučivanje enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralpak AS-H*

Enantioselektivnom analizom enantiomerno čistog (obogaćenog) spoja **(R,R)-74** ispitan je redoslijed ispiranja enantiomera s kolone *Chiralpak AS-H*. Rezultati su pokazali isti redoslijed kao i primjenom kolone *Chiralpak AD*: drugoizlazeći enantiomer je *R,R*-enantiomer. Pretpostavka je da i ostali spojevi unutar podskupine 3B slijede svog predstavnika u pogledu redoslijeda ispiranja enantiomera s kolone.

Ispitivanja odjeljivanja enantiomera spojeva podskupine 3B primjenom celulozne kolone *Chiralcel OJ* pokazala su da enantiomerima spojeva **74**, **75** i **76** pogoduje niži volumni udio etanola u pokretnoj fazi ($\varphi = 2\%$). Rezultati su prikazani u Tablici 3B-OJ, *Prilog III*. Promjenom alkoholnog modifikatora u propan-2-ol, pri volumnom udjelu od 2%, dolazi do djelomičnog odjeljivanja enantiomera spojeva **75** i **76**. Enantiomerima spoja **74** pogoduje veći volumni udio od 30% propan-2-ola u pokretnoj fazi. Na temelju rezultata za enantiomere spoja **74**, može se uočiti da se smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi s 30% na 2% smanjuju svi parametri. Smanjenjem volumnog udjela etanola s 20% na 2% iznos α ostaje nepromijenjen (Slika 55).

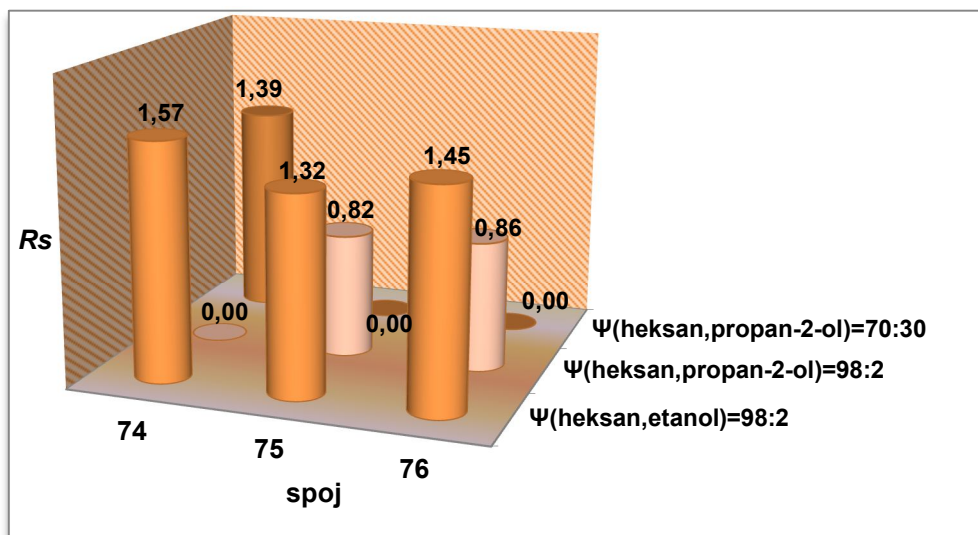


Slika 55. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralcel OJ*

Primjenom etanola ($\varphi = 2\%$) u heksanskoj pokretnoj fazi enantiomeri svih triju spojeva pokazuju sličnu enantioselektivnost $\alpha \sim 1,1$. To ukazuje da se mehanizam kiralnog prepoznavanja na ovom tipu nepokretne faze temelji na stvaranju interakcija neovisnih o veličini prstena. Na Slici 56 vidljive su razlike R_s -vrijednosti enantiomera triju spojeva. Vrlo slične R_s -vrijednosti postižu spojevi **74** i **76** primjenom etanola ($\varphi = 2\%$), što ukazuje na visoku djelotvornost odvajanja enantiomera tih spojeva u enantioselektivnom sustavu s niskom polarnošću pokretne faze. Promjenom alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi u propan-2-ol ($\varphi = 2\%$), u potpunosti izostaje kiralno prepoznavanje enantiomera spoja **74**, a vrlo je slabo ($\alpha \sim 1,1$) kiralno prepoznavanje spojeva **75** i **76**. Takav rezultat kazuje da za razdvajanje enantiomera ispitivanih spojeva manje polaran sustav, uz primjenu propan-2-ola, nije pogodan za kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze.

Povećanje volumnog udjela alkohola u pokretnoj fazi na 30 % propan-2-ola pogoduje isključivo enantiomerima spoja **74**. Navedeni spoj ima peteročlani prsten u strukturi te je najmanje sterički zahtjevan. Stoga se dobro smješta u kiralnu šupljinu te dolaze do izražaja jake vodikove veze i π - π interakcije. Kao posljedica toga pozitivno je kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze. U takvom polarnom sustavu s $\varphi(\text{propan-2-ol}) = 30\%$, u potpunosti izostaje enantioprepoznavanje spojeva **75** i **76**. Enantiomeri ovih spojeva brzo se ispiru s kolone i prekratko se zadržavaju u kontaktu s kiralnim selektorom da bi uspjeli ostvariti povoljne interakcije koje bi dovele do kiralnog prepoznavanja. Faktori zadržavanja

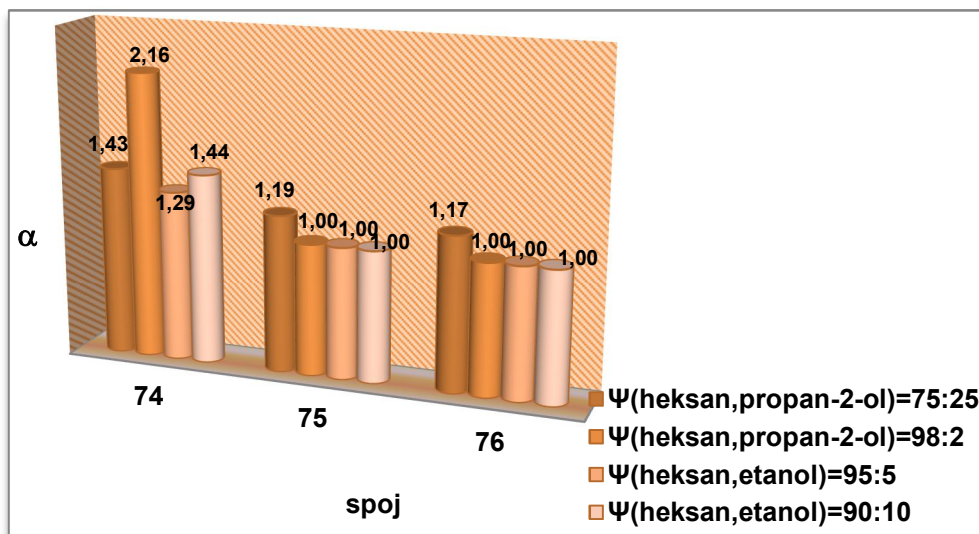
prvoizlazećih enantiomera se smanjuju ~10 % sa smanjenjem veličine prstena (osmeročlani → šesteročlani → peteročlani). Smanjenjem polarnosti pokretne faze jačaju akiralne hidrofobne interakcije i dipol-dipol interakcije benzilne skupine šesteročlanog prstena (spoj 75) i osmeročlanog prstena (spoj 76). Kao posljedica toga izostaje kiralno prepoznavanje enantiomera spojeva 75 i 76 sa selektorom nepokretne faze.



Slika 56. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva 74, 75 i 76 na koloni *Chiralcel OJ*, uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

Na drugom tipu celulozne nepokretne faze preinačene s *tris*(3,5-dimetilfenil karbamatom) na koloni *Chiralcel OD*, ispitano je odjeljivanje enantiomera podskupine 3B. Dok je na koloni *Chiralcel OJ* više je pogodovao manje polaran sustav sa 2 % etanola u pokretnoj fazi, na koloni *Chiralcel OD* više pogoduje polarniji sustav s 25 % propan-2-ola. Rezultati ispitivanja prikazani su u *Prilogu III*, Tablica 3B-OD. Zbog vrlo dobrih rezultata odjeljivanja enantiomera predstavnika podskupine 3B (spoja 74) i s većim i s manjim volumnim udjelima alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi, provedena su ispitivanja enantiomera spojeva 75 i 76 u istim sastavima pokretnih faza.

Na Slici 57 uspoređeni su separacijski faktori svih triju ispitivanih spojeva β -aminoalkohola podskupine 3B. Uočava se da je enantioselektivnost spojeva 75 i 76 znatno lošija u odnosu na enantioselektivnost spoja 74. To se posebno odnosi na primjenu etanola u pokretnoj fazi kada izostaje kiralno prepoznavanje spojeva 75 i 76, neovisno o volumnom udjelu etanola u heksanskoj pokretnoj fazi.



Slika 57. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralcel OD*

Promjenom tipa alkoholnog modifikatora u propan-2-ol dolazi do obrata enantioselektivnosti, što ukazuje na drugačiji mehanizam kiralnog prepoznavanja analita s kiralnim selektorom kolone *Chiralcel OD*. Odjeljivanje enantiomera spoja **74**, **75** i **76** je zadovoljavajuće primjenom pokretne faze s volumnim udjelom od 25 % propan-2-ola. Takav udio alkohola je dovoljan za promjenu geometrije i/ili veličine kiralnih šupljina. Stoga u mehanizmu kiralnog prepoznavanja više dolaze do izražaja vodikove veze, a manje hidrofobne i dipol-dipol interakcije. Nakon što se ostvare interakcije, dolazi do inkluzije diastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu.¹⁴⁵ U takvom sustavu su sterička odbijanja manje izražena. Daljnjim smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi na 2 %, iznimno je dobro prepoznavanje enantiomera spoja **74** ($\alpha = 2,16$) s malim peteročlanim prstenom, ali izostaje kiralno prepoznavanje spojeva **75** i **76**. To ukazuje da je ulazak enantiomera u kiralnu šupljinu sterički ometen prstenastom strukturom spojeva **75** i **76**. Spojevi se dulje vrijeme zadržavaju u kontaktu s kiralnom nepokretnom fazom, ali te interakcije nisu kiralnog karaktera te ne doprinose prepoznavanju sa selektorom nepokretne faze.

4.1.3.3 Rezultati odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola podskupine 3C

β -Aminoalkoholi podskupine 3C dobiveni su S_N2 reakcijom dibenzilamina na simetrične cikličke *meso*-epoksidge: (*R,R*)-*meso*-ciklopentan-1,2-epoksid, (*R,R*)-*meso*-cikloheksan-1,2-epoksid i (*R,R*)-*meso*-ciklooktan-1,2-epoksid. Reakcijama nastaju spojevi (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-ciklopentanol (spoj **77**), (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-cikloheksanol (spoj **78**). Budući da nije uspješno pripremljen spoj (*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-ciklooktanol (spoj **79**), nije provedena enantioselektivna analiza tog spoja, te se u rezultatima spojeva podskupine 3C uspoređuju samo rezultati enantioselektivne analize spojeva **77** i **78**, a rezultat enantioprepoznavanja spoja **79** se samo predviđa. Kao i u svim dosadašnjim ispitivanjima i u ovom slučaju je ispitan utjecaj vrste i količine alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi s volumnim udjelom dietilamina od 0,1 % na vrijeme zadržavanja i razdvajanje enantiomera podskupine 3C primjenom četiri polisaharidne kiralne nepokretne faze. β -Aminoalkoholi podskupine 3C sadrže prstenastu strukturu s alkoholnom hidroksilnom skupinom na položaju C-1, dok je na položaju C-2 amino skupina supstituirana dibenzilnom skupinom. Spoj **77** je predstavnik podskupine 3C i sadrži najmanji peteročlani prsten, a spoj **78** šesteročlani prsten. Cilj ispitivanja je uočiti kako će veličina prstena utjecati na mehanizam kiralnog prepoznavanja spojeva **77** i **78** na celuloznim i amiloznim nepokretnim fazama.

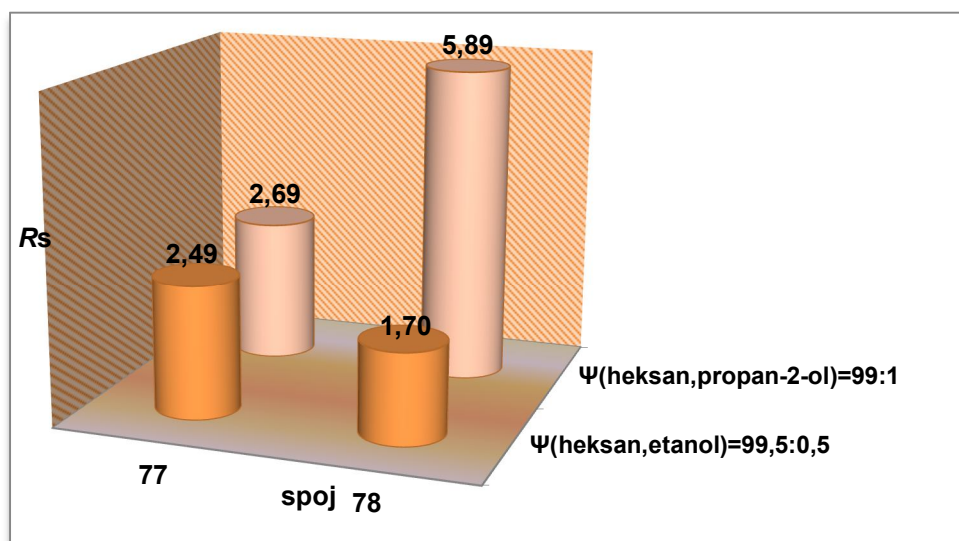
Rezultati ispitivanja odjeljivanja enantiomera spojeva **77** i **78** primjenom kolone *Chiralpak AD* prikazani su u *Prilogu III*, Tablica 3C-AD. Uočava se zadovoljavajuće enantioprepoznavanje spojeva **77** i **78** sa selektorom nepokretne faze neovisno o volumenu ili tipu alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %). Smanjenjem volumnog udjela oba alkohola u pokretnoj fazi s 10 % na 1 %, povećavaju se zadržavanja enantiomera i razlučivanje enantiomera, a α -vrijednost se neznatno mijenja. Odabrane su pokretne faze sastava volumnim udjelom alkohola od 2%. Pri tim uvjetima ispitano je odjeljivanje enantiomera spoja **78**. Usporedbom iznosa separacijskih faktora spojeva **77** i **78**, pri istom sastavu pokretne faze uočava se jednaka vrijednost $\alpha \sim 1,2$. To ukazuje da se mehanizam kiralnog prepoznavanja enantiomera ostvaruje interakcijama neovisnim o veličini prstena u strukturi. Pri tomu su manje izražene steričke smetnje, a više π - π interakcije benzilnih prstena i aromatskih jezgri kiralnog selektora 3,5-dimetilfenil karbamata.

Uspoređeni su rezultati odjeljivanja enantiomera spoja **75** koji pripada podskupini 3B, s analognim spojem podskupine 3C (spoj **78**) na koloni *Chiralpak AD*. Oba spoja sadrže šesteročlani prsten, ali spoj **75** ima jednu benzilnu skupinu na dušikovu atomu, a spoj **78** dvije

benzilne skupine. Pri sastavu pokretne faze s volumnim udjelom propan-2-ola od 3 % enantiomeri spoja **78** se ne odvajaju do osnovne linije, a izostaje odvajanje enantiomera spoja **75**. Takav rezultat ukazuje da se mehanizam kiralnog prepoznavanja temelji na π - π interakcijama i dipol-dipol interakcijama benzilnih prstena. Pri tomu su manje izražena sterička odbijanja zasićenih prstenova. Usporedbom R_s -vrijednosti enantiomera spojeva **77** i **78**, pri volumnom udjelu alkoholnih modifikatora u pokretnoj fazi od 2 %, uočava se da je uz propan-2-ol nešto bolja djelotvornost odvajanja enantiomera. Analizom racemičnog i enantiomerno čistog (*R,R*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-ciklopentanol, potvrđeno je da je drugoizlazeći enantiomer (*R,R*)-enantiomer. Taj je rezultat isti kao i u svim do sada dobivenim rezultatima analize spojeva treće skupine β -aminoalkohola. Do obrata ispiranja enantiomera ne dolazi promjenom tipa alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi.

Kada se u enantioselektivnom sustavu promjeni tip amilozne nepokretne faze, iz kolone *Chiralpak AD* u kolonu *Chiralpak AS-H* mijenja se mehanizam kiralnog prepoznavanja, posebice spoja **78** koji sadrži šesteročlani prsten (*Prilog III*, Tablica 3C-AS). Uočava se izvrsno prepoznavanje spoja **78** sa selektorom nepokretne faze uz vrlo mali volumni udio alkohola u pokretnoj fazi: 0,5 % etanola i 1 % propan-2-ola. Odjeljivanje enantiomera spoja **77** koji sadrži peteročlani prsten, nije ovisno o udjelu alkohola u pokretnoj fazi jer je separacijski faktor gotovo konstantan u cijelom ispitanom području volumnih udjela alkohola (10 % do 1 % propan-2-ola), dok se pri tome vrijednosti k_1 i R_s enantiomera povećavaju. Ukoliko se uspoređi razlika u stupnju enantioselektivnosti, s obzirom na različiti alkoholni modifikator u pokretnoj fazi, može se uočiti da spoj **78** pokazuje ~66 % veću enantioselektivnost od spoja **77**, uz pokretnu fazu s 1 % propan-2-ola, odnosno ~69 % veću enantioselektivnost uz pokretnu fazu s 0,5 % etanola. Pri tome se znatno kraće zadržavaju enantiomeri spoja **78**, neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi. Takvi rezultati ukazuju da se u mehanizmu kiralnog prepoznavanja spoja **77** nastali diastereomerni kompleks stabilizira jakim hidrofobnim, dipol-dipol i π - π interakcijama, a vjerojatno postoji i dodatna stabilizacija smještanjem enantiomera u kiralnu šupljinu nepokretne faze. Takav skup interakcija uzrokuje duže zadržavanje enantiomera spoja **77**, nego spoja **78**. Usporedbom razlučivanja enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralpak AS-H* uočava se izuzetno visoka vrijednost $R_s = 5,89$ enantiomera spoja **78** uz pokretnu fazu s 1 % propan-2-ola (Slika 58). Ta činjenica govori o izvrsnoj efikasnosti i selektivnosti odjeljivanja enantiomera spoja **78** na koloni *Chiralpak AS-H*. Faktor razlučivanja enantiomera

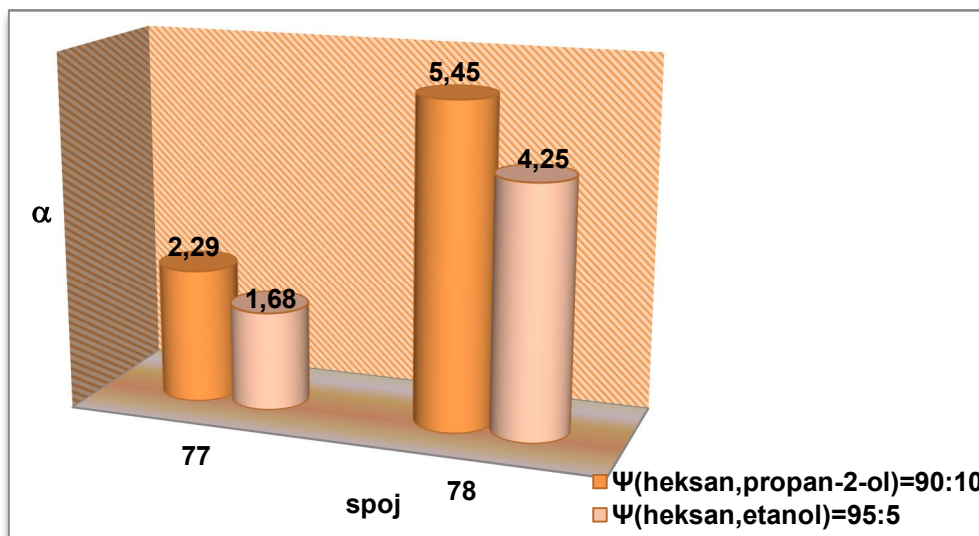
spoja **77** primjenom iste pokretne faze s 1 % propan-2-ola također je visok ($R_s = 2,69$), iako je za ~45 % niži od spoja **78**.



Slika 58. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralpak AS-H*, uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

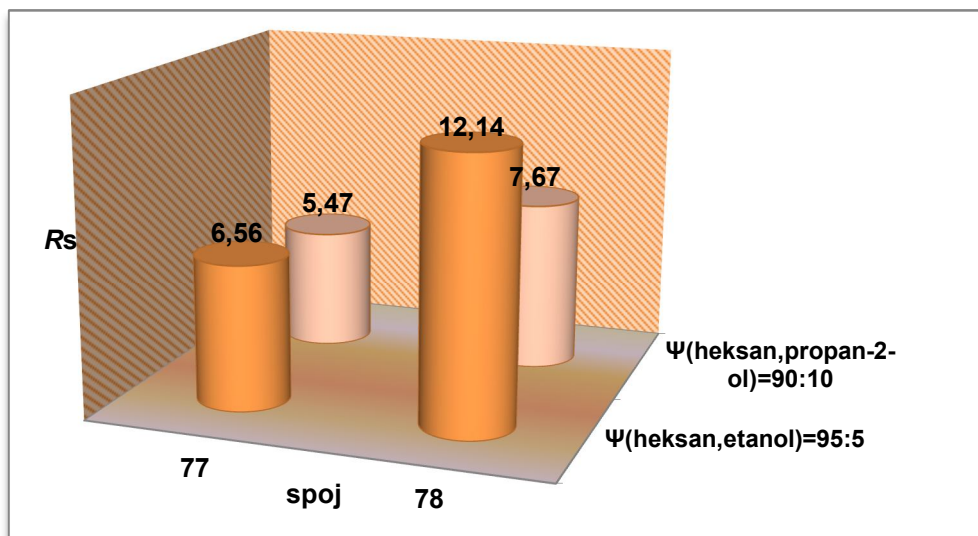
Usporedbom rezultata ispitivanja odjeljivanja enantiomera spojeva **77** i **78** na amiloznim nepokretnim fazama kolone *Chiralpak AD* i kolone *Chiralpak AS-H*, može se uočiti da spoj **78** pokazuje ~1,5 puta bolju enantioselektivnost na koloni *Chiralpak AS-H*, nego na koloni *Chiralpak AD*, neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi. S druge strane, spoj **77** pokazuje približno jednaku enantioselektivnost na obje kolone.

Rezultati enantioselektivne analize spojeva **77** i **78**, primjenom kolone *Chiralcel OJ*, prikazani su u Tablici 3C-OJ, *Prilog III*. Iz prikazanih rezultata može se uočiti iznimno dobro kiralno prepoznavanje oba spoja sa selektorom kolone *Chiralcel OJ*. Dobiveni podaci ukazuju da kiralno prepoznavanje enantiomera spoja **77** i selektora nepokretne faze nije ovisno o volumnom udjelu i tipu alkohola u pokretnoj fazi. S obzirom na rezultate dobivene odjeljivanjem enantiomera spoja **77**, odabrane su pokretne faze s volumnim udjelom propan-2-ola od 10 % i etanola od 5 %. Pri tim kromatografskim uvjetima ispitano je odjeljivanje enantiomera spoja **78**. Na Slici 59 uspoređeni su separacijski faktori spojeva **77** i **78** primjenom odabranih pokretnih faza.



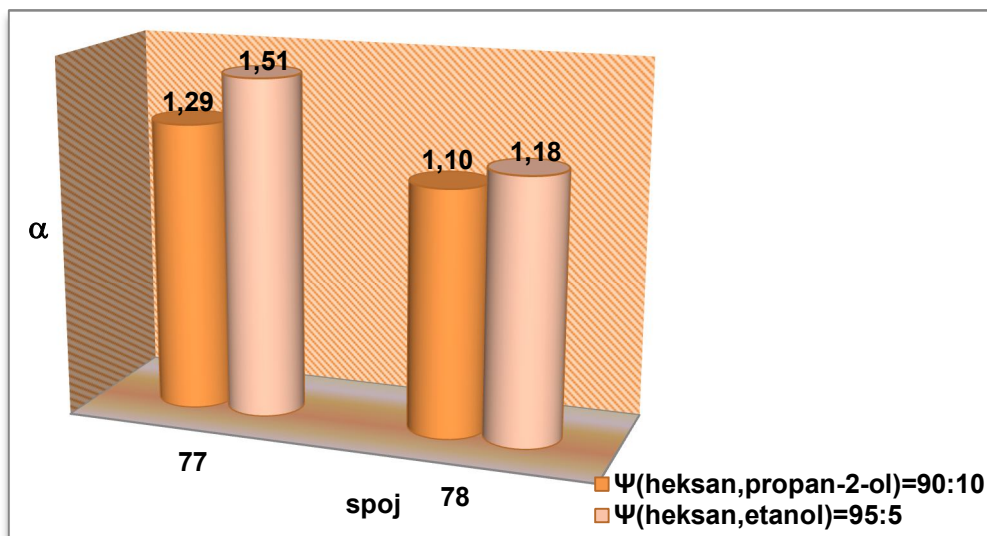
Slika 59. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1 \%$) na separacijski faktor α enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralcel OJ*

Iz Slike 59 uočava se 2,5 puta veći stupanj enantioselektivnosti enantiomera spoja **78**, nego spoja **77**, neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi. Iz literature je poznato da se kiralno prepoznavanje na koloni *Chiralcel OJ* ostvaruje zbog vodikovih veza i dipol-dipol interakcija, no također su bitne reakcije prijenosa naboja (π - π interakcije) između benzilnog prstena β -aminoalkohola i metilne-skupine kiralne nepokretne faze.¹⁴⁶ U slučaju ispitivanih spojeva, π - π interakcija ostvaruje se između dibenzilne skupine spojeva **77** i **78** i aromatske jezgre kiralnog selektora nepokretne faze. Iznenadujuće je u dobivenim rezultatima izuzetno visoko kiralno prepoznavanje enantiomera spoja **78** i kiralnog selektora, u odnosu na prepoznavanje enantiomera spoja **77**. Pri tome je zadržavanje enantiomera spoja **78** znatno kraće nego spoja **77**. Budući spoj **78** sadrži šesteročlani prsten, a spoj **77** peteročlani prsten uz dibenzilnu skupinu na dušikovu atomu, možemo zaključiti da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja visoki doprinos daju π - π i dipol-dipol interakcije, a zatim i hidrofobne interakcije. Moguće je da se šesteročlani prsten fleksibilno prilagođava utorima kiralne nepokretne faze, dok sterički rigidan peteročlani prsten nema tu mogućnost. Na Slici 60 uspoređeni su faktori zadržavanja spojeva **77** i **78**. Može se uočiti da je efikasnost i selektivnost kolone *Chiralcel OJ* za odjeljivanje enantiomera spoja **77** gotovo ista, neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi. Odjeljivanje enantiomera spoja **78** je značajno bolje primjenom volumnog udjela etanola u pokretnoj fazi od 5 %.



Slika 60. Usporedba razlučivanja enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralcel OJ*, uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1\%$) te propan-2-ol i etanol kao alkoholne modifikatore

U *Prilogu III*, Tablica 3C-OD, prikazani su rezultati odjeljivanja enantiomera spojeva **77** i **78** primjenom drugog tipa celulozne nepokretne faze *Chiralcel OD*. Stupanj enantioprepoznavanja spojeva **77** i **78** primjenom kolone *Chiralcel OD* je nešto viši nego što je to dobiveno primjenom kolone *Chiralpak AD*, koja ima isti kiralni selektor 3,5-dimetilfenil karbamat. Ispitan je utjecaj volumnog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spoja **77** primjenom kolone *Chiralcel OD*. Uočava se da smanjenjem volumnog udjela propan-2-ola u pokretnoj fazi s 10 % na 2 %, α -vrijednost se blago povećava, uz istodobno povećanje razlučivanja enantiomera i faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera. Takvi podaci upućuju na zaključak da postoji kompeticija ispitivanog β -aminoalkohola spoja **77** i propan-2-ola za interakcijska mjesta na kiralnom selektoru kolone *Chiralcel OD*. Zamjenom alkoholnog modifikatora u etanol, smanjenjem volumnog udjela etanola s 10 % na 5 % stupanj enantioselektivnosti se značajno povećava. Daljnjim smanjenjem volumnog udjela etanola s 10 % na 5 % → 2 % → 1 % stupanj enantioselektivnosti se vrlo malo mijenja, uz istodobno povećanje razlučivanja enantiomera i faktora zadržavanja prvoizlazećeg enantiomera. To ukazuje na neovisnost enantioselektivnosti spoja **77** o volumnom udjelu etanola u pokretnoj fazi manjem od 5 %. Provedena je enantioselektivna analiza spoja **78** pri odabranim pokretnim fazama s 10 % propan-2-ola i 5 % etanola. Na Slici 61 prikazana je usporedba separacijskih faktora spojeva **77** i **78**.



Slika 61. Utjecaj alkoholnih modifikatora u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži dietilamin na separacijski faktor α enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralcel OD*

Iz Slike 61 vidljivo je da enantiomeri spoja **77** ostvaruju bolje kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze nego enantiomeri spoja **78**, posebice primjenom etanola kao alkoholnog modifikatora. Strukturna razlika između spojeva **77** i **78** je samo u veličini prstena. Možemo pretpostaviti da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja, izuzev velikog doprinosa dipol-dipol i π - π interakcija dibenzilne skupine s aromatskom jezgrom kiralnog selektora, značajan doprinos ima i smještanje diastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu. Moguće je da je manji peteročlani prsten sterički povoljniji za ostvarivanje vodikove veze slobodnog elektronskog para na dušikovu atomu i odgovarajućeg vodikova atoma na selektoru nepokretne faze. Nastala vodikova veza i smještanje enantiomera spoja **77** u kiralnu šupljinu selektora uzrok je dodatnoj stabilizaciji diastereomernog kompleksa i boljeg kiralnog prepoznavanja enantiomera spoja **77** nego spoja **78** sa selektorom kolone *Chiralcel OD*. Enantiomeri spoja **78** pokazuju niži stupanj enantioselektivnosti od spoja **77**, no dulje se zadržavaju u kontaktu s kiralnom nepokretnom fazom. Razlučivanje enantiomera spoja **78** je dva puta veće ($R_s = 2,74$) primjenom pokretne faze s volumnim udjelom etanola od 5 %, nego faktor razlučivanja ($R_s = 1,39$) enantiomera spoja **77**. Sličan odnos separacijskog faktora, faktora zadržavanja i razlučivanja enantiomera spojeva uočen je primjenom kolone *Chiralpak AS-H* i kolone *Chiralcel OJ*, ali ne i kod kolone *Chiralpak AD*. Takvi rezultati ukazuju na postojanje jakih akiralnih hidrofobnih interakcija koje zadržavaju spoj **78** na koloni *Chiralcel OD*. Takve interakcije, zbog prejakog vezivanja oba enantiomera za kolonu, onemogućavaju enantioprepoznavanje sa selektorom nepokretne faze. Rezultati ispitivanja redosljeda

ispiranja enantiomera spoja **77** s kolone *Chiralcel OD* pokazali su da je drugoizlazeći enantiomer (*R,R*)-enantiomer te da nije došlo do obrata redoslijeda izlaženja promjenom alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi. Takvi rezultati su u skladu s rezultatima istog tipa ispitivanja primjenom ostalih triju kolona, što ukazuje na istu vrstu stereoselektivnog ulaska enantiomera u kiralnu šupljinu.

4.2 Mehanizam kiralnog prepoznavanja modelnih β -aminoalkohola na polisaharidnim nepokretnim fazama

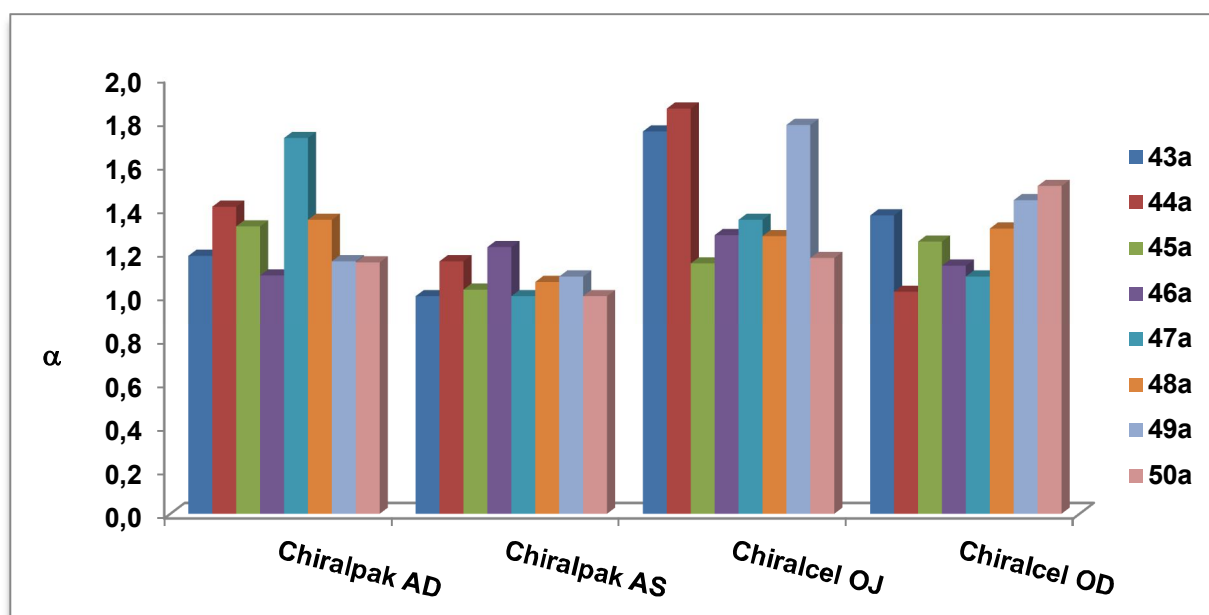
Mehanizam kiralnog prepoznavanja je skup intermolekularnih interakcija koje se ostvaruju između kiralnog selektora i enantiomera ispitivanog spoja. Iz provedenih rezultata enantioselektivne analize β -aminoalkohola 1. skupine, neovisno o tipu polisaharidne nepokretne faze, uočava se da sterički utjecaj pripadajućih supstituenata na dušikovu atomu nije prevladavajući u mehanizmu kiralnog prepoznavanja. Kiralno prepoznavanje se ostvaruje drugom vrstom interakcija, najvjerojatnije vodikovom vezom i π - π interakcijama. Visoki stupanj enantioselektivnosti pokazuju aromatski β -aminoalkoholi s nitro-skupinom u *para*-položaju na fenilnom prstenu. To je posebno izraženo na koloni *Chiralcel OJ* uz heksansku pokretnu fazu s volumnim udjelom propan-2-ola od 15 %.

Kolona *Chiralpak AS-H* pokazala se najmanje prikladnom za većinu kiralnih odjeljivanja enantiomera β -aminoalkohola 1. skupine. Izuzetak je odjeljivanje enantiomera spoja **46a** s *N*-benzil-*N*-izopropilnom skupinom kao supstituentom, primjenom niskog udjela alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi. Niža polarnost pokretne faze pogoduje izvrsnom enantioprepoznavanju enantiomera spoja s *N*-benzil-*N*-*tert*-butilnom skupinom (spoj **47a**) na koloni *Chiralpak AD*. Iz svega navedenog proizlazi da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja alifatskih *N,N*-disupstituiranih spojeva primjenom amiloznih pokretnih faza dominiraju hidrofobne interakcije, a potom smještanje dijastereomernog kompleksa u šupljinu kiralnog selektora na prikladan način.

Primjenom celulozne kolone *Chiralcel OJ* za odjeljivanje enantiomera alifatskih *N,N*-disupstituiranih spojeva potrebno je povećati udio alkohola u pokretnoj fazi. Pri volumnom udjelu etanola u pokretnoj fazi od 20 %, enantiomeri spoja **47a** s *N*-benzil-*N*-*tert*-butilnom skupinom ostvaruju izvrsno enantioprepoznavanje. Visoka polarnost pokretne faze omogućava ostvarivanje većeg broja vodikovih veza, ali i π - π interakcije β -aminoalkohola i

selektora *tris*(4-metilbenzoata) celuloze. Izvrsno kiralno prepoznavanje primjenom kolone *Chiralcel OJ* ostvarili su β -aminoalkoholi koji uz *N,N*-dibenzilnu skupinu sadrže i fenilni prsten supstituiran π -donorskom $-\text{CH}_3$ skupinom. Metilna skupina povećava π -elektronsku gustoću na fenilnom prstenu pa u mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju jake π - π interakcije analita i aromatskih jezgri kiralnog selektora, što rezultira izvrsnim enantioprepoznavanjem.

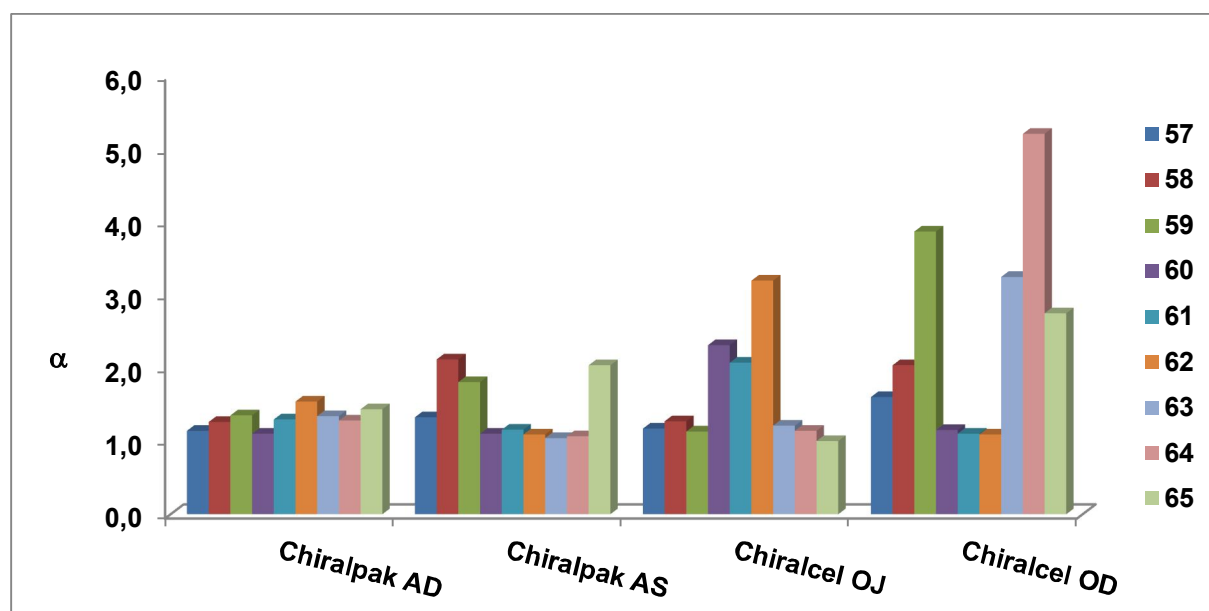
Na celuloznoj koloni *Chiralcel OD* supstituiranost fenilnog prstena analita pogoduje boljem enantioprepoznavanju *N,N*-disupstituiranih alifatskih spojeva, neovisno da li su supstituenti π -donorskog ($-\text{CH}_3$) ili π -akceptorskog ($-\text{Br}$) karaktera. Na Slici 62 prikazane su srednje vrijednosti separacijskih faktora β -aminoalkohola 1. skupine primjenom oba alkoholna modifikatora. Najbolje enantioprepoznavanje β -aminoalkohola 1. skupine se ostvaruje sa selektorom kolone *Chiralcel OJ* ($\alpha \sim 1,8$) te sa selektorom kolone *Chiralpak AD* ($\alpha \sim 1,7$), neovisno o tipu alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi.



Slika 62. Usporedba srednjih vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva 1. skupine β -aminoalkohola na polisaharidnim nepokretnim fazama

Prisutnost fenoksi-skupine je strukturna karakteristika modelnih β -aminoalkohola 2. skupine. Analize su pokazale veći stupanj enantioprepoznavanja β -aminoalkohola 2. skupine nego β -aminoalkohola 1. skupine, neovisno o primijenjenoj kiralnoj koloni. Odjeljivanju enantiomera većine spojeva pogoduje veća polarnost pokretne faze dobivena primjenom visokih volumnih udjela alkohola od 20 % do 70 %. U takvom enantioselektivnom sustavu u

mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju jake vodikove veze. To je posebno izraženo na celuloznoj nepokretnoj fazi *Chiralcel OD* (Slika 63). Funkcionalne skupine: hidroksilna-, fenoksi- i supstituirana amino- skupina svakog β -aminoalkohola imaju mogućnost stvaranja donor-akceptor vodikovih veza s C=O skupinom ili -CH₃ skupinom kiralnog selektora. Jačina nastalih vodikovih veza je različita ovisno o ostalim supstituentima β -aminoalkohola te interakcijama koje oni potencijalno mogu ostvariti sa selektorom kiralne nepokretne faze. Time je različita stabilizacija nastalog diastereomernog kompleksa, a stoga i stupanj enantioselektivnosti. Pri odjeljivanju enantiomera spojeva 2. skupine koji sadrže π -akceptorski -NO₂ supstituent ili π -donorski -OCH₃ na fenilnom prstenu, postiže se gotovo duplo veća vrijednost separacijskog faktora, nego li je to ostvareno pri odjeljivanju enantiomera spoja **57** s nesupstituiranim fenilnim prstenom.



Slika 63. Usporedba srednjih vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva 2. skupine β -aminoalkohola na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

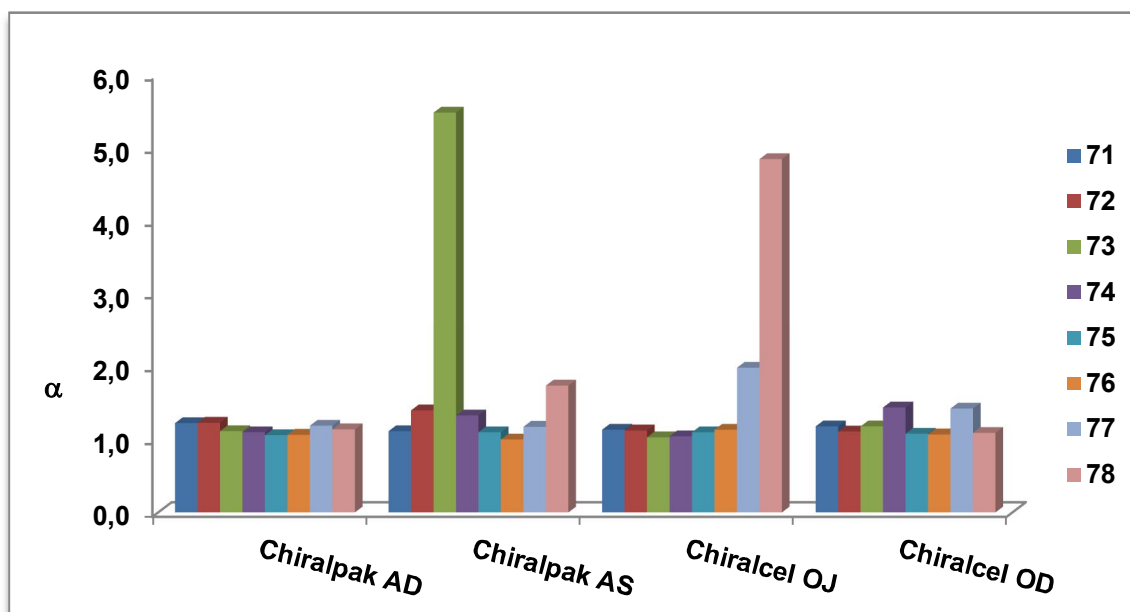
Aromatskim β -aminoalkoholima posebice odgovara kiralni selektor 3,5-dimetilfenil karbamat celuloza (kolona *Chiralcel OD*) ili 3,5-dimetilfenil karbamat amiloza (kolona *Chiralpak AD*). U takvom sustavu se uz vodikove veze ostvaruju i jake π - π interakcije. Primjenom kolone *Chiralpak AS-H* spojevi s π -akceptorskim ili π -donorskim supstituentima, kao i enantiomeri spoja **65** s benzilnom skupinom na dušikovu atomu, pokazuju značajan stupanj enantioselektivnosti, posebice uz propan-2-ol u heksanskoj pokretnoj fazi.

U mehanizmu kiralnog prepoznavanja β -aminoalkohola 2. skupine na koloni *Chiralpak AS-H* iznimno važnu ulogu igraju π - π interakcije. Pri odjeljivanju enantiomera spoja **60** koji sadrži izopropilni supstituent na dušikovu atomu, na koloni *Chiralpak AS-H* je došlo do inverzije redoslijeda ispiranja enantiomera, što ukazuje na drugačiji način smještanja dijastereomernog kompleksa u kiralnu šupljinu. Potvrđeno je da je drugoizlazeći enantiomer spoja **60** *S*-enantiomer, za razliku od ostalih ispitanih slučajeva, gdje je primijećeno da je drugoizlazeći enantiomer *R*-enantiomer. *N,N*-Alifatski disupstituirani spojevi su pokazali vrlo visoki stupanj enantioselektivnosti primjenom kolone *Chiralcel OJ* uz volumni udio alkohola u pokretnoj fazi od 40 %. Takav rezultat ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja sterički efekt supstituenata na dušikovu atomu nije prevladavajući, već kiralnom prepoznavanju u većoj mjeri doprinose vodikove interakcije i π - π interakcije.

N-Monosupstituirani alifatski spojevi 2. skupine pokazali su izuzetno visoki stupanj enantioprepoznavanja s kiralnim selektorom kolone *Chiralcel OD* (Slika 64). Pri tome najvišu opaženu vrijednost $\alpha = 6,66$ postižu enantiomeri spoja **64** s *tert*-butilnom skupinom na dušikovu atomu, uz visokih 70 % propan-2-ola u heksanskoj pokretnoj fazi. Velika količina alkohola konformacijski mijenja strukturu višeg reda polisaharidne nepokretne faze. Mijenja se oblik i veličina kiralnih šupljina na način pogodan smještanju *tert*-butilne skupine na dušikovu atomu. Kao rezultat toga, ostvaruju se i druge povoljne interakcije poput vodikove veze sa slobodnim elektronskim parom na dušikovu atomu, hidroksilnom- i fenoksi-skupinom. Takvim je interakcijama nastali dijastereomerni kompleks dobro stabiliziran što rezultira vrlo dobrim enantioprepoznavanjem sa selektorom nepokretne faze.

Za razliku od β -aminoalkohola 1. i 2. skupine, β -aminoalkoholi 3. skupine u svojoj strukturi umjesto lančanog ugljikova skeleta sadrže cikličke strukturne jedinice različitih veličina. Slika 64 prikazuje učinkovitost pojedine kiralne kolone na odvajanje enantiomera β -aminoalkohola 3. skupine. Na Slici 64 posebno se uočavaju dvije ekstremne α -vrijednosti. Za *N*-monosupstituirani aromatski spoj **73** (šesteročlani prsten s dušikovim atomom supstituiranim 2-piridilnom skupinom) ostvaruje se iznimno visoki separacijski faktor $\alpha = 6,9$ na koloni *Chiralpak AS-H* uz heksansku pokretnu fazu s volumnim udjelom propan-2-ola od 3 %. Enantiomeri istog spoja s udjelom etanola od 5 % u pokretnoj fazi ostvaruju $\alpha = 3,99$. Srednja vrijednost ta dva iznosa separacijskog faktora $\alpha = 5,49$ prikazana je na Slici 66, i približno je pet puta veća nego za spoj **71** s nesupstituiranim fenilnim prstenom na dušikovu atomu. Takav rezultat ukazuje da u mehanizmu kiralnog prepoznavanja sa selektorom kolone

Chiralpak AS-H veliki doprinos imaju vodikove veze, odnosno π - π interakcije cikličkog β -aminoalkohola. Iz literature je poznato da se primjenom kolone *Chiralpak AS-H* dobro razdvajaju enantiomeri β -laktamskih antibiotika (penicilini, cefalosporini, itd.) koji u svojoj strukturi imaju prstenasti supstituent.¹⁴⁷ Moguće je da je ciklička struktura β -aminoalkohola 3. skupine pogodna za enantioprepoznavanje s kiralnim selektorom *tris[(S)- α -metilbenzil karbamat] amiloze*, iako to nije jedini preduvjet za ostvarivanje kvalitetnog enantioprepoznavanja. Enantioprepoznavanje spoja **73** temelji se i na stvaranju brojnih donor-akceptor vodikovih veza, ali i dipol-dipol interakcija između dva dušikova i jednog kisikova atoma analita s C=O i NH skupinama kiralnog selektora. Također se stvaraju jake π - π interakcije piridinskog prstena β -aminoalkohola **73** s benzilnim prstenom kiralnog selektora. U mehanizmu kiralnog prepoznavanja *N,N*-disupstituiranog spoja **78**, primjenom kolone *Chiralpak AS-H*, dominiraju π - π interakcije benzilnih skupina na dušikovu atomu analita, uz nisku polarnost pokretne faze. U takvom sustavu su prisutne jake hidrofobne interakcije, analit se dugo zadržava u kontaktu s nepokretnom fazom te se ostvaruju enantioselektivne π - π interakcije. Kao posljedica toga dolazi do vrlo dobrog prepoznavanja sa selektorom nepokretne faze.

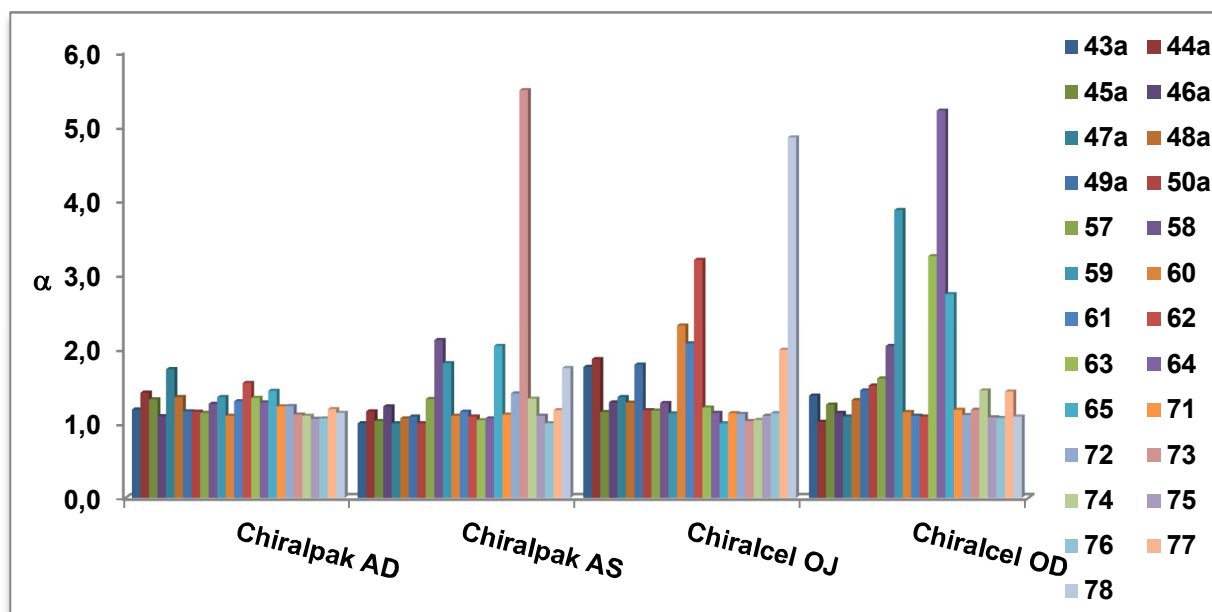


Slika 64. Usporedba srednjih vrijednosti separacijskih faktora određenih za enantiomere spojeva 3. skupine β -aminoalkohola na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama

Iz Slike 64 je vidljivo da ciklički β -aminoalkoholi 3. skupine pokazuju vrlo visoki stupanj enantioselektivnosti primjenom celuloznih nepokretnih faza, posebice kolone

Chiralcel OJ. Može se zaključiti da elektronski efekti imaju veći doprinos nego sterički efekti pri enantioprepoznavanju enantiomera 3. skupine na koloni *Chiralcel OJ*. Pri enantioprepoznavanju spoja **78** primjenom pokretne faze s 10 % propan-2-ola ($\alpha = 5,45$) i 5 % etanola ($\alpha = 4,25$) u mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju π - π interakcije. Enantiomeri se relativno kratko zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, ali se postiže izuzetno visoka enantioselektivnost i visoki faktori razlučivanja (R_s od 7,67 do 12,14). To potvrđuje visoku djelotvornost odvajanja enantiomera na toj koloni. Enantiomeri svih triju spojeva (**72**, **73** i **78**) koji sadrže cikloheksanski prsten pokazuju visoki stupanj enantioselektivnosti neovisno o tipu primijenjene nepokretne faze. Moguće je da stabilna konformacija stolice šesteročlanog prstena u blizini kiralnog centra igra važnu ulogu pri steričkom sjedanju enantiomera u kiralni „džep“ nepokretne faze. Peteročlani prsten spoja **77** je prostorno manji i dobro se smješta u kiralne šupljine celuloznih nepokretnih faza. Pri tome ostvaruje π - π interakcije sa selektorima nepokretnih faza *Chiralcel OJ* i *Chiralcel OD*, što za rezultat daje zadovoljavajući stupanj enantioselektivnosti.

Slika 65 prikazuje usporedbu separacijskih faktora svih 25 modelnih β -aminoalkohola iz tri skupine neovisno o primijenjenom alkoholu u pokretnoj fazi na četiri polisaharidne kiralne nepokretne faze. Cilj prikaza je ustanoviti koji je tip nepokretne faze najbolji za odjeljivanje enantiomera većine ispitivanih modelnih β -aminoalkohola. Iz Slike 65 uočava se da je to kolona *Chiralcel OD*, premda se vrlo sličan stupanj enantioprepoznavanja velikog broja β -aminoalkohola ostvaruje primjenom kolone *Chiralcel OJ*.



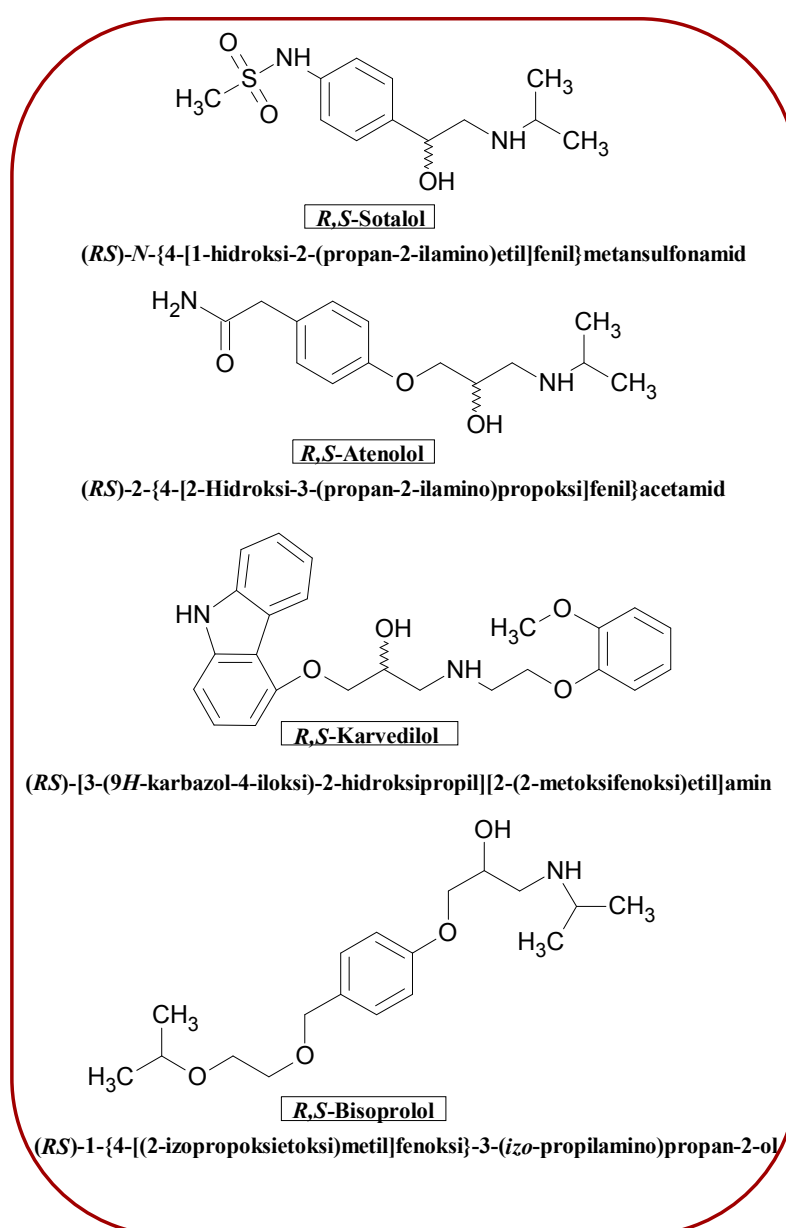
Slika 65. Usporedba separacijskih faktora enantiomera 25 modelnih β -aminoalkohola iz tri skupine spojeva (spojevi **43a** do **77**) na četiri polisaharidne kiralne nepokretne faze, neovisno o primijenjenom alkoholnom modifikatoru u pokretnoj fazi

Iz navedenog se može pretpostaviti da mehanizam kiralnog prepoznavanja ispitivanih β -aminoalkohola na koloni *Chiralcel OD* može uključivati sljedeće:

- (1) Stvaranje prijelaznog diastereomernog kompleksa između analita i selektora nepokretne faze primarno zbog vodikovih veza između OH-skupine i NH_2 -skupine β -aminoalkohola, s CO-NH-skupinom kiralnog selektora.
- (2) Stabilizacija nastalih kompleksa smještanjem aromatskog dijela analita (ukoliko je riječ o *N*-suspsituiranim aromatskim β -aminoalkoholima) u kiralne šupljine kiralne nepokretne faze, a potom π - π i dipol-dipol interakcije preostalih skupina analita i nepokretne faze.
- (3) Kiralna diskriminacija enantiomera koja se događa zbog razlike u steričkom smještaju u kiralne šupljine kiralne nepokretne faze i/ili razlike u jačini dipol-dipol ili π - π interakcija između enantiomera analita i kiralne nepokretne faze.

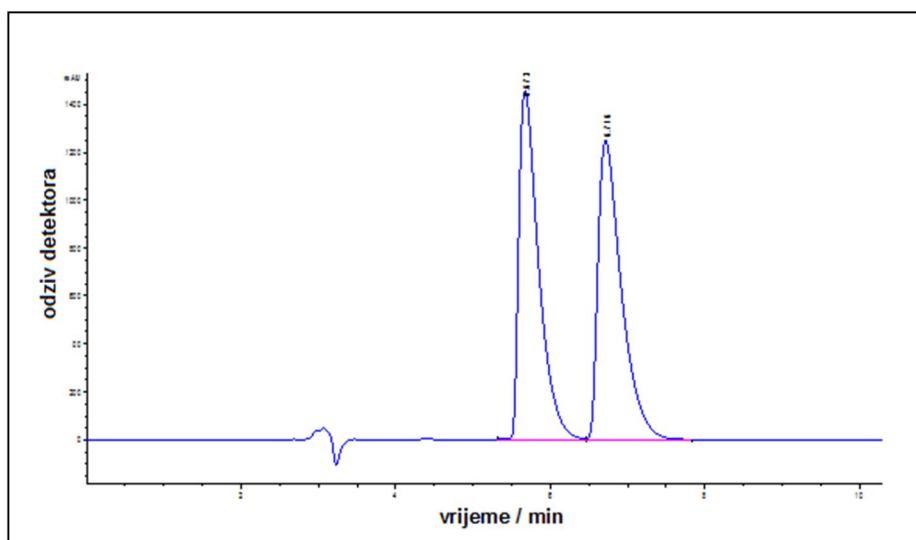
4.3 Enantioselektivna analiza kardiovaskularnih lijekova čija je djelatna tvar β -aminoalkohol

Provedena je enantioselektivna analiza kardiovaskularnih lijekova, čije su djelatne tvari po kemijskoj strukturi β -aminoalkoholi. Na Slici 66 prikazana su imena i kemijske strukture djelatnih tvari analiziranih kardiovaskularnih lijekova tržišnih imena *Atenolol*® 50 mg (Pliva Hrvatska, djelatna tvar: atenolol); *Darob mite*® 80 mg (Abbott GMBH Njemačka, djelatna tvar: sotalol); *Carvelol*® 25 mg (Belupo, lijekovi i kozmetika d.d., djelatna tvar: karvedilol); *Bisobel*® 10 mg (Belupo, lijekovi i kozmetika d.d., djelatna tvar: bisoprolol).



Slika 66. Kemijske strukture i imena djelatnih tvari analiziranih kardiovaskularnih lijekova

Atenolol pripada drugoj generaciji β -blokatora i jedan je od najstarijih kardiovaskularnih lijekova. Prema istraživanjima *in vivo* i *in vitro*, kada se primijeni racemičan lijek, samo (*S*)-atenolol posjeduje β -blokirajuće djelovanje, dok (*R*)-atenolol ne doprinosi značajno tom djelovanju.¹⁴⁸ Prema rezultatima enantioselektivne analize prikazane u *Prilogu III* može se uočiti da se enantiomeri atenolola vrlo dobro odvajaju primjenom kolone *Chiralcel OD*, uz pokretnu fazu s volumnim udjelom propan-2-ola ili etanola od 30 % (Tablica L-OD-01, *Prilog III*). Uz primjenu etanola kao alkoholnog modifikatora, enantiomeri se razdvajaju do osnovne linije u vremenu analize manjem od 10 minuta (Slika 67).



Slika 67. Kromatogram enantiomera atenolola iz kardiovaskularnog lijeka *Atenolol*® 50 mg, odvojenih na koloni *Chiralcel OD*, uz pokretnu fazu Ψ (heksan s 0,1 % dietilamina, etanol) = 70 : 30; valna duljina detekcije 215 nm

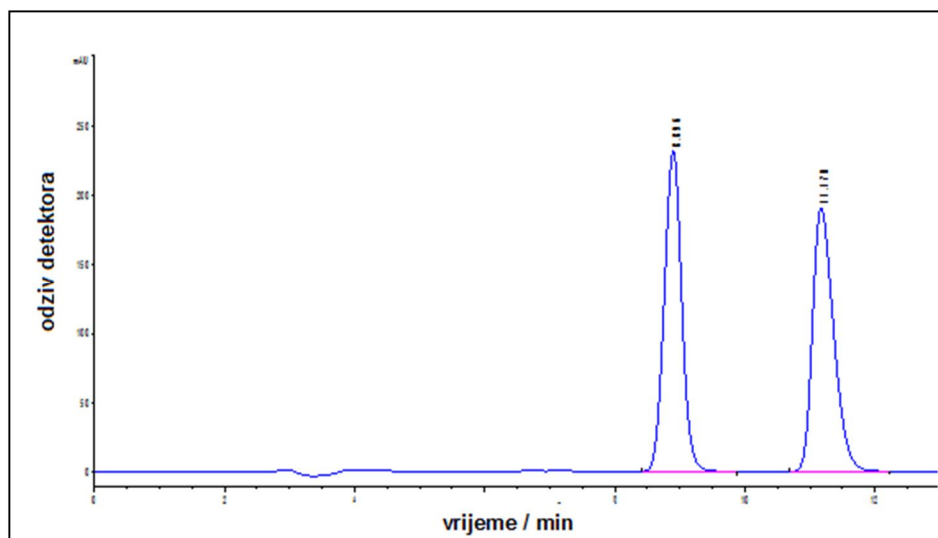
Ispitan je utjecaj povećanja volumnog udjela dietilamina s 0,1 % na 0,5 % u heksanskoj pokretnoj fazi na odjeljivanje enantiomera atenolola na koloni *Chiralcel OD*, uz isti volumni udio alkohola. Rezultati ispitivanja su prikazani u Tablici L-OD-05, *Prilog III*. Povećanjem udjela dietilamina s 0,1 % na 0,5 % u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 30 % alkohola nije uočena značajna promjena iznosa α i R_s . Enantiomeri atenolola su pokazali vrlo slabo ili nikakvo enantioprepoznavanje sa selektorima ostalih triju kiralnih nepokretnih faza. Primjenom amilozne kolone *Chiralpak AD* enantiomeri atenolola pokazuju zadovoljavajući stupanj enantioselektivnosti primjenom pokretne faze s volumnim udjelom etanola u pokretnoj fazi od 10 %. Zamjenom alkohola u propan-2-ol u heksanskoj pokretnoj fazi izostaje enantioselektivno prepoznavanje enantiomera atenolola. Dobiveni rezultati su u skladu s objavljenim rezultatima ispitivanja odjeljivanja enantiomera atenolola primjenom kolone

Chiralpak AD.¹⁴⁹ Enantioprepoznavanje enantiomera atenolola na koloni *Chiralpak AS-H* je vrlo loše. Uz pokretnu fazu s propan-2-olom ($\varphi = 20\%$) enantiomeri se razdvajaju samo djelomično, a sa ostalim ispitanim udjelima alkohola uopće se ne odjeljuju. Za odjeljivanje enantiomera atenolola primjenom celulozne kolone *Chiralcel OJ* prikladniji je etanol kao alkoholni modifikator, jer u prisustvu propan-2-ola izostaje kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze.

Sotalol je hidrofilni neselektivni spoj s blokirajućim djelovanjem na β_1 -adrenoreceptore, a u kliničkoj praksi se koristi za liječenje srčanih aritmija, povišenog krvnog tlaka i angine pectoris. Na tržištu je prisutan kao racemična smjesa pri čemu *R*-(-)-sotalol posjeduje jako β -blokirajuće djelovanje, a *S*-(+)-sotalol 14 do 50 puta slabije djelovanje, dok oba imaju slično djelovanje kao antiaritmici. Poznato je da su svi tržišno dostupni β -blokatori ariloksi-propanolaminske strukture, sa *S*-(-)-enantiomerom koji je farmakološki aktivniji β -blokator. No, kod sotalola je *R*-enantiomer taj koji posjeduje β -blokirajuće djelovanje i djeluje kao blokator kalcijevih kanala, dok *S*-(+)-sotalol ima 30 do 60 puta manje β -blokirajuće djelovanje.¹⁵⁰ U *Prilogu III* su prikazani rezultati enantioselektivne analize sotalola na četiri kiralne kolone. Iz dobivenih rezultata se uočava da je kolona *Chiralpak AD* najbolji izbor za odjeljivanje enantiomera sotalola. Neovisno o tipu primijenjenog alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi, enantiomeri sotalola se razdvajaju do osnovne linije uz odlično razlučivanje enantiomera. Primjenom propan-2-ola ($\varphi = 20\%$) u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina, enantiomeri sotalola se razdvajaju u vremenu kraćem od 15 min (Slika 68).

Uz sastav heksanske pokretne faze koja sadrži volumni udio dietilamina 0,1 % i etanola 15 %, enantiomeri sotalola se dulje zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, ali se postiže i viši stupanj enantioselektivnosti ($\alpha = 1,85$) i bolje razlučivanje enantiomera ($R_s = 5,44$). Povećanjem udjela dietilamina na 0,5 % uz isti sastav pokretne faze, dolazi do još boljeg razlučivanja enantiomera ($R_s = 9,22$). Na drugom tipu amilozne nepokretne faze *Chiralpak AS-H* enantiomeri sotalola pokazuju zadovoljavajući stupanj enantioprepoznavanja, ali samo primjenom etanola u pokretnoj fazi u volumnom udjelu od 5 % do 10 %. Na celuloznim kiralnim nepokretnim fazama vrlo je slabo odjeljivanje enantiomera sotalola. Primjenom kolone *Chiralcel OJ* enantiomeri sotalola samo se djelomično odjeljuju u ispitanim područjima volumnih udjela od 5 % do 10 % etanola, te od 15 % do 20 % propan-2-ola. Na koloni *Chiralcel OD* izostaje enantiomerno prepoznavanje sotalola primjenom pokretne faze s volumnim udjelima etanola od 15 % do 40 %. Zamjenom alkohola u propan-

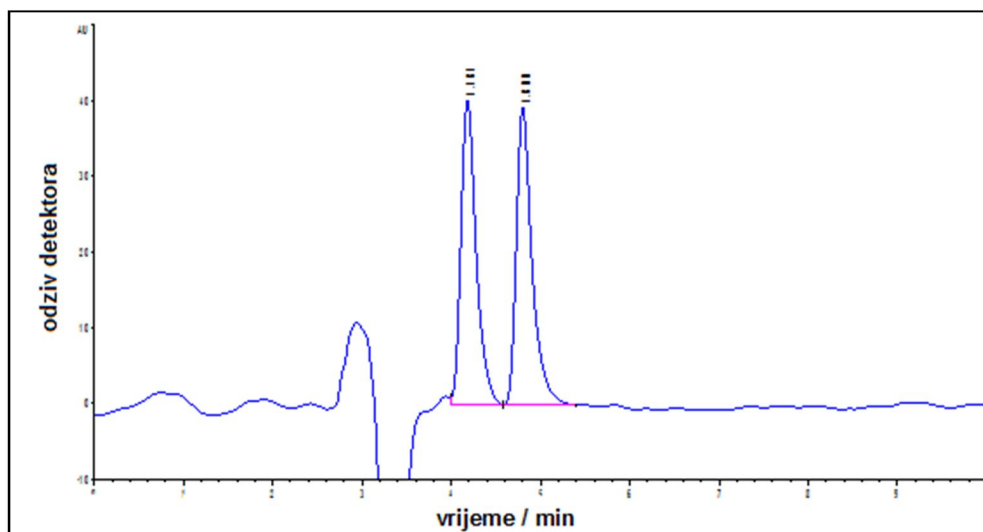
2-ol u volumnom udjelu od 15 %, enantiomeri se djelomično razdvajaju uz izuzetno dugo zadržavanje na nepokretnoj fazi. Povećanjem volumnog udjela propan-2-ola na 30 % izostaje kiralno prepoznavanje enantiomera sa selektorom nepokretne faze.



Slika 68. Kromatogram enantiomera sotalola iz kardiovaskularnog lijeka *Darob mite*® 80 mg odvojenih na koloni *Chiralpak AD*, uz pokretnu fazu Ψ (heksan s 0,1 % dietilamina, propan-2-ol) = 85 : 15; valna duljina detekcije 225 nm

Bisoprolol je β_1 -selektivni adrenoreceptorski blokator koji je na tržištu prisutan u obliku racemične smjese. Istraživanja su pokazala da *S*-(-)-enantiomer bisoprolola posjeduje 15 do 40 puta veću β -blokirajuću aktivnost od *R*-(+)-enantiomera.¹⁵¹ Rezultati odjeljivanja enantiomera bisoprolola prikazani su u *Prilogu III*, i uočava se odlično odvajanje na kiralnim nepokretnim fazama koje za kiralni selektor imaju *tris*(3,5-dimetilfenil)karbammat celuloze (kolona *Chiralcel OD*) ili amiloze (kolona *Chiralpak AD*). U usporedbi s preostala tri kardiovaskularna lijeka, enantiomeri bisoprolola postižu najviši stupanj enantioselektivnosti $\alpha \sim 1,7$ na koloni *Chiralcel OD* uz sastav heksanske pokretne faze koja sadrži volumni udio dietilamina od 0,1 % i propan-2-ola od 15 % do 30 % (Tablica L-OD-01, *Prilog III*). Neovisno o količini i tipu alkohola u pokretnoj fazi enantiomeri bisoprolola se odjeljuju do osnovne linije u vremenu analize kraćem od 15 min. Zamjenom alkoholnog modifikatora u etanol, u ispitanom području volumnih udjela od 10 % do 40 % α se neznatno mijenja i iznosi $\sim 1,4$. Slika 69 prikazuje kromatogram enantiomera bisoprolola primjenom kolone *Chiralcel OD*, uz heksansku pokretnu fazu koja sadrži dietilamin ($\varphi = 0,1$ %) i etanol ($\varphi = 20$ %). Ispitan je utjecaj povećanja volumnog udjela dietilamina s 0,1 % na 0,5 % u odabranim pokretnim fazama s volumnim udjelima 15 % propan-2-ola i 10 % etanola. Prema dobivenim

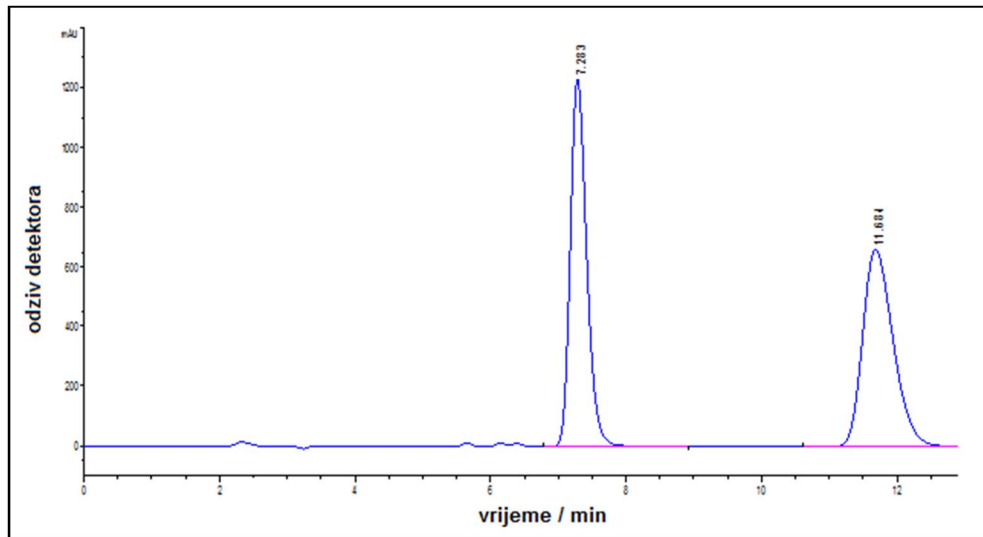
rezultatima u Tablici L-OD-05, *Prilog III*, uočava se da se enantiomeri bisoprolola dulje zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom kada se primijeni 0,5 % dietilamina u pokretnoj fazi. Blago se povećava iznos separacijskog faktora α , ali uz značajno veće razlučivanje enantiomera R_s .



Slika 69. Kromatogram enantiomera bisoprolola iz kardiovaskularnog lijeka *Bisobel® 10 mg*, odvojenih na koloni *Chiralcel OD*, uz pokretnu fazu Ψ (heksan s 0,1 % dietilamina, etanol) = 80 : 20; valna duljina detekcije 245 nm

Primjenom druge nepokretne faze koja sadrži *tris*(3,5-dimetilfenil)karbamat amilozu - *Chiralpak AD*, vrlo dobro se odjeljuju enantiomeri bisoprolola, posebice primjenom heksanske pokretne faze s etanolom kao alkoholnim modifikatorom (*Prilog III*, Tablica L-AD-01). U heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina i 10 % etanola, enantiomeri bisoprolola se odvajaju do osnovne linije uz razlučivanje $R_s = 4,17$ i stupanj enantioselektivnosti $\alpha = 1,39$. Povećanje volumnog udjela dietilamina na 0,5 % u odabranim pokretnim fazama s 15 % propan-2-ola i 10 % etanola nije značajno doprinjelo boljem odjeljivanju enantiomera bisoprolola. Prema rezultatima prikazanim u *Prilogu III*, Tablica L-AS-01 i Tablica L-AS-05, uočava se da kolona *Chiralpak AS-H* nije pogodna za odjeljivanje enantiomera bisoprolola neovisno o tipu ili volumnom udjelu primijenjenog alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi. Primjenom celulozne kolone *Chiralcel OJ* enantiomeri bisoprolola se tek djelomično razdvajaju primjenom 20 % propan-2-ola u heksanskoj pokretnoj fazi, dok enantioprepoznavanje sa selektorom nepokretne faze izostaje kada se primijeni etanol u pokretnoj fazi (*Prilog III*, Tablica L-OJ-01 i Tablica L-OJ-05).

Karvedilol pripada novijoj generaciji lijekova za liječenje povišenog krvnog tlaka, a klinički se primjenjuje kao racemična smjesa. Pri tome je *S*-karvedilol približno 200 puta jači β -blokator nego *R*-karvedilol, a oba enantiomera su približno jednaki kao α -blokatori. Zbog navedenih svojstava karvedilol se koristi za liječenje zatajenja srčanog ritma, povišenog krvnog tlaka i ostalih srčanih oboljenja.¹⁵² Rezultati enantioselektivne analize karvedilola, prikazani u *Prilogu III*, pokazuju da je za odvajanje enantiomera karvedilola najbolji izbor kolona *Chiralpak AD* (Tablica L-AD-01 i Tablica L-AD-05). Primjenom navedene nepokretne faze uz heksansku pokretnu fazu s volumnim udjelom propan-2-ola od 50 % do 80 % postiže se $\alpha \sim 1,8$, čija se vrijednost ne mijenja s povećanjem udjela propan-2-ola. Povećanjem volumnog udjela dietilamina na 0,5 % u heksanskoj pokretnoj fazi separacijski faktor se vrlo malo povećava, ali razlučivanje značajnije raste. Promjenom alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi u etanol, separacijski faktor ima vrijednost $\alpha \sim 1,2$ i konstantan je u ispitivanom području volumnih udjela etanola od 25 % do 70 %. Na Slici 70 prikazan je kromatogram enantiomera karvedilola na koloni *Chiralpak AD* te se može uočiti da su enantiomeri odijeljeni do osnovne linije u vremenu kraćem od 15 min, uz odlično razlučivanje.

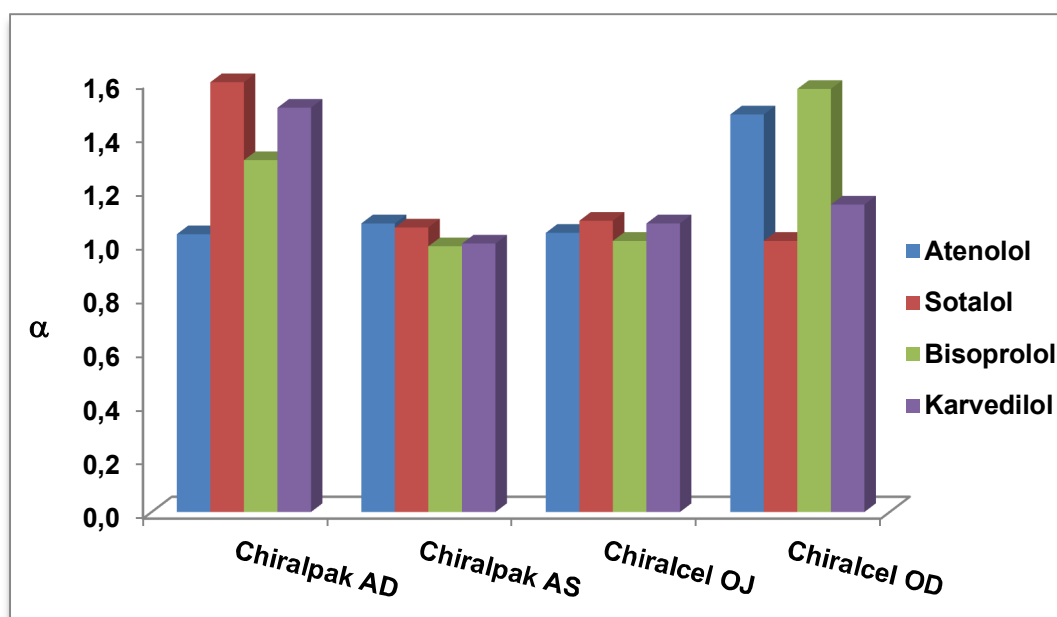


Slika 70. Kromatogram enantiomera karvedilola iz kardiovaskularnog lijeka *Carvelol® 10 mg*, odvojenih na koloni *Chiralpak AD*, uz pokretnu fazu Ψ (heksan s 0,1 % dietilamina, etanol) = 50 : 50; valna duljina detekcije 245 nm

Enantiomeri karvedilola se samo djelomično odjeljuju na koloni *Chiralcel OD* sa selektorom *tris*(3,5-dimetilfenil karbamat) celulozom, uz heksansku pokretnu fazu u ispitanom području volumnih udjela propan-2-ola od 15 % do 40 %. Promjenom alkohola u

etanol, odjeljivanje enantiomera karvedilola je zadovoljavajuće, s faktorom selektivnosti $\alpha \sim 1,2$, koji je konstantan u cijelom ispitivanom području volumnih udjela etanola od 10 % do 30 %. Povećanje volumnog udjela dietilamina u pokretnoj fazi ne doprinosi poboljšanju enantioselektivnosti. Primjenom kolone *Chiralpak AS-H* ne dolazi do enantioprepoznavanja enantiomera karvedilola sa selektorom nepokretne faze. Pri tome je kiralno prepoznavanje enantiomera karvedilola neovisno o tipu ili volumnom udjelu alkoholnog modifikatora ili dietilamina u heksanskoj pokretnoj fazi. Ispitivanje odjeljivanja enantiomera karvedilola provedeno je i na koloni *Chiralcel OJ*. Rezultati (*Prilog III*, Tablica L-OJ-01 i Tablica L-OJ-05) pokazuju da izostaje kiralno prepoznavanje sa selektorom nepokretne faze primjenom pokretne faze s etanolom. Zamjenom alkohola u pokretnoj fazi iz etanola u propan-2-ol, enantiomeri se neobično dugo zadržavaju u kontaktu s nepokretnom fazom, ali se ostvaruje i zadovoljavajuće enantioprepoznavanje. Povećanje volumnog udjela dietilamina u pokretnoj fazi s 0,1 % na 0,5 % ne doprinosi poboljšanju stupnja enantioselektivnosti ili razlučivanja enantiomera karvedilola.

Usporedbom izračunatih srednjih vrijednosti separacijskih faktora enantiomera analiziranih lijekova uočava se da se najlošije enantioprepoznavanje ostvaruje primjenom kolone *Chiralpak AS-H*. Vrlo dobro enantioprepoznavanje se ostvaruje sa selektorom *tris*(3,5-dimetilfenil)karbamatom celuloze (kolona *Chiralcel OD*) ili amiloze (kolona *Chiralpak AD*) (Slika 71).



Slika 71. Usporedba odjeljivanja enantiomera kardiovaskularnih lijekova s djelatnim tvarima atenololom, sotalolom, bisoprololom i karvedilolom na četiri polisaharidne nepokretne faze

5. ZAKLJUČAK

➤ β-Aminoalkoholi 1. skupine

- Enantiomeri *N*-monosupstituiranih aromatskih spojeva 1. skupine, te *N,N*-disupstituiranih alifatskih spojeva, s π -donorskim $-\text{CH}_3$ susptituentom na fenilnom prstenu, iznimno dobro se odvajaju primjenom celuloznih nepokretnih faza.
- U mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju donor-akceptor vodikove veze, dok su steričke interakcije manje izražene.
- Veliki utjecaj na enantioprepoznavanje imaju supstituenti na fenilnoj jezgri analita koji dodatno stabiliziraju dijastereomerni kompleks π - π interakcijama.

➤ β-Aminoalkoholi 2. skupine

- *N*-Monosupstituiranim aromatskim spojevima 2. skupine za razdvajanje enantiomera posebice odgovara *tris*(3,5-dimetilfenil karbamat) celuloza (kolona *Chiralcel OD*) ili amiloza (kolona *Chiralpak AD*) kao nepokretna faza.
- U mehanizmu kiralnog prepoznavanja, uz vodikove veze, dominiraju jake π - π interakcije, uz poseban naglasak na nitro supstituent na fenilnoj jezgri koji doniranjem elektrona stabilizira π -elektronski sustav.
- U jako polarnom sustavu s visokim volumnim udjelom alkohola od 40 % u pokretnoj fazi, izvrsno se odjeljuju enantiomeri *N,N*-disupstituiranih alifatskih spojeva. U mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominantne su π - π interakcije, a vrlo malo su izraženi sterički efekti.
- Iznadprosječno enantioprepoznavanje pokazali su *N*-monosupstituirani alifatski spojevi, uz vrlo visoku polarnost heksanske pokretne faze s volumnim udjelom alkohola od 40 % do 70 % i primjenom celulozne kolone *Chiralcel OD*.
- U takvom polarnom sustavu, promjena veličine i oblika kiralne šupljine pogoduje supstituentima na dušikovu atomu, koji potom vodikovim vezama stabiliziraju nastali dijastereomerni kompleks.

➤ β-Aminoalkoholi 3. skupine

- Enantiomeri *N*-monosupstituiranih aromatskih cikličkih β-aminoalkohola odlično se odjeljuju primjenom amiloznih nepokretnih faza, uz nizak volumni udio alkohola (< 5 %) u pokretnoj fazi.

- U mehanizmu kiralnog prepoznavanja dominiraju vodikove veze, a enantiomernom prepoznavanju pogoduje supstituiranost fenilnog prstena na dušikovu atomu.
 - Enantioprepoznavanje *N*-monosupstituiranih alifatskih β -aminoalkohola prstenaste strukture smanjuje se povećanjem veličine prstena. To ukazuje da se mehanizam kiralnog prepoznavanja ostvaruje smještanjem prstena u kiralne šupljine nepokretne faze, a potom se nastali diastereomerni kompleks stabilizira ostalim interakcijama, ovisno o supstituentu na dušikovu atomu.
 - Izvrsno enantioprepoznavanje *N,N*-disupstituiranih alifatskih spojeva s peteročlanim i šesteročlanim prstenom postiže se primjenom celuloznih nepokretnih faza, neovisno o tipu primijenjenog alkoholnog modifikatora u pokretnoj fazi.
- Opći zaključci o enantioprepoznavanju modelnih β -aminoalkohola
- Na temelju provedenih enantioselektivnih analiza 25 spojeva iz tri skupine β -aminoalkohola uočava se da enantioprepoznavanju većine spojeva više pogoduju celulozne kiralne nepokretne faze, posebice kolona *Chiralcel OD*. Alternativno, dobrom se pokazala i amilozna kolona *Chiralpak AD*. Uz heksansku pokretnu fazu s 0,1 % dietilamina i propan-2-olom kao alkoholnim modifikatorom u volumnom udjelu od 5 % do 30 %, enantiomeri većine ispitanih β -aminoalkohola se odjeljuju do osnovne linije.
- Kardiovaskularni lijekovi
- Enantioselektivna analiza racemičnih kardiovaskularnih lijekova, čija je djelatna tvar β -aminoalkohol, pokazala je da za odjeljivanje enantiomera lijekova vrijede isti zaključci kao i za enantioprepoznavanje modelnih β -aminoalkohola.
 - Primjenom nepokretnih faza sa selektorom *tris*(3,5-dimetilfenil karbamatom) celuloze (kolona *Chiralcel OD*) ili amiloze (kolona *Chiralpak AD*), uz veći volumni udio alkohola u pokretnoj fazi (15 % do 50 %), uspješno su do osnovne linije odijeljeni enantiomeri svih četiriju analiziranih lijekova.

6. POPIS KRATICA

β -aa	β -aminoalkohol
DEA	Dietilamin
EtOH	Etanol
e.v.	Enantiomerni višak
HPLC	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (prema engl. <i>High Performance of Liquid Chromatography</i>)
IPA	Propan-2-ol
IR	Infracrvena spektroskopija
KA	Kiralni analit
KS	Kiralni selektor
NMR	Nuklearna magnetska rezonancija
TLC	Tankoslojna kromatografija
THF	Tetrahidro furan
UV	Ultraljubičasto zračenje (prema engl. <i>Ultraviolet</i>)
VCD	Vibracijski cirkularni dikroizam

7. LITERATURNI IZVORI

1. Z. J. Li, D. J.W. Grant, *J. Pharm.Sci.* **86** (1997) 1073-1078.
2. K. M. Rentsch, *J. Biochem.Biophys.Methods* **54** (2002) 1-9.
3. J. Haginaka, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **27** (2002) 357-372.
4. X. P. Zhang, K. E. Loke, S. Mital, S. Chahwala, T. H. Hintze, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **39** (2002) 208-214.
5. T. Šarić, *Promeritus savjetovanje*, veljača 2010.
6. <http://www.kardio.hr>, *Beta blokatori i njihova klinička primjena*, A. Knežević (04.11.2010.)
7. R. Mehvar, D. R. Brocks, *J. Pharm. Sci.* **4** (2001) 185-200.
8. A. J. Hutt, S. C. Tan, *Drugs* **52** (1996) 1-12.
9. S. B. Singh, *J. Modern Med. Chem.* **1** (2013) 10-36.
10. S. Maddi, G. Scriba, M. R. Yamsani, *Drug Metabol. Drug Interact.* **26** (2011) 81-86.
11. B. B. Hoffman, *Adrenaline*, Harvard University Press, (2013) 47-48.
12. A. D. Mesecar, D. E. Koshland, *Nature* **403** (2000) 614-615.
13. V. Gulati, *J. Indian Med. Assoc.* **105** (2007) 173-176.
14. I. Agranat, H. Caner, J. Caldwell, *Nat. Rev. Drug. Discover.* **1** (2002) 753-768.
15. J. McConathy, M. J.Owens, *J.Clin.Psychiatry* **5** (2003) 70-73.
16. T. D. Shanafelt, T. Lin, C. S. Zent, N. Leung, B. Kabat, D. Bowen, M. R. Grever, J. C. Byrd, *Cancer* **109** (2007) 2291-2298.
17. M. J. Sofia, D. Bao, W. Chang, J. Du, D. Nagarathnam, S. Rachakonda, *J.Med. Chem.* **53** (2010) 7202-7218.
18. A. M. Lam, C. Espiritu, E. Murakami, V. Zennou, S. Bansal, H. M. M. Steuer, C. Niu, M. Keilman, H. Bao, N. Bourne, R. L. Veselenak, P. G. Reddy, W. Chang, J. Du, D. Nagarathnam, M. J. Sofia, M. J. Otto. P. A. Furman, *Antimicrob. Agents Chemother.* **55** (2011) 2566-2575.
19. J. Singh, T. J. Hagen, *Drug Discovery* (2010) 127-166.
20. <http://www.auburn.edu/~deruija/pdastch1.pdf> (18.12.2014.)
21. [http://csi.chemie.tudarmstadt.de/ak/immels/script/redirect.cgi?filename=http://csi.chemie.tu-darmstadt.de/ak/immels/tutorials/chirality/](http://csi.chemie.tudarmstadt.de/ak/immelscript/redirect.cgi?filename=http://csi.chemie.tu-darmstadt.de/ak/immels/tutorials/chirality/) (18.12.2014.)

22. D. V. Kuklev, A. J. Domb, V. M. Dembitsky, *Phytomedicine* **10** (2013) 1145-1159.
23. <http://www.chromatography-online.org/topics/vancomycin.php> (08.02.2014.)
24. M. G. Chez, T. M. Buchanon, M. Becker, J. Kessler, M. C. Aimonovitz, S. R. Mrazek, *J. Pediatr. Neurol.* **1** (2013) 83-88.
25. J. K. Kumar, A. V. Narsaiah, *Org. Commun.* **7** (2014) 28-33.
26. S. Houlton, *Manuf. Chemist* **73** (2002) 28-30.
27. A. J. Hutt, J. V. Valentova, *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae* **50** (2003) 7-23.
28. P. A. Patil, M. A. Kothekar, *Indian J. Med.Sci.* **60** (2006) 427-437.
29. K. Stoschitzky, W. Linder, M. Rath, C. Leitner, G. Uray, G. Zernig, T. Moshammer, W. Klein, *Arch. Pharmacol.* **339** (1989) 474-478.
30. A. Seeringer, J. Brockmüller, S. Bauer, J. Kirchheiner, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **64** (2008) 883-888.
31. A. Somogyi, F. Bochner, D. Foster, *Australian Prescriber* **27** (2004) 47-49.
32. S. W. Smith, *Toxicol. Sci.* **110** (2009) 4-30.
33. R. D. Knihinicki, K. M. Williams, R. O. Day, *Biochem. Pharmacol.* **38** (1989) 4389-4395.
34. S. C. Bergmeier, *Tetrahedron* **56** (2000) 2561-2576.
35. C. Auvin-Guette, S. Rebuffat, Y. Prigent, B. Bodo, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 2170-2174.
36. K. Ino, S. Goto, S. Nomura, K.-I. Izobe, A. Nawa, T. Okamoto, Y. Tomoda, *Anticancer Res.* **15** (1995) 2081-2087.
37. K. Stratmann, D. L. Burgoyne, R. E. Moore, G. M. L. Patterson, C. D. Smith, *J. Org. Chem.* **59** (1994) 7219-7226.
38. Y. A. Hannun, C.M. Linardic, *Biochem. Biophys. Acta* **1154** (1993) 223-236.
39. R. A.-H. He, J. G. Cory, *Anticancer Res.* **19** (1999) 421-428.
40. G. D. Wright, A. M. Berghuis, S. Mobasheri, *Adv. Exp. Med. Biol.* **456** (1998) 27-69.
41. J. D. Ager, I. Prakash, D. R. Schaad, *Chem. Rev.* **96** (1996) 835-875.
42. C. Flexner, *Nature Reviews Drug Discovery* **6** (2007) 959-966.
43. J. Bojarski, *J. Biochem. Biophys. Methods* **54** (2003) 197-220.
44. P. A. Datar, M. H. Washimkar, *Inter. J. Research Pharm. Biomed. Sci.* **33** (2012) 1277-1284.
45. G. Wahlund, V. Nerme, T. Abrahamsson, P.-O. Sjöquist, *Br. J. Pharmacol.* **99** (1990) 592-596.

46. R. Mehvar, D. R. Brocks, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **4** (2001) 185-200.
47. M. T. Reetz, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **30** (1991) 1531-1546.
48. G. Veeresh, A. Datta, *Tetrahedron Lett.* **38** (1997) 5223-5224.
49. G. K. Friestad, *Org. Lett.* **1** (1999) 1499-1501.
50. Ji D. Kim, I. S. Kim, J. C. Hua, O. P. Zee, Y. H. Jung, *Tetrahedron Lett.* **46** (2005) 1079-1082.
51. C. Jaime, M. R. Ortuno, J. Font, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 139-141.
52. M. Caron, P. R. Carlier, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 5185-5187.
53. T. Ibuka, K. Nakai, M. Akaji, H. Tamamura, N. Fujii, Y. Yamamoto, *Tetrahedron* **52** (1996) 11739-11752.
54. B. B. Lohray, Y. Gao, K. B. Sharpless, *Tetrahedron Lett.* **30** (1989) 2623-2626.
55. S. Y. Ko, *J. Org. Chem.* **60** (1995) 6250-6251.
56. M. E. Bunngae, A. N. Chernega, S. G. Davies, C. J. Goodwin, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **17** (1994) 2373-2384.
57. G. Li, H.-T. Chang, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **35** (1996) 451-454.
58. G. Y. Cho, S. Y. Ko, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 8745-8747.
59. S. C. Bergmeier, D. M. Stanchina, *J. Org. Chem.* **62** (1997) 4449-4456.
60. C. Greck, L. Bischoff, F. Ferreira, C. Pinel, E. Piveteau, J. P. Genet, *Synlett* **7** (1993) 475-477.
61. S.-C. Tsay, H. V. Patel, J. R. Hwu, *Synlett* **9** (1998) 939-949.
62. G. B. Fisher, C. T. Goralski, L. W. Nicholson, D. L. Hasha, D. Zakett, B. Singaram, *J. Org. Chem.* **60** (1995) 2026-2034.
63. H. Sasai, T. Tokunaga, S. Watanabe, T. Suzuki, N. Itoh, M. Shibasaki, *J. Org. Chem.* **60** (1995) 7388-7389.
64. S. Matsunaga, N. Kumagai, S. Harada, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 4712-4713.
65. Y.-W. Zhong, Y.-Z. Dong, K. Fang, K. Izumi, M.-H. Xu, G.-Q. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 11956-11957.
66. H. Miyabe, M. Torieda, K. Inoue, K. Tajiri, T. Kiguchi, T. Naito, *J. Org. Chem.* **63** (1998) 4397-4407.
67. M. Tramontini, *Synthesis* **8** (1982) 605-644.
68. <http://www.chem.unc.edu/people/faculty/alexanian/group/img/seminars/desymmetrizati on.pdf> (15.01.2015.).

69. J. M. Keith, J. F. Larrow, E. N. Jacobsen, *Adv. Synth. Catal.* **343** (2001) 5-26.
70. M. Tajbakhsh, R. Hosseinzadeh, P. Rezaee, H. Alinezhad, *J. Mex. Chem. Soc.* **56** (2012) 402-407.
71. Y. Yamamoto, N. Asao, M. Meguro, N. Tsukada, H. Nemoto, N. Sadayori, J. G. Wilson, H. Nakamura, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **15** (1993) 1201-1203.
72. B. S. Lane, K. Burgess, *Chem. Rev.* **103** (2003) 2457-2473.
73. M. Chini, P. Crotti, F. Macchia, *Tetrahedron Lett.* **31** (1994) 4661-4664.
74. <http://sites.harvard.edu/fs/docs/icb.topic960737.files/lecture%2029%20lewis%20acid%20catalysis.pdf> (15.01.2015.).
75. S. Kobayashi, *Chem. Lett.* **20** (1991) 2187-2190.
76. M. Meguro, N. Asao, Y. Yamamoto, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **18** (1994) 2597-2601.
77. P. Serrano, A. Lebaria, A. Delgado, *J. Org. Chem.* **67** (2002) 7165-7167.
78. G. Sekar, V. K. Singh, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 287-289.
79. D. Bradley G. Williams, M. Lawton *Tetrahedron Lett.* **47** (2006) 6557-6560.
80. F. L. Augé, *Tetrahedron Lett.* **37** (1996) 7715-7716.
81. I. Capanec, M. Litvić, H. Mikuldaš, A. Bartolinčić, V. Vinković, *Tetrahedron* **59** (2003) 2435-2439.
82. M. Moghadam, S. Tangestaninejad, V. Mirkhani, I. Mohammadpoor-Baltork, S. Goriipoor, P. Yazdani, *Synth. Commun.* **39** (2009) 552-561.
83. M. Chini, P. Crotti, F. Macchia, M. Pineschi, *Tetrahedron Lett.* **35** (1994) 433-436.
84. T. Ollevier, G. Lavie-Compin, *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 49-52.
85. X.-L. Hou, S.-H. Wu, *Synth. Commun.* **27** (1997) 1677-1683.
86. X.-L. Hou, J. Wu, L.-X. Dai, L.-J. Xia, M.-H. Tang, *Tetrahedron: Asymmetry* **9** (1998) 1747-1752.
87. E. Mai, C. Schneider, *Chem. Eur. J.* **13** (2007) 2729-2741.
88. S. Azoulay, K. Manabe, S. Kobayashi, *Org. Lett.* **7** (2005) 4593-4595.
89. M. Kokubo, T. Naito, S. Kobayashi, *Tetrahedron* **66** (2010) 1111-1118.
90. B.D. Brandes, E.N. Jacobsen, *Tetrahedron Lett.*, **36** (1995) 5123-5126.
91. T. Katsuki, *Coord. Chem. Rev.*, **140** (1995) 189-214.
92. G. Bartoli, M. Bosco, A. Carlone, M. Locatelli, M. Massaccesi, P. Melchiorre, L. Sambri, *Org. Lett.* **6** (2004) 2173-2176.

93. M. Kumar, R. I. Kureshy, A. K. Shah, A. Das, N. H. Khan, S. H. R. Abdi, H. C. Bajaj, *J. Org. Chem.* **78** (2013) 9076-9084.
94. J. M. Ready, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 2687-2688.
95. G. Huerta, G. Contreras-Ordoñez, C. Alvarez-Toledano, V. Santes, E. Gómez, R. A. Toscano, *Synth. Commun.* **34** (2004) 2393-2406.
96. A. R. Khosropour, M. M. Khodaei, K. Ghozati, *Chem. Lett.* **33** (2004) 304-305.
97. Y. L. N. Murthy, B. S. Diwakar, B. Govindh, R. Venu, K. Nagalakshmi, *Chem. Sci. Trans.* **2** (2013) 805-812.
98. H. Zuo, Z.-B. Li, B.-X. Zhao, J.-Y. Miao, L.-J. Meng, K. Jang, C. Ahn, D.-H. Lee, D.-S. Shin, *Bull. Korean Chem. Soc.* **32** (2011) 2965-2969.
99. S. Ahuja, H. Rasmussen. *HPLC method developement for pharmaceuticals, 1st edition.* Elsevier, North Carolina, USA, (2007) 85-105.
100. T. J. Wozniak, R. J. Bopp, E. C. Jensen, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **9** (1991) 363-382.
101. J. Jacques, A. Collet, S. H. Wilen, *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, John Wiley & Sons, New York, NY, USA (1981) 32-166.
102. T. Ikai, Y. Okamoto, *Chem. Rev.* **109** (2009) 6077-6101.
103. G. Helmchen, R. W. Hoffmann, J. Mulzer, E. Schaumann, *Stereoselective Synthesis, Series: Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl)*, vol. E21a, Thieme, Stuttgart, Germany (1995) str. 225.
104. W. H. Pirkle, T. C. Pochapsky, *Chem. Rev.* **89** (1989) 347-362.
105. W. H. Pirkle, C. J. Welch, *J. Chrom. A* **14** (1991) 2027-2042.
106. G. E. Hesse, R. Hagel, *Chromatographia* **6** (1973) 277-280.
107. Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Hatada, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 5357-5359.
108. L. Thunberg, J. Hashemi, S. Andersson, *J. Chromatogr. B* **875** (2008) 72-80.
109. T. Zhang, M. Schaeffer, P. Franco, *J. Chromatogr. A* **1083** (2005) 96-101.
110. E. Yashima, T. Matsushima, Y. Okamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 6345-6359.
111. T. Ikai, C. Yamamoto, M. Kamigaito, Y. Okamoto, *J. Chromatogr. B* **875** (2008) 2-11.
112. Y. K. Ye, S. Bai, S. Vyas, M. J. Wirth, *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 1189-1198.
113. E. Yashima, M. Yamada, Y. Kaida, Y. Okamoto, *J. Chromatogr. A* **694** (1995) 347-354.
114. R. B. Kasat, N.-H. L. Wang, E. I. Franses, *Biomacromolecules* **8** (2007) 1676-1685.
115. A. Berthod, *Chiral recognition in separation methods – Mechanism and Applications*, 1st Edition, Springer – Verlag Berlin Heidelberg, (2010) str. 158-159.

116. R. B. Kasat, S. Y. Wee, J. X. Loh, N.-H. L. Wang, E. I. Franses, *J. Chromatogr. B* **875** (2008) 81-92.
117. T. D. Booth, D. Wahnnon, I. W. Wainer, *Chirality* **9** (1997) 96-98.
118. C. Yamamoto, E. Yashima, Y. Okamoto, *J. Am. Soc.* **124** (2002) 12583-12589.
119. R. M. Wenslow, Jr., T. Wang, *Anal. Chem.* **73** (2001) 4190-4195.
120. R. Helmy, T. Wang, *J. Sep. Sci.* **28** (2005) 189-192.
121. S. Ma, S. Shen, H. Lee, N. Yee, C. Senanayake, L. A. Nafie, N. Grinberg, *Tetrahedron: Asymmetry* **19** (2008) 2111-2114.
122. R. W. Stringham, K. G. Lynam, B. S. Lord, *Chirality* **16** (2004) 493-498.
123. S. Caccamese, S. Bianca, G. T. Carter, *Chirality* **19** (2007) 647-653.
124. T. O'Brien, L. S. Crocker, D. R. Thompson, M. K. Thompson, P. H. Toma, D. A. Conlon, B. Feibush, C. W. Moeder, G. R. Bicker, N. Grinberg, *Anal. Chem.* **69** (1997) 1999-2007.
125. A. Del Rio, J. M. Hayes, M. Stein, P. Piras, C. Roussel, *Chirality* **16** (2004) S1-S11.
126. E. Francotte, W. Lindner, *Chirality in Drug Research*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, (2006) 3-18.
127. R. Sardella, F. Ianni, A. Lisanti, M. Marinozzi, S. Scorzoni, B. Natalini, *Biomed. Chromatogr.* **28** (2014) 159-167.
128. L. Gagyí, Á. Gyéresi, F. Kilár, *J. Biochem. Biophys. Meth.* **70** (2008) 1268-1275.
129. N. R. Swamy, T. V. Goud, S. M. Reddy, P. Krishnaiah, Y. Venkateswarhu, *Synth. Comm.* **34** (2004) 727-734.
130. M. Chini, P. Crotti, L. Favero, F. Macchia, M. Pineschi, *Tetrahedron Lett.* **35** (1994) 433-436.
131. S. Abu-Lafi, M. Sterin, S. Levin, *J. Chromatogr. A* **69** (1994) 47-58.
132. Y. K. Agrawal, R. N. Patel, *J. Chromatogr. B* **820** (2005) 23-31.
133. S. Svensson, J. Vessman, A. Karlsson, *J. Chromogr. A* **839** (1999) 23-29.
134. S. Levin, S. Abu-Lafi, J. Zahalka, R. Mechoulam, *J. Chromatogr. A* **654** (1993) 53-64.
135. R. N. Rao, K. N. Kumar, B. S. Kumar, *J. Sep. Sci.* **35** (2012) 2671-2677.
136. E. Francotte, R. M. Wolf, D. Lohmann, R. Mueller, *J. Chromatogr. A.* **347** (1985) 25-37.
137. C. Vaccher, V. Wallez, P. Carato, M. P. Vaccher, J. P. Bonte, *Chromatographia* **52** (2000) 513-516.
138. B. Chvanketadze, C. Yamamoto, Y. Okamoto, *J. Chromatogr. A* **922** (2001) 127-137.

139. E. R. Francotte. *J. Chromatogr. A* **906** (2001) 379-397.
140. H. Y. Aboul-Enein, I. Ali, *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.* **25** (2002) 2739-2748.
141. P. Peluso, S. Cossu, F. Moretti, M. Marachetti, *Chirality* **21** (2009) 507-518.
142. R. R. Nageswara, R. A. Narasa, D. Nagaraju, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **42** (2006) 347-353.
143. R. Cirilli, S. Alcaro, R. Fioravanti, D. Secci, S. Fiore, T. F. La, F. Ortuso, *J. Chromatogr. A* **1216** (2009) 4673-4678.
144. K. Tachibana, A. Ohnishi, *J. Chromatogr. A* **906** (2001) 127-154.
145. R. Tatini, O. Sadik, S. Bernhard, H. Abruna, *Anal. Chim. Acta* **534** (2005) 193-198.
146. B. Chankvetadze, I. Kartoza, C. Yamamoto, Y. Okamoto, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **27** (2002) 467-478.
147. Y. Kaida, Y. Okamoto, *Chirality* **4** (1992) 122-124.
148. R. A. McCoy, G. D. Clifton, W. A. Clementi, M. D. Smith, T. Q. Garvey, D. P. Wermeling, S. E. Schwartz, *J. Clin. Pharmacol.* **34** (1994) 816-822.
149. D. Wang, F. Li, Z. Jiang, L. Yu, X. Guo, *Iranian J. Pharm. Res.* **13** (2014) 449-457.
150. G. Hancu, C. Samarghitan, A. Rusu, E. Mircia, *J. Chil. Chem. Soc.* **59** (2014) 2559-2563.
151. J. Rosenberg, F. Gaustafsson, *Informahelthcare* **9** (2008) 293-300.
152. K. Hanada, K. Asari, M. Saito, J.-I. Kawana, M. Mita, H. Ogata, *Eur. J. Pharmacol.* **589** (2008) 194-200.

8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 12. srpnja 1975. godine u Požegi. Osnovnu školu sam završila u Kutjevu. Prva dva razreda srednje farmaceutske škole završavam u Osijeku, a zatim, zbog neposredne ratne opasnosti u tom području Hrvatske, nastavljam školovanje u Zagrebu. Nakon završene srednje škole, upisujem Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu, kemijski smjer, profil diplomirani inženjer kemije, gdje sam diplomirala 13. lipnja 2001. godine. Diplomski rad pod nazivom „*Sinergistički efekt vodikova peroksida pri spektrofotometrijskom određivanju rutenija u obliku rutenij (III)-rutin kompleksa*“ izradila sam u Zavodu za analitičku kemiju PMF-a pod vodstvom doc. dr. sc. Vlaste Vojković.

Od 2001. godine do 2003. godine bila sam zaposlena kao stručni suradnik u *Imunološkom zavodu d.d.*, u Odsjeku za kemijsku kontrolu kvalitete.

Od svibnja 2003. godine do svibnja 2006. godine bila sam zaposlena kao tehnolog analitičar u *Belupu d.d.*, u Službi istraživanja. 2003. godine upisujem Poslijediplomski studij prirodnih znanosti, polje Kemija, smjer Analitička kemija. U Službi istraživanja izradila sam eksperimentalni dio doktorskog rada pod vodstvom dr. sc. Vladimira Vinkovića.

Od svibnja 2006. godine do 2008. godine bila sam zaposlena kao suradnik za razvojnu analitiku u *Veterini d.o.o.*

2008. godine restrukturiranjem *Veterine d.o.o.* u *Generu d.d.* prelazim na radno mjesto suradnika analitičara u Odjelu kontrole kvalitete.

U prosincu 2011. godine imenovana sam voditeljcem Instrumentalnog laboratorija *Genera Analitike d.o.o.*, članice grupe *Genere d.d.* Tu radnu funkciju obavljam do danas.

POPIS PUBLIKACIJA**ZNANSTVENI RADOVI U ČASOPISIMA:**

1. A. Bartolinčić, A. Šporec, V. Drušković, V. Vinković, **Development of Practical and Accurate HPLC Methods for Enantioselective Analysis of Fluoxetine and Citalopram**, *Chemia Analityczna - Chemical Analysis* **51** (2006) 509-526.
2. H. Mikuldaš, I. Capanec, A. Šporec, M. Litvić, V. Vinković, **Use of Enantioselective Liquid Chromatography for Preparation of Pure Atenolol Enantiomers**, *Journal of Separation Science* **28** (2005) 251-25.
3. A. Bartolinčić, V. Drušković, A. Šporec, V. Vinković, **Development and validation of HPLC methods for the enantioselective analysis of bambuterol and albuterol**, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **36** (2004) 1003-1010.

POSTERSKA PRIOPĆENJA NA ZNANSTVENIM SKUPOVIMA:

1. I. Capanec, M. Litvić, A. Bartolinčić, V. Drušković, A. Šporec, **Sinteza simetričnih biarila iz aril-halogenida katalizirana kompleksima nikla i paladija uz aktivni cink kao stehiometrijski reducens**, *XIX. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Zagreb, 2005.
2. I. Capanec, M. Litvić, I. Pogorelić, A. Bartolinčić, V. Drušković, A. Šporec, M. Lovrić, G. Ljubić, M. M. Tibi, Š. Koretić, T. Patik-Mikšaj, **Željezov(III) klorid / tetraetil-ortosilikat kao učinkovit katalitički sustav za Biginellijevu sintezu dihidropirimidinona**, *XIX. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Zagreb, 2005.
3. V. Drušković, M. Litvić, A. Bartolinčić, A. Šporec, V. Vinković, **Mehanizam kiralnog prepoznavanja 1,4-dihidropiridina na polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama**, *XIX. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Zagreb, 2005.
4. V. Drušković, M. Litvić, A. Bartolinčić, A. Šporec, V. Vinković, **Chiral recognition mechanism of 1, 4-dihydropyridines on amylose tris(3, 5-dimethylphenyl carbamate) chiral stationary phase**, *Parma, Italija*, 2005.
5. V. Drušković, A. Šporec, A. Bartolinčić, V. Vinković, **Chiral recognition mechanism of β -amino alcohols on polysaccharide-based chiral stationary phase**, *Parma, Italija*, 2005.

USMENO PRIOPĆENJE NA ZNANSTVENIM SKUPOVIMA:

1. A. Šporec, I. Capanec, V. Drušković, A. Bartolinčić, V. Vinković, **Kiralno prepoznavanje beta-aminoalkohola polisaharidnim kiralnim nepokretnim fazama, XIX. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera**, Opatija, 2005.

DODATAK

Tablica A. Raspodjela i fiziološki utjecaj adrenergičkih receptora u tijelu

TKIVO	TIP RECEPTORA	FIZIOLOŠKI UTJECAJ
<i>Glatki mišići krvnih žila</i>	α -1 i α -2 β -2	<i>Sužavanje krvnih žila</i> <i>Širenje krvnih žila</i>
<i>Srce</i>	β -1 α -1	<i>Tahikardija i povećanje</i> <i>kontraktilnosti srca</i> <i>Povećanje kontraktilnosti srca</i>
<i>Bronhije</i>	β -2	<i>Opuštanje bronhija</i>
<i>Trombociti</i>	α -2	<i>Nakupljanje trombocita</i>
<i>Bubrezi</i>	α -1 i α -2 β -1 i β -2	<i>Sužavanje krvnih žila</i> <i>Oslobađanje renina i inhibicija</i> <i>ponovne apsorpcije natrija</i>
<i>Masne stanice</i>	α -2 β -1, β -2 i β -3*	<i>Inhibicija lipolize</i> <i>Lipoliza</i>

* Nije poznato točno djelovanje na β -3 masne stanice.

1. Identifikacija *p*-metilstiren-oksida (31)

- IR-film, ν_{max} / cm^{-1} : 3443, 3023, 2922, 2867, 1724, 1606, 1575, 1515, 1474, 1450, 1427, 1350, 1380, 1350, 1288, 1256, 1200, 1182, 1169, 1128, 1086, 1073, 1040, 1020, 899, 880, 847, 815, 777, 749.

2. Identifikacija 1-(*p*-bromfenil)-2-jodetanola (33)

- IR-KBr, ν_{max} / cm^{-1} : 3263, 2952, 2920, 1901, 1588, 1484, 1410, 1396, 1173, 1128, 1072, 1009, 971, 946, 806, 789, 716, 644, 623.
- ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm : 1,87-1,89 (2H; m; CH₂I); 3,13-3,15 (1H; m; OH); 12,09 (1H; s; CHOH); 5,72-5,73 (2H; d; *J* = 8,24 Hz; arom.); 5,9-5,92 (2H; d; *J* = 8,33 Hz; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ / ppm : 13,46; 74,19; 129,23; 132,51; 143,43.

3. Identifikacija *p*-bromstiren-oksida (34)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3089, 3063, 3047, 3027, 3009, 2991, 2974, 1699, 1629, 1590, 1500, 1419, 1393, 1109, 1071, 1009, 988, 913, 879, 782, 728.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 2,69-2,70 (1H; m; CH₂O); 3,09 (1H; t; *J* = 4,6 Hz; CH₂O); 3,77 (1H; s; CHO); 7,1 (2H; d; *J* = 8,3 Hz; arom.); 7,42 (2H; d; *J* = 8,3 Hz arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz CDCl₃) δ / ppm : 51,05; 51,70; 121,92; 127,04; 131,54; 136,63.

4. Identifikacija (*RS*)-2-(*N*-fenil)amino-1-fenil-etanola (43a) i (*RS*)-2-(*N*-fenil)amino-2-fenil-etanola (43b)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3399, 3085, 3057, 3027, 2875, 1603, 1505, 1453, 1431, 1318, 1263, 1196, 1180, 1156, 1122, 1063, 1028, 993, 914, 871, 751, 700.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 3,22-3,25 (0,6H; m; CH₂N; (43a)); 3,35-3,38 (0,6H; m; CH₂N; (43a)); 3,63-3,65 (0,4H; m; CH₂OH; (43b)); 3,82-3,84 (0,4H; m; CH₂OH; (43a)); 4,41-4,43 (0,4H; m; CHN; (43b)); 4,84-4,86 (0,6H; m; CHOH; (43a)); 6,64-6,66 (1H; m; arom.); 6,53-6,54 (1H; m; arom.); 7,07-7,10 (1H; m; arom.); 7,17-7,21 (1H; m; arom.); 7,23-7,43 (6H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75MHz CDCl₃) δ / ppm : 51,66 (43b); 59,75 (43b); 67,01 (43a); 72,16 (43a); 113,43; 113,74; 125,71; 126,55; 129,15; 140,00; 141,85.

5. Identifikacija (RS)-2-(N-p-nitrofenil)amino-1-fenil-etanola (44a) i (RS)-2-(N-p-nitrofenil)amino-2-fenil-etanola (44b)

- *IR (film) ν_{max} / cm^{-1}* : 3369, 3085, 3065, 3030, 2970, 2929, 2881, 1602, 1529, 1505, 1475, 1455, 1380, 1305, 1285, 1185, 1161, 1131, 1113, 1071, 1029, 1000, 949, 834, 816, 754, 702, 667, 629.
- *¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 3,71-3,85 (2H; m; CH₂N); 3,88-3,96 (1H; m; NH); 4,56-4,59 (1H; m; CHOH); 4,89 (1H; s; OH); 6,59 (2H; d; $J = 9,3$ Hz; arom.); 7,22-7,39 (5H; m; arom.); 7,93 (2H; d; $J = 9,3$ Hz; arom.).
- *¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 61,23; 67,51; 113,01; 127,09; 128,12; 128,77; 129,87; 138,60; 141,41; 155,48.

6. Identifikacija (RS)-2-(N-p-metoksifenil)amino-1-fenil-etanola (45a) i (RS)-2-(N-p-metoksifenil)amino-2-fenil-etanola (45b)

- *IR (film) ν_{max} / cm^{-1}* : 3000, 2888, 2650, 2524, 1685, 1585, 1497, 1455, 1403, 1281, 1154, 1141, 1071, 1005, 975, 905, 829, 796, 740, 694, 674, 639.
- *¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 3,61 (3H; s; OCH₃); 3,62-3,74 (1H; m; CH₂N); 3,76-3,84 (1H; m; CH₂N); 4,31-4,35 (1H; m; CHOH); 6,49-6,52 (2H; m; arom.); 6,60-6,63 (2H; m; Ar); 7,16-7,38 (5H; m; arom.).
- *¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 56,41; 62,80; 68,19; 115,86; 116,55; 127,37; 128,41; 129,71; 143,11; 143,79; 153,69.

7. Identifikacija (RS)-2-(N-benzil-N-izopropil)amino-1-fenil-etanola (46a) i (RS)-2-(N-benzil-N-izopropilfenil)amino-2-fenil-etanola (46b)

- *IR (film) ν_{max} / cm^{-1}* : 3430, 3085, 3062, 3028, 3003, 2941, 2872, 2837, 1603, 1585, 1495, 1453, 1404, 1387, 1367, 1332, 1243, 1202, 1165, 1115, 1089, 1077, 1060, 1028, 1005, 963, 913, 896, 881, 845, 830, 755, 732, 632, 621, 611.
- *¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm* : 0,96 (3H; d; $J = 6,5$ Hz; NCH(CH₃)₂); 1,08 (3H; d; $J = 6,7$ Hz; NCH(CH₃)₂); 2,46-2,61 (2H; m; CH₂N); 2,96-3,07 (1H; m; NCH(CH₃)₂); 3,54 (1H; d; $J = 13,6$ Hz; CH₂Ph); 3,80 (1H; d; $J = 13,6$ Hz; CH₂Ph); 4,11 (1H; s; OH); 4,48-4,53 (1H; m; CHOH); 7,23-7,33 (10H; m; arom.).
- *¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm* : 15,03; 20,46; 49,71; 54,55; 57,37; 69,00; 125,62; 126,96; 127,08; 128,02; 128,26; 128,51; 139,28; 142,38.

8. Identifikacija (RS)-2-(N-benzil-N-tert-butil)amino-1-fenil-etanola (47a) i (RS)-2-(N-benzil-N-tert-butil)amino-2-fenil-etanola (47b)

- IR (KBr) ν_{max} / cm^{-1} : 3368, 3060, 3030, 2990, 2968, 2927, 2893, 2835, 1494, 1463, 1450, 1407, 1367, 1342, 1323, 1250, 1217, 1197, 1118, 1098, 1083, 1070, 1057, 1026, 982, 943, 907, 895, 853, 762, 751, 731, 698, 615, 601.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 1,20 (9H; s; NC(CH₃)₃); 2,65-2,77 (2H; m; CH₂N); 3,57-3,62 (2H; m; CH₂Ph); 4,02 (1H; m; OH); 7,14-7,36 (10H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz CDCl₃) δ / ppm : 27,41; 55,59; 59,77; 70,41; 125,69; 127,00; 127,12; 128,07; 128,27; 128,46; 141,52; 142,69.

9. Identifikacija (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-1-fenil-etanola (48a) i (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-2-fenil-etanola (48b)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3648, 3436, 3166, 3085, 3062, 3005, 2935, 2885, 2836, 2718, 1952, 1811, 1602, 1585, 1492, 1455, 1405, 1372, 1329, 1244, 1201, 1176, 1152, 1121, 1073, 1062, 1027, 1003, 974, 913, 873, 748, 698, 649, 635, 619.
- ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm : 2,62-2,70 (2H; m; CH₂N); 3,57-3,63 (4H; m; CH₂Ph); 4,70 (1H; t; CHOH, *J* = 6,7 Hz); 4,91 (1H; s; OH); 7,17-7,29 (15H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz CD₃OD) δ / ppm : 59,93; 62,59; 72,60; 127,52; 128,16; 128,45; 129,22; 129,37; 130,20; 140,53; 144,61.

10. Identifikacija (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-1-p-metilfenil-etanola (49a) i (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-2-p-metilfenil-etanola (49b)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3351, 3025, 2969, 2923, 2869, 1657, 1615, 1569, 1514, 1456, 1412, 1380, 1342, 1309, 1229, 1198, 1179, 1161, 1107, 1080, 1054, 1021, 951, 895, 850, 816, 773, 720, 699, 662, 642.
- ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm : 2,19 (0,4H; s; CH₃, (49a)); 2,21 (1,6H; s; CH₃); 3,20-3,21 (1,6H; m; CH₂N); 3,22-3,28 (0,4H; m; CH₂OH, (49a)); 3,42-3,45 (3,2H; m; CH₂Ph); 3,48-3,49 (1,3H; m; CH (49b)); 6,99-7,15 (14H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ / ppm : 20,91; 59,63; 63,19; 74,85; 127,07; 127,22; 128,21; 129,03; 129,49; 136,39; 137,9.

11. Identifikacija (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-1-p-bromfenil-etanola (50a) i (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-2-p-bromfenil-etanola (50b)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3422, 3084, 3062, 3025, 3004, 2938, 2926, 2880, 2826, 2800, 1601, 1585, 1493, 1453, 1410, 1393, 1372, 1363, 1320, 1285, 1238, 1198, 1171, 1153, 1118, 1073, 1021, 1008, 965, 945, 923, 912, 893, 877, 818, 755, 743, 701, 665.
- ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm: 2,65 (1,33H; d; $J = 6,6$ Hz; CH₂N (**50a**)); 3,31 (0,66H; t; $J = 1,31$ Hz; CH₂OH, (**50a**)); 3,55-3,66 (4H; m; CH₂Ph); 3,79 (2H; s; CHN, (**50b**)); 4,65-4,69 (1H; m; CHOH, (**50a**)); 7,07 (2H; d; $J = 7,5$ Hz; arom.); 7,23 (8H; s; arom.); 7,33-7,39 (4H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ / ppm: 53,48; 55,39; 60,11; 62,42; 64,31; 72,15; 121,99; 128,19; 129,40; 129,56; 130,21; 132,26; 140,57; 141,27; 144,27.

12. Identifikacija glicidil-fenil-etera (53)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3415, 2970, 2950, 2915, 2835, 2785, 1554, 1553, 1447, 1410, 1385, 1300, 1250, 1200, 1130, 1110, 1090, 1037, 997, 979, 953, 923, 872, 843, 817, 790, 770, 740, 710, 647.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm: 2,66-2,68 (1H; m); 2,80-2,83 (1H; m); 3,25-3,30 (1H; m); 3,83-3,89 (1H; m); 4,12-4,17 (1H; m); 6,87-6,95 (3H; m; arom.); 7,20-7,32 (2H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm: 44,13; 49,71; 68,30; 114,33; 120,90; 129,25; 158,29.

13. Identifikacija (RS)-1-(N-fenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (57)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3391, 3057, 3041, 2929, 2873, 1601, 1497, 1457, 1434, 1363, 1302, 1292, 1245, 1174, 1154, 1109, 1080, 1042, 994, 938, 885, 814, 753, 693.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm: 3,21-3,41 (2H; m; CH₂N); 3,55-3,65 (2H; m; OH, NH); 3,93-4,02 (2H; m; OCH₂); 4,18-4,30 (1H; m; CHOH); 6,65-6,79 (3H; m; arom.); 6,84-7,05 (3H; m; arom.); 7,11-7,33 (4H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm: 46,64; 68,49; 69,78; 113,32; 114,34; 118,07; 121,10; 129,17; 129,39; 147, 59; 158,18.

14. Identifikacija (RS)-1-(N-p-nitrofenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (58)

- IR (film) v_{\max} / cm^{-1} : 3391, 3071, 2969, 2928, 1603, 1532, 1497, 1473, 1379, 1307, 1243, 1187, 1154, 1113, 1045, 998, 948, 886, 857, 834, 814, 754, 693, 666, 631.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 2,99-3,00 (1H; m; NH); 3,36-3,57 (2H; m; CH_2N); 4,02-4,17 (2H; m; OCH_2); 4,31 (1H; s; CHOH); 5,15 (1H; s; OH); 6,57 (2H; d; $J = 9,1$ Hz; arom.); 6,84-7,04 (3H; m, arom.); 7,27-7,34 (2H; m; arom.); 8,05 (2H; d; $J = 9,1$ Hz; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz CDCl_3) δ / ppm: 45,55; 68,34; 69,36; 111,18; 114,29; 121,41; 126,28; 129,51; 137,84; 153,27; 157,92.

15. Identifikacija (RS)-1-(N-p-metoksifenil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (59)

- IR (KBr) v_{\max} / cm^{-1} : 3258, 2834, 1599, 1500, 1495, 1453, 1300, 1252, 1233, 1183, 1117, 1081, 1033, 902, 827, 748, 690, 522.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 3,19-3,26 (1H; m; CH_2N); 3,34-3,39 (1H; m; CH_2N); 3,74 (3H; s; OCH_3); 4,02-4,06 (2H; m; OCH_2); 4,20-4,24 (1H; m; CHOH); 6,62-6,65 (2H; m; arom.); 6,77-6,80 (2H; m; arom.); 6,90-7,00 (3H; m; arom.); 7,24-7,31 (2H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 47,63; 55,66; 68,69; 70,00; 114,43; 114,66; 114,82; 121,15; 129,43; 142,08; 152,48; 158,31.

16. Identifikacija (RS)-1-(N-benzil-N-izopropil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (60)

- IR (film) v_{\max} / cm^{-1} : 3431, 3085, 3063, 3029, 2965, 2929, 2872, 2836, 1560, 1587, 1118, 1078.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 0,98-1,06 (6H; m; $\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$); 2,52-2,62 (2H; m; CH_2N); 2,90-2,99 (1H; m; $\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$); 3,49-3,54 (1H; m; CH_2Ph); 3,65-3,70 (1H; m; CH_2Ph); 3,88-3,91 (3H; m; OCH_2 , OH); 6,85-6,93 (4H; m; arom.); 7,20-7,29 (6H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm: 15,88; 19,44; 49,76; 51,51; 54,53; 65,90; 70,06; 114,26; 120,53; 126,79; 128,14; 128,35; 129,08; 139,52; 158,53.

17. Identifikacija (RS)-1-(N-benzil-N-tert-butil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (61)

- IR (KBr) ν_{max} / cm^{-1} : 3517, 3455, 3347, 3255, 2940, 2715, 2662, 2591, 1638, 1599, 1588, 1496, 1459, 1410, 1387, 1321, 1298, 1244, 1189, 1172, 1121, 1047, 956, 819, 756, 740, 698, 508, 469.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 1,62-1,68 (9H; s; NC(CH₃)₃); 3,21-3,25 (1H; m; CH₂N); 3,30-3,33 (1H; m; CH₂N); 3,57-3,60 (1H; m; CH₂Ph); 3,65-3,68 (1H; m; CH₂Ph); 3,83-3,88 (2H; m; OCH₂); 4,76-4,79 (1H; m; CHOH); 6,70-6,72 (2H; m; arom.); 6,94-6,95 (1H; m; arom.); 7,23-7,26 (2H; m; arom.); 7,38-7,44 (3H; m; arom.); 7,83-7,84 (2H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 24,94; 25,19; 25,96; 45,91; 53,22; 54,51; 64,89; 68,55; 114,05; 121,01; 128,30; 128,89; 129,29; 132,56; 127,87.

18. Identifikacija (RS)-1-(N,N-dibenzil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (62)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3430, 3080, 3060, 3020, 2940, 2920, 2870, 2820, 2800, 1600, 1585, 1492, 1450, 1370, 1325, 1300, 1290, 1245, 1172, 1152, 1140, 1120, 1105, 1077, 1042, 1030, 970, 927, 912, 880, 810, 750, 738, 698.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 2,64 (2H; d; CH₂N, $J = 6,6$ Hz); 3,24 (1H; s; OH); 3,51 (2H; d; $J = 13,5$ Hz; CH₂Ph); 3,76 (2H; d; $J = 13,2$ Hz; CH₂Ph); 3,84 (2H; d; $J = 4,7$ Hz; OCH₂); 4,05-4,11 (1H; m; CHOH); 6,82 (2H; d; $J = 8,0$ Hz; arom.); 6,92 (1H; t; $J = 7,1$ Hz; arom.); 7,21-7,31 (12H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 55,93; 58,60; 66,34; 70,14; 113,29; 120,81; 126,23; 128,2; 129,00; 129,44; 136,65; 157,52.

19. Identifikacija (RS)-1-(N-izopropil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (63)

- IR (film) ν_{max} / cm^{-1} : 3310, 3040, 2960, 2920, 2870, 2830, 1600, 1585, 1490, 1470, 1445, 1380, 1355, 1330, 1320, 1295, 1270, 1240, 1170, 1150, 1110, 1085, 1035, 1020, 990, 975, 950, 925, 895, 850, 815, 760, 700, 640, 620.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 1,09 (6H; d; NCH(CH₃)₂, $J = 6,2$ Hz); 2,62-2,91 (5H; m; CH₂NHCH(CH₃)₂, OH); 3,95-3,98 (2H; m; OCH₂); 4,01-4,06 (1H; m; CHOH); 6,90-6,98 (3H; m; arom.); 7,25-7,31 (2H; m; arom.).
- ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm : 22,11; 22,37; 48,44; 49,37; 67,73; 70,47; 114,13; 120,48; 129,09; 158,46.

20. Identifikacija (RS)-1-(N-tert-butil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (64)

- IR (film) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3300, 3050, 2960, 2920, 2850, 2750, 1595, 1580, 1490, 1445, 1390, 1365, 1330, 1295, 1235, 1205, 1172, 1150, 1130, 1107, 1082, 1035, 1015, 990, 955, 913, 885, 830, 812, 758, 693, 635, 615.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 1,15 (9H; s; $\text{NHC}(\text{CH}_3)_3$); 2,67-2,71 (1H; m; CH_2N); 2,84-2,88 (1H; m; CH_2N); 3,08 (2H; s; NH, OH); 3,96-4,0 (3H, m, CHOH , OCH_2); 6,92-6,99 (3H; m; arom.); 7,27-7,32 (2H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 28,79; 44,66; 50,32; 68,30; 70,36; 114,32; 120,71; 129,26; 158,52.

21. Identifikacija (RS)-1-(N-benzil)amino-3-fenoksi-propan-2-ola (65)

- IR (film) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3300, 3060, 3025, 2920, 2860, 2840, 1598, 1585, 1490, 1450, 1383, 1334, 1300, 1290, 1245, 1172, 1152, 1125, 1080, 1042, 995, 970, 923, 882, 812, 752, 692, 635.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 2,73-2,89 (2H; m; CH_2N); 2,97 (2H; s; OH, NH); 3,81 (2H; d; CH_2Ph , $J = 1,9$ Hz); 3,93 (2H; d; OCH_2 , $J = 5,2$ Hz); 4,04-4,10 (1H; m; CHOH); 6,83-6,97 (3H; m; arom.); 7,26-7,36 (7H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 50,99; 53,18; 67,79; 70,14; 114,05; 120,45; 126,71; 127,81; 128,03; 129,02; 139,01; 158,18.

22. Identifikacija (RS)-2-(N-fenil)amino-cikloheksanola (71)

- IR (film) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3352, 3036, 2933, 2858, 1603, 1499, 1451, 1322, 1255, 1176, 1126, 1066, 1041, 993, 935, 867, 750, 693, 504.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 0,94-1,08 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,21-1,38 (4H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,65-1,73 (2H; m; CH_2 , cikloheksil); 2,02-2,07 (1H; m; CH_2 ; cikloheksil); 3,06-3,12 (1H; m; CHNH); 3,26-3,32 (1H; m; CHOH); 6,62-6,76 (5H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 24,01; 24,65; 31,25; 33,00; 59,68; 74,05; 113,99; 117,86.

23. Identifikacija (RS)-2-(N-hidroksifenil)amino-cikloheksanola (72)

- IR (KBr) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3397, 3192, 2942, 2791, 1625, 1601, 1558, 1510, 1477, 1459, 1432, 1377, 1352, 1287, 1231, 1177, 1122, 1100, 1067, 994, 822, 759, 573, 547.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 1,14-1,50 (4H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,73-1,76 (2H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,82-1,86 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 2,04-2,12 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 3,26-3,34 (1H; m; CHNH); 3,67-3,75 (1H; m; CHOH); 6,91-7,08 (2H; m; arom.); 7,27-7,41 (2H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 25,02; 25,27; 27,88; 35,54; 67,93; 71,60; 117,96; 121,21; 121,93; 126,61; 132,22; 152,59.

24. Identifikacija (RS)-trans-2-(N-piridil)amino-cikloheksanola (73)

- IR (KBr) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3393, 3292, 3187, 2934, 2856, 1616, 1602, 1570, 1527, 1505, 1451, 1370, 1282, 1233, 1201, 1149, 1069, 1047, 990, 989, 768, 739.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 1,14-1,45 (4H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,69-1,76 (2H; m; CH_2 , cikloheksil); 2,02-2,06 (2H; m; CH_2 , cikloheksil); 3,38-3,53 (4H; m; CHOH, CHNH); 6,50-6,59 (2H; m; arom.); 7,37-7,43 (1H; m; arom.); 7,87-7,89 (1H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 25,43; 25,85; 32,89; 35,59; 58,29; 76,02; 110,60; 113,37; 138,87; 147,53; 160,73.

25. Identifikacija (RS)-2-(N-benzil)amino-ciklopentanola (74)

- IR (KBr) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3313, 2970, 2782, 2574, 1581, 1467, 1454, 1384, 1344, 1216, 1114, 1084, 1059, 1032, 970, 919, 880, 746, 696, 618, 577, 490.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 0,50-0,54 (2H; m; CH_2 , ciklopentil); 0,66-0,70 (2H; m; CH_2 , ciklopentil); 1,76-1,82 (2H; m; CH_2 , ciklopentil); 2,74-2,77 (1H; m; CHNH); 2,79-2,84 (1H; m; CHOH); 5,88-5,92 (5H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 18,74; 25,62; 31,50; 41,48; 63,51; 73,19; 127,11; 127,32; 127,37; 128,21; 129,82.

26. Identifikacija *trans*-(*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-cikloheksanola (75)

- *IR (KBr) ν_{max} / cm^{-1}* : 3195, 3120, 2946, 2752, 1535, 1457, 1426, 1389, 1351, 1083, 1032, 1010, 907, 854, 811, 781, 728, 692, 655, 570, 486.
- *¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 1,24-1,38 (4H; m; CH₂, cikloheksil); 1,73-1,83 (2H; m; CH₂, cikloheksil); 2,03-2,06 (1H; m; CH₂, cikloheksil); 2,20-2,24 (1H; m; CH₂, cikloheksil); 2,82-2,91 (1H; m; CHNH); 3,60-3,66 (1H; m; CHOH); 4,13-4,37 (2H; m; NHCH₂Ph); 7,44-7,47 (3H; m; arom.); 7,53-7,56 (2H; m; arom.).
- *¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 24,93; 25,32; 28,09; 35,66; 44,51; 63,55; 71,50; 130,41; 130,66; 131,14; 132,88.

27. Identifikacija (*RS*)-2-(*N*-benzil)amino-ciklooktanola (76)

- *IR (KBr) ν_{max} / cm^{-1}* : 3271; 3062; 3029; 2961.8; 2855; 1688.5; 1603; 1495; 1453; 1261; 964.4.
- *¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ / ppm* : 1,44-1,61 (8H; m; CH₂, ciklooktil); 2,11-2,17 (5H; m); 2,86-2,93 (2H; m; NH, OH); 3,59-3,63 (1H; m; CHOH); 3,80-3,84 (2H; m; CH₂Ph); 7,18-7,30 (2H; m; arom), 7,49-7,67(2H; m; arom.), 7,87-7,90 (1H; m; arom.).
- *¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm* : 25,42; 26,12; 26,38; 27,18; 33,16; 34,83; 54,85; 55,46; 68,99; 127,89; 128,06; 128,78; 128,82; 134,27.

28. Identifikacija (*RS*)-2-(*N,N*-dibenzil)amino-ciklopentanola (77)

- *IR (film) ν_{max} / cm^{-1}* : 3307, 3062, 3027, 2951, 1603, 1494, 1453, 1362, 1110, 1074, 1028, 737.
- *¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ / ppm* : 1,42-1,54 (1H; m; CH₂, ciklopentil); 1,60-1,71 (2H; m; CH₂, ciklopentil); 1,93-2,98 (3H; m; CH₂, ciklopentil); 3,01-3,04 (1H; m; CHN); 3,54-3,58 (1H; m; CHOH); 3,80-3,86 (4H; m; NCH₂Ph); 4,11-4,13 (1H; m; CHOH); 7,28-7,43 (10H; m; arom.).
- *¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ / ppm* : 19,94; 22,07; 31,61; 52,98; 54,94; 68,69; 73,67; 126,80; 128,01; 128,15; 128,24; 128,45; 139,99; 140,12.

29. Identifikacija (RS)-2-(N,N-dibenzil)amino-cikloheksanola (78)

- IR (KBr) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3434, 2942, 2867, 1494, 1457, 1415, 1388, 1361, 1330, 1249, 1209, 1189, 1084, 1029, 990, 898, 872, 750, 704.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 1,11-1,19 (2H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,30-1,37 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,67-1,72 (2H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,85-1,88 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 2,04-2,06 (1H; m; CH_2 ; cikloheksil); 2,24-2,25 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 2,96-2,99 (1H; m; CHN); 3,83-3,87 (1H; m; CHOH); 4,25 (1H; m); 4,31-4,34 (1H; m); 4,43-4,45 (1H; m); 4,50-4,53 (1H; m); 4,74-4,76 (1H; m); 7,43-7,54 (8H; m; arom.); 7,62-7,63 (2H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ / ppm : 24,26; 24,70; 25,60; 35,72; 55,75; 56,64; 68,56; 68,73; 130,68; 130,72; 131,28; 131,63; 131,82; 132,52.

30. Identifikacija (S)-(-)-3-fenoksi-1,2-propandiola (82)

- IR (film) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3300, 3060, 2930, 2870, 1600, 1590, 1490, 1475, 1460, 1385, 1330, 1300, 1290, 1240, 1172, 1150, 1115, 1080, 1045, 1010, 992, 932, 882, 815, 755, 692, 612.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 3,43-3,66 (2H; m; OH); 3,72-3,93 (2H; m; CH_2OH); 3,95-4,01 (2H; m; OCH_2Ph); 4,13-4,18 (1H; m; CHOH); 6,87-6,90 (2H; m; arom.); 6,96-7,01 (1H; m; arom.); 7,14-7,30 (2H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 62,86; 68,28; 70,02; 114,15; 120,78; 129,21; 158,09.

31. Identifikacija (R)-3-fenoksi-2-acetoksi-1-brompropana (83)

- IR (film) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3460, 3050, 3030, 2970, 2930, 2870, 1740, 1595, 1585, 1490, 1465, 1455, 1423, 1370, 1290, 1230, 1170, 1150, 1120, 1110, 1080, 1045, 995, 965, 937, 882, 825, 810, 775, 753, 690, 625.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 2,14 (3H; s; CH_3 , acetat); 3,62-3,72 (2H; m; CH_2Br); 4,19 (2H; t; OCH_2 , $J = 6,0$ Hz); 5,33-5,36 (1H; m; CHOAc); 6,93-7,03 (3H; m; arom.); 7,30-7,35 (2H; m; arom.).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 20,55; 30,15; 66,35; 70,44; 114,25; 121,10; 129,22; 157,80; 169,85.

32. Identifikacija (*R,R*)-meso-ciklopentan-1,2-epoksida (*R,R*)-66

- IR (KBr) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 3013, 2960, 2882, 1481, 1457, 1394, 1344, 1306, 1254, 1204, 1089, 1006, 967, 930, 850, 800, 692, 617, 576.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 1,54-1,64 (2H; m; CH_2 , ciklopentil); 1,83-2,08 (4H; m; CH_2 , ciklopentil); 3,21-3,82 (2H; m; CH_2 , ciklopentil).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 20,10; 30,84; 31,80; 51,48.

33. Identifikacija (*R,R*)-meso-cikloheksan-1,2-epoksida (*R,R*)-67

- IR (KBr) $\nu_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$: 2997, 2952, 2861, 2685, 1501, 1458, 1475, 1459, 1370, 1352, 1290, 1239, 1173, 1127, 1110, 1067, 822, 760, 576.
- $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ / ppm : 1,38-1,48 (4H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,71-1,78 (4H; m; CH_2 , cikloheksil); 1,81-1,86 (1H; m; CH_2 , cikloheksil); 2,98-2,99 (1H; m; CH_2 , cikloheksil).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CD_3OD) δ / ppm : 24,62; 24,20; 32,13; 32,14; 51,42; 51,41.

β -AMINOALKOHOLI 1. SKUPINE
PODSKUPINA 1A - N-monosupstituirani aromatski spojevi

Tablica 1A-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralpak AD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
43a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,25	1,22	1,92	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,63	1,24	2,51	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,96	1,23	2,76	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	2,25	1,23	2,97	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	1,34	1,12	1,24	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	1,67	1,12	1,39	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	2,37	1,13	1,68	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	4,65	1,13	2,09	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	2,32	1,17	2,27	S-
44a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	5,44	1,41	4,77	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	27,08	1,00	0	-
45a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	2,35	1,30	3,52	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	8,14	1,34	4,62	-

Tablica 1A-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralpak AS-H*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
43a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,39	1,00	0	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	3,06	1,00	0	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	5,16	1,00	0	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	17,54	1,00	0	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	1,26	1,00	0	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,66	1,00	0	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,98	1,00	0	S-
44a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	0	0	0	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	3,22	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	9,39	1,16	2,30	-
45a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	46,70	3,09	0,97	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	13,58	1,02	0,88	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	2,75	1,04	0,61	-

Tablica 1A-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
43a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	2,40	1,85	6,47	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	3,03	1,87	7,54	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	4,16	1,89	8,26	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	2,21	1,62	3,26	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	3,04	1,62	5,44	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	4,06	1,63	6,25	S-
44a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	9,39	2,06	7,69	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	4,54	1,66	6,08	-
45a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	7,31	1,22	2,80	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	4,73	1,08	1,07	-

Tablica 1A-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **43a**, **44a** i **45a** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
43a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,13	1,42	3,88	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	4,54	1,43	4,97	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	8,12	1,41	4,74	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	1,48	1,43	3,53	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	2,44	1,42	4,39	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	4,63	1,39	4,86	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	23,24	1,33	4,97	S-
44a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	24,90	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	101,44	1,03	0,31	-
45a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	10,19	1,25	2,91	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	31,10	1,24	3,32	-

β -AMINOALKOHOLI 1. SKUPINE
PODSKUPINA 1B – *N,N*-disupstituirani alifatski spojevi

Tablica 1B-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **46a**, **47a** i **48a** na koloni *Chiralpak AD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
46a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,85	1,11	0,90	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,15	1,12	1,23	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,57	1,14	1,57	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	2,95	1,13	1,83	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,80	1,05	0,12	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,01	1,05	0,23	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,29	1,05	0,22	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	2,52	1,06	0,46	<i>S</i> -
47a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	3,09	1,69	8,51	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	1,17	1,76	4,59	-
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	7,97	1,46	6,25	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	5,09	1,24	2,58	<i>S</i> -

Tablica 1B-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **46a**, **47a** i **48a** na koloni *Chiralpak AS-H*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
46a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,56	1,24	0,65	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	0,69	1,29	2,04	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	0,85	1,34	2,67	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	1,11	1,38	3,38	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,58	1,07	0,12	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	0,68	1,16	0,44	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	0,74	1,17	0,65	<i>S</i> -
47a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	0,61	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,49	1,00	0	-
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	2,42	1,13	1,43	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,93	1,00	0	<i>S</i> -

Tablica 1B-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **46a**, **47a** i **48a** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
46a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,43	1,30	2,14	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,50	1,31	2,39	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,67	1,33	2,14	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,89	1,31	2,98	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,99	1,26	2,09	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	1,05	1,26	2,33	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,67	1,25	2,46	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,85	1,26	2,68	S-
47a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,34	1,06	0,12	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,48	1,04	0,16	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,79	1,64	4,06	-
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,59	1,30	2,18	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	2,68	1,27	2,20	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	2,32	1,25	2,22	R-

Tablica 1B-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **46a**, **47a** i **48a** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
46a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,81	1,10	0,79	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,09	1,13	1,15	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,45	1,14	1,56	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	2,17	1,17	2,04	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,64	1,09	0,51	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,82	1,09	0,77	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,03	1,11	1,07	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	2,34	1,02	0,35	S-
47a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	1,36	1,10	0,86	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	0,95	1,08	0,55	-
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	4,30	1,34	3,76	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,76	1,28	2,32	S-

β -AMINOALKOHOLI 1. SKUPINE
PODSKUPINA 1C – *N,N*-disupstituirani alifatski spojevi
sa/bez supstitucije fenilnog prstena

Tablica 1C-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralpak AD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	0,81	1,31	2,22	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 50 : 50	0,81	1,33	2,64	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 55 : 45	0,83	1,34	2,71	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	0,86	1,33	2,75	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	0,98	1,33	3,11	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,22	1,37	3,93	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	0,82	1,13	1,18	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,87	1,14	1,39	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,98	1,07	1,44	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,68	1,17	2,19	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,32	1,17	2,27	<i>S</i> -
49a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,22	1,23	1,82	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	3,74	1,09	1,64	-
50a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,64	1,12	1,22	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	3,15	1,19	2,67	-

Tablica 1C-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralpak AS-H*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	0,72	1,09	0,73	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	0,91	1,09	1,09	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	6,32	1,12	1,63	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	3,16	1,16	2,15	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99,5 : 0,5	4,67	1,19	2,28	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,51	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,62	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,12	1,00	0	-
49a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	16,55	1,09	1,99	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	11,85	1,09	1,63	-
50a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	3,11	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,29	1,00	0	-

Tablica 1C-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	2,28	1,31	2,54	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,64	1,32	2,68	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	2,80	1,34	2,78	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	2,83	1,34	2,99	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 40 : 60	1,18	1,28	2,28	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	1,32	1,27	2,47	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	1,76	1,27	2,67	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	1,98	1,27	2,76	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	2,26	1,27	2,98	R-
49a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	6,76	1,94	9,38	-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	2,63	1,63	5,97	-
50a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	6,61	1,27	2,12	-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	2,81	1,08	0,76	-

Tablica 1C-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **48a**, **49a** i **50a** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
48a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	1,02	1,23	1,93	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	1,14	1,27	2,57	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 78 : 22	1,21	1,28	2,71	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,28	1,28	2,69	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 82 : 18	1,34	1,29	2,74	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	0,64	1,22	1,46	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 65 : 35	0,88	1,24	1,70	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,76	1,25	1,74	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 72 : 28	0,96	1,26	1,90	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	1,02	1,25	1,91	S-
49a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	1,39	1,43	3,31	-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	1,13	1,45	3,34	-
50a	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	1,34	1,41	3,07	-
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	1,01	1,36	2,42	-

β -AMINOALKOHOLI 2. SKUPINE
PODSKUPINA 2A – N-monosupstituirani aromatski spojevi

Tablica 2A-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni **Chiralpak AD**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
57	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	1,22	1,21	2,00	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 65 : 35	1,43	1,23	2,31	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	1,52	1,23	2,38	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	2,55	1,04	0,42	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	7,52	1,05	0,84	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	19,80	1,07	1,49	<i>R</i> -
58	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 65 : 35	1,99	1,09	1,10	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	16,65	1,43	6,18	-
59	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 65 : 35	1,70	1,32	2,66	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	31,71	1,38	5,69	-

Tablica 2A-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni **Chiralpak AS-H**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
57	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 65 : 35	1,32	1,55	3,66	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,84	1,53	3,39	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	3,80	1,64	4,35	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	1,14	1,10	1,17	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	2,12	1,12	1,86	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	3,92	1,14	2,34	<i>R</i> -
58	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 65 : 35	6,69	2,19	8,98	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	18,39	2,15	13,19	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	3,66	2,04	11,43	-
59	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 65 : 35	5,88	1,98	5,49	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	37,59	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	4,02	1,63	6,03	-

Tablica 2A-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
57	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	9,24	1,22	2,65	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	5,86	1,19	2,38	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	4,18	1,18	1,94	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	9,29	1,17	2,15	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	6,10	1,16	1,95	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	4,70	1,16	1,83	R-
58	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	9,19	1,35	3,96	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	9,08	1,19	2,49	-
59	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	5,15	1,13	1,40	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	4,99	1,13	1,45	-

Tablica 2A-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **57**, **58** i **59** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
57	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	2,64	1,84	6,48	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 50 : 50	1,74	1,77	5,74	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	1,61	1,70	4,84	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	1,96	1,59	5,24	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,54	1,55	4,54	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	1,30	1,51	4,00	R-
58	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	1,77	2,18	6,93	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,66	1,89	2,92	-
59	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	1,27	3,64	9,87	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,33	4,11	12,15	-

β -AMINOALKOHOLI 2. SKUPINE
PODSKUPINA 2B – *N,N*-disupstituirani alifatski spojevi

Tablica 2B-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni **Chiralpak AD**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
60	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,19	1,28	2,67	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,44	1,28	2,97	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,86	1,31	2,51	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,86	3,53	1,14	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,72	1,09	1,25	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 98 : 2	4,49	1,05	0,74	<i>R</i> -
61	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,29	1,36	3,68	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,15	1,23	3,40	-
62	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	2,38	1,40	4,99	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	5,29	1,68	7,31	-

Tablica 2B-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni **Chiralpak AS-H**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
60	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,62	1,12	0,76	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	0,84	1,15	0,75	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,22	1,19	1,62	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	2,56	1,28	2,69	<i>S</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,56	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,75	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,04	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	2,46	1,00	0	-
61	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	2,99	1,19	1,96	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,68	1,12	1,07	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	0,91	1,11	1,61	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	2,79	1,00	0	-
62	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	5,96	1,18	2,19	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,14	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,64	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	3,95	1,00	0	-

Tablica 2B-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
60	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	1,29	2,71	5,22	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	1,52	2,78	5,65	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	3,29	3,03	7,90	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	1,64	1,95	3,21	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,22	1,91	5,33	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	1,25	1,90	5,34	R-
61	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	1,06	2,23	3,94	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,03	1,91	5,18	-
62	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	4,87	4,36	4,28	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	3,46	2,05	7,13	-

Tablica 2B-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **60**, **61** i **62** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
60	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,69	1,13	1,00	
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	2,03	1,15	1,29	S-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	2,74	1,07	0,27	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,85	1,07	0,21	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,61	1,13	1,17	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,29	1,15	1,63	S-
	Ψ (heksan, etanol) = 98 : 2	4,03	1,21	2,19	S-
61	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,51	1,12	0,62	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,85	1,06	0,52	-
62	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	2,23	1,08	0,88	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	3,08	1,09	1,19	-

β -AMINOALKOHOLI 2. SKUPINE
PODSKUPINA 2C – N-monosupstituirani alifatski spojevi

Tablica 2C-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni **Chiralpak AD**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
63	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,69	1,23	1,81	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,27	1,26	2,37	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	2,37	1,24	2,87	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	16,17	3,24	3,93	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,59	1,41	2,81	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	1,06	1,42	3,41	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,37	1,53	5,03	R-
64	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,14	1,24	2,27	-
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	0,90	1,32	2,63	-
65	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	2,94	1,21	2,79	-
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	2,79	1,66	7,24	-

Tablica 2C-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni **Chiralpak AS-H**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
63	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,56	1,08	0,30	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	0,93	1,16	1,32	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,54	1,17	1,69	R-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	5,84	1,21	2,76	R-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,30	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,37	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,54	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	0,93	1,00	0	-
64	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	3,72	1,11	1,04	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,54	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	0,92	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,27	1,13	0,21	-
65	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	_*	_*	_*	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,90	2,81	6,39	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	3,15	1,51	4,79	-
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,64	1,26	1,82	-

* Enantiomeri spoja **65** nisu isprani s kolone pri pokretnoj fazi Ψ (heksan, propan-2-ol, dietilamin) = 99 : 1 : 0,1

Tablica 2C-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
63	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,54	1,07	0,15	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	0,99	0,90	0,88	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	1,89	1,12	1,00	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	9,16	1,22	2,83	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,53	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,89	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,74	1,04	0,23	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	8,15	1,20	3,06	<i>R</i> -
64	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	7,19	1,14	1,73	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,48	1,00	0	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	6,35	1,14	1,39	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,46	1,00	0	-
65	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	-*	-*	-*	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,52	1,13	1,64	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	-*	-*	-*	-
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	2,41	1,14	1,78	-

* Enantiomeri spoja **65** nisu isprani s kolone pri pokretnoj fazi koja sadrži Ψ (heksan, propan-2-ol ili etanol, dietilamin) = 99 : 1 : 0,1

Tablica 2C-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **63**, **64** i **65** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
63	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	0,53	3,85	7,69	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 40 : 60	0,55	4,34	9,89	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 50 : 50	0,58	4,99	11,56	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,93	6,89	18,75	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,46	2,66	5,94	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,53	2,87	7,72	<i>R</i> -
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,68	3,15	9,15	<i>R</i> -
64	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	0,51	6,66	11,54	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,43	3,76	5,24	-
65	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 30 : 70	1,20	2,87	7,85	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,91	2,62	6,61	-

β -AMINOALKOHOLI 3. SKUPINE
PODSKUPINA 3A – N-monosupstituirani aromatski spojevi

Tablica 3A-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni **Chiralpak AD**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
71	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,29	1,14	1,32	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,64	1,14	1,52	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	2,28	1,13	1,70	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	4,09	1,11	1,69	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	0,90	1,35	3,04	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,13	1,32	2,72	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	1,38	1,38	3,49	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	1,90	1,40	4,36	<i>R,R</i>
72	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	5,26	1,28	3,20	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,06	1,18	1,88	-
73	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	3,27	1,08	1,21	-
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	1,36	1,15	1,54	-

Tablica 3A-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni **Chiralpak AS**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S	Drugoizlazeći enantiomer
71	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,73	1,09	1,37	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	3,48	1,10	1,65	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 97 : 3	5,97	1,09	1,76	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	15,59	1,02	0,61	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,83	1,10	0,93	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,34	1,11	1,39	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,21	1,14	2,00	<i>R,R</i>
72	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 97 : 3	17,17	1,44	7,20	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	4,74	1,36	5,69	-
73	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 97 : 3	9,36	6,98	13,98	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,86	3,99	15,26	-

Tablica 3A-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
71	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 80 : 20$	1,40	1,17	1,65	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 85 : 15$	1,86	1,14	1,94	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	2,58	1,17	2,47	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	4,96	1,27	3,89	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	1,58	1,07	0,81	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	2,74	1,15	1,16	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	4,80	1,10	1,60	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	10,35	1,13	2,29	<i>R,R</i>
72	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	3,97	1,16	1,95	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	8,91	1,09	1,46	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	1,64	1,08	0,79	-
73	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	1,19	1,06	0,44	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	2,19	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	0,66	1,00	0	-

Tablica 3A-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **71**, **72** i **73** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
71	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 70 : 30$	1,36	1,16	1,44	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 80 : 20$	1,72	1,18	1,93	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 85 : 15$	2,46	1,19	2,42	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	3,45	1,23	2,84	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	1,28	1,07	0,61	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	1,89	1,11	1,31	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	3,07	1,13	1,87	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	6,07	1,17	2,64	<i>R,R</i>
72	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 85 : 15$	3,97	1,19	1,73	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	26,82	1,03	0,41	-
73	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 85 : 15$	1,45	1,19	1,69	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	4,87	1,17	2,39	-

β -AMINOALKOHOLI 3. SKUPINE
PODSKUPINA 3B – N-monosupstituirani alifatski spojevi

Tablica 3B-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralpak AD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
74	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,79	1,08	0,32	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,41	1,09	0,99	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 97 : 3	2,64	1,09	1,24	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,66	1,13	1,56	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,84	1,11	1,51	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 97 : 3	4,16	1,09	1,38	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 98 : 2	6,27	1,08	1,25	<i>R,R</i>
75	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,66	1,00	0	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 97 : 3	3,47	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,56	1,12	1,44	-
76	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,69	1,00	0	-
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 97 : 3	3,05	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,42	1,13	1,32	-

Tablica 3B-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralpak AS-H*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
74	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,76	1,38	2,57	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,35	1,51	4,22	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	2,48	1,66	6,37	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,53	1,09	0,40	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,81	1,11	1,00	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,35	1,15	1,73	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 98 : 2	2,83	1,22	3,00	<i>R,R</i>
75	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,39	1,14	1,12	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,15	1,06	0,71	-
76	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,76	1,00	0	-
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	2,48	1,00	0	-

Tablica 3B-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
74	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 70 : 30$	0,62	1,33	1,39	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 75 : 25$	0,71	1,28	1,33	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 80 : 20$	0,83	1,18	0,95	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	1,62	1,05	0,17	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	3,64	1,00	0	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	4,82	1,00	0	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	0,72	1,00	0	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	1,48	1,08	0,23	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	2,14	1,08	0,79	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	5,25	1,09	1,57	<i>R,R</i>
75	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	2,64	1,08	0,82	-
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	1,98	1,09	0,84	-
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 70 : 30$	0,54	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	2,86	1,11	1,32	-
76	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	0,96	1,09	0,86	-
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	0,85	1,10	0,76	-
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 70 : 30$	0,31	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	0,85	1,17	1,45	-

Tablica 3B-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **74**, **75** i **76** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
74	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 75 : 25$	0,89	1,43	1,22	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 80 : 20$	0,97	1,36	1,06	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	1,77	1,22	1,05	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	3,10	1,18	1,03	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	4,78	2,16	5,45	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	0,67	1,63	1,69	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	1,11	1,44	1,28	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	2,49	1,29	1,14	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	3,44	1,08	0,23	<i>R,R</i>
75	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 75 : 25$	0,74	1,19	1,06	-
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	5,98	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	0,85	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	1,31	1,00	0	-
76	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 75 : 25$	0,61	1,17	0,86	-
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	6,73	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	0,59	1,00	0	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	0,51	1,00	0	-

β -AMINOALKOHOLI 3. SKUPINE
PODSKUPINA 3C – *N,N*-disupstituirani alifatski spojevi

Tablica 3C-AD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni **Chiralpak AD**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
77	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	1,34	1,11	1,19	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	2,26	1,13	1,64	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	4,39	1,15	2,11	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	6,25	1,16	2,38	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,91	1,25	2,71	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	1,47	1,24	2,85	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 98 : 2	2,68	1,23	3,07	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	4,57	1,24	3,68	<i>R,R</i>
78	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	2,41	1,19	2,86	-
	Ψ (heksan, etanol) = 98 : 2	2,66	1,09	1,29	-

Tablica 3C-AS. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni **Chiralpak AS-H**

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
77	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	0,53	1,21	0,88	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 95 : 5	0,94	1,20	1,71	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 98 : 2	1,81	1,22	2,32	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	2,85	1,24	2,69	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	0,70	1,00	0	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	0,67	1,06	0,43	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 99 : 1	2,16	1,10	1,74	<i>R,R</i>
	Ψ (heksan, etanol) = 99,5 : 0,5	3,08	1,11	2,49	<i>R,R</i>
78	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 99 : 1	1,05	1,88	5,89	-
	Ψ (heksan, etanol) = 99,5 : 0,5	0,98	1,60	1,70	-

Tablica 3C-OJ. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralcel OJ*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
77	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 80 : 20$	1,65	2,21	3,99	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 85 : 15$	2,32	2,24	4,74	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	3,09	2,29	5,47	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	5,14	2,24	7,56	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 80 : 20$	1,10	1,61	4,74	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	1,32	1,76	6,41	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	2,75	1,68	6,56	<i>R,R</i>
78	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	1,42	5,45	7,67	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	1,27	4,25	12,14	-

Tablica 3C-OD. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera spojeva **77** i **78** na koloni *Chiralcel OD*

Spoj	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s	Drugoizlazeći enantiomer
77	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	1,36	1,29	1,94	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 95 : 5$	2,19	1,34	3,32	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 98 : 2$	4,47	1,37	4,49	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 90 : 10$	0,86	1,34	2,58	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	1,17	1,51	2,74	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 98 : 2$	2,14	1,49	5,00	<i>R,R</i>
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 99 : 1$	3,63	1,57	6,34	<i>R,R</i>
78	$\Psi(\text{heksan, propan-2-ol}) = 90 : 10$	1,92	1,10	1,21	-
	$\Psi(\text{heksan, etanol}) = 95 : 5$	1,66	1,18	1,39	-

KARDIOVASKULARNI LIJEKOVI

Tablica L-AD-01. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni *Chiralpak AD*

Lijek / Djelatna tvar	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	4,30	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,12	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	7,45	1,05	0,73
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	18,27	1,07	1,36
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	4,77	1,37	2,93
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,55	1,35	2,04
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	4,49	1,85	5,46
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	10,02	1,88	7,99
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,15	1,23	1,46
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,99	1,18	1,02
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	2,23	1,39	4,17
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,40	1,35	2,89
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 20 : 80	11,14	1,72	4,75
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 25 : 75	7,08	1,81	9,23
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 20 : 70	4,77	1,82	6,99
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 35 : 65	3,49	1,83	6,90
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 50 : 50	1,95	1,83	8,06
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	20,78	1,26	3,72
	Ψ (heksan, etanol) = 50 : 50	5,65	1,19	2,37
	Ψ (heksan, etanol) = 40 : 60	4,20	1,18	2,16
Ψ (heksan, etanol) = 30 : 70	3,27	1,18	2,02	

Tablica L-AD-05. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,5 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni *Chiralpak AD*

Lijek / Djelatna tvar	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_S
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	4,31	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	18,52	1,04	1,40
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	2,56	1,36	4,95
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	4,41	1,90	9,22
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,21	1,21	1,78
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	2,36	1,41	4,79
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 50 : 50	1,91	1,92	6,40
	Ψ (heksan, etanol) = 30 : 70	3,33	1,24	2,61

Tablica L-AS-01. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni **Chiralpak AS-H**

Lijek	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	3,28	1,14	0,40
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	4,23	1,15	0,42
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	5,28	1,02	0
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	6,28	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	8,42	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	13,65	1,00	0
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	3,13	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	4,76	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	8,76	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	1,63	1,02	0,28
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	2,84	1,04	0,33
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	5,61	1,12	0,53
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	20,18	1,13	1,23
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,12	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	0,96	1,02	0,68
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	0,82	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	3,25	1,02	0,65
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	2,12	1,03	0,72
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 30	1,40	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	5,28	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	4,22	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	29,88	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	7,77	1,00	0

Tablica L-AS-05. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,5 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni **Chiralpak AS-H**

Lijek	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	4,87	1,16	0,52
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	8,05	1,00	0
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	8,89	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	4,98	1,14	1,64
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	0,94	1,02	0,62
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	2,56	1,02	0,68
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	5,33	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	7,82	1,00	0

Tablica L-OJ-01. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni *Chiralcel OJ*

Lijek	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	6,38	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	5,64	1,00	0
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 90 : 10	3,98	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	5,82	1,08	0,77
	Ψ (heksan, etanol) = 93 : 7	12,50	1,08	1,17
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	28,67	1,08	1,03
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	9,21	1,08	0,32
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	3,00	1,10	0,57
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	7,97	1,11	0,54
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	8,79	1,06	0,62
	Ψ (heksan, etanol) = 93 : 7	17,32	1,06	0,76
	Ψ (heksan, etanol) = 95 : 5	34,87	1,02	0,82
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	1,25	1,02	0,62
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	0,72	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,80	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,86	1,00	0
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	53,19	1,19	1,46
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	11,82	1,15	1,09
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	17,59	1,16	1,14
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	72,33	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	18,03	1,00	0

Tablica L-OJ-05. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,5 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni *Chiralcel OJ*

Lijek	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	4,47	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 93 : 7	12,50	1,09	1,56
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	7,76	1,11	0,93
	Ψ (heksan, etanol) = 93 : 7	17,82	1,06	0,82
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 80 : 20	0,90	1,02	0,60
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,79	1,00	0
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	10,84	1,13	0,95
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	16,78	1,00	0

Tablica L-OD-01. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,1 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni *Chiralcel OD*

Lijek	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	2,27	1,63	2,74
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	1,27	1,33	2,03
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	6,27	1,02	0,23
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	1,87	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	2,69	1,00	0
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,92	1,00	0
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,29	1,76	4,03
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 75 : 25	0,78	1,66	2,71
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	0,67	1,66	2,39
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,26	1,39	1,87
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	0,67	1,37	1,77
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	0,56	1,36	1,68
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	0,49	1,29	1,04
	Ψ (heksan, etanol) = 60 : 40	0,39	1,27	0,90
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	41,25	1,14	0,82
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	28,87	1,14	0,86
	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	16,23	1,14	0,89
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	42,32	1,14	0,80
	Ψ (heksan, etanol) = 80 : 20	21,99	1,14	1,11
	Ψ (heksan, etanol) = 75 : 25	13,97	1,15	1,16
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	10,16	1,15	1,11

Tablica L-OD-05. Utjecaj volumnog udjela i vrste alkohola u heksanskoj pokretnoj fazi koja sadrži 0,5 % dietilamina na odjeljivanje enantiomera kardiovaskularnih lijekova na koloni *Chiralcel OD*

Lijek	Sastav pokretne faze	k_1	α	R_s
<i>Atenolol</i> ® 50 mg / <i>Atenolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 70 : 30	2,02	1,57	2,83
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	1,24	1,31	1,61
<i>Darob mite</i> ® 80 mg / <i>Sotalol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	6,06	1,03	0,33
	Ψ (heksan, etanol) = 85 : 15	2,66	1,00	0
<i>Bisobel</i> ® 10 mg / <i>Bisoprolol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 85 : 15	1,12	1,99	4,65
	Ψ (heksan, etanol) = 90 : 10	1,25	1,42	2,55
<i>Carvelol</i> ® 25 mg / <i>Karvedilol</i>	Ψ (heksan, propan-2-ol) = 60 : 40	17,72	1,10	0,84
	Ψ (heksan, etanol) = 70 : 30	10,62	1,12	1,22